



INRA URP3F
Le chêne RD150 BP 80006
86600 Lusignan



THESE

Pour l'obtention du Grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE POITIERS

(ECOLE SUPERIEURE d'INGENIEURS de POITIERS)
(Diplôme National - Arrêté du 7 août 2006)

Ecole Doctorale : Sciences pour l'Environnement Gay Lussac.

Secteur de Recherche : Biologie de l'environnement, des populations, écologie

Présentée par :

Stéphane Grenier

**Impact de la plasticité phénotypique et de la sélection sur
l'évolution morphologique et génétique des populations :**

**Le cas d'une graminée pérenne, *Lolium perenne* L., sous
défoliation**

Soutenue le 12 décembre 2011

JURY

Léopoldo Sanchez

Chargé de recherche, INRA Orléans / *Rapporteur*

Isabelle Goldringer

Directeur de recherche, INRA Le Moulon /
Rapporteur

Didier Bouchon

Professeur, université de Poitiers / *Examineur*

Hélène Frérot Pauwel

Maitre de conférence, Université de Lille /
Examineur

Marie-Pascale Prudhomme

Professeur, université de Caen / *Examineur*

Isabelle Litrico

Chargée de recherche, INRA Lusignan / *Encadrant*

Philippe Barre

Ingénieur de recherche, INRA Lusignan / *Encadrant*

Christian Huyghe

Directeur de recherche, INRA Lusignan / *Directeur
de thèse*

Remerciements

Ce travail de thèse a été réalisé dans l'unité de recherche pluridisciplinaire des prairies et plantes fourragères de l'INRA de Lusignan. A ce titre, je tiens à remercier **François Gastal**, directeur de l'unité pour les moyens mis à ma disposition pour mener à bien ce travail. Cette thèse a été financée par une bourse **INRA - région Poitou Charentes** de novembre 2009 à octobre 2011.

Je remercie tous les membres de mon jury de thèse, qui m'ont fait l'honneur de juger mon travail. Je remercie donc **Leopoldo Sanchez, Isabelle Goldringer, Hélène Frérot, Marie-Pascale Prud'homme** et **Didier Bouchon**.

Je tiens tout particulièrement à remercier **Isabelle Litrico** et **Philippe Barre** qui m'ont encadré pendant ce travail et, malgré un emploi du temps chargé, m'ont soutenu et guidé pendant trois années. Merci à **Christian Huyghe** directeur de cette thèse.

Je remercie également **Sophie Gerber, Irène Till, Sandrine Maurice** et **Didier Combes** qui ont participé à mes comités de thèses.

Ce travail a nécessité le recueil d'une quantité impressionnante de données morphologiques qui seul n'aurait pas été possible, je remercie donc tous ceux qui ont participé aux mesures sur le terrain et à l'entretien des plantes : **Magalie Caillaud, David Alletru, Jean-François Bourcier, Marylin Vandier, Claudine Largeaud, Joël Jousse, Franck Gelin**. Et aussi tous les stagiaires et mains d'œuvres.

Je remercie également **Philippe Cormenier** qui a beaucoup contribué dans l'acquisition des données moléculaires mais aussi **Françoise Durand, Denise Cadier, Sandrine Flajoulot, Sabrina Delaunay, Céline Bernier, Sébastien Blugeon** du laboratoire génétique.

Merci aussi à l'aide apportée par **Annie Eprinchard, Eric Roy, Serge Carre, Cédric Perrot** de l'équipe d'écophysiologie.

Merci à **Corinne Melin** pour l'aide concernant la gestion des références bibliographique, **Jean-Paul Sampoux** pour l'aide sur les statistiques, **Nathalie Bonnet, Geneviève Pierre, Annalise Trubert** de l'équipe secrétariat et **Jean-Marie Girardeau, Sébastien Poggi** de l'équipe informatique.

Je remercie et souhaite un bon courage à mes collègues thésardes **Laurence Pauly** et **Amel Maamouri**.

Je terminerai tous ces remerciements par ceux qui me sont les plus proches, malgré la distance. Je remercie vivement **mes amis** et **ma famille** pour leur soutien et leurs encouragements.

Merci plus personnellement à celle avec qui j'ai commencé cette thèse, qui a toujours cru en moi, qui a fait des centaines de kilomètres pour me rejoindre et que j'aime tant. Merci à toi, **Eva** !

Sommaire

REMERCIEMENTS	3
SOMMAIRE.....	7
INTRODUCTION.....	11
CI.1. DIVERSITE, SELECTION GENETIQUE ET PLASTICITE PHENOTYPIQUE.....	13
CI.2. LES PRAIRIES DANS LES AGRO-ECOSYSTEMES	25
CI.3. PLAN ET OBJECTIFS DE LA THESE.....	29
CI.4. <i>LOLIUM PERENNE</i> L., NOTRE MODELE BIOLOGIQUE	33
CHAPITRE 1: EVOLUTION MORPHOLOGIQUE SOUS DEFOLIATION : SELECTION ET PLASTICITE ?	37
C1.1. INTRODUCTION	39
C1.2. MATERIELS ET METHODES	43
C1.2.1. CREATION DE LA POPULATION G0	43
C1.2.2. CARACTERISATION MORPHOLOGIQUE DE LA POPULATION G0 A D0	49
C1.2.3. SUIVI MORPHOLOGIQUE ET EFFORT REPRODUCTEUR DE LA POPULATION G0 SOUS TRAITEMENT DE DEFOLIATION	53
C1.2.4. ESTIMATION DE LA PLASTICITE DES GENOTYPES DE LA POPULATION G0	55
C1.2.5. CARACTERISATION MORPHOLOGIQUE DES POPULATIONS G1 ISSUES DE LA PRODUCTION GRAINIERE DE G0-DF ET G0-DPF ET COMPARAISON A G0 INITIALE.....	57
C1.2.6. ANALYSES STATISTIQUES	61
C1.3. RESULTATS	67
C1.3.1. CARACTERISATION MORPHOLOGIQUE DE LA POPULATION G0 A D0	67
C1.3.2. SUIVI MORPHOLOGIQUE ET EFFORT REPRODUCTEUR DE LA POPULATION G0 SOUS TRAITEMENT DE DEFOLIATION	67
C1.3.3. CARACTERISATION MORPHOLOGIQUE ET COMPARAISON DES POPULATIONS G1-DPF, G1-DF ET G0BIS	87
C1.4. DISCUSSION.....	91
C1.4.1. MODIFICATION MORPHOLOGIQUE DE LA POPULATION SOUS DEFOLIATION	91
C1.4.2. PLASTICITE, MORPHOTYPES ET VARIATION DE LA POPULATION	99
C1.4.3. PLASTICITE, SELECTION ET DYNAMIQUE DE LA DIVERSITE DES POPULATIONS	105
CHAPITRE 2 : DETERMINISME GENETIQUE DES CARACTERES MORPHOLOGIQUES ET REPRODUCTEURS EVOLUTION DE LA DIVERSITE ALLELIQUE SOUS DEFOLIATION	111
C2.1. INTRODUCTION	113
C2.2. MATERIELS ET METHODES	117
C2.2.1. POPULATIONS DE L'ETUDE.....	117
C2.2.2. PHENOTYPAGE DES POPULATIONS G0-DF ET G0-DPF	117
C2.2.3. GENOTYPAGE	117
C2.2.4. DONNEES PHENOTYPIQUES	121
C2.2.5. CARTOGRAPHIE GENETIQUE	121
C2.2.6. RECHERCHE DE QTL	125
C2.2.7. DETECTION DE LA SELECTION	127
C2.3. RESULTATS	131
C2.3.1. DONNEES PHENOTYPIQUES	131
C2.3.2. CARTOGRAPHIE GENETIQUE	135
C2.3.3. DETECTION DE QTL	135
C2.3.4. PASSAGE DE LA GENERATION G0 A LA GENERATION G1	145

C2.3.6. EFFET DES ALLELES ET LEURS EVOLUTIONS.....	157
C2.3.7. DIVERSITE GENETIQUE	157
C2.4. DISCUSSION.....	163
C2.4.1 CARTOGRAPHIE GENETIQUE	163
C2.4.2. DETECTION DE QTL POUR LES CARACTERES ADAPTATIFS	165
C2.4.3. ORIGINE DES DIFFERENCES DES TYPES FOURRAGES GAZONS	167
C2.4.4. EVOLUTION DES FREQUENCES ALLELIQUES AU PASSAGE A LA GENERATION G1 ET SELECTION SUR LES QTL.....	169
C2.4.5. IMPACTS SUR LA DIVERSITE GENETIQUE	173
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	175
C3.1 PLASTICITE, SELECTION, DIVERSITE	177
C3.2 APPORT DANS L'AMELIORATION DES PLANTES FOURRAGERES	179
TABLE DES FIGURES.....	233
TABLE DES TABLEAUX	237
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	243
RESUME	258

Introduction

Cette partie fait l'objet d'un article :

« How do selection and phenotypic plasticity drive genetic diversity ? »

Auteurs: S. Grenier, P. Barre, I. Litrico

soumis à la revue *Evolutionary Ecology Research* (annexe 1)

Introduction

CI.1. Diversité, sélection génétique et plasticité phénotypique

Les facteurs biotiques et abiotiques qui composent l'environnement varient au cours du temps, et imposent de nouvelles conditions de milieu, ce qui peut limiter la pérennité des populations¹ (Chevin et Lande, 2010). L'adaptation² des populations améliore leur survie face aux pressions de l'environnement. Cette adaptation qui recouvre des changements morphologiques, physiologiques ou comportementaux est le fruit de différents mécanismes : la sélection génétique et/ou la plasticité phénotypique (Ridley *et al.*, 1997). La sélection est un processus par lequel, la diversité, présente dans la population, expose les différences entre individus à un tri et conduit à un différentiel de reproduction. Les individus possédant le phénotype le mieux adapté dans un environnement donné, sont sélectionnés et les allèles qu'ils portent se répandent dans la population au cours des générations. La sélection génétique n'est possible que (i) s'il existe une variation populationnelle de la valeur des caractères, (ii) que cette variation affecte des caractères liés directement ou indirectement à la valeur sélective des individus et (iii) si les modalités des caractères sont héritables.

La plasticité phénotypique est définie quant à elle, comme la capacité d'un génotype à exprimer différents phénotypes en fonction de son environnement (Bradshaw, 1965 ; Schlichting, 1986 ; Scheiner, 1993 ; West-Eberhard, 2005 ; Ghalambor *et al.*, 2007). Par plasticité phénotypique, les traits plastiques des individus sont donc modifiés, en réponse aux signaux environnementaux, sans modification génétique. La plasticité s'étudie à travers sa norme de réaction, qui correspond à l'ensemble des phénotypes observés en fonction des

¹ Population : ensemble d'individu qui montre une unité de reproduction : les individus d'une population peuvent se croiser entre eux et se reproduisent moins avec les populations voisines.

² Adaptation : modification d'un caractère anatomique, d'un processus physiologique ou d'un trait comportemental dans une population d'individus, le nouvel état de ce caractère améliorant la survie et le succès reproducteur des individus qui en sont porteurs.

différents environnements étudiés. L'indice de plasticité d'un génotype peut être estimé par les différences entre les valeurs d'un ou des caractères phénotypiques dans, au minimum, deux environnements différents (Valladares *et al.*, 2006).

Face aux pressions environnementales, la plasticité phénotypique et la sélection peuvent être traduites par des modifications du phénotype moyen et de la variance des populations. Par plasticité, une modification phénotypique sur chaque individu plastique peut entraîner une modification à l'échelle de la population visible au sein d'une génération (Pigliucci, 2001). Tandis que, par sélection la modification phénotypique est uniquement visible à l'échelle de la population, soit au sein d'une même génération par élimination de certains individus, et/ou au cours des générations par modification des fréquences alléliques modifiant ainsi le phénotype moyen et la diversité phénotypique de la population. L'effet de ces deux mécanismes, plasticité phénotypique et sélection sur la diversité phénotypique d'une part et génétique d'autre part est complexe. La diversité génétique est un paramètre essentiel quant à la capacité d'adaptation des populations au cours du temps et face aux pressions environnementales. Il est donc crucial de comprendre l'impact de l'action conjointe de ces deux mécanismes sur la diversité des populations pour améliorer notre connaissance et prédire la réponse des espèces aux variations environnementales dans un contexte de changement global.

Les caractéristiques morphologiques d'une population peuvent se décrire par des valeurs de variances et de moyennes. La sélection fait varier la moyenne et/ou la variance des caractères de la population de différentes façons. Elle peut être directionnelle, stabilisatrice ou disruptive. Pour une distribution normale d'un trait, la sélection directionnelle favorise les phénotypes différents de la moyenne de la distribution et donc déplace la moyenne du trait dans une direction ou dans l'autre, pouvant diminuer la variance (Price *et al.*, 1988). Le phénomène de sélection stabilisatrice élimine les phénotypes les plus divergents réduisant

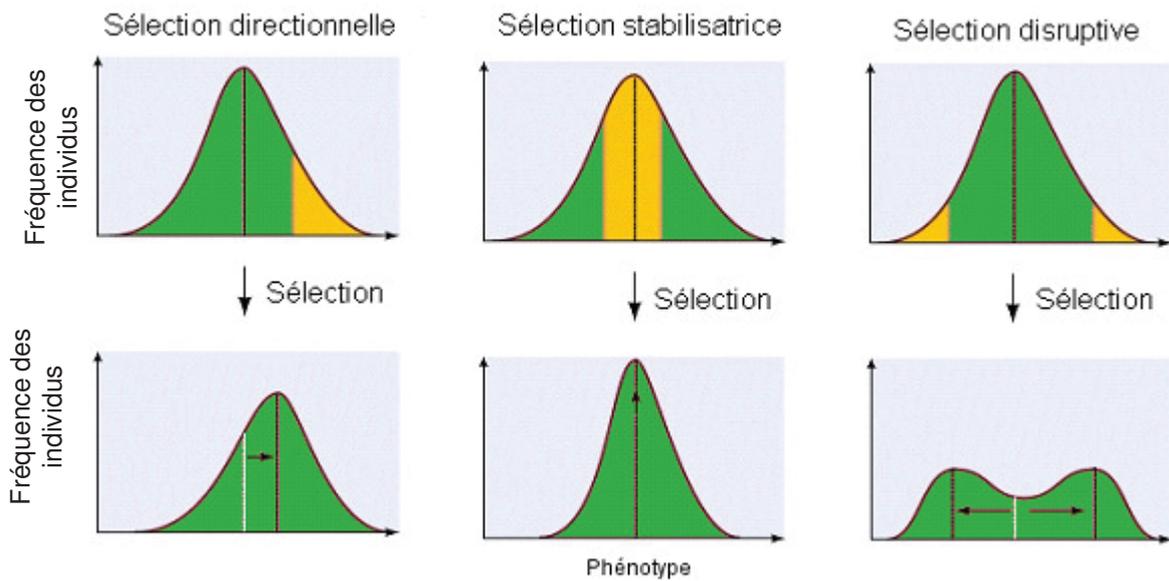


Figure I.1 : Effets des différents types de sélection sur la distribution phénotypique d'une population. En jaune les individus sélectionnés dans la population d'origine ; les flèches indiquent le déplacement des modes de la distribution par l'action de la sélection au passage d'une génération à l'autre.

ainsi l'hétérogénéité, donc la variance du trait tout en gardant une moyenne identique (Zhang et Hill, 2007). La sélection disruptive quant à elle, favorise les phénotypes extrêmes au détriment des phénotypes moyens, provoquant jusqu'à une distribution bimodale, ce qui augmente la variance du trait sans nécessairement changer sa moyenne (Rueffler *et al.*, 2006) (Fig.I.1).

Lorsque la sélection agit sur une population, les individus sélectionnés contribuent davantage à la génération future et donc leurs allèles tendent à être plus représentés en termes de fréquence allélique. Par sélection il est possible d'obtenir la fixation d'allèles avantageux (homogénéisation de tous les individus aux loci impliqués). On parle alors de sélection directionnelle positive sur un allèle ou une combinaison allélique, qui confère un avantage sélectif. Une forte sélection directionnelle peut conduire à un balayage sélectif correspondant à une réduction de la diversité autour de l'allèle sélectionné par effet d'entraînement des variants neutres avoisinant qui sont en déséquilibre de liaison avec l'allèle sélectionné. C'est l'effet d'autostop (Smith et Haigh, 1974). De la même façon, lorsque la sélection opère une contre sélection sur un allèle, la fréquence de cet allèle tend à diminuer et il est possible d'obtenir la disparition de l'allèle. Cette sélection appelée sélection purifiante tend à réduire la diversité aux loci neutres avoisinant mais n'entraîne pas forcément de déséquilibre de liaison allélique. Mais la sélection peut aussi maintenir des allèles à des fréquences intermédiaires par des phénomènes (i) d'avantages aux hétérozygotes (les individus avec deux allèles différents ont une meilleure valeur sélective) comme le montre une étude où l'hétérozygotie à un locus protège une espèce de saumon face à des infections bactériennes (Evans et Neff, 2009) ou le célèbre cas de l'anémie falciforme (Haldane, 1949), (ii) de fréquence dépendance, un allèle est avantageux lorsqu'il est en faible fréquence dans la population, c'est le cas par exemple de locus d'auto-incompatibilité chez beaucoup d'espèces de plantes (Takayama et Isogai, 2005 ; Castric et Vekemans, 2004 ; Castric *et al.*, 2010). Les conséquences de cette sélection

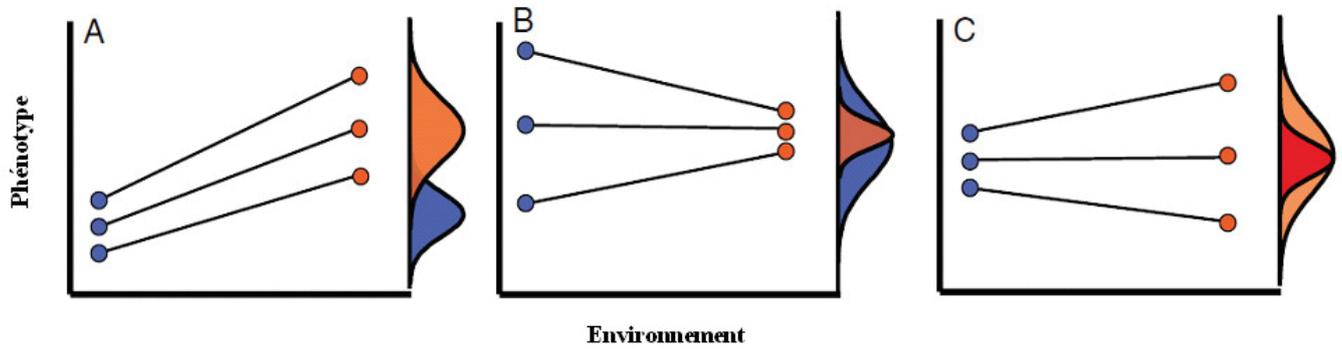


Figure I.2 : La plasticité peut entraîner différents changements de la distribution d'un trait dans la population. Par exemple, A : augmentation de la moyenne et de la variance ; B : moyenne identique mais diminution de la variance ; C : moyenne identique mais augmentation de la variance (Fordyce, 2006).

diversifiante sont le maintien d'une certaine diversité allélique au locus sélectionné et au niveau des loci avoisinants.

Au niveau moléculaire, la réponse à la sélection se fait donc à travers des changements de fréquences des allèles aux loci responsables des modalités des caractères cibles au cours des générations et des régions génomiques avoisinantes. Il s'en suit une modification de la diversité génétique et phénotypique de la population qui traduit une adaptation génétique de la population.

L'effet de la plasticité phénotypique entraîne aussi une modification de la moyenne des caractères et/ou une modification de la variance à l'échelle de la population (Fordyce, 2006) (Fig.I.2). Mais l'influence de la plasticité phénotypique sur les variations de fréquences alléliques aux loci impliqués dans l'expression du caractère plastique est plus complexe et dépend de l'action de la plasticité sur la réponse à la sélection. Si une modification plastique du phénotype d'un individu a pour résultat de permettre à cet individu d'accroître sa survie et/ou son effort reproducteur (Przybylo *et al.*, 2000), la plasticité peut dans ce cas être un moyen pour les individus d'augmenter leur valeur sélective dans l'environnement (Kopp et Tollrian, 2003 ; Irschick et Meyers, 2007; Reed *et al.*, 2011). Cet aspect adaptatif de la plasticité met en exergue le fait que les mécanismes de sélection génétique et de plasticité sont interconnectés par la valeur sélective des individus. La plasticité peut ainsi agir en modifiant l'emprise (directe ou indirecte) de la sélection sur le trait plastique et dans ces conditions, une rétroaction, toujours via la valeur sélective des individus est possible si la plasticité elle-même est considérée comme un caractère répondant aux conditions nécessaires (variable et héritable) pour être cible de la sélection (Via, 1993). Certaines études ont mis en évidence une base génétique de la plasticité, elle est donc en partie héritable (Scheiner et Lyman, 1989), assortie d'une variabilité de cette plasticité selon les individus (Scheiner, 2002 ; De Jong, 2005). La plasticité phénotypique peut être considéré comme un trait quantitatif sujet à la

sélection naturelle et par conséquent à l'évolution (Stearns *et al.*, 1995). La plasticité phénotypique est alors considérée comme une propriété du génotype avec son propre contrôle génétique. La valeur moyenne du caractère peut alors être indépendante de la plasticité de ce caractère. Ce concept basé sur l'indépendance de la moyenne et de la plasticité d'un trait laisse suggérer l'existence possible des "gènes de la plasticité" (Callahan *et al.*, 1997). Il suggère que la sélection pourrait agir directement sur la plasticité.

Mais l'effet de la plasticité sur la valeur sélective des individus n'est pas toujours positif. La réponse plastique de certains traits à une variation environnementale peut être passive en raison, par exemple, de certaines contraintes biochimiques ou physiologiques (Sultan, 2000; Pigliucci *et al.*, 2006) sans nécessairement être adaptative, c'est à dire sans pour autant améliorer la survie ou la reproduction de l'individu (Pigliucci *et al.*, 2006; Valladares *et al.*, 2006). La plasticité peut alors être neutre si son effet sur la valeur sélective est nul ou être maladaptative, si elle engendre une diminution de la valeur sélective initiale via, par exemple, l'existence de coûts. Une plasticité neutre a été montrée chez une plante où la variation de surface foliaire spécifique (SLA) face à différents niveaux de sécheresse n'avait pas d'impact sur la valeur sélective des individus (Caruso *et al.*, 2006). Bien qu'ils soient difficiles à mettre en évidence (Dewitt, 1998 ; Loman et Claesson, 2003 ; Volis, 2009), la plasticité phénotypique peut engendrer des coûts (Merila *et al.*, 2004 ; Van Kleunen et Fischer, 2005, 2007). On considère qu'il existe un coût lorsqu'un génotype subit une réduction de valeur sélective en exprimant un phénotype à travers un développement plastique par rapport au même phénotype à travers un développement fixe (c'est-à-dire qui ne fait pas appel à la plasticité). En d'autres termes, la différence de valeur sélective de deux génotypes exprimant le même phénotype, mais l'un via la plasticité et l'autre sans plasticité (fixe), correspond à la valeur du coût de la plasticité. Si les coûts de la plasticité sont élevés, ils peuvent avoir un impact considérable sur la valeur sélective et donc la sélection des individus, et par la même

la sélection de la plasticité et son évolution (Lynch et Gabriel, 1987 ; Van Tienderen, 1991 ; Moran, 1992; Sultan et Spencer, 2002). La sélection de la plasticité et l'effet de la plasticité sur la réponse à la sélection, dépendront donc du résultat de la plasticité sur la valeur sélective de l'individu, résultat qui est intimement lié au coût de cette plasticité. De cette interaction entre ces deux mécanismes, de sélection et de plasticité phénotypique résulte l'évolution de la diversité phénotypique et génétique des populations.

La plasticité adaptative, via une diminution de la réponse à la sélection directionnelle ou stabilisatrice, peut favoriser le maintien de la diversité génétique du ou des trait(s) soumis à sélection alors que la diversité morphologique tend à être réduite dans la population. Les variations génétiques du ou des trait(s) ne sont alors peu ou pas exprimées dans l'environnement (Schlichting et Smith, 2002) jusqu'à pouvoir être neutres et éviter ainsi une diminution de la valeur sélective des individus qui les portent. Ces prédictions faites à partir de modèles théoriques (Gillespie et Turelli, 1989 ; Zhivotovsky et Gavrilets, 1992 ; Scheiner, 1993) ont rarement été validées dans la nature et il existe peu de données expérimentales pour les vérifier (Sultan et Bazzaz, 1993 ; Cheetham *et al.*, 1995). Mais Baquedano *et al.* (2008) montrent chez une espèce d'arbre, *Quercus coccifera*, avec plusieurs écotypes, que la plasticité phénotypique cache les différences sélectives entre génotypes, maintenant ainsi une variabilité génétique inaccessible à la sélection. De même, Irschick et Meyers (2007) mettent en évidence dans une population de lézard (*Urosaurus ornatus*), une sélection directionnelle favorisant les individus mâles les plus rapides. Mais une plasticité saisonnière augmente la force des plus faibles durant la période de reproduction. Ceci a pour conséquence d'homogénéiser la rapidité de la population mâle au moment de la reproduction et peut donc diminuer l'effet de la sélection sur les performances. Les pressions de sélection peuvent donc varier sous l'action de la plasticité, et l'évolution "prévue" en absence de plasticité peut être modifiée (Price, 2006 ; Fordyce, 2006 ; West-Eberhard, 1989). Les relations entre sélection et

plasticité sont complexes, tout comme leurs conséquences sur la diversité, aussi bien phénotypique que génétique, des populations (Agrawal, 2001). Mais alors qu'ils constituent de bons moyens d'étudier ces relations, les cas d'évolution expérimentale avec l'estimation de la plasticité restent rares dans la littérature.

CI.2. Les prairies dans les agro-écosystèmes

L'étude des populations soumises à de fortes pressions environnementales, comme les populations végétales anthropisées, constituent de bons modèles d'étude dans le cadre de cette problématique. Par exemple, les populations pérennes, telles les prairies, dans les agro-écosystèmes, rencontrent de fortes pressions de sélection avec des variations environnementales intra- et inter-annuelles, qui les rendent propices à développer des mécanismes d'adaptations pour faire face à ces contraintes (Wainwright, 2008 ; Thrall *et al.*, 2011). Les espèces des prairies semées sont composées de variétés synthétiques³, elles possèdent donc une diversité génétique importante. Ces prairies de graminées et/ou de légumineuses rendent un certain nombre de services comme la production de fourrage en quantité et en qualité, mais elles sont aussi un atout majeur pour l'environnement. Elles permettent de limiter les lessivages d'azote (Benoît *et al.*, 1995 ; Benoît et Simon, 2004), l'érosion des sols (Chisci et Zanchi, 1981) et de préserver la biodiversité (Friedel et James, 1995 ; Pflimlin et Poux, 2005). Les prairies de graminées fourragères sont exploitées en fauche ou en pâture ou en alternant ces deux modes. L'exploitation d'une prairie en fauche consiste en des défoliations mécaniques à des intervalles relativement longs (environ six semaines au printemps en régions tempérées) permettant d'atteindre un indice foliaire maximisant le rendement dans les cycles de défoliation-repousse. Le pâturage continu

³ Variété synthétique : population qui résulte de plusieurs générations de multiplication d'une semence de départ, issue elle-même de l'interfécondation naturelle de quelques lignées de bases (6 à 10 en général).

consiste en la présence ininterrompue des animaux sur une prairie engendrant une défoliation moyenne (variable selon le chargement) tous les 15 jours pour chaque plante. Ajoutées aux aléas climatiques, ces pratiques culturales constituent de fortes pressions qui peuvent être variables au cours des cycles d'exploitation des prairies.

On s'attend à ce que la diversité génétique initiale des prairies se modifie au cours du temps, sous l'effet de la sélection génétique et/ou de la plasticité phénotypique, en réponse à l'environnement et notamment le mode de gestion. Cette modification de la composition génétique des prairies pourrait être à la base de la réduction de la valeur agronomique observée au cours des cycles d'exploitation des cultures (Straub, 2006). Cette diminution de la valeur agronomique a pour conséquence un retournement de la prairie et un re-semis (Elgersma et Shlepers, 1997 ; Schils *et al.*, 1999), ce qui engendre des conséquences écologiques et économiques importantes. Il est donc nécessaire de comprendre comment, les pressions exercées, orientent les changements morphologiques des populations prairiales afin d'optimiser la pérennité de la valeur agronomique de ces prairies et éviter les effets néfastes de leur retournement fréquent. L'espèce de graminée la plus couramment cultivée dans les prairies des zones tempérées est le ray-grass anglais (*Lolium perenne* L.), une herbacée pérenne. Certaines études portant sur cette espèce ont mis en évidence une réponse des populations à la défoliation, et notamment à la fréquence de défoliation (Hazard *et al.*, 2001). Avec par exemple, une diminution de la longueur des feuilles (Hazard *et al.*, 2006), une variation du nombre de talles, une chute de la matière sèche des plantes (Cullen *et al.*, 2006) ou encore une réduction des réserves en sucres et protéines solubles (Kim *et al.*, 2001). Mais les mécanismes de réponse, sélection et/ou plasticité, à la défoliation chez les populations prairiales sont mal connus et leur impact sur la diversité peu étudié.

Dans cette thèse, nous proposons l'étude d'une population particulière de *Lolium perenne* L. et de sa descendance, dans deux environnements contrastés, afin d'acquérir,

- (i) dans un contexte générique, des éléments de compréhension quant à la problématique de l'action conjointe de la sélection et de la plasticité phénotypique, dans l'évolution de la diversité phénotypique et génétique des populations,

- (ii) dans un contexte finalisé, des connaissances sur les variations génétiques qui peuvent opérer dans les prairies sous défoliation, pour injecter ces connaissances en amélioration des espèces prairiales.

Pour ce faire, nous attacherons à identifier, via une approche d'évolution expérimentale, l'effet de la sélection et de la plasticité sur l'évolution phénotypique et allélique d'une population de cartographie, soumise à deux fréquences de défoliation.

CI.3. Plan et objectifs de la thèse

Dans un premier chapitre, « Evolution morphologique sous défoliation : sélection et plasticité ? », nous étudierons les changements morphologiques observés dans les différents environnements, en répondant aux questions suivantes :

- Observe-t-on des modifications morphologiques de la moyenne et de la variance des populations sous défoliation ?
- Les modifications morphologiques observées résultent-elles de mécanismes de sélection et/ou de plasticité phénotypique ?
- Pouvons-nous mettre en évidence des différences génotypiques de la plasticité des caractères répondant à la pression de défoliation, ces différences sont-elles en lien avec le phénotype initial des individus ?

- Comment la plasticité interagit-elle avec la sélection ? en d'autres termes, la plasticité influence-t-elle la valeur sélective des individus ?

Dans un second chapitre, « Déterminisme génétique des caractères morphologiques et reproducteurs. Evolution de la diversité allélique », nous nous intéresserons aux bases génétiques à l'origine des phénotypes observés, à la diversité allélique et à son évolution, en répondant aux questions suivantes :

- Pouvons-nous détecter des régions génomiques (QTL : quantitative trait loci) impliquées dans le déterminisme et la plasticité des caractères répondant à la défoliation ?
- Peut-on mettre en évidence une action de la sélection à ces loci ?
- Quel est l'impact de cette sélection sur la diversité moléculaire ?

Dans une dernière partie de discussion-perspectives, nous analyserons nos résultats en tenant compte des inter-relations potentielles entre sélection génétique et plasticité phénotypique et leurs effets sur la diversité phénotypique et allélique. Nous verrons aussi les implications de nos résultats en amélioration génétique des fourrages.

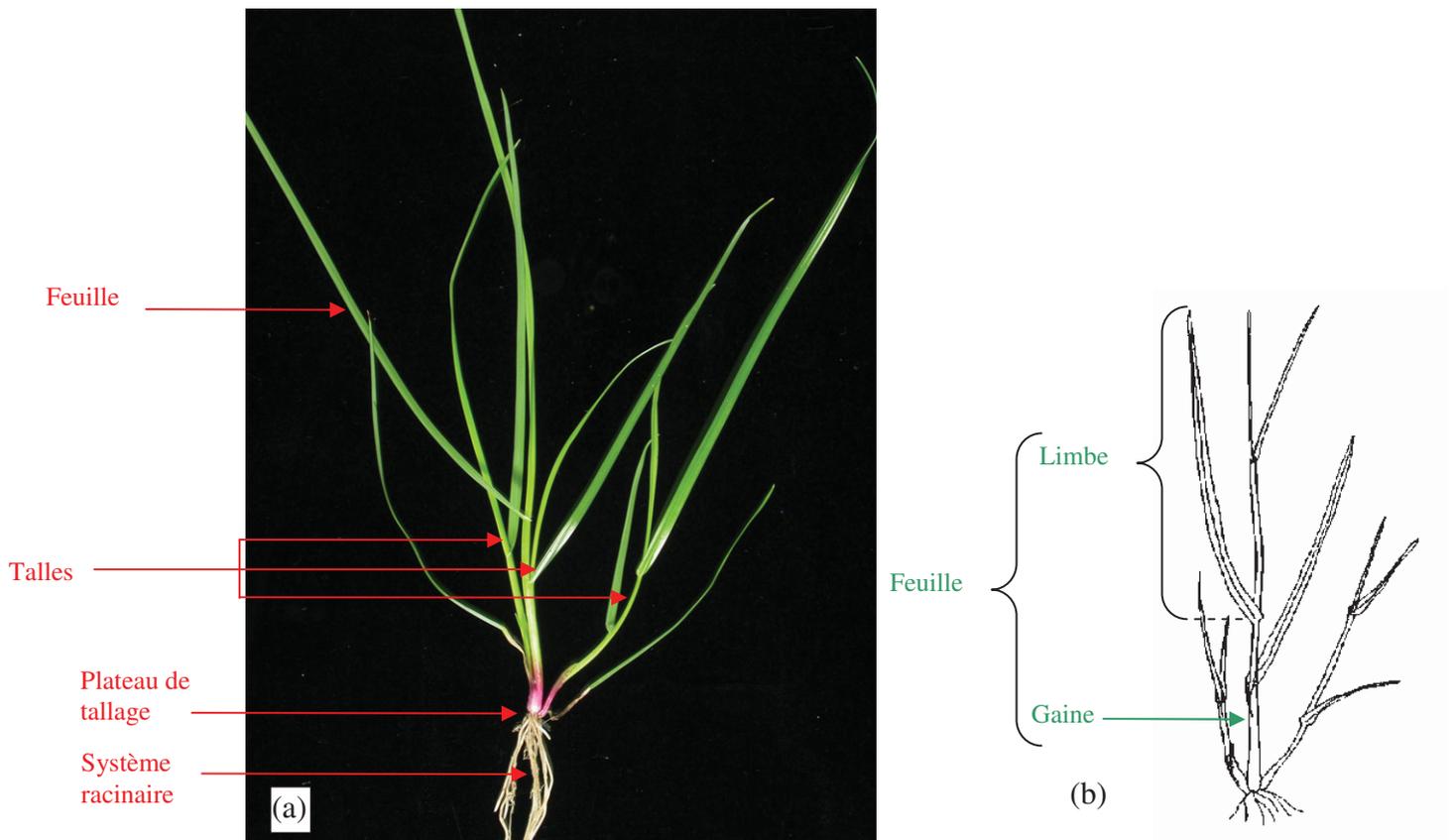


Figure I.3 : (a) Individu de *Lolium perenne* L.. Nous pouvons distinguer ici trois talles possédant chacune plusieurs feuilles. (b) schéma d'un individu de *Lolium perenne* L.. nous distinguons la gaine, le limbe et la feuille composée de la gaine et du limbe.



Figure I.4 : Inflorescence en épis d'épillets et graines de ray-grass anglais.

CI.4. *Lolium perenne* L., notre modèle biologique (Gillet, 1980 ; Prosperi *et al.*, 1995 ; Gallais et Bannerot, 1992)

L'espèce étudiée est le ray-grass anglais (*Lolium perenne* L.), une herbacée pérenne de la famille des Poacées. Cette espèce est originaire du croissant fertile et son aire de répartition s'est étendue, via les activités humaines, à l'ensemble des régions tempérées du monde. C'est une espèce diploïde ($2n=14$).

A l'état végétatif, les plantes se composent de talles (Fig.I.3) constituées chacune de pseudotiges réduites (plateau de tallage) qui portent les feuilles et les racines. Les feuilles adultes se composent d'une gaine enveloppante et d'un limbe étalé, séparés par une ligule courte et membraneuse. Les feuilles sont emboîtées les unes dans les autres, la plus âgée étant la plus externe. La feuille en croissance forme un tube caché dans la gaine de la feuille précédente et son méristème est basal. Sa croissance végétative est indéterminée et sa morphogénèse arienne est variable selon les génotypes (Ghesquière *et al.*, 1994) et les conditions environnementales, notamment la lumière (Nelson, 2000) et la défoliation (Hazard *et al.*, 2001). En particulier la défoliation modifie le tallage (Cullen *et al.*, 2006) et diminue la longueur des feuilles (Lee *et al.*, 2008), sous l'action, notamment, de réponses écophysiological liées à la quantité et la qualité de la lumière (Matthew *et al.*, 2000).

Le ray-grass anglais est allogame avec un système d'autoincompatibilité gamétophytique. La date de floraison montre une variabilité génotypique importante (de mai à juillet dans l'hémisphère nord) et une forte héritabilité. Les fleurs, dont le pollen est dispersé par le vent, sont hermaphrodites, verdâtres, et regroupées en épi, formé de nombreux épillets à arrangement distique appliqués contre le rachis de l'épi (Fig.I.4). Le fruit est un caryopse vêtu de glumelles contenant la graine (appelée aussi amande) (Fig.I.4) à dispersion anémo et zoochore.

Cette espèce est la plus couramment cultivée dans les prairies des zones tempérées en raison de sa valeur alimentaire (digestibilité / ingestibilité) pour les herbivores, son installation rapide et sa résistance à la défoliation et au piétinement.

En revanche, la production est très fortement ralentie dès que les températures dépassent 25°C et que la contrainte hydrique est trop importante.

Cette espèce fait l'objet de programmes d'amélioration génétique sur sa valeur agronomique (rendement et qualité), résistance aux maladies, au froid et à la sécheresse. Il existe, actuellement, 146 variétés de ray-grass anglais fourrage au catalogue français⁴ (GNIS). De plus, le ray-grass anglais est aussi la graminée par excellence pour l'utilisation en gazon. Les variétés gazon, se distinguent des variétés fourrages par leur morphologie aérienne : des feuilles plus fines et de longueurs plus petites, ainsi qu'une densité de talles supérieure.

⁴ Catalogue français des variétés : liste de variétés commercialisables en France, établie par le Comité Technique Permanent de la Sélection, sur la base de critères de Distinction, d'Homogénéité et de Stabilité (DHS), de la Valeur Agronomique, Technologique et Environnementale (VATE).

Chapitre 1

Evolution morphologique sous défoliation :

Sélection et Plasticité ?

Ce chapitre fait l'objet d'un article :

« Plasticity and adaptation of *Lolium perenne* L. to defoliation »

Auteurs: S. Grenier, P. Barre, I. Litrico

en cours de rédaction et qui sera soumis à Journal of Evolutionary Biology ou Journal of Ecology

C1.1. Introduction

La plasticité phénotypique, définie comme, des changements phénotypiques induits par l'environnement, peut être un processus par lequel les individus s'adaptent aux conditions du milieu. Si cette plasticité améliore la valeur sélective des individus elle est alors dite adaptative (Price *et al.*, 2003) et permet aux individus plastiques d'augmenter leur probabilité de survie et de reproduction dans le milieu. On s'attend à ce que la plasticité adaptative, en ce sens, diminue la réponse à la sélection qui engendre quant à elle, une diminution de la représentativité des génotypes non adaptés au milieu en termes de valeur sélective, ce qui peut impliquer une diminution de la diversité génétique et phénotypique de la population. L'effet de la plasticité, en s'opposant au tri opéré par la sélection, peut donc résulter en une moindre diminution de la diversité génétique dans la population. Cet affaiblissement de la perte de diversité génétique peut être assorti d'une certaine homogénéisation phénotypique à l'échelle de la population. Mais l'intensité de l'affaiblissement de la perte de diversité génétique et le degré d'homogénéisation de la population seront fonction, en partie, de la variation inter-génotypique de la réponse plastique. En effet, même si les plantes sont connues pour leur capacité à s'acclimater à une gamme d'environnements par plasticité phénotypique (Schlichting, 1986) les données empiriques montrent, (i) que certains traits présentent des variations plastiques, tandis que cela n'est pas le cas pour d'autres traits (Hoffmann *et al.*, 1995 ; Mousseau et Roff, 1987) et (ii) qu'il est possible que les capacités plastiques des individus ne soient pas équivalentes entre individus pour un trait donné, entraînant ainsi des variations dans les capacités adaptatives des individus. La variabilité inter-génotype de la plasticité, soulève la question du déterminisme de cette dernière (étudiée dans le chapitre II) et de la dépendance entre les capacités plastiques d'un individu et le phénotype initial de cet individu. Chez les plantes, la défoliation cause un bouleversement important. Le dommage diminue les capacités de photosynthèse (via une diminution de la surface foliaire) et les

réserves (via une exportation de la biomasse) de la plante, mais il modifie également le micro environnement lumineux qualitativement et quantitativement (Hawkes et Sullivan, 2001 ; Trlica et Rittenhouse, 1993). La défoliation peut entraîner des réponses adaptatives (Rautio *et al.*, 2002 ; Anderson *et al.*, 2007) comme la mise en place de mécanismes de défense contre les herbivores (Hood et Ott, 2010), de compensation pour maintenir des structures d'acquisition des ressources (Grime et Mackey, 2002) en conduisant par exemple à des plantes plus prostrées (McIntyre *et al.*, 1995 ; Diaz *et al.*, 2007), ou encore de surcompensation par exemple en augmentant la reproduction (Maschinski et Whitham, 1989 ; Paige et Whitham, 1987).

Parmi les espèces fréquemment défoliées, les espèces prairiales semées, ont fait l'objet de sélection artificielle, soit sur des critères de rendements (production fourragère), soit sur des critères d'esthétisme (gazon) (Yamada et Spangenberg, 2008). De cette sélection a résulté des morphotypes contrastés, (i) des variétés fourragères à grosses talles de biomasse importante avec une longueur et une vitesse de croissance foliaire élevées, et un rendement important sous défoliation peu fréquente (Parsons *et al.*, 2011 ; Wilkins, 1991) ; (ii) des variétés gazons à talles fines et brillantes avec de faibles longueurs de feuilles, et à densité de talles importante pour une maximisation du couvert sous défoliation fréquente (Casler et Duncan, 2003 ; Hanks *et al.*, 2005 ; Wu et Harivandi, 1988). Ces deux types de variétés, de morphotype moyen contrasté, paraissent donc adaptés (en termes de survie et de production végétative) à des pressions environnementales différentes, notamment à des fréquences de défoliation contrastées. La morphologie de ces deux types de variétés laisse suggérer une réponse à la défoliation des caractères : densité de talles, biomasse et longueur de feuille. Ces caractères montrent clairement des valeurs moyennes opposées entre les deux types de variétés mais nos connaissances sont limitées sur la variabilité de réponse des individus à la fréquence de défoliation (plasticité phénotypique) et l'implication sur l'évolution de la



Gagny



Imagine

X
↓



C2.13



C2.14

X
↓

236 génotypes = génération G0

Figure C1.1 : Photos des individus croisés pour l'obtention de la population G0.

diversité morphologique des populations. A l'aide d'une population variable sur les différents caractères répondant à la défoliation, nous proposons, dans ce chapitre, de nous intéresser à l'évolution, sous différentes fréquences de défoliation, de la diversité morphologique et plus particulièrement, nous répondrons expérimentalement aux questions suivantes :

- Observe-t-on des modifications morphologiques de la moyenne et de la variance des populations sous défoliation ?
- Les modifications morphologiques observées résultent-elles de mécanismes de sélection et/ou de plasticité phénotypique ?
- Pouvons-nous mettre en évidence des différences génotypiques de la plasticité des caractères répondant à la pression de défoliation, ces différences sont-elles en lien avec le phénotype initial des individus ?
- Comment la plasticité interagit-elle avec la sélection ? en d'autres termes, la plasticité influence-t-elle la valeur sélective des individus ?

C1.2. Matériel et Méthodes

C1.2.1. Création de la population G0

Pour maximiser la variabilité génétique de la morphogénèse aérienne et pour permettre l'identification de QTL, notre population d'étude a été construite à partir d'un croisement entre deux génotypes appartenant à des variétés différentes, contrastées dans leur longueur de feuille et leur tallage : un individu d'une variété gazon (Imagine, obtenteur : Olsen-Fennell Seeds Inc.) et un individu d'une variété fourrage (Gagny, obtenteur : Jouffray-Drillaud). Le résultat de ce croisement (Fig.C1.1) résulte en une descendance F1, hétérogène, parmi laquelle deux individus (C2.13 et C2.14) pris au hasard ont été croisés.

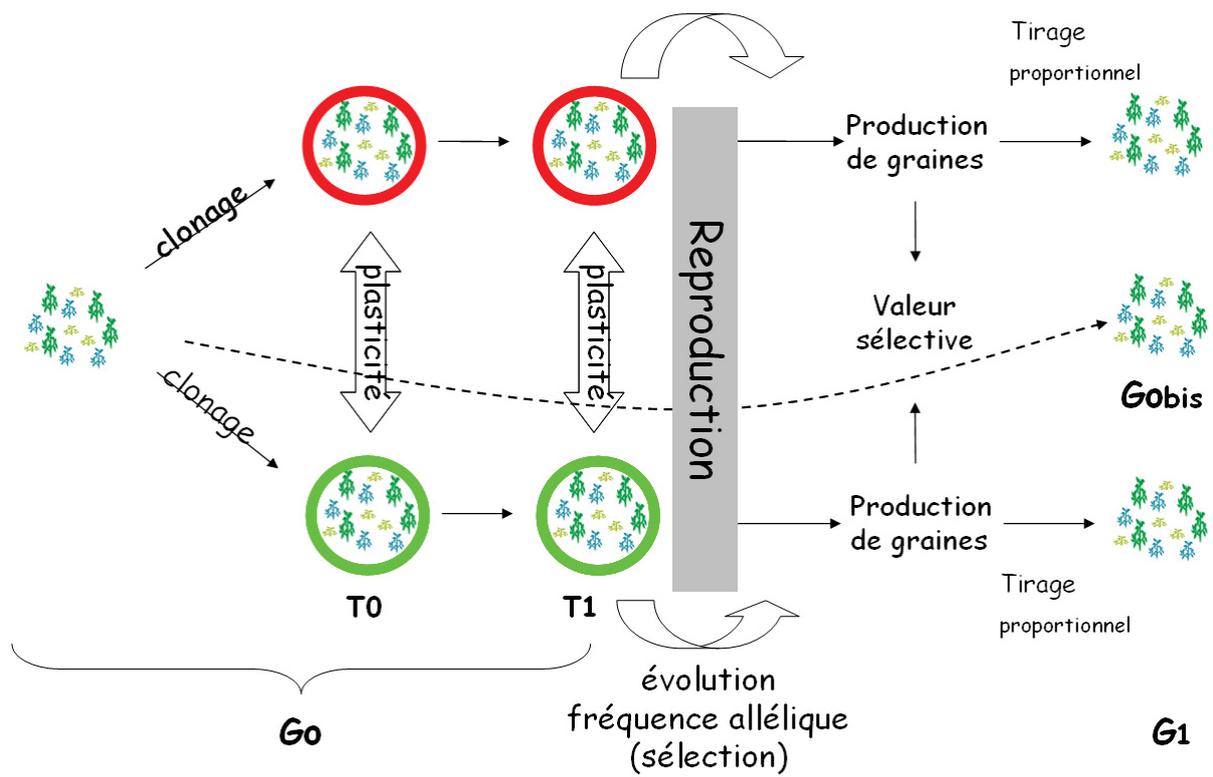


Figure C1.2 : Schéma du dispositif expérimental. En vert défoliation fréquente, en rouge défoliation peu fréquente.

La population F2 ainsi obtenue était composée de 236 génotypes et a constitué la génération G0 de l'étude (Fig.C1.1).

A l'automne 2007, chaque génotype de la génération G0, ainsi que les parents et grands-parents ont été multipliés en six clones. Nous avons donc obtenu six répliquats de la population G0 et six clones de chaque parent et grand-parent. Chaque répliquat de la population G0 et des parents et grands-parents, a été installé dans un bac (140x85x16.5 cm) différent, avec un mélange de compost, sable, perlite et tourbe. Trois de ces six bacs (R1DF, R2DF, R3DF) ont été soumis à une défoliation fréquente (DF) (défoliés à trois centimètres toutes les deux semaines), et les trois derniers bacs (R1DPF, R2DPF, R3DPF) ont, quant à eux, été soumis à une défoliation peu fréquente (DPF) (défoliés à trois centimètres toutes les six semaines). Chaque individu est défolié individuellement, la plante est étirée afin de couper toute la biomasse supérieure à 3 cm. Ces deux fréquences de défoliation représentent en moyenne ce qu'une plante subit comme défoliation sous pâturage continu (DF) et sous fauche (DPF). Par conséquent, ce dispositif expérimental (Fig.C1.2) a comporté 720 individus soumis à DF et 720 individus soumis à DPF, soit au total 1440 individus. Au sein de ces 1440 individus, chaque génotype (les 236 de G0 et les deux parents et deux grands-parents) étaient représenté trois fois en DF et trois fois en DPF.

Dans chaque bac, deux rangées d'individus ont été ajoutées en bordure pour limiter "l'effet bordure". Les individus ont été espacés de 5cm à l'aide d'un quadrillage fait de fil plastifié (Fig.C1.3). La disposition de chaque génotype dans les différents bacs était donc référencée et l'identification des individus facilement accessible tout au long de l'expérimentation.

Au sein d'un traitement, la position de chaque génotype cloné (individu) était différente d'un bac à l'autre (Fig.C1.4). Ainsi, au sein du traitement DF, les voisins d'un génotype donné étaient différents entre R1DF, R2DF, R3DF ; et au sein du traitement DPF, les voisins d'un génotype donné étaient différents entre les bacs R1DPF, R2DPF, R3DPF. Mais par contre, la



Figure C1.3 : Disposition des individus dans les bacs. Les individus sont espacés de 5cm, leur position est référencée (quadrillage) pour un suivi dans le temps. On peut remarquer la présence de 5 capteurs lumineux (ronds blancs) / bac et le système d'irrigation (tuyaux marrons).

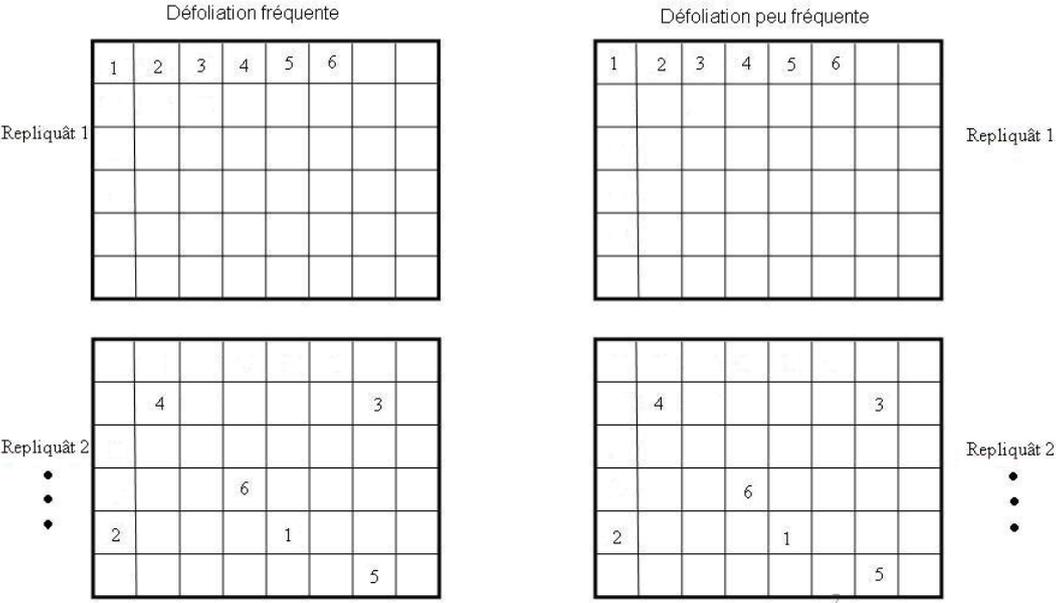


Figure C1.4 : Schéma des répliquats et de la disposition des clones dans les bacs. Chaque génotype a des voisins différents d'un répliquat à l'autre mais les mêmes voisins à l'intérieur d'un répliquat entre traitements.

disposition des géotypes entre traitement est maintenue. C'est à dire que la position et les voisins d'un géotype donné étaient identiques au sein des répliquâts entre traitement : même position et mêmes voisins pour un géotype donné entre R1DF et R1DPF ; entre R2DF et R2DPF ; entre R3DF et R3DPF (Fig.C1.4). Le voisinage différent intra-traitement et identique intra-répliquât et inter-traitement permet de s'affranchir de l'effet voisinage sur la différence de morphologie d'un géotype inter-traitement.

Les six bacs ont été disposés de façon aléatoire et des capteurs de lumière et de température ont été placés dans chaque bac afin de pouvoir estimer l'intensité lumineuse reçue ainsi que la part absorbée par le couvert et enregistrer la température tout le long de l'expérience.

Les plantes ont été irriguées et fertilisées dans le but d'être en conditions non limitantes en eau et en azote. De l'azote a été apporté régulièrement aux dates suivantes : 11/01/08 ; 10/02/08 ; 22/03/08 ; 25/04/08 ; 03/06/08 ; 15/07/08 ; 01/10/08 avec des quantités en excès (environ 18g par m²), le surplus étant drainé. Les bacs ont été placés en serre durant l'hiver 2007-2008 et maintenus entre 10 et 12°C pour éviter la vernalisation et la production d'épis durant l'année 2008 afin n'avoir que des parties végétatives (objets de nos mesures la première année) (Fig.C1.5). Les bacs ont été sortis de serre le 05 mai 2008. Le traitement de défoliation a été appliqué du 3 mars 2008 au 29 septembre 2008. Les plantes ont été laissées à l'extérieur durant l'hiver 2008-2009 pour être vernalisées et produire des graines durant l'été 2009. Afin de disposer de graines issues de la fécondation de plantes appartenant à un même répliquât dans un même traitement, les différents bacs ont été isolés les uns des autres, et du pollen extérieur, à l'aide de cages d'isolement en toile pollen-proof (Fig.C1.6). Les cages d'isolement ont été posées le 7 mai 2009, puis retirées en fin de pollinisation le 20 juin 2009. A cette date-là, chaque plante a été ensachés individuellement pour éviter que les graines tombent au sol à maturité et en juillet 2009 tous les épis ont été récoltés sur chaque plante puis battus individuellement (Fig.C1.7).



Figure C1.5 : Les bacs sont disposés en serre durant l'hiver pour éviter la vernalisation et sorti au printemps. Les bacs gardent la même disposition.



Figure C1.6 : Des cages d'isolement ont été placées sur chaque bac durant la période de floraison afin de limiter au maximum l'apport de pollen extérieur.



Figure C1.7 : Chaque plante a été ensachée pour récolter les graines individuellement puis les graines ont été comptées après battage manuel.

C1.2.2. Caractérisation morphologique de la population G0 à D0

Dans un premier temps, dans le but de connaître la diversité présente dans la population G0, nous avons caractérisé la morphologie de cette population au début de l'expérimentation (D0).

Avant l'application du traitement (Fig.C1.8), une coupe de mise à zéro a été effectuée le 7 janvier 2008 suivie de huit semaines de repousse à l'issue desquelles des mesures phénotypiques ont été réalisées, sur trois bacs pris de façon aléatoire. Ainsi, sur trois répliquats des 240 génotypes, soit sur 720 individus, nous avons mesuré à la date D0 :

- La **biomasse sèche**, constituée du matériel végétal retiré par la défoliation à 3 cm et séché à 70°C en étuve pendant 48h (Fig.C1.9).
- La **longueur du limbe** mesurée à l'aide d'un double-décimètre, sur la troisième feuille adulte (présence d'une ligule à la base du limbe) non coupée, d'une talle prise au hasard.
- Le **diamètre** de l'individu mesuré à l'aide d'un pied à coulisse électronique, à la base de la plante.
- Le **nombre de talles** estimé. En raison de la lourdeur expérimentale de la mesure du nombre de talles par individu, nous avons effectué une estimation du nombre de talles à partir du diamètre des individus. Cette estimation implique de négliger la variabilité potentielle de densité de talles entre individus. Nous avons donc vérifié sur un échantillon de 30 génotypes par bac, soit 90 individus par traitement, que cette variabilité de densité de talles n'était pas trop importante (Fig.C1.10). Une estimation du nombre de talles pour chaque individu a donc été faite par régression établie sur le sous échantillon.

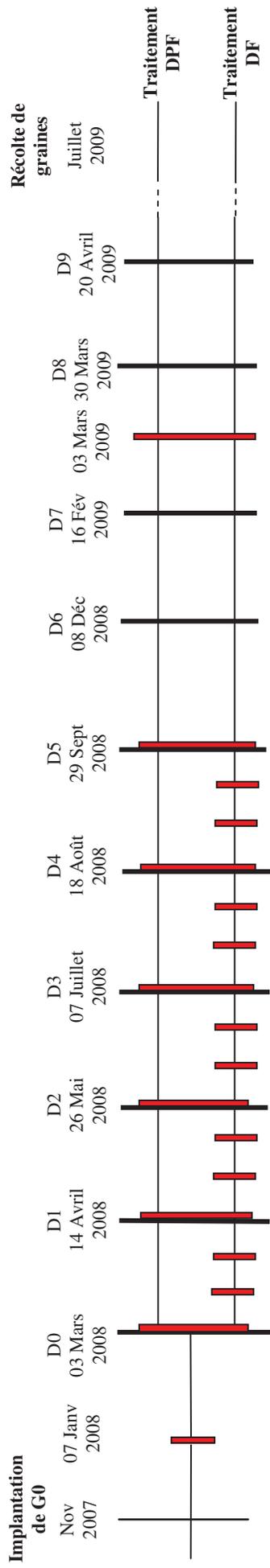


Figure C1.8 : Planning des défoliations et mesures effectuées sur la génération G0. Les défoliations sont indiquées par un trait rouge ; les neuf dates de mesures (de D0 à D9) sont indiquées par un trait noir.

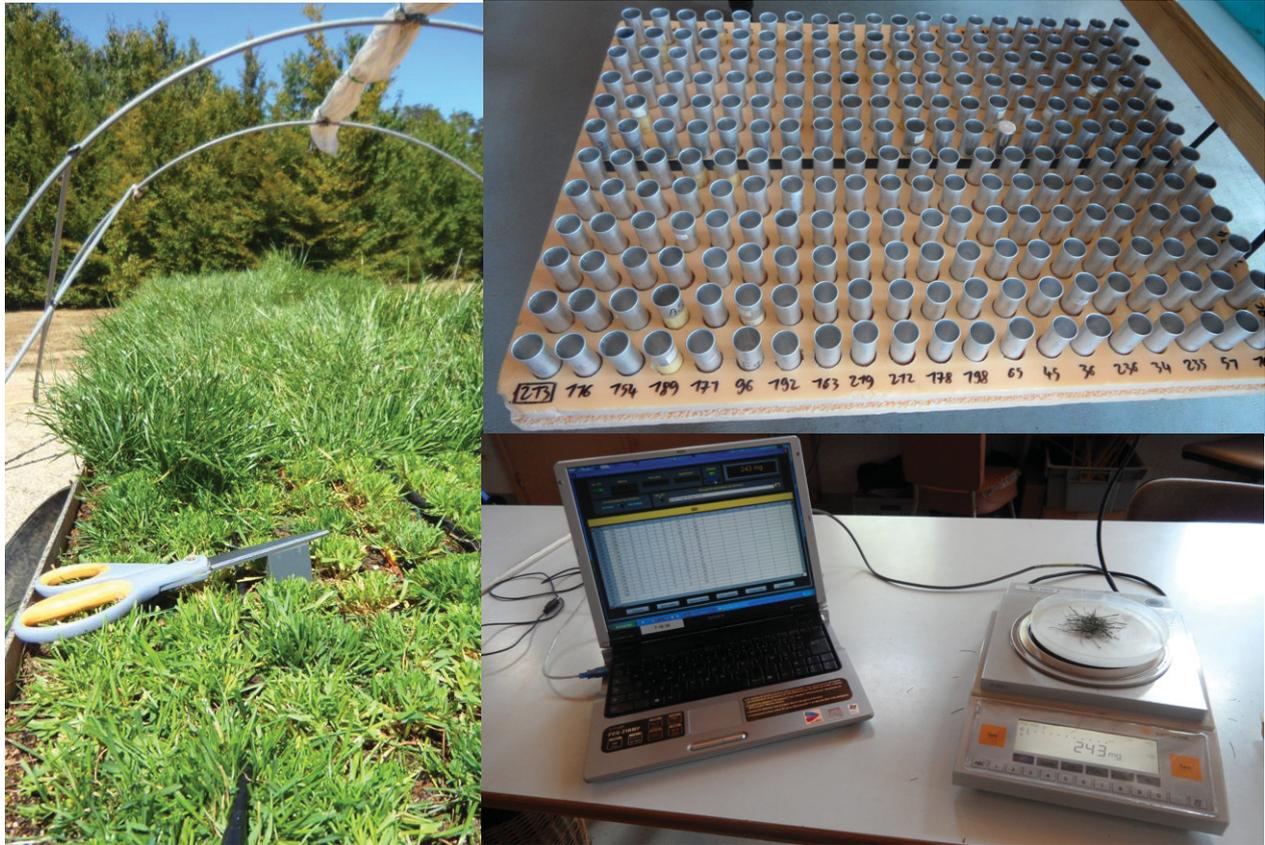


Figure C1.9 : Chaque individu est coupé individuellement. La touffe de talles des individus est étirée afin de couper toute la biomasse supérieure à 3 cm. Chaque prélèvement est ensuite séché puis pesé.

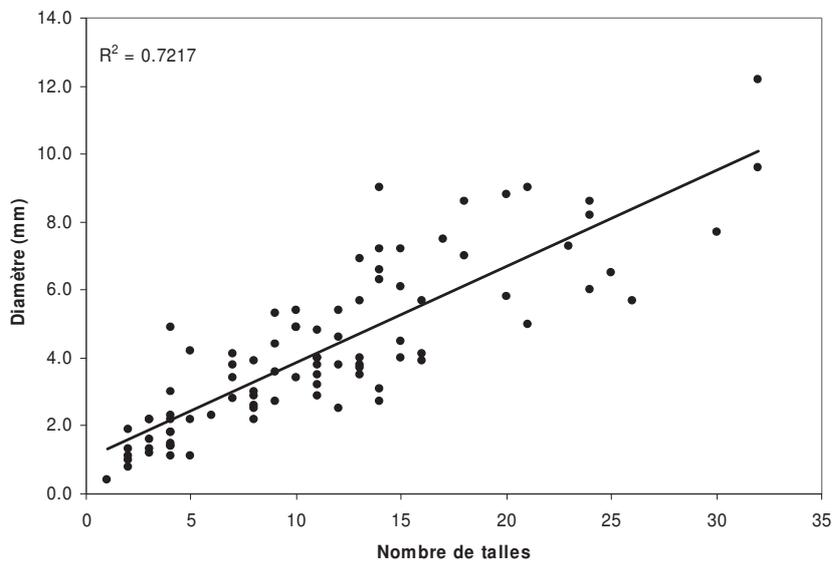


Figure C1.10 : Relation entre le nombre de talles et le diamètre des 90 individus de l'échantillon à la date D0.

C1.2.3. Suivi morphologique et effort reproducteur de la population G0 sous traitement de défoliation

Le traitement de défoliation est appliqué durant quasiment une année (Fig.C1.8), à partir du 3 mars jusqu'au 29 septembre 2008. En 2009, seulement une défoliation a été effectuée, en mars, pour tous les bacs, afin de laisser la possibilité aux individus de produire des graines.

Durant la période d'application du traitement, le **phénotypage des caractères végétatifs** a été effectué toutes les six semaines (D1 à D5) ; puis deux mois après l'arrêt du traitement, quatre séries de mesures ont été conduites à nouveau toutes les six semaines (D6 à D9). Soit un total de 9 séries de mesures : D1 : 14/04/08 ; D2 : 26/05/08 ; D3 : 07/07/08 ; D4 : 18/08/08 ; D5 : 29/09/08 ; D6 : 08/12/08 ; D7 : 16/02/09 ; D8 : 30/03/09 ; D9 : 20/04/09 (Fig.C1.8).

Pour les séries de mesures de D1 à D9, nous avons mesuré, sur tous les individus, soit sur 1440 individus :

- **La mortalité.** Un individu était considéré mort lorsqu'aucune talle vivante n'était présente.
- **Le diamètre** mesuré à la base de la plante à l'aide d'un pied à coulisse électronique.
- **le nombre de talles** a été estimé à partir du diamètre de la même façon qu'en D0, c'est-à-dire à l'aide d'une régression établie sur un sous échantillon de 30 géotypes par bac, soit 90 individus par traitement. Et nous avons vérifié systématiquement, à chacune des dates de mesures, que la variabilité de densité de talles n'était pas trop importante entre individus.
- **La biomasse sèche.** La matière sèche était constituée du matériel, issu de la défoliation à 3 cm, séché à 70°C pendant 48h. Pour le traitement DF, la matière sèche retirée toutes les deux semaines a été poolée et mesurée au bout de six semaines (pool de trois défoliations) afin de pouvoir effectuer une comparaison inter-traitement (DF et DPF). Les mesures de

biomasse n'ont plus été effectuées à partir de l'arrêt de la défoliation (D6).

- **La hauteur de la plante étirée** mesurée de la base de la plante à la hauteur maximale. Pendant l'application de la défoliation (D0 à D5), la hauteur étirée mesurée dans le traitement de défoliation fréquente représentait la hauteur correspondant à deux semaines de croissance. Dans le traitement défoliation peu fréquente, la hauteur étirée représentait la hauteur après six semaines de croissance.
- La longueur de limbe n'a pas été mesurée pendant la durée du traitement en raison de la défoliation imposée, qui ne permettait pas systématiquement d'obtenir une feuille adulte non coupée entre deux défoliations. Cependant, la longueur de limbe était fortement corrélée à la hauteur des individus à D0 et aux dates ultérieures à la défoliation. Aussi nous n'analyserons à partir de D1 uniquement la hauteur des individus.

Après la période de reproduction (de mai à juillet 2009), nous avons mesuré l'effort reproducteur femelle de chaque individu par le nombre de graines produites.

C1.2.4. Estimation de la plasticité des génotypes de la population G0

Notre dispositif expérimental, basé sur des clones, nous permet de mesurer la plasticité des génotypes, puisque un même génotype cloné est soumis à différentes fréquences de défoliation. Plusieurs indices de plasticité sont possibles (Valladares *et al.*, 2006). La distance relative (*rd*) entre les valeurs du caractère dans deux environnements permet de comparer des plasticités indépendamment de la valeur du caractère. Elle est calculée selon :

$$rd_{ij \rightarrow i'j'} = (|x_{ij'} - x_{ij}|) / (x_{ij'} + x_{ij}) \quad (\text{équation 1})$$

Où *j* est l'individu, *i* est le traitement, *x_{ij}* réfère à la valeur du trait de l'individu *j* dans l'environnement *i*. Chaque paire d'individus *j* et *j'* sont des clones du même génotype. Nous

avons choisi d'utiliser cette distance relative (*rd*) en supprimant la valeur absolue de l'équation (1) afin d'avoir accès au sens de la plasticité. Ainsi l'équation utilisée est :

$$rd'_{j_{DPF} \rightarrow j'_{DF}} = (x_{j'_{DF}} - x_{j_{DPF}}) / (x_{j'_{DF}} + x_{j_{DPF}}) \quad (\text{équation 2})$$

Où *j* est l'individu, *DPF* et *DF* sont les traitements, $x_{j_{DPF}}$ réfère à la valeur du trait de l'individu *j* dans l'environnement *DPF*. La plasticité entre les traitements est calculée pour chaque paire d'individus du même génotype (dans tous les répliquâts, donc trois valeurs par génotype). La distance relative *rd'* est calculée pour chaque caractère mesuré à chaque date (D1 à D9), exceptée pour la hauteur étirée qui ne peut pas être comparée inter-traitements de D1 à D5, en raison du temps de repousse différent entre les fréquences de défoliation pendant l'application du traitement comme expliqué précédemment.

C1.2.5. Caractérisation morphologique des populations G1 issues de la production

grainière de G0-DF et G0-DPF et comparaison à G0 initiale

C1.2.5.1. Création et installation des populations

Afin de définir l'effet de la sélection opérée sur G0 sous deux fréquences de défoliation, nous avons installé et phénotypé la génération G1.

Nous avons obtenu deux populations G1, une population G1-DPF issue de la production grainière de la population G0 sous défoliation peu fréquente (G0-DPF) et une population G1-DF issue de la production grainière de la population G0 sous défoliation fréquente (G0-DF). Le choix des graines de la population G1-DPF a été fait selon le schéma suivant : les graines issues des trois répliquâts de G0- DPF ont été regroupées par génotype. Nous avons ainsi obtenu un nombre de graines par génotype de la population G0- DPF. A partir du nombre total de graines de G0-DPF, nous avons pris 100 graines. Ces 100 graines ont été prises en tenant compte de la production relative de chaque génotype par rapport au total. Le nombre de

graines tirées aléatoirement pour chaque individu dépend ainsi de sa production grainière relative. Nous parlerons de tirage proportionnel. Ce tirage permet de maximiser l'effet de la sélection et la mise en évidence de son effet. Nous avons effectué ce tirage deux fois et ainsi obtenu deux populations G1-DPF de 100 graines chacune.

Nous avons procédé de la même façon à partir des graines issues de G0-DF et donc obtenu deux populations G1-DF de 100 graines chacune.

Afin de comparer la morphologie (moyenne et variance) des populations G1-DPF, G1-DF et G0 en s'affranchissant de l'effet âge et de l'histoire des individus de G0 sur la différenciation morphologique potentiellement observable avec les populations G1, nous avons tiré aléatoirement 200 graines dans le pool de graines ayant donné la population initiale G0 pour former la population G0bis. La totalité des graines issues des tirages proportionnels, 200 graines pour G1-DPF, 200 graines pour G1-DF, et les 200 graines pour G0bis, ont été mises à germer en boîte de pétri, puis installées selon le dispositif suivant à la date du 2 mai 2011:

Dans deux bacs, de mêmes dimensions et remplis du même support de culture que les bacs du dispositif G0-DF et G0-DPF précédemment décrits, ont été distribués aléatoirement : 100 individus de G0bis, 100 individus G1-DPF et 100 individus G1-DF par bac. Le dispositif expérimental est donc constitué de deux bacs contenant 300 individus chacun, individus espacés de 5cm. Au sein de chaque bac une rangée de bordure de plantes issues de la population G0 a été installée afin de limiter les « effets de bordure ». Ces populations ont été mises en conditions de fertilisation azotée et d'irrigation non limitantes. Une défoliation à 3 cm a été réalisée le 1 juin 2011, dans le but de limiter les différences potentielles d'implantation entre individus.

C1.2.5.2. Phénotypage des populations G1-DPF, G1-DF et G0bis

Deux séries, D1' et D2', de mesures après trois et six semaines de repousse, respectivement le 23.06.11 et le 11.07.11 ont été effectuées sur les populations G1-DPF, G1-DF et G0bis. A chaque série nous avons mesuré : La hauteur étirée et le diamètre sur l'ensemble des individus installés, selon les protocoles détaillés précédemment.

Le nombre de talles a été compté, sur un sous échantillon de 90 individus par bac (30 individus par population et par bac) soit 180 individus sur les deux bacs.

La longueur de limbe, sur le même sous échantillon, a été mesurée sur la feuille adulte la plus jeune sur trois talles par individu. La moyenne des trois mesures a été réalisée pour obtenir une valeur par individu.

Après la dernière série de mesure (D2'), une défoliation a été réalisée et la biomasse sèche mesurée selon le protocole détaillé précédemment.

C1.2.6. Analyses statistiques

C1.2.6.1. Caractérisation morphologique de la population G0 à D0

Nous avons dans un premier temps procédé à l'analyse descriptive des distributions des caractères. Afin de définir les sources de variations observées dans la population, nous avons ensuite réalisé une analyse de variance sur ces trois variables morphologiques mesurées en D0, en utilisant la procédure GLM (SAS INSTITUTE, 1999) avec le model suivant : $Var_{iik} = \mu + G_i + B_k + E_{ik}$ où μ est la moyenne globale, G_i est l'effet du génotype i (effet aléatoire), B_k est l'effet du bac k (effet fixe) et E_{ik} est le terme d'erreur (effet aléatoire). Les composants de la variance sont calculés en utilisant la procédure VARCOMP (SAS) méthode REML.

Puis, à l'aide d'une analyse en composantes principales (ACP), nous avons extrait une variable synthétique dite «morphotype à D0» (morphD0) qui caractérise morphologiquement

les individus : coordonnées des individus sur le premier axe de l'ACP. Cette ACP a été conduite en utilisant la procédure PRINCOMP du logiciel SAS basée sur la matrice de corrélation dérivée de la longueur de feuille, du nombre de talles estimé et de la matière sèche de la mesure en D0. L'analyse a été conduite sur les moyennes ajustées des génotypes (Lsmeans) des trois répliquats, pour obtenir une donnée moyenne pour chaque génotype.

C1.2.6.2. Suivi morphologique et effort reproducteur de la population G0 sous traitement de défoliation

Pour estimer l'effet génotype, l'effet traitement et l'interaction entre génotypes et traitements, nous avons réalisé une analyse de variance, sur les caractères (nombre de talles et biomasse sèche) mesurés pour les dates de D1 à D9 et sur la production de graines. L'analyse est conduite avec le modèle suivant : $Var_{ijk} = \mu + G_i + T_j + G \times T_{ij} + B(T)_{jk} + E_{ijk}$ où μ est la moyenne globale, G_i est l'effet du génotype i (effet aléatoire), T_j est l'effet du traitement j (effet fixe), $B(T)_{jk}$ est l'effet du bac k hiérarchisé au traitement j (effet fixe) et E_{ijk} est le terme d'erreur (effet aléatoire). L'effet traitement est testé contre l'interaction $G \times T$, les autres effets sont testés contre l'erreur. Les composants de la variance sont calculés pour tous les traits en utilisant la procédure VARCOMP (SAS).

L'effet traitement sur la mortalité à chaque date a été testé à l'aide d'une régression logistique avec la procédure GENMOD (SAS). Afin de tester si les individus morts en D9 étaient morphologiquement différents des individus vivants en D9, une analyse de variance avec la procédure GLM (SAS) a été réalisée par traitement avec la variable MorphD0 et le facteur mort/vivant.

L'effet traitement sur le nombre d'individus reproducteurs (individu ayant produit au moins une graine) a été testé à l'aide d'une régression logistique avec la procédure GENMOD (SAS). Afin de tester si les individus reproducteurs étaient morphologiquement différents des

individus non reproducteurs, une analyse de variance avec la procédure GLM (SAS) a été réalisée par traitement avec la variable MorphD0 et le facteur repro/nonrepro.

C1.2.6.3. Estimation de la plasticité des génotypes de la population G0

Pour estimer l'effet génotype sur les valeurs de la distance relative (rd'), du nombre de talles et de biomasse, une analyse de variance a été réalisée pour les dates D1 à D9 en utilisant la procédure GLM (SAS) selon le modèle suivant $Var_i = \mu + G_i + B_k + E_{ik}$ où μ est la moyenne globale, G_i est l'effet du génotype i (effet aléatoire), B_k est l'effet du bac k (effet fixe) et E_{ik} est le terme d'erreur (effet aléatoire). Les composants de la variance sont calculés en utilisant la procédure VARCOMP (SAS). Les coefficients de corrélations de Spearman entre rd' du nombre de talles et de la biomasse, avec les variables : production de graines (somme de la production grainière des deux traitements par génotype) et MorphD0 ont été calculés avec la procédure CORR (SAS) pour chaque date.

C1.2.6.4. Caractérisation morphologique et comparaison des populations G1-DPF, G1-DF et G0bis

Pour tester les différences entre les trois populations (G0, G1-DPF et G1-DF), nous avons effectué une analyse de variance à un facteur « effet population » en utilisant la procédure GLM (SAS) selon le modèle suivant $Var_i = \mu + P_i + B_k + E_{ik}$ où μ est la moyenne globale, P_i est l'effet de la population i (effet fixe), B_k est l'effet du bac k (effet fixe), et E_{ik} est le terme d'erreur (effet aléatoire). La comparaison des moyennes des populations ont été effectués via l'option LSMEAN (tests de Tukey) dans la procédure GLM de SAS. Des tests de Levene ont été réalisés pour tester les différences de variances entre les populations.

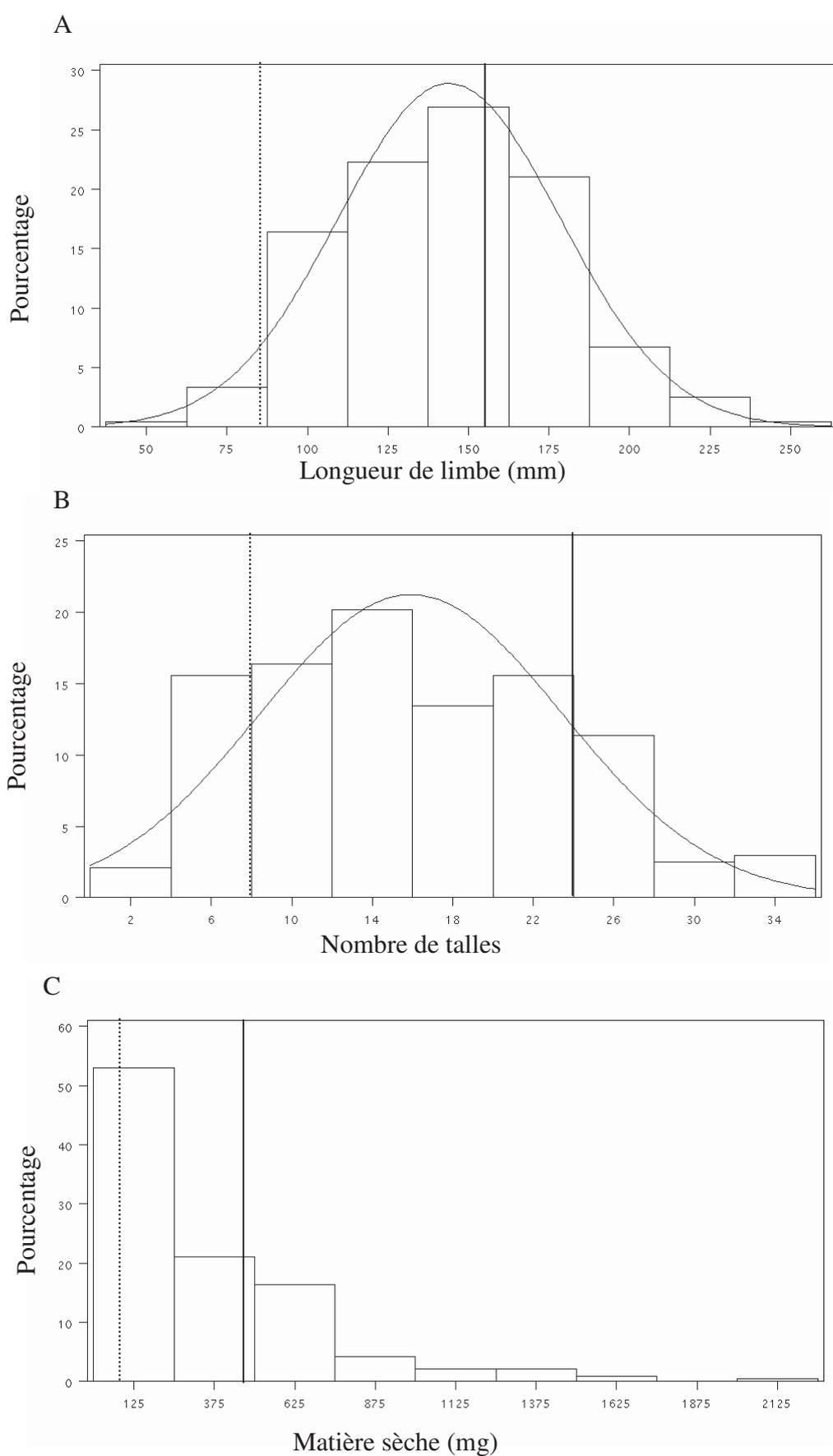


Figure C1.11 : Distributions des caractères mesurés en D0. A : la longueur de limbe ; B : le nombre de talles ; C : la matière sèche. La position du parent Gagny (fourrage) est indiquée par un trait plein vertical ; La position du parent Imagine (gazon) est indiquée par un trait pointillé vertical.

C1.3. Résultats

C1.3.1. Caractérisation morphologique de la population G0 à D0

C1.3.1.1. Distribution des variables

Les distributions des caractères mesurés en D0 sont représentées sur la figure C1.11. La longueur de limbe se distribuait selon une distribution normale (Tab.C1.1), contrairement au nombre de talles et à la biomasse sèche (Tab.C1.1). Les parents fourrage (Gagny) et gazon (Imagine) à l'origine de la population ont des valeurs phénotypiques de part et d'autre de la moyenne de la population (Tab.C1.2 et Fig.C1.11).

Les résultats de l'ANOVA (Tab.C1.3) mettent en évidence un effet important du génotype qui explique de 43 à 55% de la variance observée de chacun des caractères dans la population G0 à D0.

C1.3.1.2. ACP et morphotypes

L'axe 1 expliquait environ 87% de la variation observée, ce qui traduit une forte corrélation entre les variables. L'axe 1 est caractérisé par des vecteurs propres positifs pour la longueur de feuilles, le nombre de talles et la matière sèche (Tab.C1.4) et opposait les individus de type gazon et de type fourrage (Fig.C1.12). Un continuum entre ces types a été observé sur l'axe 1.

C1.3.2. Suivi morphologique et effort reproducteur de la population G0 sous traitement de défoliation

C1.3.2.1. Hauteur étirée, nombre de talles, biomasse, longueur de limbe et mortalité

Les mesures effectuées sur les populations G0-DF et G0-DPF indiquaient un changement dans la morphologie pour tous les traits mesurés et dans chaque population (Fig.C1.13) au cours du temps.

Tableau C1.1 : Ecart-type, variance et tests de normalité sur la longueur de feuille (LF), le nombre de talle (NT) et la matière sèche (MS).

	LF	NT	MS
Ecart-type	34.5	7.5	341.2
Variance	1191	56.5	116435
Shapiro-Wilk (Pr < W)	0.9114	0.0001	0.0001
Kolmogorov-Smirnov (Pr > D)	0.1500	0.0100	0.0100

Tableau C1.2 : Moyenne de la population G0 et valeur des parents Gagny et Imagine.

Caractères	G0	Gagny	Imagine
LF	144	160	90
NT	16	24	8
MS	346	489	114

Tableau C1.3 : Analyse de variance sur la longueur de feuille (LF), le nombre de talle (NT) et la matière sèche (MS); R² : taux explicatif du modèle ; DF : degré de liberté ; CM : carré moyen. Pr : probabilité d'égalité des moyennes ; σ^2 : pourcentage de variance expliquée.

Trait	R ²	DF	Effet génotype			Effet bac			
			CM	Pr > F	σ^2 (%)	DF	CM	Pr > F	σ^2 (%)
LF	0.74	237	3043.5	0.0001	43.0	2	63674	0.0001	16.7
NT	0.70	237	163.5	0.0001	53.4	2	113	0.0502	0.54
MS	0.71	237	795000	0.0001	55.2	2	795000	0.0001	2.03

Tableau C1.4 : Analyse en composantes principales des trois traits morphologiques collectés avant l'application du traitement.

Paramètre	PC1	PC2	PC3
Vecteur propre	2.60	0.30	0.10
Variance expliquée (%)	86.67	10.00	3.34
Composants			
LF	0.55	0.83	0.07
NT	0.59	-0.33	-0.73
MS	0.59	-0.45	0.68

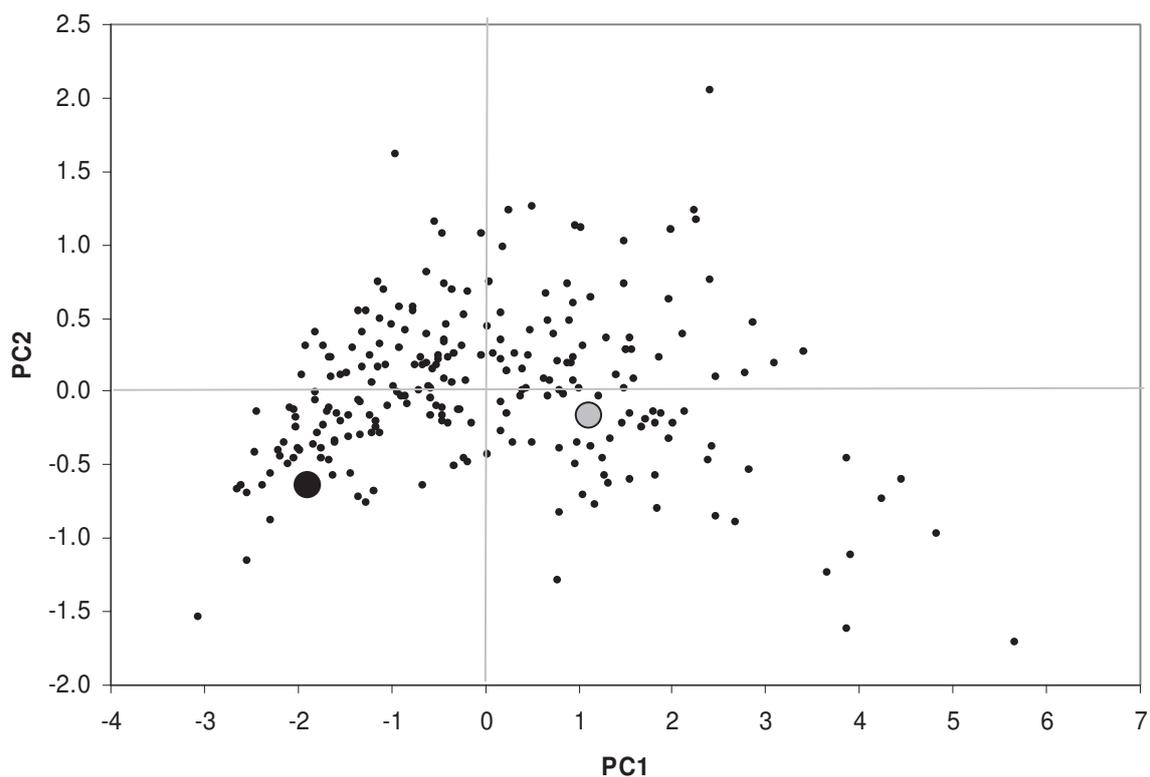


Figure C1.12 : Répartition des géotypes sur l'axe 1 et 2 de l'ACP caractérisant le morphotype des géotypes. L'axe 1 capture 87% de la variance et l'axe 2 capture 10% de la variance. Les deux parents à l'origine de la population sont indiqués : le parent gazon est représenté par un rond noir et le parent fourrage est représenté par un rond gris.

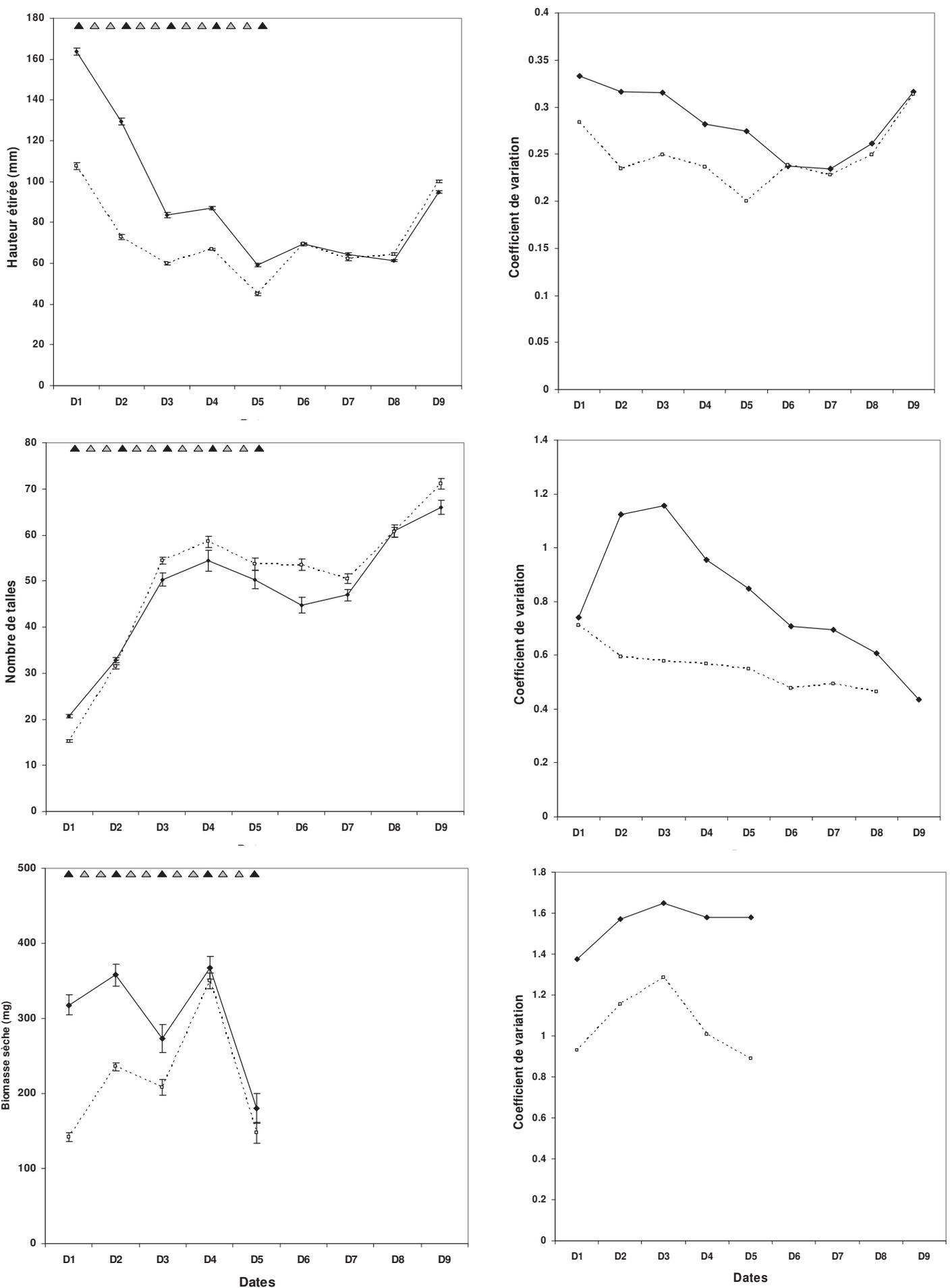


Figure C1.13 : Evolution des moyennes de la population G0 et des coefficients de variation pour la hauteur étirée, le nombre de tiges et la matière sèche. Le traitement DPF est indiqué par des lignes pleines ; le traitement DF est indiqué par des lignes pointillées. Les barres verticales représentent l'erreur standard. Les triangles noirs représentent les défoliations peu fréquentes ; les triangles gris représentent les défoliations fréquentes.

Concernant la **hauteur étirée**, nous avons observé une diminution dans les deux traitements. Après la fin du traitement, la hauteur a peu varié durant l'hiver et a re-augmenté au printemps. Le coefficient de variation observé, globalement diminuait dans les deux populations G0-DF et G0-DPF jusqu'à la date D5, date de l'arrêt du traitement, après laquelle il avait tendance à augmenter jusqu'à des valeurs équivalentes à celles observées en début de traitement.

La tendance générale du **nombre de talles** était à l'augmentation au cours du temps, excepté durant l'hiver où nous avons observé une légère diminution suivie d'une nouvelle augmentation à compter de D7, c'est-à-dire à compter de la sortie de l'hiver. Le coefficient de variation augmentait durant les premières mesures (D1 à D3) pour G0-DPF pour ensuite ne cesser de diminuer et atteindre en D9 une valeur inférieure à celle trouvée en D1. Le coefficient de variation de la population G0-DF a diminué légèrement au cours du temps.

La mesure de **biomasse sèche** a montré de grandes variations au cours du temps dans les deux traitements avec une forte chute en D5 mais aussi en D3. Ces chutes sont sûrement causées par un lessivage de l'apport d'azote dû à la pluie. Ce lessivage a pu limiter la repousse après la défoliation. Les coefficients de variation observés en G0-DF et G0-DPF augmentaient jusqu'à D3 pour ensuite diminuer, fortement en G0-DF et très légèrement en G0-DPF.

L'effet traitement n'était pas significatif pour la **hauteur** après l'arrêt de la défoliation (Tab.C1.5), l'effet génotype quant à lui était significatif dans les deux populations G0-DF et G0-DPF tout au long de l'application de la défoliation et après l'arrêt du traitement (Tab.C1.6), avec une variance expliquée de 39 à 63% dans G0-DPF et de 32 à 51% dans G0-DF. L'interaction génotype*traitement n'était pas significative après l'arrêt du traitement (Tab.C1.5).

Concernant le **nombre de talles**, très rapidement les individus de la population G0-DF montraient en moyenne du nombre de talles plus grande que les individus de la population G0-DPF (Fig.C1.13), excepté pour la date D1, où le nombre de talles moyen par individu dans la population G0-DF était inférieur à celui de la population G0-DPF (~15 vs ~20). Mais

Tableau C1.5 : Analyse de variance pour l'effet traitement, génotype et l'interaction entre le génotype et le traitement sur la hauteur étirée. Les composants de la variance pour le génotype et l'interaction entre le génotype et le traitement sont indiquées. R² : taux explicatif du modèle ; DF : degré de liberté ; CM : carré moyen.

Date	Traitement			Génotype			Génotype*traitement			σ ² g*t (%)
	DF	CM	Pr>F	DF	CM	Pr>F	DF	CM	Pr>F	
6	1	101	0.5226	236	766	0.0001	226	135	0.9860	37
7	1	549	0.2782	235	563	0.0001	226	101	0.9858	41
8	1	225	0.0563	235	767	0.0001	226	133	0.7187	40
9	1	423	0.0756	235	2515	0.0001	226	445	0.9981	37

Tableau C1.6 : Analyse de variance pour l'effet génotype dans chacun des traitements sur la hauteur étirée. Les composants de la variance pour le génotype sont indiqués (%). R² : taux explicatif du modèle ; DF : degré de liberté ; CM : carré moyen.

Date	Traitement DPF			Traitement DF			σ ² geno
	DF	CM	Pr>F	DF	CM	Pr>F	
0	237	6044	<0.0001	236	1814	<0.0001	50.4
1	237	6137	<0.0001	234	500	<0.0001	39.4
2	235	3186	<0.0001	233	408	<0.0001	48.2
3	235	1412	<0.0001	233	465	<0.0001	49.9
4	234	1234	<0.0001	233	126	<0.0001	31.5
5	234	531	<0.0001	231	430	<0.0001	40.3
6	234	488	<0.0001	230	292	<0.0001	38.7
7	231	396	<0.0001	230	458	<0.0001	50.5
8	231	483	<0.0001	230	1585	<0.0001	48.6
9	231	1497	<0.0001	230			

l'effet traitement n'était significatif qu'après l'arrêt de la défoliation (Tab.C1.7), c'est-à-dire à partir de D6 et sauf pour D8. L'effet génotype était significatif à toutes les dates (Tab.C1.7) mais l'interaction génotype*traitement était aussi significative de la date D1 à la date D5, c'est-à-dire pendant l'application de défoliation. Ceci dit, la variance expliquée par l'effet génotype est largement supérieure à celle expliquée par l'interaction. De plus, l'effet génotype restait fortement significatif au sein de chacune des populations G0-DPF et G0-DF à chacune des dates de mesures. La différence entre traitement du coefficient de variation (Fig.C1.13) a augmenté fortement entre la date D1 et la date D2, puis une augmentation légère jusqu'à la date D3. Mais à partir de la date D3 jusqu'à D8, cette différence a diminué. A la date D9, les deux populations G0-DPF et G0-DF montraient un coefficient de variation équivalent pour le nombre de talles et inférieur aux coefficients de variation mesurés en début de traitement.

Le traitement montrait (Tab.C1.7) un effet significatif sur la **biomasse sèche** aux trois premières dates (D1, D2 et D3) avec une production plus élevée dans la population G0-DPF. Mais la différence de biomasse sèche des deux populations est allée diminuant pour être nulle à partir de la date D4. L'effet génotype était significatif à chacune des dates avec une variance expliquée allant jusqu'à plus de 40%. En dépit d'une interaction génotype*traitement significative à chacune des dates et importante à la date D1 (expliquant davantage de variance que l'effet génotype), l'effet génotype restait significatif au sein de chacune des populations G0-DF et G0-DPF à chaque date. Concernant les coefficients de variation, la population G0-DF était plus homogène que la population G0-DPF à toutes les dates.

Concernant la **mortalité**, nous avons observé un taux de mortalité relativement faible (Fig.C1.14) et cela aussi bien dans la population G0-DF que dans la population G0-DPF. Nous n'avons pas pu mettre en évidence d'effet traitement sur la mortalité (Tab.C1.8). Les moyennes de la variable MorphD0 des individus morts étaient significativement inférieures à celles des individus vivants (Tab.C1.9).

Tableau C1.7 : Analyse de variance pour l'effet traitement, génotype et l'interaction entre le génotype et le traitement sur le nombre de talles (NT), la biomasse sèche (MS), l'effort reproducteur (G). Les composants de la variance pour le génotype et l'interaction entre le génotype et le traitement sont indiqués. R² : taux explicatif du modèle ; DF : degré de liberté ; CM : carré moyen.

Trait	Date	R ²	Traitement			Génotype			Génotype*traitement			σ ² g* _t (%)	
			DF	CM	Pr > F	DF	CM	Pr > F	DF	CM	Pr > F		σ ² geno
NT	1	0.70	1	8724.4	0.0001	238	511.9	0.0001	235	107.02	0.0138	36	9
	2	0.67	1	703.8	0.3439	236	2316.2	0.0001	233	782.35	0.0001	32	15
	3	0.67	1	4516.1	0.1130	236	5913.4	0.0001	232	1784.8	0.0001	34	11
	4	0.69	1	3668.2	0.1016	236	5605.9	0.0001	231	1357.8	0.0001	40	9
	5	0.68	1	3525.7	0.0521	236	3827.4	0.0001	231	924.6	0.0012	39	7
	6	0.66	1	16662	0.0001	236	2189.9	0.0001	226	475.8	0.3694	37	-
	7	0.65	1	1922.7	0.0431	235	2303.3	0.0001	226	464.4	0.5407	41	-
	8	0.62	1	318	0.4424	235	2859.5	0.0001	226	537.2	0.9711	40	-
	9	0.66	1	3769.4	0.0063	235	2368.5	0.0001	226	495.5	0.6502	37	-
MS	1	0.68	1	8603291	0.0001	238	277462	0.0001	236	120643	0.0001	19	33
	2	0.64	1	3770150	0.0001	237	538367	0.0001	234	169755	0.0001	32	14
	3	0.67	1	614980	0.0092	236	363550	0.0001	232	89171	0.0004	42	9
	4	0.67	1	35225	0.6122	236	661688	0.0001	231	136694	0.0299	45	5
	5	0.66	1	90702	0.0624	236	109514	0.0001	231	25874	0.0108	42	8
G		0.65	1	93117	0.0035	235	53020	0.0001	235	10701	0.0158	43	5

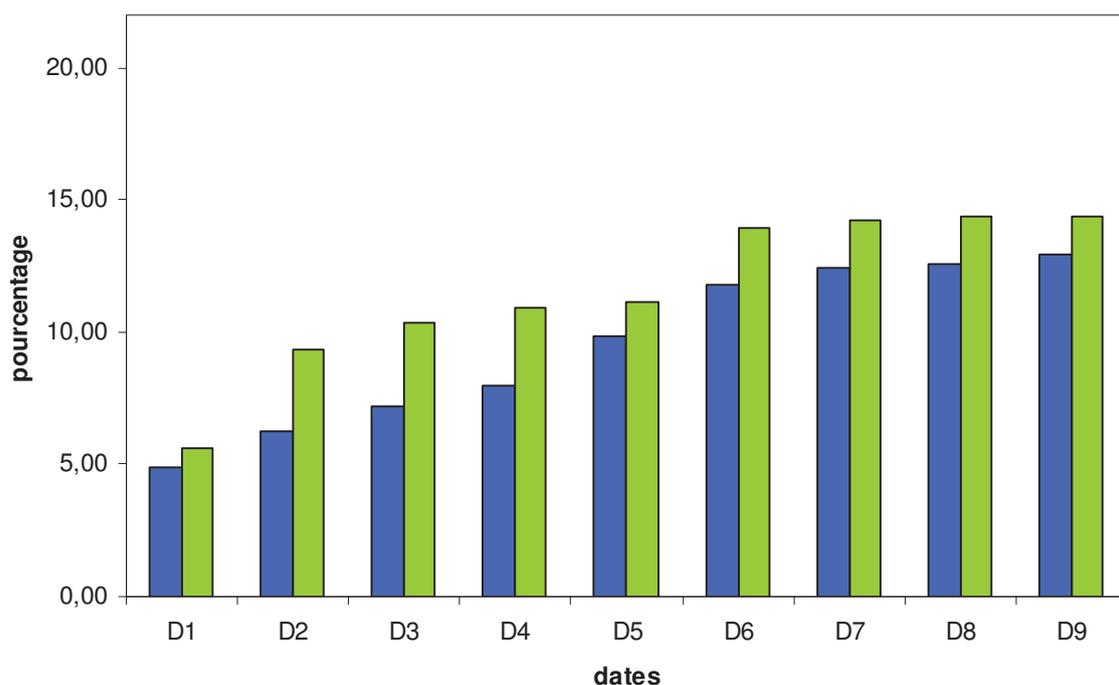


Figure C1.14 : Pourcentage cumulé de la mortalité dans chacun des traitements au cours du temps. Le traitement DPF est représenté en bleu ; le traitement DF est représenté en vert.

Tableau C1.8 : Test de différence de mortalité entre les traitements réalisé sur le nombre de morts à chaque date.

Date	DF	Chi-square	Pr > Chi-square
1	1	0.21	0.6493
2	1	2.88	0.0896
3	1	2.89	0.0851
4	1	3.44	0.0635
5	1	0.45	0.5001
6	1	1.58	0.2092
7	1	1.16	0.2823
8	1	1.15	0.2844
9	1	0.84	0.3608

Tableau C1.9 : Analyse de variance pour l'effet groupe (groupe 1 : individu vivant ; groupe 2 : individu mort ; groupe 3 : individu ayant fait au moins une graine ; groupe 4 : individu n'ayant pas fait de graine), sur la variable MorphD0, sur les deux traitements confondus puis par traitement (DPF –DF).

	Date	Moy MorphD0 groupe 1	Moy MorphD0 groupe 2	Pr > F
	5	0.08	-1.10	0.0001
	9	0.11	-1.05	0.0001
DPF	5	0.07	-1.10	0.0001
	9	0.10	-1.06	0.0001
DF	5	0.08	-1.09	0.0001
	9	0.12	-1.04	0.0001
		Moy MorphD0 groupe 3	Moy MorphD0 groupe 4	Pr > F
		0.21	-0.89	0.0001
DPF		0.19	-0.84	0.0001
DF		0.24	-0.93	0.0001

C1.3.2.2. L'effort reproducteur

Pour l'aspect reproducteur, le nombre d'individus reproducteurs n'est pas significativement différent ($Pr > \text{Chi-square} : 0.2230$) entre la population G0-DF et la population G0-DPF. Dans chacune des populations, environ 50% des individus se sont reproduits mais si l'on considère uniquement les individus vivants (~85%) au moment de la reproduction, environ 60% se sont reproduits. Lorsque l'on s'intéresse à l'effet de la défoliation sur le nombre de graines produites par les individus reproducteurs, nous avons observé que la production de graines était plus importante dans la population G0-DF que dans la population G0-DPF (en moyenne 59 graines par individu avec un écart type de 144 vs en moyenne 42 graines par individu avec un écart type de 110) (Fig.C1.15)

L'effet du génotype était significatif, tout comme l'interaction génotype*traitement sur la production de graines (Tab.C1.7), mais la variance expliquée par l'effet génotype était largement supérieure à celle expliquée par l'interaction. De plus, l'effet génotype par traitement était significatif dans la population G0-DF et la population G0-DPF ($Pr > F : < 0.0001$). Concernant les coefficients de variation, la population G0-DF était légèrement plus homogène en termes de graines produites par individu que la population G0-DPF (2,60 vs 2,46).

Les individus reproducteurs avaient une moyenne de MorphD0 supérieure aux individus non reproducteurs (Tab.C1.9). Dans le groupe des individus reproducteurs, nous avons obtenu au sein de chaque traitement de défoliation, une corrélation positive significative entre la variable MorphD0 et la production de graines (Fig.C1.16). Mais ce résultat doit être relativisé car la corrélation entre la variable MorphD0 et la production de graines bien que significative était faible ($R^2 = 0.19$ en DPF et $R^2 = 0.23$ en DF). Les individus de type fourrage avaient tendance à faire plus de graines que les autres individus et cela dans les deux traitements.

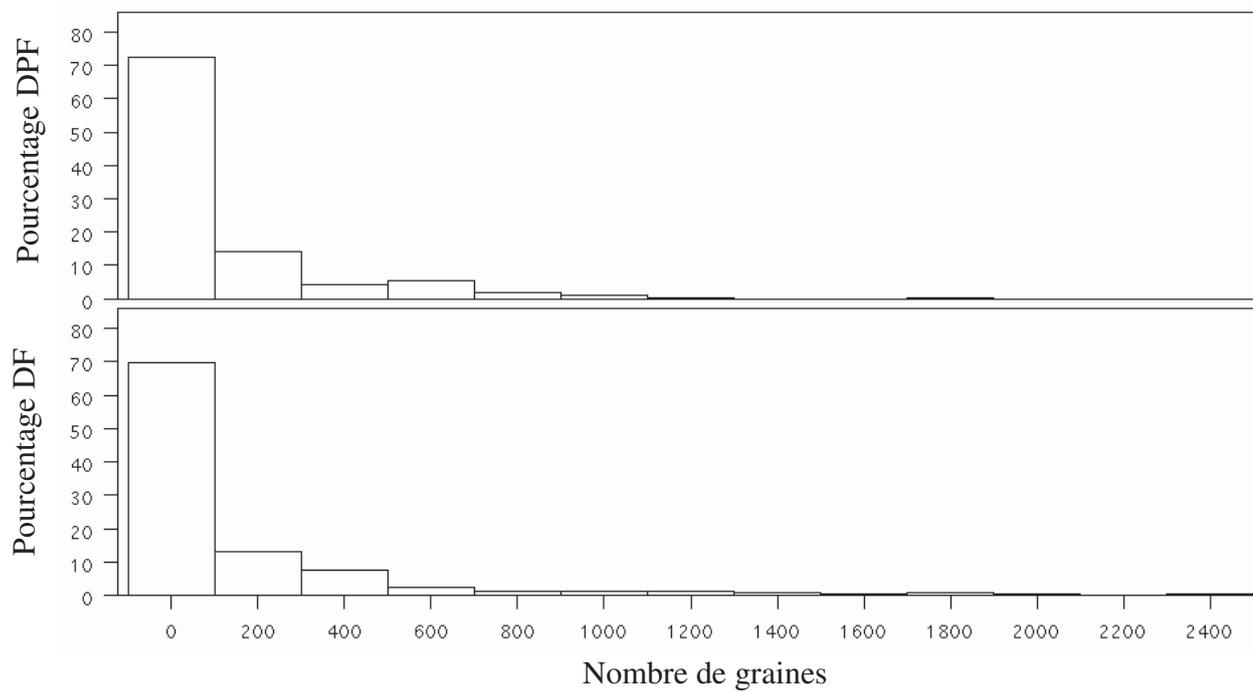


Figure C1.15 : Production de graines par génotype dans le traitement DPF et DF.

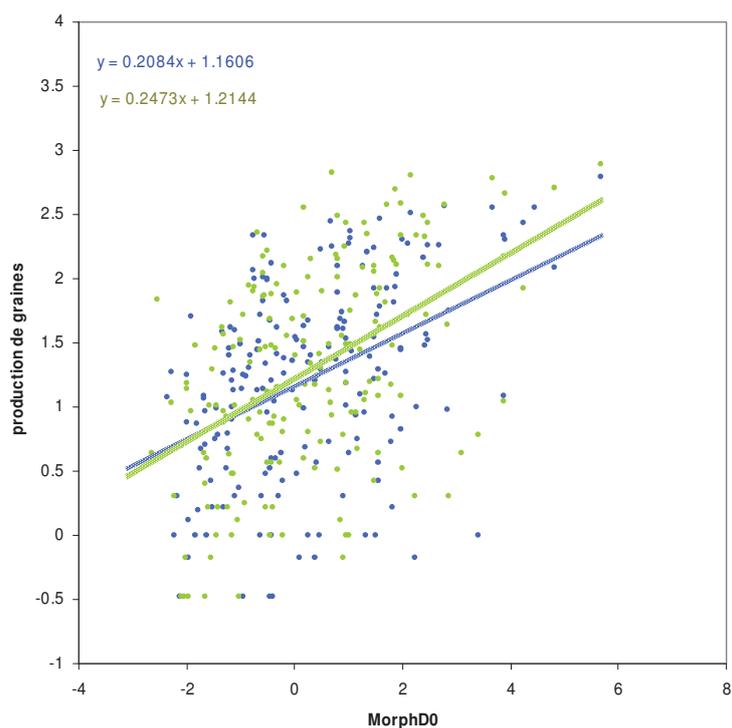


Figure C1.16 : Relation entre MorphD0 et la production de graines dans chaque traitement. Le traitement DF est représenté par des points verts et la régression par une ligne verte; le traitement DPF est représenté par des points bleus et la régression par une ligne bleue.

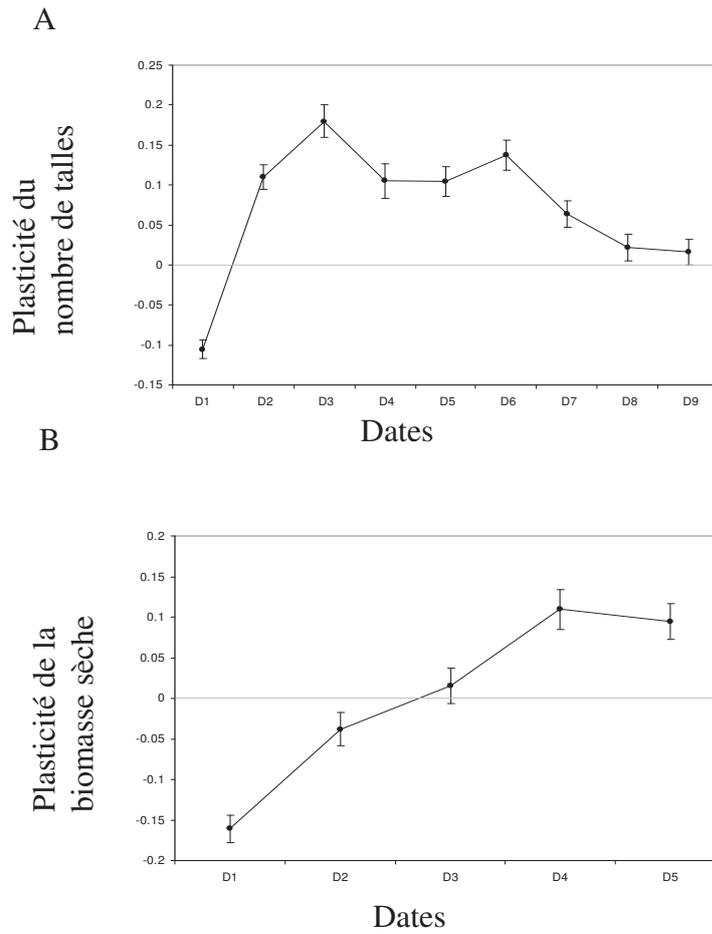


Figure C1.17 : Moyenne de la plasticité (distance relative, rd') du nombre de talles (A) et de la biomasse sèche (B), de la population aux différentes dates.

C1.3.2.3. Estimation de la plasticité (distance relative rd') des génotypes de la population G0

La moyenne de la distance relative rd' du nombre de talles par individu de la population (Fig.C1.17) était négative à la première date D1 puis a augmenté pour être positive dès la date D2 et est restée comprise entre 0.1 et 0.17 jusqu'à la fin de l'application de la défoliation. Après l'arrêt de la défoliation D6, la plasticité a diminué pour atteindre des valeurs proches de 0 à compter de D8. Cette courbe montre qu'en moyenne les génotypes ont fait plus de talles en défoliation fréquente qu'en défoliation peu fréquente à l'exception de la date D1. Cependant, la variabilité de plasticité était importante (Fig.C1.18), représentée par des valeurs négatives et positives. De plus, nous avons mis en évidence un effet génotype sur la plasticité du nombre de talles aux dates D1 à D4 et qui expliquait jusqu'à ~24 % de la variance observée (Tab.C1.10).

La moyenne de la plasticité de la biomasse sèche de la population a augmenté de la date D1 à la date D4, puis s'est stabilisée en D5. Cette moyenne est passée de valeurs négatives à des valeurs positives en s'annulant en D3. Ce qui signifie qu'en moyenne les génotypes ont produit une plus grande biomasse en défoliation peu fréquente qu'en défoliation fréquente aux premières dates et que cette tendance s'est inversée à partir de D3. Cependant, une grande variabilité de plasticité de la biomasse a été mise en évidence (Fig.C1.18) incluant des valeurs positives et négatives. De plus, un effet génotype (Tab.C1.10) a été observé aux dates D1 et D2 expliquant jusqu'à ~11% de la variance phénotypique.

La moyenne de la plasticité de la production de graines de la population était positive avec une valeur de $rd' = 0.1$, ce qui signifie qu'en moyenne les génotypes ont produit plus de graines en défoliation fréquente qu'en défoliation peu fréquente. Cependant, une grande

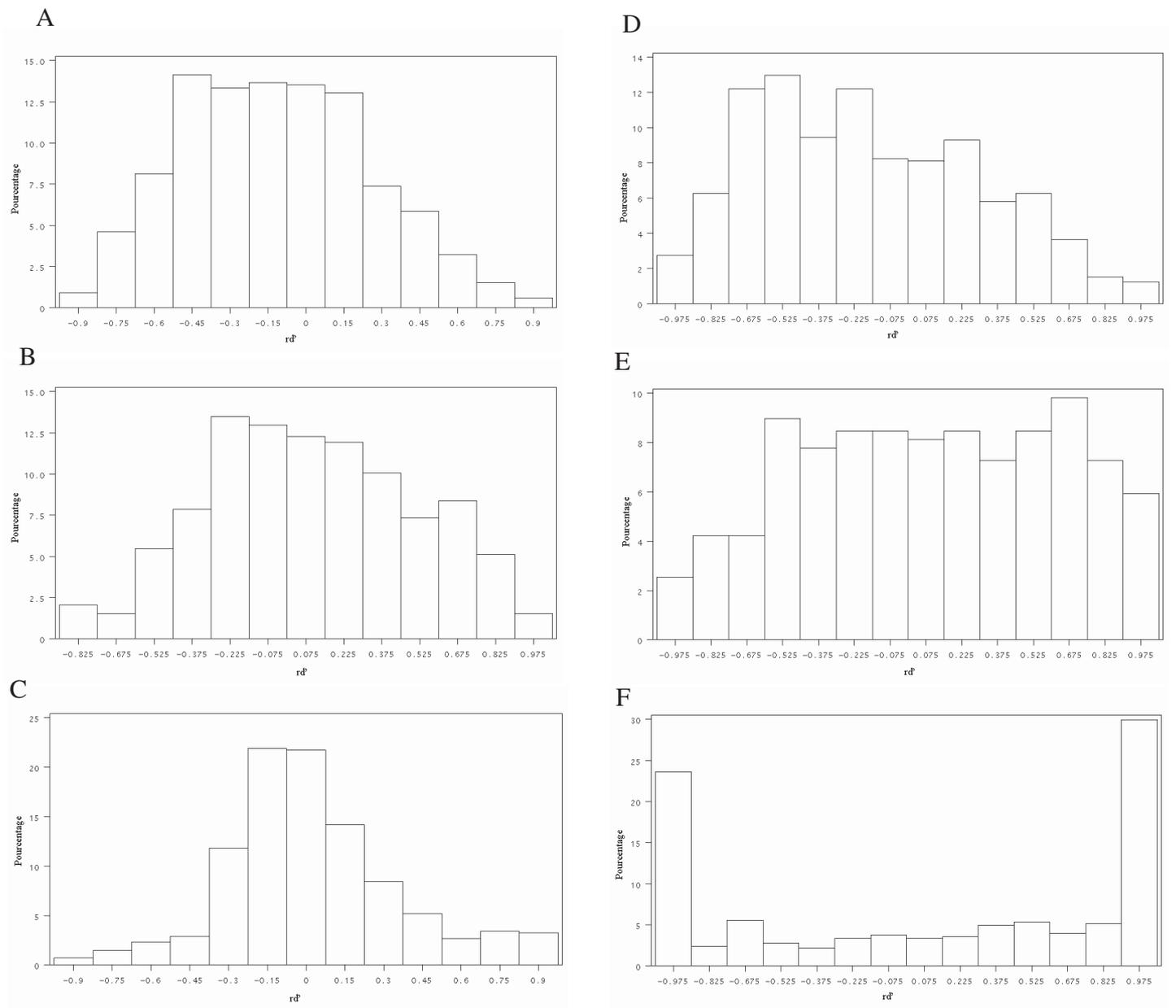


Figure C1.18 : Distribution des plasticités de nombre de tiges (A, B, C), de biomasse sèche (D, E) et de production de graines (F) aux dates D1 (A, D), D5 (B, E) et D9 (C).

Tableau C1.10 : Analyse de variance pour l'effet génotype, sur la plasticité du nombre de talles (NT-p), de la biomasse sèche (MS-p) et de l'effort reproducteur (G-p). Les composants de la variance pour le génotype sont indiqués

Trait	Date	R ²	DF	CM	Pr > F	$\sigma^2_{\text{geno}}(\%)$
NT-p	1	0.57	232	0.129	0.0011	6.7
	2	0.58	231	0.233	0.0001	23.8
	3	0.59	226	0.260	0.0001	17
	4	0.53	225	0.193	0.0006	10.9
	5	0.49	224	0.172	0.0669	
	6	0.46	222	0.132	0.0846	
	7	0.42	222	0.123	0.3043	
	8	0.39	221	0.112	0.6933	
	9	0.45	221	0.079	0.2118	
MS-p	1	0.48	233	0.258	0.0007	11.4
	2	0.45	233	0.278	0.0242	7.7
	3	0.44	225	0.314	0.0545	
	4	0.42	225	0.256	0.1348	
	5	0.41	225	0.293	0.3016	
G-p		0.45	206	0.716	0.0966	

Tableau C1.11 : Coefficients de corrélation de Spearman entre l'indice de plasticité du nombre de talles (NT-p), de la biomasse sèche (MS-p) avec la variable MorphD0.

Date	Trait	R ²	Pr > r	Trait	R ²	Pr > r
1	NT-p	-0.34	0.0001	MS-p	-0.40	0.0001
2	NT-p	-0.52	0.0001	MS-p	-0.27	0.0001
3	NT-p	-0.41	0.0001	MS-p	-0.10	0.0001
4	NT-p	-0.28	0.0001	MS-p	-0.12	0.0001
5	NT-p	-0.29	0.0001	MS-p	-0.15	0.0001
6	NT-p	-0.25	0.0001			
7	NT-p	-0.13	0.0001			
8	NT-p	-0.03	0.0001			
9	NT-p	-0.01	0.2740			

Tableau C1.12 : Analyse de variance pour l'effet groupe (groupe 1 : aucun individu mort ; groupe 2 : au moins un répliquât mort), sur la plasticité du nombre de talles (NT-p) et de la biomasse sèche (MS-p).

Date	moyenne NT-p groupe 1	moyenne NT-p groupe 2	Pr > F
1	-0.13	-0.06	0.0196
2	0.05	0.20	0.0004
3	0.12	0.28	0.0001
4	0.08	0.14	0.1516
5	0.08	0.17	0.0090
6	0.11	0.19	0.0200
7	0.06	0.07	0.8903
8	0.03	0.01	0.5328
9	0.05	-0.04	0.0023

Date	moyenne MS-p groupe 1	moyenne MS-p groupe 2	Pr > F
1	-0.20	-0.10	0.0207
2	-0.06	-0.01	0.1714
3	-0.01	0.06	0.1231
4	0.08	0.16	0.0946
5	0.08	0.12	0.3188

variabilité de plasticité de la production de graines a été mise en évidence (Fig.C1.18) incluant des valeurs positives et négatives. Mais contrairement à la variabilité de la plasticité des caractères végétatifs qui était en partie expliquée par l'effet génotype, nous n'avons pas mis en évidence un effet génotype sur la plasticité de la production de graines (Tab.C1.10).

L'analyse de la plasticité des caractères végétatifs en fonction de la variable morphD0, nous a permis de préciser l'origine de l'effet génotype. Nous avons mis en évidence une corrélation entre le morphotype et la plasticité (Tab.C1.11) mais une forte variabilité existait autour de cette relation en particulier pour certains morphotypes. Les morphotypes « fourrages » avaient tendance à tous présenter des valeurs de plasticité fortement négatives (Fig.C1.19) traduisant une plus grande production de biomasse et de talles en défoliation peu fréquente qu'en défoliation fréquente. Alors que les autres morphotypes ont présenté des valeurs très variables de plasticité (Fig.C1.19). Il est intéressant de souligner les valeurs de plasticité (Tab.C2.4) opposées pour les grands-parents fourrage (valeurs négatives) et gazon (valeurs positives).

Pour avoir une idée de la valeur adaptative de la plasticité, nous avons conduit des corrélations entre la plasticité des génotypes et leur production de graines d'une part et la plasticité des génotypes et leur mortalité d'autre part.

Pour la production de graines, dans les deux traitements, nous n'avons pas mis en évidence de corrélation avec la plasticité du nombre de talles et de la biomasse sèche des génotypes.

Pour la mortalité, dans les deux traitements, nous n'avons pas mis en évidence de corrélations avec la plasticité du nombre de talles et de la biomasse sèche des génotypes. Néanmoins, les génotypes ayant au moins un mort dans l'un des répliquats avaient en moyenne une plasticité du nombre de talles supérieure aux génotypes vivants dans tous les réliquats (Tab.C1.12).

Nous n'avons pas observé de telles différences concernant la plasticité de la biomasse sèche à l'exception de la date D1 (Tab.C1.12).

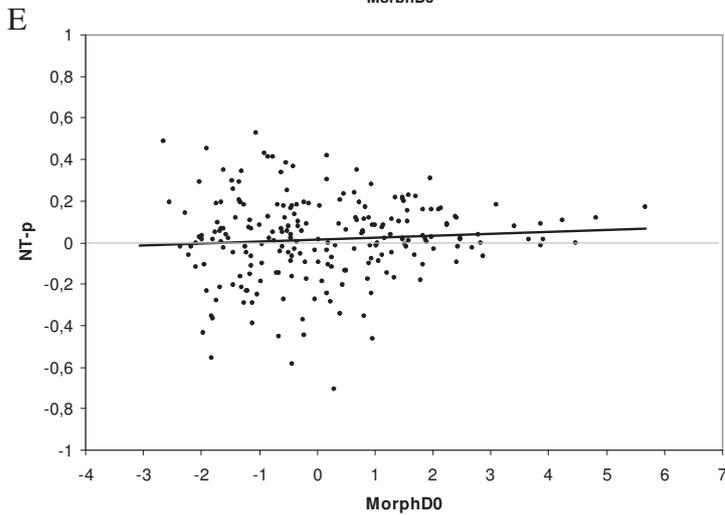
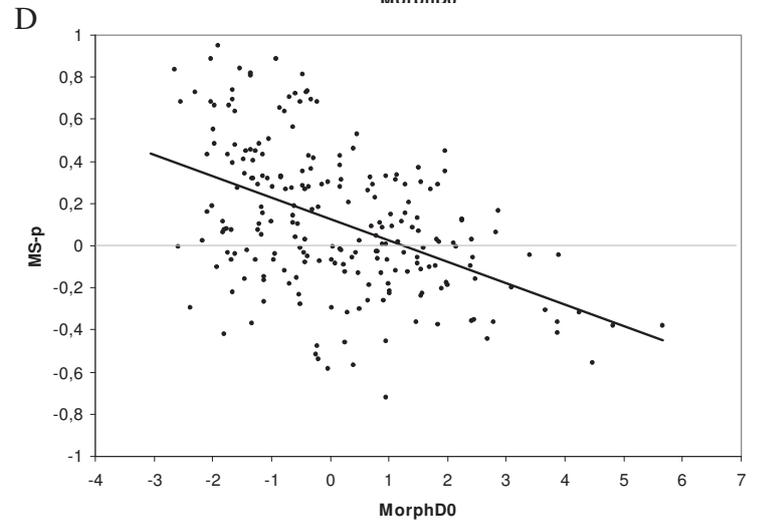
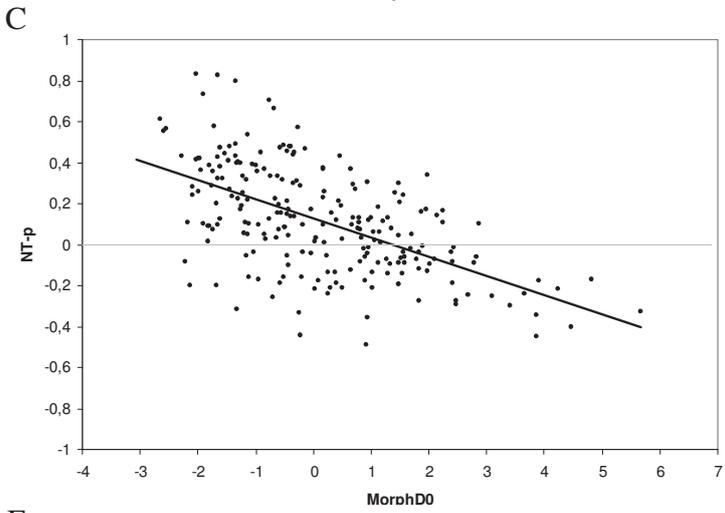
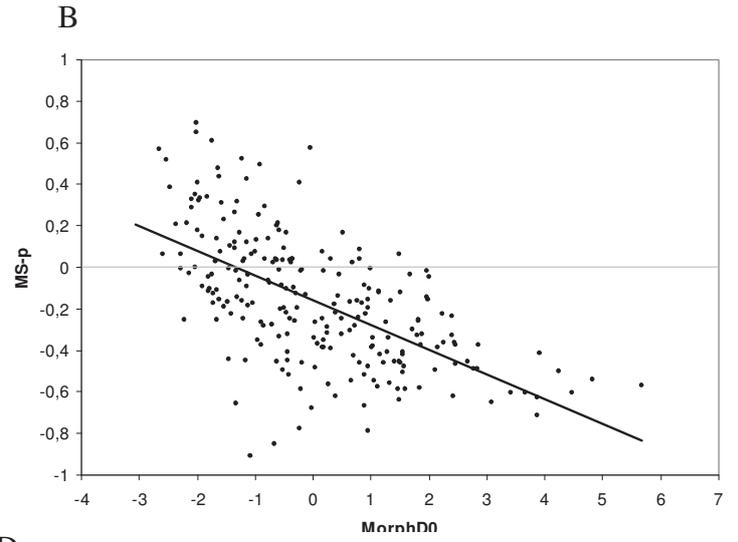
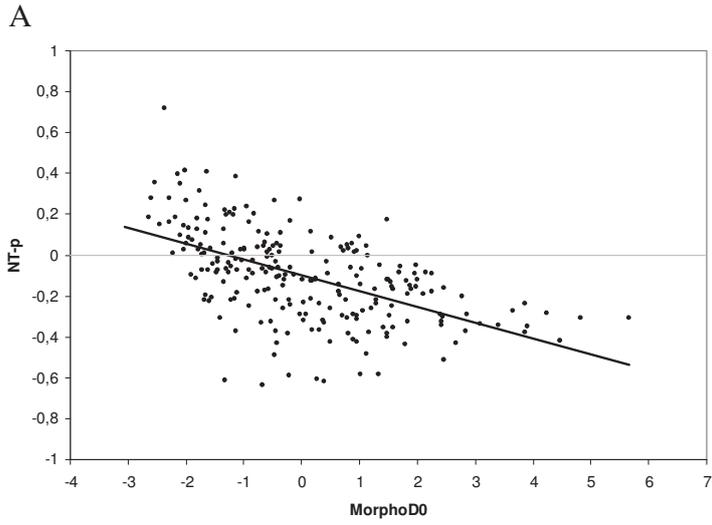


Figure C1.19 : Relations entre MorphD0 et la plasticité du nombre de talles (NT-p) et de la biomasse sèche (MS-p) à la date D1 (A et B) D5 (C et D) et D9 (E). Une valeur positive de l'indice de plasticité indique une valeur du caractère plus élevée dans le traitement DF.

C1.3.3 Caractérisation morphologique et comparaison des populations G1-DPF, G1-DF et G0bis

Les différences de morphologie observées entre les populations G1 et G0bis sont faibles voire nulles, et cela aussi bien en terme de moyennes que de variances (Fig.C1.20 ; Tab.C1.13). Pour tous les traits, les différences entre les deux populations G1 ne sont jamais significatives (Tab.C1.14).

Tableau C1.13 : Moyennes et coefficients de variation de la population G0bis, G1 issue d'individus G0 sous défoliation peu fréquente (G1-DPF) et G1 issue d'individus G0 sous défoliation fréquente (G1-DF), pour la hauteur étirée (HE en mm), le diamètre (D en mm), nombre de talles (NT) et la longueur de limbe (LL en mm) et la biomasse (MS) au cours du temps.

Trait	Date	<u>Population G0bis</u>		<u>Population G1-DPF</u>		<u>Population G1-DF</u>	
		Moyenne	CV	Moyenne	CV	Moyenne	CV
HE	D1'	168	0.11	158	0.15	163	0.15
	D2'	185	0.16	178	0.19	178	0.21
D	D1'	97	0.37	86	0.39	92	0.38
	D2'	100	0.32	91	0.41	95	0.36
NT	D1'	46.1	0.38	48.4	0.33	47.9	0.30
	D2'	55.6	0.34	61.1	0.43	61.4	0.36
LL	D1'	111	0.18	106	0.22	102	0.22
	D2'	117	0.24	105	0.28	112	0.26
MS		632	0.77	529	0.83	560	0.90

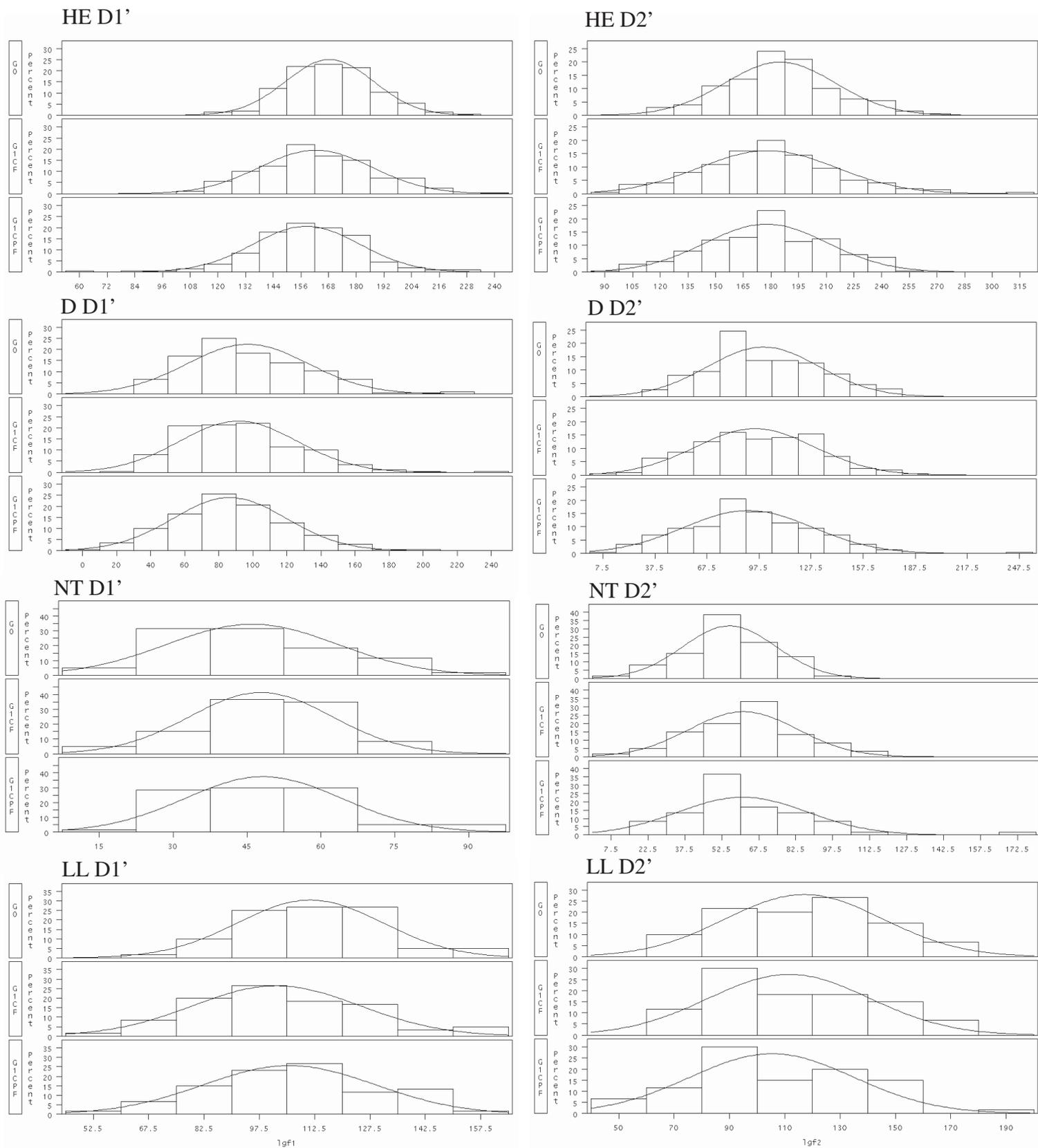


Figure C1.20 : Distribution des caractères morphologiques de hauteur étirée (HE), diamètre (D), nombre de talles (NT) et longueur de limbe (LL) dans les populations G0bis, G1-DF et G1-DPF aux deux dates de mesure (D1' et D2').

Tableau C1.14 : A : Analyse de variance pour l'effet de la population sur les traits de hauteur étirée (HE), de diamètre (D), de nombre de talles (NT) et de longueur de limbe (LL). G1-DPF : G1 issue d'individus G0 sous défoliation peu fréquente ; G1-DF : G1 issue d'individus G0 sous défoliation fréquente. R² : taux explicatif du modèle ; DF : degré de liberté ; CM : carré moyen. Test de comparaison des variances (Levene). **B** : test de comparaison des moyennes (Tukey).

A						
Trait	Date	R ²	DF	CM	Pr > F	Levene Pr > F
HE	D1'	0.06	2	5047	0.0001	0.0112
	D2'	0.04	2	3297	0.0511	0.0501
D	D1'	0.05	2	5623	0.0080	0.5777
	D2'	0.02	2	3812	0.0425	0.4031
NT	D1'	0.01	2	86.9	0.7137	0.4446
	D2'	0.03	2	637	0.2898	0.3075
LL	D1'	0.05	2	1235	0.0791	0.4324
	D2'	0.25	2	2065	0.0467	0.9777
MS		0.01	2	559574	0.0860	0.4574

B			
Trait	Date	Population	Pr > t
HE	D1'	G0 - G1-DF	0.0075
HE	D1'	G0 - G1-DPF	0.0001
HE	D1'	G1-DF - G1-DPF	0.0655
D	D1'	G0 - G1-DF	0.1022
D	D1'	G0 - G1-DPF	0.0019
D	D1'	G1-DF - G1-DPF	0.1384
D	D2'	G0 - G1-DF	0.1639
D	D2'	G0 - G1-DPF	0.0122
D	D2'	G1-DF - G1-DPF	0.2627
LL	D2'	G0 - G1-DF	0.3027
LL	D2'	G0 - G1-DPF	0.0139
LL	D2'	G1-DF - G1-DPF	0.1485

C1.4. Discussion

C1.4.1. Modification morphologique de la population sous défoliation

Nous avons observé un changement morphologique des deux populations étudiées sous défoliation. La population G0-DPF qui était soumise à une défoliation peu fréquente, ainsi que la population G0-DF, soumise à une défoliation fréquente, ont suivi les mêmes tendances de modification morphologique au cours du temps de l'expérimentation. Au sein de chacune des populations, la hauteur étirée moyenne et le nombre de talles moyen par individu ont respectivement diminuée et augmenté durant les premières dates de défoliation puis une certaine stabilité pour la hauteur étirée et une diminution pour le nombre de talles, ont été observés après l'arrêt de la défoliation. Cette stabilisation et diminution pourraient être engendrées par l'arrêt de la défoliation mais aussi par les conditions climatiques rencontrées durant la période hivernale où les conditions de photopériode et de température ne sont pas propices à la croissance du ray-grass (Gallais et Bannerot, 1992). La diminution de la hauteur étirée durant l'application de la défoliation est certainement la réponse à la pression exercée. En effet, nous avons observé à l'arrêt de la défoliation un changement dans le sens d'évolution de ce caractère puisque la hauteur étirée a augmenté entre la date d'arrêt de la défoliation et la date de mesure qui a suivi. Cette réponse pourrait être engendrée par une adaptation à la défoliation, en diminuant la hauteur, via une diminution de longueur des feuilles induite par une diminution de la durée et/ou vitesse de croissance de ces dernières (Hazard et Ghesquière 1995 ; Hazard et Ghesquière 1997 ; Barre *et al.*, 2009). La stabilisation observée durant l'hiver est certainement due, comme précédemment évoquée, aux conditions climatiques engendrant un ralentissement, voire un arrêt, de croissance. D'ailleurs, lorsque ces dernières s'amélioraient, à partir du mois de mars (Date D8), la hauteur étirée augmentait, à nouveau, pour être alors identique dans les deux populations. Le nombre de talles moyen,

quant à lui augmentait durant toute l'application de la défoliation, ce qui traduit une croissance continue durant cette période. Après l'arrêt de la défoliation et pendant la période hivernale, le nombre de talles tendait à diminuer légèrement, pour ensuite augmenter à nouveau en sortie d'hiver. L'augmentation du nombre de talles dans les deux populations G0-DPF et G0-DF, met en évidence une croissance végétative qui se fait en dépit de la défoliation. La plupart des espèces prairiales ont développé des stratégies de tolérance ou d'évitement à la défoliation et notamment au pâturage (Briske *et al.*, 1992 ; Briske, 1996 ; Gastal *et al.*, 2010 ; Anderson *et al.*, 2007 ; Diaz *et al.*, 2007). Nos résultats vont dans ce sens, puisque l'application d'une défoliation fréquente a engendré une augmentation du nombre de talles plus important dans la population G0-DF comparativement à la population G0-DPF. En effet, très rapidement le nombre de talles moyen de la population G0-DF, a tendance à être plus grand que celui de la population G0-DPF, pour l'être ensuite de façon importante et significative à l'arrêt du traitement. De plus, les coefficients de variation du nombre moyen de talles, diminuaient au cours de l'application de la défoliation, avec des valeurs bien plus faibles pour la population G0-DF qui a subi des défoliations fréquentes. L'augmentation du nombre de talles en réponse à la défoliation, fait typiquement parti de ce que l'on peut appeler des mécanismes de compensation à la défoliation. Ces mécanismes peuvent être liés à des modifications de l'environnement des plantes (comme la diminution de l'ombrage voire de l'auto-ombrage) ou encore de leur physiologie (comme certains trade-off pouvant se mettre en place) (Vallerjo-Marin *et al.*, 2010 ; Thiele *et al.*, 2009). Les données issues des capteurs lumineux installés dans le dispositif expérimental, ont mis en évidence une transmission du rayonnement plus important dans la population qui été soumise à une défoliation fréquente tout au long de l'application de la défoliation, ce qui correspond au une fermeture du couvert moins importante. Par l'action de la défoliation, la fermeture du couvert en défoliation fréquente n'a pas le temps d'atteindre des valeurs équivalentes à celles obtenues en

défoliation peu fréquente (différences du simple au double). Les plantes évoluant dans la population G0DF ont donc bénéficié d'une qualité lumineuse (rapport rouge clair rouge sombre supérieur en DF qu'en DPF) favorable au démarrage des bourgeons axillaires donnant les talles filles (Gautier *et al.*, 1999), expliquant ainsi la plus grande quantité de talles observée en défoliation fréquente. De plus, même si l'interprétation des résultats de biomasse sèche est un peu compliquée compte tenu des chutes de la biomasse dans les deux populations, G0-DF et G0-DPF, en raison d'un probable lessivage de l'apport d'azote par la pluie, il est remarquable de constater que la biomasse sèche moyenne récoltée des individus soumis à des défoliations fréquentes devenait équivalente à celle des individus de la population G0-DPF. Cette biomasse moyenne équivalente entre les deux populations à partir d'une certaine date, pourrait être le fruit des courbes de croissance et de sénescence des individus de ray-grass anglais en fonction de l'indice foliaire. L'indice foliaire du couvert, définit comme la surface de feuille par unité de surface de sol, est un paramètre important, via l'efficacité photosynthétique du peuplement, dans la croissance, la production, d'une population de ray-grass anglais. Dans un peuplement de ray-grass anglais, au-delà d'un indice foliaire égal à 3, la croissance atteint un plateau (Grant et King, 1983), l'efficacité d'interception lumineuse plafonne (Lemaire *et al.*, 1984), mais la sénescence des talles continue d'augmenter (Bircham, 1981), le résultat étant une production nette (rendement) qui diminue. Cela pourrait expliquer qu'à partir d'un certain moment les valeurs moyennes de biomasse des deux populations G0-DF et G0-DPF étaient équivalentes. Moment à partir duquel, il est probable que la croissance continuait de croître en population G0-DF contrairement à la population G0-DPF qui, elle, plafonnait à l'optimum et dans laquelle la sénescence continuait d'augmenter.

Au-delà de ces considérations, l'application de la défoliation en fréquence élevée, a pu engendrer une adaptation de la population soumise à cette défoliation, qui, face à un

prélèvement systématique et fréquent de tissus au-dessus de la barre de coupe, réinvestie dans une morphologie un peu différente (Hawkes et Sullivan, 2001). Dans ce cas, la biomasse serait plutôt par peu de talles de grandes tailles en DPF, et plus de petites talles en DF. Cette hypothèse est confortée par le nombre plus important de talles trouvé en DF. Cette adaptation permettant de limiter les pertes de matériel produit et donc d'augmenter l'efficacité d'utilisation des ressources investies dans le végétatif (Matthew et al., 2000). Dans la population G0-DF ce mécanisme d'adaptation pourrait être l'explication du plus grand nombre moyen de talles, d'autant que les coefficients de variation du nombre moyen de talles étaient nettement inférieurs dans la population G0-DF pendant l'application de la défoliation, mettant en évidence, une réponse plastique des individus, homogénéisant la morphologie de la population et/ou une sélection d'individus portant les caractéristiques décrites.

Pendant la durée de l'application de la défoliation, les coefficients de variation du nombre de talles augmentaient aux premières dates uniquement dans la population G0-DPF avec ensuite une diminution. Cette augmentation des coefficients de variation, en début d'expérimentation, traduit les différences phénotypiques exprimées par les génotypes, différences résultant probablement de plusieurs facteurs : effet du microenvironnement mais aussi effet du génotype lui-même et son interaction (donc sa réponse) avec l'environnement. Cette augmentation en G0-DPF et la plus grande hétérogénéité de cette population par rapport à la population G0-DF laisse présager une réponse plus rapide et plus intense à la pression exercée par la DF. L'effet de la récurrence de la défoliation à une hauteur de trois centimètres se fait logiquement plus rapidement sentir en défoliation fréquente que peu fréquente. En revanche, en défoliation peu fréquente, la pression de sélection à laquelle pourrait être soumis les individus est probablement centrée sur la compétition pour la lumière. En début d'application la compétition pour la lumière pourrait être moins intense puisque les individus n'étaient pas très gros et le couvert moins fermé qu'au cours des cycles de défoliations, laissant ainsi

pénétrer plus de lumière. Cette hypothèse est d'ailleurs renforcée par les données des capteurs lumineux qui mettent en évidence une quantité de rayonnement transmis plus importante aux premières dates d'expérimentation qu'ensuite dans la population G0-DPF.

L'homogénéisation de la hauteur et du nombre de talles au sein de chaque traitement au cours du temps, peut s'expliquer soit via une mortalité plus importante de certains morphotypes de la population, c'est-à-dire une sélection de certains morphotypes, ou/et une modification du morphotype (dans la même direction) des individus donc une plasticité des individus.

C1.4.2. Plasticité, morphotypes et variation de la population

Alors que la défoliation engendrait des modifications morphologiques des populations au cours du temps, avec des différences entre la population G0-DF et la population G0-DPF, comme détaillées dans le paragraphe au-dessus, la mortalité observée au cours de l'expérimentation au-delà d'être relativement faible (de l'ordre de 15% en cumulé en fin d'expérimentation), ne présentait pas de différences entre les deux populations G0-DF et G0-DPF. Même si nous avons mis évidence un effet génotype, ce sont les mêmes génotypes qui sont morts dans les deux fréquences de défoliation. La sélection via la mortalité des individus n'explique donc pas les différences morphologiques, en termes de moyennes et de variances, observées entre les deux populations G0-DF et G0-DPF. Cette absence de différentiel de mortalité entre les deux populations indique l'action de la plasticité phénotypique sur la réponse morphologique la population à la fréquence de défoliation. Ceci se voit très clairement pour la hauteur, caractère pour lequel, l'augmentation du coefficient de variation a eu à nouveau lieu après l'arrêt de la défoliation dans les deux populations. De plus, la moyenne de chaque population a augmenté après l'arrêt du traitement et elles étaient similaires entre les populations, ce qui traduit la réversibilité de l'effet de la défoliation sur la hauteur. Concernant le nombre de talles, le coefficient de variation de chacune des

populations n'a pas présenté d'augmentation à l'arrêt du traitement mais ce dernier résultat ne permet pas de démontrer un effet de la sélection, il pourrait aussi être le fruit d'une plasticité irréversible (Gabriel, 2006) ou encore de l'exercice de pressions environnementales, différentes des pressions induites par la défoliation (comme la densité d'individus) mais, qui engendreraient aussi des réponses plastiques des individus homogénéisant la population.

L'évolution morphologique de nos populations semble fortement induite par le mécanisme de plasticité, la capacité plastique des individus est d'ailleurs démontrée dans notre étude par la mise en évidence d'une distance relative (rd') non nulle pour les génotypes. En effet, les génotypes ont montré des variations du nombre de talles et de biomasse entre les populations G0-DPF et G0-DF. La population initiale, G0, montrait une diversité relativement importante du fait de sa conception, croisement entre un individu de type gazon et un individu de type fourrage. Ce croisement a engendré une grande variabilité de morphotypes, et surtout une variabilité continue dont la gamme englobe les phénotypes de deux parents, cette variabilité continue fait état d'un déterminisme complexe des caractères étudiés, qui fera l'objet du prochain chapitre. Au cours de l'expérimentation, les deux populations G0-DF et G0-DPF, montraient une variation intra-population non négligeable, avec un effet génotype qui expliquait une grande partie de la variance tout au long de l'expérimentation. Or, il nous a été possible de caractériser les génotypes par leurs phénotypes initiaux sur la base de l'analyse multivariée conduite sur les variables mesurées avant l'application des traitements de défoliation. Cette caractérisation nous permet d'envisager la variance due au génotype par une variation due à la morphologie initiale des individus.

Il est alors intéressant de noter, qu'en regard du morphotype du génotype, la valeur de la plasticité est variable. En d'autres termes, nous avons mis en évidence une variabilité génétique de la plasticité qui est liée, en partie, au morphotype de l'individu. Ce qui signifie que la valeur de la plasticité des caractères mesurés est en partie dépendante de la valeur de ce

caractère. Cela pourrait traduire un déterminisme génétique de la plasticité fonction du déterminisme génétique du caractère considéré. Mais nous détaillerons ceci dans le prochain chapitre. Les individus de morphotype ‘fourrage’ avaient toujours de fortes plasticités négatives alors que les autres morphotypes présentaient soit des plasticités positives, soit des plasticités négatives. Ce résultat indique que les morphotypes ‘fourrages’ produisaient toujours plus de talles en défoliation peu fréquente qu’en défoliation fréquente et qu’ils ne semblent pas capables de maintenir ou d’augmenter leur nombre de talles sous défoliation fréquente. Ce comportement pourrait être le résultat d’une incapacité des types fourrages à produire des surfaces foliaires sous la hauteur de défoliation (3cm), ces individus pourraient donc être limités au niveau trophique (Turner *et al.*, 2006, Donaghy et Fulkerson, 1997, 1998). Les valeurs de plasticités positives présentées par une partie des autres morphotypes, traduisent soit une capacité de ces morphotypes à augmenter leur nombre de talles en DF, soit une capacité ou une contrainte de ces morphotypes à diminuer leur nombre de talles en DPF. Ces capacités plastiques des individus ont donc permis aux populations de se modifier morphologiquement, au cours du temps, sous l’influence de la pression de défoliation avec des réponses individuelles à la fréquence de ces défoliations dépendantes des caractéristiques morphologiques initiales des individus. La faible mortalité des individus observée durant toute la période d’expérimentation pourrait être le résultat de ces capacités plastiques, on pourrait alors parler de plasticité adaptative, permettant aux individus de s’adapter au sein d’une génération donnée tout en maintenant une diversité morphologique sous-jacente potentielle et une diversité génotypique. Cette plasticité pourrait ainsi influencer la réponse à la sélection de la population en influençant la survie/la reproduction des individus. L’analyse de l’effet de la sélection sur la population et l’interférence avec la plasticité font l’objet du chapitre suivant.

C1.4.3. Plasticité, sélection et dynamique de la diversité des populations

En dépit d'un effet génotype sur la mortalité, avec des morphotypes gazons plus enclins à mourir (environ 50% des individus qui sont morts étaient de morphotype plutôt gazon), (i) aucune différence significative du taux de mortalité n'a été mise en évidence entre les deux fréquences de défoliation et cela y compris au sein des morphotypes gazons (même si l'on peut tout de même souligner un pourcentage de morphotypes gazons parmi les morts en défoliation peu fréquente plus important qu'en défoliation fréquente, ~55% vs ~45%); et surtout (ii) le taux de mortalité est extrêmement faible aux premières dates et n'excède pas 17% en fin d'expérimentation. Cela constitue, certes, une sélection mais l'intensité est relativement faible. Cette évidente survie plus faible des morphotypes gazons pourrait être attribuée à la compétition pour la lumière. En effet, certains auteurs (Casler et Duncan, 2003 ; Balfourier *et al.*, 1992) mentionnent dans la littérature qu'un morphotype gazon est sélectionné, en termes de survie, face à un morphotype fourrage lorsque la défoliation est intense et fréquente ; alors que nous avons mis en évidence strictement l'inverse dans notre étude. La sélection des morphotypes gazon dans ces études est attribuée à une fréquence de défoliation supérieure à la nôtre et une hauteur de défoliation plus petite et ceci sur des durées d'application de la défoliation beaucoup plus longue. Si notre fréquence de défoliation n'était pas suffisante pour permettre le maintien d'une ouverture du couvert optimale pour les formes gazons, ces dernières souffraient alors d'une compétition pour la lumière, pression face à laquelle ils sont moins armés que les types fourrages de par leur morphologie. Cette hypothèse est confortée par le fait que le pourcentage de morphotypes gazons parmi les morts est supérieur en défoliation peu fréquente relativement à la défoliation fréquente. Mais même si nous avons observé une contre sélection de ces morphotypes gazons avec une contre sélection légèrement (mais non significativement) différente en défoliation peu fréquente, l'intensité de la sélection via la mortalité reste faible. Mais la sélection agit aussi au cours des

générations, via un différentiel de reproduction entraînant un différentiel de contribution aux générations prochaines.

Dans notre étude nous avons mis en évidence un pourcentage d'individus reproducteurs et une production grainière des individus plus importants dans la population en défoliation fréquente. Cet effet de la fréquence de défoliation sur la production grainière pourrait trouver plusieurs explications (Stowe *et al.*, 2000 ; Mabry 1997). La perturbation induite par la défoliation, comme évoquée et démontrée chez certaines espèces (Garmendia *et al.*, 2008 ; Rijnsdorp et Witthames, 2006), entraîne une production de gamètes afin de permettre le maintien des gènes de l'individu dans le temps alors que la probabilité de mort de l'individu augmente. Mais aussi, et de façon plus probable dans notre étude, un nombre de talles important augmente la probabilité de talles reproductrices. Cette dernière hypothèse est corroborée par le nombre moyen de talles par individu en défoliation fréquente d'une part et la corrélation entre le nombre de talles de l'individu et la production de graines de cet individu ($r^2 \sim 0,6$). Nous avons d'ailleurs observé une corrélation faible mais significative tout de même entre la valeur de la variable MorphD0 et le nombre de graines produites et cela dans les deux fréquences de défoliation. Cette dernière corrélation pourrait d'ailleurs expliquer l'effet génotype mis en évidence sur la production de graines. Cet effet génotype qui appuie une sélection des individus de morphotypes plutôt fourrage via la reproduction, va dans le même d'une contre sélection des génotypes gazons par mortalité. Nous assistons donc à une action de la sélection sur ces populations d'étude, qui sélectionne les individus de types intermédiaires et fourrages via la mortalité mais aussi via un différentiel de reproduction même si la corrélation entre la production de graines et la valeur de la variable morphotype est faible (et sûrement « tirée » par quelques individus très gros (Fig.C1.16)). Mais, au-delà de ne pas expliquer les différences morphologiques observées entre les différentes fréquences de défoliation, cette sélection montre une intensité relativement faible via la mortalité (peu de

morts) et son résultat via la reproduction n'est pas visible au niveau de la morphologie des populations G1 qui représentent les générations issues de cette sélection. En effet, les générations G1 issues des populations G0-DF et G0-DPF ne montraient, selon les caractères, soit pas de différence sur la moyenne entre elles et avec la population G0 initiale, soit des différences très faibles qui ne traduisaient pas l'attendu, à savoir des moyennes déplacées vers des valeurs inférieures par rapport à la population G0 initiale. De plus, l'égalité des variances des caractères entre les populations G1 et la population G0 initiale ne peut que refléter soit une absence de sélection ou une sélection de faible intensité. La faible intensité de la sélection, hormis le fait qu'elle peut être due à une pression exercée trop faible pour un résultat visible sur si peu de génération pourrait aussi être imputée à un effet maternel (Roach et Wulff, 1987 ; Thomas, 1969), qui pourrait par ailleurs expliquer les résultats non attendus trouvés via les mesures des populations G1 de l'étude. La prolongation des mesures devrait donc être faite pour confirmer cette hypothèse d'effet maternel et mieux mesurer l'impact de la sélection sur les générations G1 (Kingsolver et Pfennig, 2007 ; Carroll *et al.*, 2007).

Chapitre 2

Déterminisme génétique des caractères morphologiques et reproducteurs

Evolution de la diversité allélique sous défoliation

Ce chapitre fait l'objet d'un article en cours de rédaction

«Dissecting differences between forage and turf with QTL analysis in perennial
ryegrass »

Auteurs: S. Grenier, I. Litrico, P. Barre

en cours de rédaction et qui sera soumis à la revue Theoretical and Applied Genetics

C2.1. Introduction

La mise en évidence de la sélection peut se faire par des méthodes directes, comme nous venons de le voir dans le chapitre précédent, par l'estimation de la valeur sélective des individus portant certaines valeurs de caractères que nous pouvons qualifier d'adaptatifs. Des méthodes indirectes consistent à détecter de la sélection au niveau moléculaire. Le génome est une mosaïque où les différentes régions portent la trace d'histoires différentes. L'évolution de la diversité moléculaire est le résultat de l'action de plusieurs forces évolutives, notamment la sélection, comme nous l'avons précisé en introduction mais aussi la dérive génétique qui est la conséquence du processus d'échantillonnage aléatoire des gamètes à chaque génération.

Ces forces évolutives vont laisser des signatures génomiques, la dérive agit sur tout le génome alors que la sélection va agir sur les déterminants génétiques des caractères. La sélection qui est donc locus spécifique peut être déduite du patron de polymorphisme des loci : comparaison de loci soumis uniquement à la dérive avec des loci subissant l'effet de dérive d'une part et de sélection (via leur liaison aux loci sélectionnés) d'autre part (Cavalli-Sforza 1966). Par des effets d'autostop génétique, le polymorphisme de la région est alors balayé (balayage sélectif) par la sélection et une réduction du niveau de diversité et une distribution de fréquences alléliques biaisée au niveau des loci neutres liés (Tajima 1989). Mais cet effet est d'autant plus important que l'intensité de sélection est forte et le taux de recombinaison faible.

Le processus de l'évolution nécessite bien évidemment l'héritabilité des caractères impliqués dans la valeur sélective des individus, l'identification de QTL joue un rôle important pour mettre en évidence des régions génomiques qui contrôlent les variations phénotypiques. Le couplage d'un criblage du génome par des marqueurs pour révéler la signature de la sélection et l'identification de QTL de caractères morphologiques susceptibles d'être adaptatifs, permet de mettre en évidence l'action de la sélection sur ces caractères si une co-localisation des QTL

et des régions soumises à sélection est détectée (Vasemagi et Primmer, 2005 ; Stinchcombe et Hoekstra, 2008).

Nous avons mis en évidence dans le premier chapitre, des caractères morphologiques, variables dans la population étudiée, impliqués dans la réponse des individus à la défoliation. L'origine des variations de ces caractères était à la fois génétique et environnementale (i.e. plasticité phénotypique) avec une variabilité de réponse des génotypes à l'environnement (i.e. interaction GxE ou variabilité génétique de la plasticité). Afin d'évaluer l'importance de la sélection dans le passage de la population G0 aux populations G1 (G1-DF et G1-DPF), l'objectif de ce chapitre était d'une part, de rechercher les bases génétiques à l'origine des variations phénotypiques entre individus de la population G0 et des variations de leur plasticité, et d'autre part, d'estimer l'évolution de la diversité génétique au niveau des régions impliquées dans la variation des caractères morphologiques (QTL) et de la comparer avec celle des régions du reste du génome (non QTL) afin de mettre en évidence un effet de la sélection. Nous proposons donc de préciser l'action de la sélection sur les régions génomiques impliquées dans la variation des caractères morphologiques étudiés dans le chapitre 1, y compris dans la variation de la plasticité des individus pour ces caractères, en combinant l'utilisation des approches QTL et détection de la signature génomique de la sélection.

C2.2. Matériels et méthodes

C2.2.1. Populations de l'étude

La population G0 étudiée dans ce chapitre correspond à la population G0 décrite dans le chapitre 1 (Fig.C1.1) qui est soumise aux différentes fréquences de défoliation. Cette population G0 a été utilisée pour l'identification de QTL en défoliation fréquente (G0-DF) et peu fréquente (G0-DPF). Afin d'identifier des loci soumis à sélection, nous avons comparé la composition génétique de G0 à celles de deux populations G1, une population G1-DFb issues de G0-DF et une population G1-DPFb issue de G0-DPF. La constitution de la composition des populations G1-DFb et G1-DPFb a été réalisée, comme les populations G1-DF et G1-DPF du chapitre 1, par tirage proportionnel des 240 individus pour chaque populations G1b.

C2.2.2. Phénotypage des populations G0-DF et G0-DPF

Les mesures phénotypiques à la base de cette recherche de QTL sont décrites dans le chapitre précédent, elles regroupent des données de hauteur étirée (HE), de nombre de talles (NT), de biomasse sèche (MS) dans chaque traitement et de plasticités du nombre de talles (NT-p) et de la biomasse sèche (MS-p) entre les deux fréquences de défoliation sur la période de mars 2008 à avril 2009 et des données de production de graines (G).

C2.2.3. Génotypage (Annexe 2)

Les individus de la population G0 ont été génotypés à l'aide de marqueurs microsatellites ou STS (sequence tagged site) de différentes origines (Studer *et al.*, 2008 ; Lauvergeat *et al.*, 2005 ; Lem et Lallemand, 2003 ; Hirata *et al.*, 2006 ; Gill *et al.*, 2006 ; Jensen *et al.*, 2005 ; Faville *et al.*, 2004 ; Barre *et al.*, 2009 ; Saha *et al.*, 2005 ; Hirata *et al.*, 2011). Pour cela, 335 marqueurs ont été testés sur un échantillon de 12 individus de la population G0 pour détecter

Tableau C2.1 : Marqueurs définis comme « QTL » : proche de QTL et marqueurs « non QTL » : plus éloignés des QTL.

<u>Groupe de liaison</u>	<u>marqueurs QTL</u>	<u>marqueurs non QTL</u>
GL1	DLF27 G02-47	NDPK nffa112
GL2	G02-49 rv959	G05-129 rv706
GL3	B3B8 25ca1	B1C9 G01-07
GL4	syn4067 Lpssr23	Lmgssr15-8E G05-108
GL5	G05-33 Lmgssr16-4F	pps397 nffa87
GL6	- -	pps210 B2F1
GL7	Lp165 G02-04	rv663 OSW

Le marqueur Lp-SUT4 situé à proximité du QTL sur le GL5 ne peut malheureusement pas être retenu car dans la génération G1, nous ne pouvons pas différencier toutes les classes alléliques.

du polymorphisme : au moins un parent hétérozygote. Parmi ces marqueurs, 116 se sont révélés monomorphes et 75 n'ont pas permis une amplification, 144 se sont révélés polymorphes parmi lesquels 18 n'ont pas été lisibles. Trente huit marqueurs polymorphes n'ont pas été retenus car ils étaient connus pour être situés proches d'autres marqueurs plus informatifs. Quatre-vingt-huit marqueurs ont finalement été retenus et génotypés sur l'ensemble de la population G0, parmi lesquels 25 ont montré une distorsion de ségrégation. Deux marqueurs localisés sur des gènes impliqués dans le transport du saccharose (Lp-SUT 1 et 4) ont été ajoutés (Berthier, 2011). Ces marqueurs ont été utilisés pour la cartographie (Cf plus loin).

Afin d'augmenter le nombre de marqueurs pour saturer la carte, 184 marqueurs AFLP ont été génotypés sur G0 dont 100 étaient hétérozygotes chez seulement un des deux parents et ont été utilisés par la suite, les marqueurs hétérozygotes chez les deux parents étant moins informatifs et pouvant entraîner des erreurs de cartographie. Sur ces 100 marqueurs, 49 étaient hétérozygotes chez le parent C2.13 et 51 chez le parent C2.14. De plus, 29 présentaient une ségrégation distordue.

Concernant les populations G1-DFb et G1-DPFb, c'est-à-dire la génération G1, les marqueurs microsatellites ou STS proches des QTL ont été génotypés ainsi que deux marqueurs par groupe de liaison en dehors de l'intervalle de confiance des QTL, soit 26 marqueurs génotypés (Tab.C2.1). Nous avons obtenu en moyenne 13.7 individus manquants par marqueur concernant la population G0, 6.5 individus concernant la population G1-DPFb et 5.3 individus pour la population G1-DFb. Afin d'estimer le taux d'erreur de génotypage, nous avons génotypé 7 marqueurs deux fois sur l'ensemble des individus de la génération G1, nous avons obtenu une fréquence d'erreur de 0,03.

Le génotypage de la population G0 a permis d'identifier 5 individus issus d'autofécondation. Ces individus n'ont pas été pris en compte dans le reste de l'étude faisant un total de 231

individus étudiés pour la population G0.

C2.2.4. Données phénotypiques

Pour chaque caractère, à chaque date et dans chaque traitement, une analyse de variance a été réalisée en utilisant la procédure GLM du logiciel SAS (SAS INSTITUTE, 1999) avec le modèle suivant : $\text{var}_{ij} = \mu + G_i + B_j + E_{ij}$ où μ est la moyenne globale, G_i est l'effet du génotype i (effet aléatoire), B_j est l'effet du bloc j (effet fixe) et E_{ij} est le terme d'erreur (aléatoire). La procédure VARCOMP du logiciel SAS a été utilisée pour estimer la variance génétique et la variance de l'erreur. L'héritabilité au sens large (H) a été calculée de la manière suivante : $H = \sigma_g^2 / (\sigma_g^2 + \sigma_e^2/r)$, où σ_g^2 est la variance génétique, σ_e^2 est la variance de l'erreur et r est le nombre de répliquâts pour chaque génotype, soit trois. Les valeurs moyennes ajustées par les moindres carrés de chaque génotype ont été calculées en utilisant l'option LSMEAN dans la procédure GLM. Ces valeurs ont été utilisées dans l'analyse QTL. Les coefficients de corrélations de Pearsons entre la hauteur étirée, le nombre de talles, la biomasse sèche et la production de graines ont été calculés avec la procédure CORR (SAS).

C2.2.5. Cartographie génétique

Dans cette carte, les marqueurs distordus ont été écartés sauf certains sur GL1 et GL2 pour conserver un nombre suffisant de marqueurs. Un total de 41 marqueurs microsatellites ou STS et 29 marqueurs AFLP ont été utilisés pour réaliser la cartographie génétique.

Les cartographies de chacun des parents ont été réalisées à l'aide du logiciel MapMaker (Lander *et al.*, 1987) en suivant la stratégie d'un double pseudo-testcross (Grattapaglia et Sederoff, 1994). Puis les marqueurs ayant une ségrégation 1:2:1, non utilisables avec MapMaker, ont été ajoutés à l'aide du logiciel JoinMap afin d'obtenir une carte consensus

entre les deux parents (Van Ooijen et Voorrips, 2001 ; Stam, 1993) en fixant l'ordre des marqueurs obtenu avec MapMaker. La fonction Haldane (Haldane, 1919) a été utilisée. Le logiciel MapChart a été utilisé pour la création des figures relatives aux cartes génétiques (Voorrips, 2002). La stratégie de cartographie a consisté en quatre étapes :

- Les marqueurs ont été réunis en groupe de liaison à l'aide de l'option « group » du logiciel MapMaker avec les options par défaut ($LOD > 3$ et $r < 0.5$). Les 7 groupes de liaison ont ainsi été obtenus pour les deux cartes parentales. Quatre marqueurs n'ont pas été liés et seuls les marqueurs distordus n'affectant pas l'ordre des autres marqueurs ont été ajoutés.
- Les options « order » et « ripple » ont été utilisées pour déterminer l'ordre des marqueurs le plus probable. L'option « ripple » grâce à des permutations de l'ordre des marqueurs, permet d'estimer la fiabilité de chaque ordre et ainsi choisir le plus probable. Les marqueurs qui n'ont pas pu être positionnés avec une bonne fiabilité ($LOD > 3$, ordre choisi au moins 1000 fois plus probable que celui permuté), ont été enlevés dans un premier temps. Cet ordonnancement de marqueurs a constitué la carte dite « cadre ». L'option « try » a ensuite été utilisée pour placer les marqueurs retirés précédemment.
- Le logiciel « JoinMap » a permis ensuite de combiner les deux cartes parentales et d'ajouter des marqueurs moins informatifs du type « ab x ab » avec une ségrégation 1 :2 :1, en s'assurant que l'ordre des marqueurs de la carte cadre restait inchangé.
- Certains marqueurs étant concentrés dans les mêmes zones, des marqueurs dans ces zones ont été éliminés pour obtenir une répartition homogène le long du génome (environ tous les 5 cM). Les marqueurs les plus informatifs (nombre élevé d'allèles et polymorphisme partagé chez les deux parents : ab x cd) et les plus

fiables (facilité de lecture) ont été conservés en priorité. L'ordre des marqueurs n'a pas été affecté par ce retrait.

C2.2.6. Recherche de QTL

Pour la détection de QTL, le logiciel MapQTL 6 (Van Ooijen, 2009) a été utilisé car il permet d'utiliser la cartographie combinée des deux parents. Dans un premier temps, une analyse marqueur par marqueur (test non paramétrique de Kruskal-Wallis ; Lehmann et D'Abrera, 1998) a été réalisée. Puis une analyse d'intervalle (interval mapping, IM) a été réalisée pour améliorer la localisation des QTL. Les marqueurs les plus proches des QTL ainsi identifiés ont été manuellement définis comme cofacteurs dans une analyse par le modèle de QTL multiples (MQM) qui permet de détecter des QTL à effets mineurs et de distinguer deux QTL sur un même groupe de liaison.

L'intervalle d'analyse choisi pour l'IM et le MQM a été de 1 cM. Des tests de permutation (Doerge et Churchill, 1996) ont permis de fixer le seuil de détection à un LOD de 3.7. Ces tests ont été effectués avec 1000 permutations pour chaque caractère, le seuil a été défini avec un risque de première espèce de 5%. L'intervalle d'incertitude autour de la position supposée du QTL a été déterminé par la zone comprise dans le LOD max - 1. La proportion de variation expliquée par chaque QTL (R^2) et l'effet de chaque QTL (différences de moyennes phénotypiques entre classes génotypiques) ont été calculés.

Les effets additifs (fourrage vs gazon) et de dominance ont été calculés sur les marqueurs proches des QTL pour les valeurs moyennes des caractères aux différentes dates de la manière suivante :

effet additif $a = \frac{1}{2}$ (moyenne des valeurs phénotypiques des allèles fourrages - moyennes des valeurs phénotypiques des allèles gazons)

effet dominance $d = \text{moyenne des valeurs phénotypiques des hétérozygotes fourrage gazon} - \frac{1}{2} (\text{moyenne des valeurs phénotypiques des allèles fourrages} + \text{moyennes des valeurs phénotypiques des allèles gazons})$

C2.2.7. Détection de la sélection (Annexe 3)

L'intensité de sélection (i) opérée lors du passage de la génération G0 aux populations G1 est calculée pour chaque caractère de la manière suivante :

$$i = (\mu_{\text{selectionnés}} - \mu_{\text{population}}) / \sigma_{\text{population}}$$

Avec $\mu_{\text{population}}$ la moyenne de la population et $\sigma_{\text{population}}$ l'écart type de la population. La moyenne des caractères des individus sélectionnés ($\mu_{\text{selectionnés}}$) a été obtenue à partir des valeurs phénotypiques des individus identifiés comme contributeurs à la génération G1 par les tests de paternité (cf. annexe 4 : test de paternité). Nous avons ainsi reconstitué 184 croisements à l'origine de la population G1-DPF et 185 croisements à l'origine de la population G1-DF sur les 240 individus qui composent chacune ces deux populations. Chaque individu a été représenté autant de fois qu'il a participé à la génération suivante (par exemple si un individu a été identifié dans trois croisements alors il a été représenté trois fois pour le calcul de la moyenne des individus sélectionnés).

Trois stratégies ont été adoptées pour détecter la sélection au niveau moléculaire :

- 1/ estimation de la variation de fréquences alléliques moyenne (sélection et dérive) sur l'ensemble des marqueurs puis comparaison à celle de chaque marqueur. Les marqueurs ayant une variation supérieure à 1,96 fois l'écart-type de la variation moyenne ont été considérés comme potentiellement soumis à sélection ;
- 2/ pour chaque marqueur, comparaison des fréquences alléliques des trois répliquâts. Les marqueurs dont les fréquences alléliques varient pour les trois répliquâts dans le même sens ont été considérés comme potentiellement soumis à sélection. Un

test de Newman et Keuls a été réalisé sur les différences de fréquences des trois répliquâts dans chacun des traitements pour déterminer les différences significatives entre les marqueurs ;

3/ pour chaque marqueur, estimation de la distribution attendue sous dérive en G1 par tirage aléatoire (1000 tirages de 480 allèles) et comparaison avec les fréquences alléliques observées. Pour chaque population G1-DFb et G1-DPFb, les marqueurs dont la fréquence allélique était dans les 5% extrêmes de la distribution ont été considérés comme potentiellement soumis à sélection. Nous n'avons pas réalisé ces simulations sur les marqueurs dias7, syn4067, pps397 et rv663 car ils présentaient un allèle nul.

La synthèse des résultats issus de ces trois stratégies a permis d'identifier de manière plus certaine les marqueurs soumis à sélection. Ces résultats ont ensuite été comparés avec la présence ou non de QTL.

La diversité génétique dans chaque population est estimée d'une part par la richesse allélique (nombre d'allèles par locus) et d'autre part, par l'hétérozygotie attendue (H_e), calculée à partir des fréquences alléliques pour chaque marqueur de la façon suivante :

$H_e = 1 - \sum f_n^2$ avec les fréquences $f_1, f_2, f_3, \dots, f_n$ pour n allèles. Un test de Newman et Keuls a été réalisé sur les différences d'hétérozygotie attendue des trois répliquâts dans chacun des traitements pour déterminer les différences significatives entre les marqueurs.

Tableau C2.2 : Moyennes, coefficients de variation (CV) et corrélations phénotypiques entre les caractères étudiés (N : nombre de talles ; M : biomasse sèche en g ; H : hauteur en mm) des dates 0 à 9 et le nombre de graines obtenues en 2009 et ceci pour les deux traitements. Les corrélations sont faites entre mesures de même date sauf pour les graines.

Traitement DPF	N0	N1	N2	N3	N4	N5	N6	N7	N8	N9	M0	M1	M2	M3	M4	M5	H0	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	Graines	
Moyenne	16.0	20.1	32.0	48.2	52.8	48.1	43.5	45.4	58.9	64.7	349.2	299.5	331.9	234.7	336.8	157.1	192.7	162.5	128.1	82.4	85.7	58.2	68.1	63.4	60.4	93.3	0.06	
CV	0.47	0.62	0.93	0.96	0.81	0.73	0.58	0.57	0.49	0.33	0.99	1.19	1.35	1.44	1.33	1.23	0.23	0.28	0.25	0.26	0.23	0.23	0.19	0.19	0.21	0.24	1.90	
Corrélation avec																												
M	0.90	0.89	0.92	0.92	0.91	0.89																						
H	0.79	0.75	0.68	0.76	0.73	0.76	0.72	0.69	0.72	0.68	0.74	0.74	0.68	0.76	0.74	0.74												
Graines	0.49	0.55	0.62	0.64	0.64	0.62	0.59	0.63	0.60	0.48	0.59	0.62	0.63	0.70	0.72	0.73	0.42	0.47	0.49	0.59	0.59	0.56	0.51	0.51	0.57	0.62		

Traitement DF	N1	N2	N3	N4	N5	N6	N7	N8	N9	M1	M2	M3	M4	M5	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	Graines
Moyenne	15.1	30.8	52.7	56.7	51.8	51.5	48.7	58.6	68.9	138.5	227.8	193.4	331.4	141.7	106.4	72.2	59.3	66.0	44.4	68.3	61.0	63.3	97.8	0.08
CV	0.54	0.47	0.48	0.48	0.47	0.40	0.42	0.40	0.39	0.78	0.92	1.10	0.88	0.76	0.25	0.19	0.21	0.20	0.16	0.19	0.18	0.21	0.25	2.04
Corrélation avec																								
M	0.85	0.85	0.82	0.86	0.88																			
H	0.56	0.66	0.76	0.76	0.80	0.64	0.67	0.73	0.69	0.77	0.72	0.79	0.83	0.78										
Graines	0.49	0.50	0.52	0.53	0.52	0.50	0.54	0.59	0.60	0.62	0.55	0.63	0.68	0.69	0.49	0.43	0.56	0.61	0.53	0.52	0.55	0.63	0.67	

C2.3. Résultats

C2.3.1 Données phénotypiques

Les valeurs moyennes, les coefficients de variation ainsi que les corrélations entre caractères sont indiqués dans le tableau C2.2. Le nombre de talles, la biomasse et la hauteur sont apparus très corrélés positivement dans les deux traitements avec des corrélations légèrement supérieures en DPF. Ces caractères étaient aussi corrélés positivement avec le nombre de graines mais de manière légèrement moins importante. Globalement, un continuum entre des individus de type fourrage et de type gazon a été observé (Cf. Chapitre I). Les résultats de l'analyse de variance sont indiqués dans le tableau C2.3 (pour les moyennes des caractères sur l'ensemble des dates et en annexe 3 pour les caractères à chaque date). Un fort effet génotype a été observé pour tous les caractères morphologiques à chaque date. L'héritabilité au sens large était élevée pour le nombre de talles, la hauteur et la biomasse et stable entre les dates (Tab.C2.3). Concernant la plasticité, l'effet génotype était significatif aux 4 premières dates pour le nombre de talles et aux 2 premières dates pour la biomasse. Seules les dates auxquelles un effet génotype significatif a été détecté ont été prises en compte pour l'analyse QTL et le calcul d'une plasticité moyenne entre l'ensemble des dates. L'héritabilité pour la plasticité s'est révélée plus faible que pour les caractères morphologiques. Pour chaque caractère, les moyennes des parents (C2.13, C2.14) et grands parents (Gagny, Imagine) ainsi que celle des descendants (population G0) sont présentées dans la figure C2.1 et le tableau C2.4 pour les moyennes sur l'ensemble des dates. Le grand parent fourrage a présenté une hauteur plus importante, plus de talles et une biomasse plus importante que le grand parent gazon dans les deux traitements DPF et DF. De plus, concernant la plasticité, le grand parent fourrage a présenté une plasticité inverse à celle du grand parent gazon pour le nombre de talles et la biomasse avec plus de talles et une biomasse supérieure dans le traitement

Tableau C2.3 : Résultats de l'analyse de variance avec le génotype comme effet principal dans le traitement DPF, DF et la plasticité entre ces traitements pour les moyennes des nombre de talles (NT), hauteur étirée (HE), matière sèche (MS), plasticité du nombre de talles (NT-p) et plasticité de la matière sèche (MS-p). H : héritabilité au sens large.

Traitement	Trait	DF	MS	Pr>F	σ_g^2	σ_e^2	H
DPF	Moy NT	237	2086	<0.0001	559	464	0.78
	Moy HE	237	1426	<0.0001	392	245	0.82
	Moy MS	237	342026	<0.0001	93852	72681	0.80
DF	Moy NT	237	1122	<0.0001	290	273	0.74
	Moy HE	238	682	<0.0001	188	127	0.81
	Moy MS	237	81806	<0.0001	22473	16596	0.80
DF-DPF	Moy NT-p	235	0.137	<0.0001	0.0164	0.0854	0.32
	Moy MS-p	235	0.218	<0.0001	0.0246	0.1439	0.32

Tableau C2.4 : Moyennes des parents, moyennes, intervalles (minimum, maximum) et variances des descendants dans les traitements DPF et DF pour les moyennes des caractères.

Trait	Parents DPF			Parents DF			Descendants DPF			Descendants DF		
	Gagny	Imagine C2.13	C2.14	Gagny	Imagine C2.13	C2.14	Moy	Intervalle	Variance	Moy	Intervalle	Variance
Moy NT	62	27	51	43	45	61	42	1 - 192	1031	43	2 - 119	586
Moy HE	126	70	117	99	81	88	101	44 - 270	648	78	25 - 125	319
Moy MS	466	66	464	177	191	292	285	1 - 3448	166839	201	2 - 1274	39951
Moy NT-p	-0.29	0.38	0.08	0.16			0.03	-0.78 - 0.89	0.11			
Moy MS-p	-0.49	0.12	-0.17	0.21			-0.12	-0.97 - 0.91	0.17			

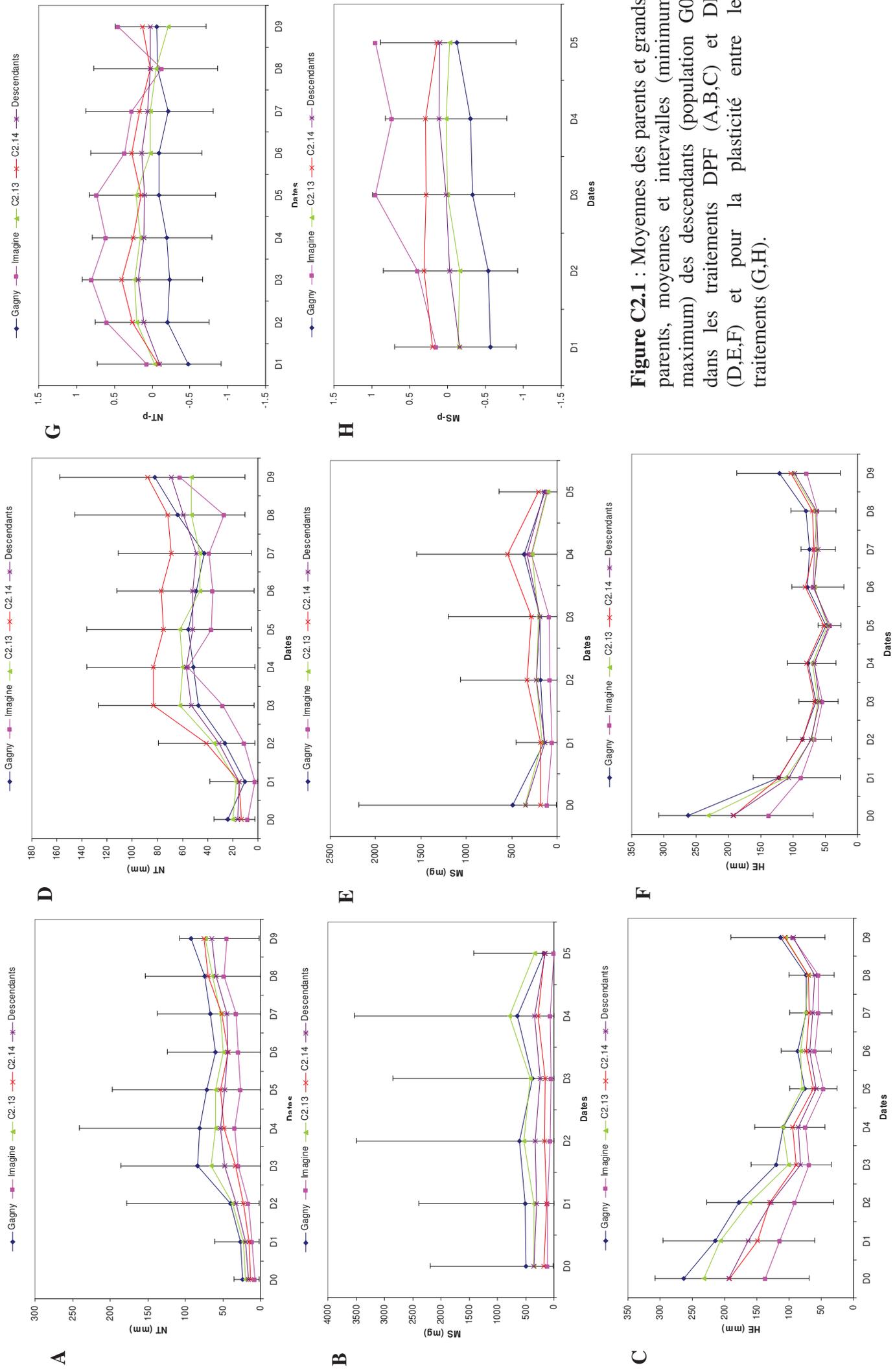


Figure C2.1 : Moyennes des parents et grands-parents, moyennes et intervalles (minimum, maximum) des descendants (population G0) dans les traitements DPF (A,B,C) et DF (D,E,F) et pour la plasticité entre les traitements (G,H).

DPF que dans le traitement DF.

C2.3.2. Cartographie génétique

La cartographie génétique obtenue à l'aide de 70 marqueurs (41 microsatellites et 29 AFLP) a permis de recouvrir les 7 groupes de liaison du ray-grass anglais (Fig.C2.2). La distance couverte était de 618.5 cM, avec une distance moyenne de 9.8 cM entre les marqueurs et une distance maximale de 24 cM sur le groupe de liaison 6.

C2.3.3. Détection de QTL

Le détail des résultats d'identification de QTL sont présentés dans le tableau C2.5 (pour les moyennes et en annexe 3 pour le détail de chaque date). Des synthèses sont présentées dans la figure C2.5 pour une comparaison entre dates et entre traitements, dans la figure C2.3 pour l'évolution du pourcentage de variance expliquée par QTL au cours du temps et dans la figure C2.4 pour la moyenne sur l'ensemble des dates. De plus, les effets des QTL en termes de différences de moyennes entre classes génotypiques sont présentés dans le tableau C2.6.

Il ressort de ces résultats, un QTL à effet majeur (jusqu'à 37% de variance expliquée pour la hauteur à la date D2 en DPF) sur le groupe de liaison 5 ayant un effet sur l'ensemble des caractères morphologiques à toutes les dates et ceci dans les deux traitements. De plus, ce QTL est impliqué aussi dans la plasticité à la fois pour le nombre de talles et la biomasse. Le pourcentage de variance expliquée par ce QTL a baissé au cours du temps mais est resté majoritaire (Fig.C2.3). La comparaison des classes génotypiques au marqueur proche de ce QTL (LpSUT4) a montré que la classe portant un allèle spécifique du gazon avait une moyenne phénotypique plus élevée pour tous les caractères.

En dehors de ce QTL à effet majeur, un autre QTL à effet intermédiaire ressort sur le groupe de liaison 2 pour l'ensemble des caractères à de nombreuses dates mais plus régulièrement

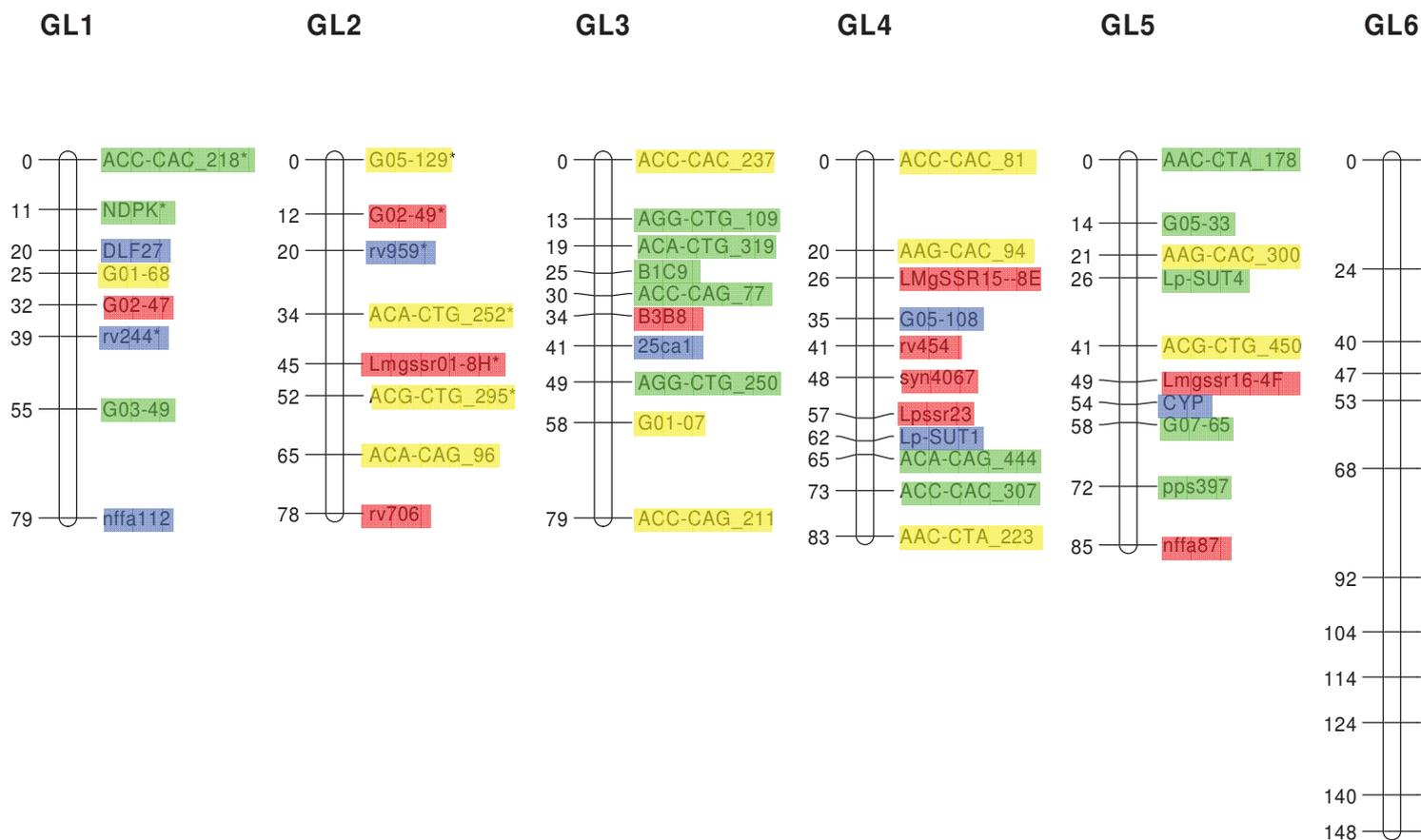


Figure C2.2 : Cartographie génétique consensus à partir des deux parents de la population G0 avec la fonction... sont marqués d'un (*). Les 7 groupes de liaisons (GL) sont présents avec les distances en cM. Les marqueurs... sont indiqués en jaune, chez le parent C2.14 en vert, chez les deux parents en rouge ; les marqueurs du type «

pour le traitement DPF que pour le traitement DF. Ce QTL est intervenu aussi dans la plasticité à la fois du nombre de talles et de la biomasse. Son pourcentage de variance expliquée était relativement stable dans le temps (Fig.C2.3). La comparaison des classes génotypiques aux marqueurs proches de ce QTL a montré que la classe portant un allèle spécifique du gazon avait une moyenne phénotypique plus faible pour tous les caractères.

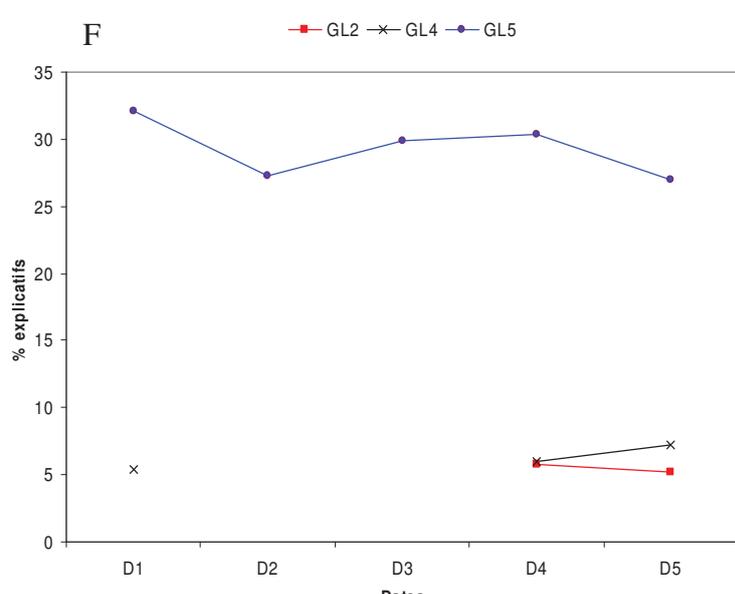
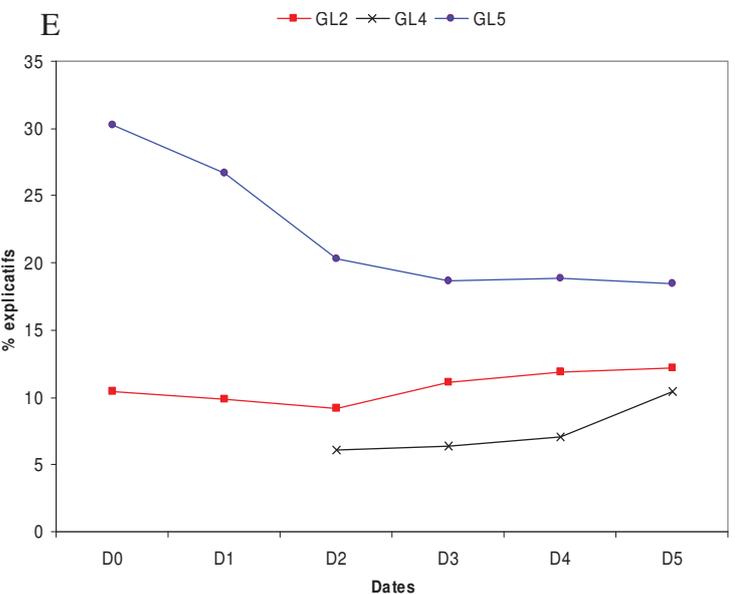
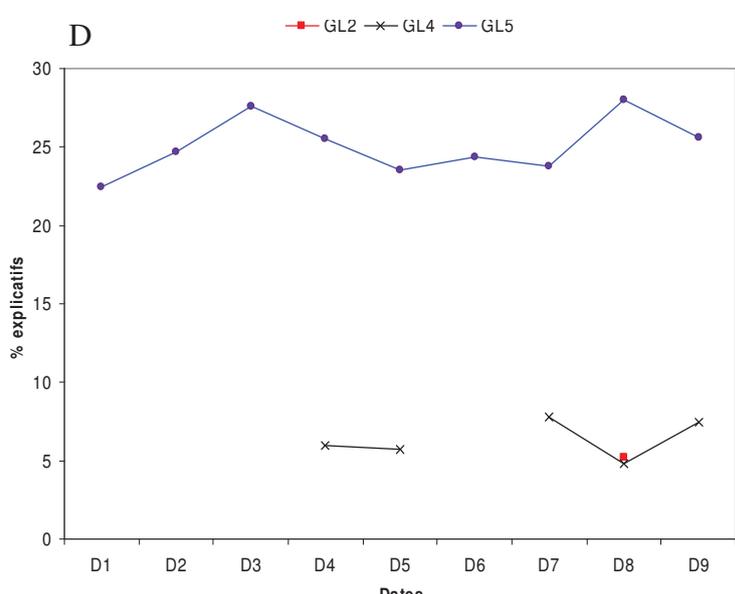
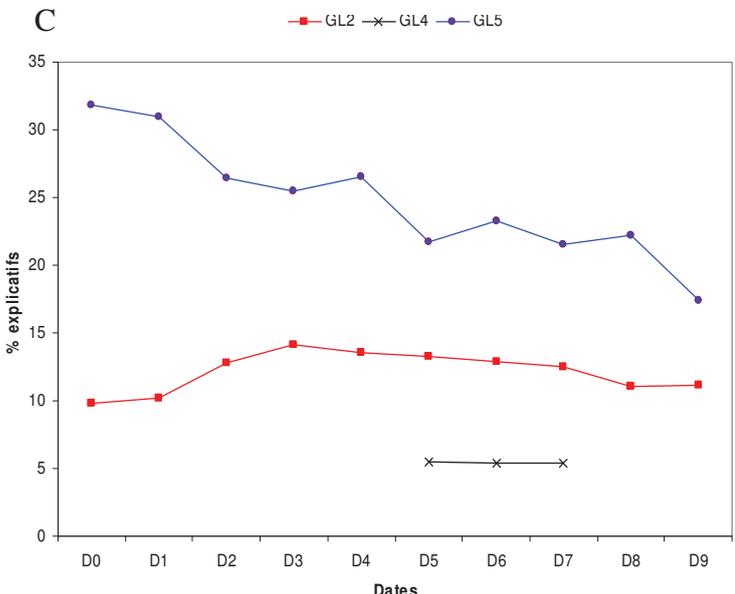
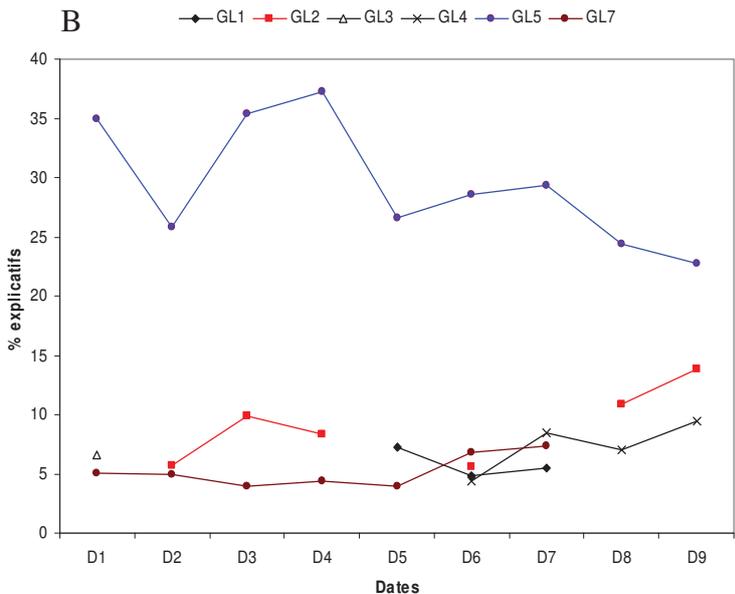
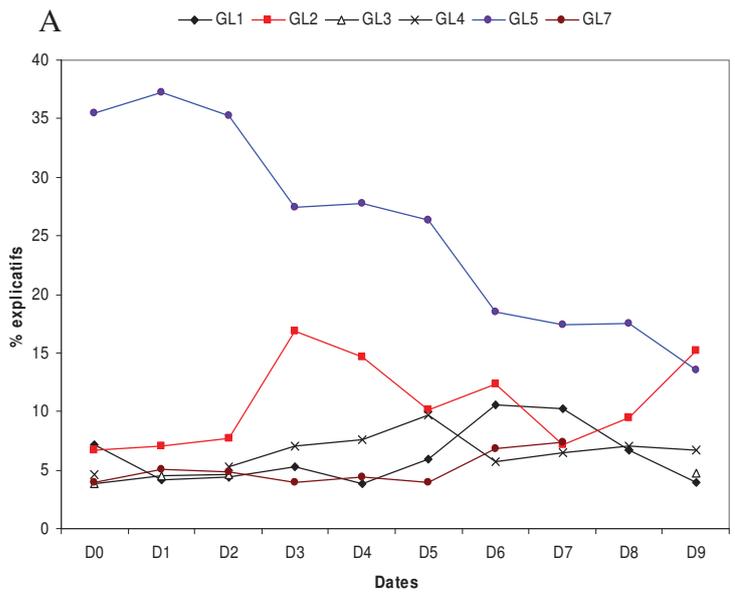
Un autre QTL à effet plus faible a été détecté pour l'ensemble des caractères sur le groupe de liaison 4. Il n'a pas été détecté à toutes les dates et a été détecté plus souvent pour le traitement DPF. Il n'est pas intervenu pas dans la plasticité. La comparaison des classes génotypiques aux marqueurs proches de ce QTL a montré un effet de super-dominance pour la classe ef.

Finalement, en dehors de ces trois QTL commun à tous les caractères, trois QTL ont été identifiés uniquement pour la hauteur sur les groupes de liaison 1, 3 et 7. Les QTL sur les groupes 1 et 7 ont été détectés à de nombreuses dates mais plus souvent pour le traitement DPF que DF tandis que celui sur le groupe de liaison 3 n'a été détecté qu'en début d'expérimentation pour les deux traitements. La comparaison des classes génotypiques aux marqueurs proches du QTL sur le GL1 a montré d'une part que la classe portant l'allèle spécifique du gazon avait une moyenne phénotypique plus faible pour tous les caractères et d'autre part un effet de dominance de l'allèle fourrage. Pour les QTL sur les GL3 et 7, les différences entre classes génotypiques n'étaient pas significatives (Tab.C2.6).

Au total, six QTL ont été identifiés pour la hauteur et trois QTL, compris dans les six premiers, ont été identifiés pour tous les caractères : le nombre de talles, la biomasse et le nombre de graines. Deux QTL ont été identifiés pour la plasticité à la fois du nombre de talles et de la biomasse. Ces deux QTL présentaient des co-localisations avec des QTL de l'ensemble des caractères dont le nombre de talles et la biomasse (Fig.C2.5). De manière générale, les effets additifs entre fourrage et gazon étaient plus forts que les effets de dominance.

Tableau C2.5 : Résultats de la détection de QTL pour la moyenne des différentes dates (Moy...) des caractères de la hauteur étirée (HE), le nombre de talle (NT), la matière sèche (MS), la production de graines (G), la plasticité du nombre de talle (NT-p), la plasticité de la matière sèche (MS-p) dans le traitement de défoliation peu fréquent DPF et fréquent DF ; GL : groupe de liaison ; l'intervalle de confiance est déterminé autour du QTL = LOD-1 ; r^2 est le pourcentage de variation phénotypique expliqué par le QTL.

Traitement	Trait	GL	Position (cM)	marqueurs flanquants	LOD	intervalle	r^2 (%)
DPF	Moy HE	1	23.4	DLF27; G01-68	7.64	19.6 – 28.1	5.5
		2	14.8	G02-49; rv959	13.49	9 – 17.8	10.3
		3	34.3	B3B8; B3B8	4.21	30.8 – 41.2	2.9
		4	54.7	syn4067; Lpssr23	7.79	50.7 – 58.6	5.6
		5	29.9	LpSUT4; ACG-CTG_450	36.69	26.9 – 33.9	35.1
		7	42.6	Lp165; Lp165	6.95	39.1 – 46.6	5
		2	13.8	G02-49; rv959	10.78	8 – 18.8	14.3
DPF	Moy MS	5	29.9	LpSUT4; ACG-CTG_450	19.58	21.7 – 34.9	28.1
		2	13.8	G02-49; rv959	8.56	6 – 19.6	10.9
DF	Moy HE	4	55.7	syn4067; Lpssr23	4.95	50.7 – 61.6	6.1
		5	29.9	LpSUT4; ACG-CTG_450	16.85	22.7 – 34.9	23.2
		2	15.3	G02-49; rv959	5.29	3 – 19.6	8.2
		4	56.6	Lpssr23; Lpssr23	5.16	52.7 – 60.6	8.1
		5	37.9	LpSUT4; ACG-CTG_450	6.42	26.9 – 40.8	9.9
DF	Moy MS	1	23.4	DLF27; G01-68	3.75	19.6 – 30.1	3.1
		2	15.8	G02-49; rv959	7.45	7 – 19.6	6.3
		3	34.3	B3B8; B3B8	5.13	31.8 – 41.2	4.3
		4	52.7	syn4067; Lpssr23	5.27	48.7 – 56.6	4.4
		5	28.9	LpSUT4; ACG-CTG_450	34.27	25.7 – 32.9	38.6
		7	42.6	Lp165; Lp165	3.7	39.1 – 46.6	3
		4	35.4	G05-108; G05-108	4.88	29.1 – 37.4	7
DF	Moy NT	5	29.9	LpSUT4; ACG-CTG_450	16.3	22.7 – 34.9	25.9
		2	14.8	G02-49; rv959	3.79	4 – 19.6	4.7
DF	Moy MS	4	51.7	syn4067; Lpssr23	4.61	47.5 – 56.6	5.7
		5	31.9	LpSUT4; ACG-CTG_450	22.6	27.9 – 35.9	32.8
		2	14.8	G02-49; rv959	6.31	2 – 19.6	9
		4	53.7	syn4067; Lpssr23	7.61	50.7 – 58.6	11
		5	27.9	LpSUT4; ACG-CTG_450	8	20.6 – 35.9	11.7
DF – DPF	Moy NT-p	2	14.8	G02-49; rv959	4.57	0 – 19.6	7.7
		5	31.4	LpSUT4; ACG-CTG_450	8.13	22.7 – 39.9	14.1
DF – DPF	Moy MS-p	2	15.8	G02-49; rv959	4.26	0 – 19.6	7.4
		5	30.9	LpSUT4; ACG-CTG_450	6.04	22.7 – 40.8	10.8



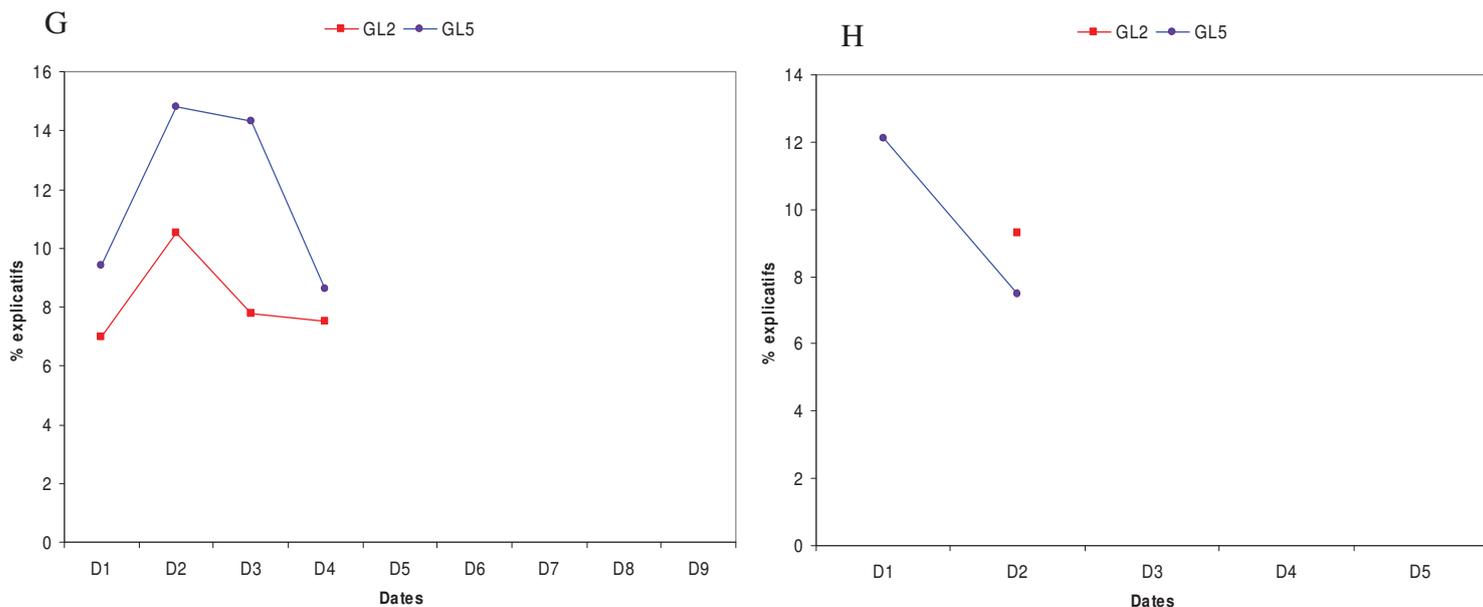


Figure C2.3 : Représentation du niveau de variance phénotypique expliqué au cours du temps pour chaque QTL. Les QTL sont indiqués en fonction de leur groupe de liaison (GL1 à GL7). A et B représentent les QTL impliqués dans la hauteur étirée ; C et D représentent les QTL impliqués dans le nombre de talles ; E et F représentent les QTL impliqués dans la matière sèche ; G représente les QTL impliqués dans la plasticité du nombre de talles et H représente les QTL impliqués dans la plasticité de la matière sèche. A ; C et E représentent le traitement DPF ; B ; D et F représentent le traitement DF.

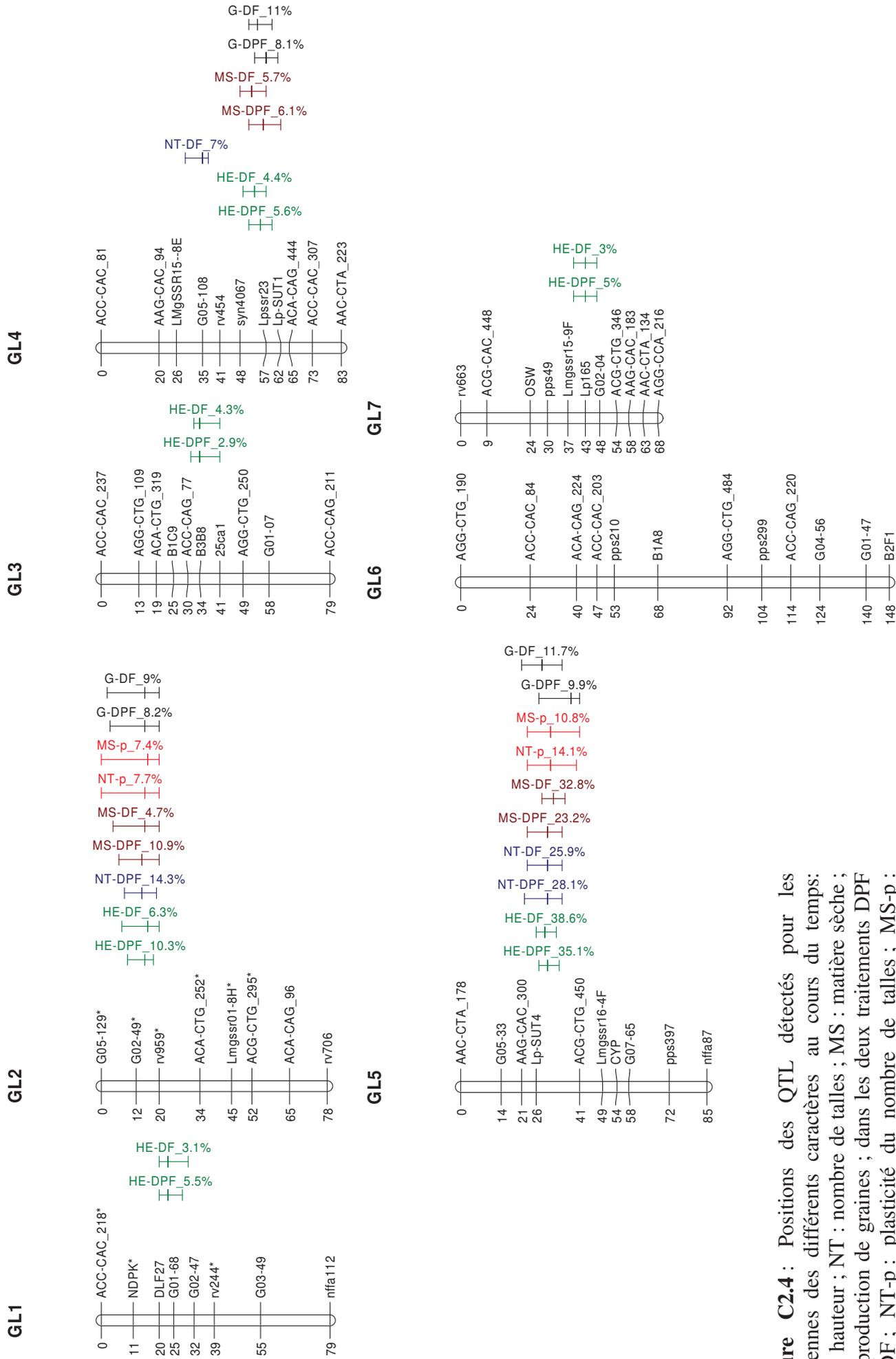


Figure C2.4 : Positions des QTL détectés pour les moyennes des différents caractères au cours du temps; HE : hauteur ; NT : nombre de talles ; MS : matière sèche ; G : production de graines ; dans les deux traitements DPF et DF; NT-p : plasticité du nombre de talles ; MS-p : plasticité de la matière sèche ; Les intervalles de confiance (LOD-1) sont représentés.

Tableau C2.6 : Valeurs moyennes des traits des classes génotypiques des marqueurs proches de QTL impliqués dans la hauteur étirée (HE), le nombre de talles (NT), la matière sèche (MS), la production de graines (PG), la production de talles (NT-p) et la plasticité du nombre de talles (NT-p) et la plasticité de la matière sèche (MS-p) dans le traitement DPF et DF. a : effet additif ; d : effet dominance. L'origine des allèles est indiquée : F : fourrage ; G : gazon. GL : groupe de liaison.

Marqueur	GL	Trait	Traitement DPF				Traitement DF				a	d	Origine de l'allèle h: F, k:G e: F, f:G			
			hh	hk	kk	d	hh	hk	kk	d						
DLF27	1	HE	109 ^a	103 ^a	89 ^b	10	4	HE	81 ^a	79 ^a	71 ^b	5	3			
		G02-49*	HE	102 ^a	112 ^b	93 ^c			HE	77 ^a	84 ^b	74 ^a				
Lmgssr1-8h	2	NT	46 ^a	58 ^b	36 ^a			MS	203 ^{ab}	256 ^b	170 ^a					
		MS	291 ^a	476 ^b	194 ^a			PG	0.07 ^a	0.17 ^b	0.04 ^a					
		PG	0.06 ^a	0.12 ^b	0.03 ^a											
		NT-p	0.18 ^a	0.19 ^a	0.19 ^a											
		MS-p	0.23 ^a	0.28 ^a	0.23 ^a											
B3B8	3	HE	92 ^a	107 ^b	102 ^b	113 ^b	10.5	3.25	HE	72 ^a	82 ^b	80 ^b	7	2.5		
		NT	34 ^a	51 ^b	48 ^b	62 ^b	14	2.25	MS	167 ^a	233 ^{ab}	231 ^{ab}	58	7.5		
		MS	189 ^a	370 ^a	284 ^a	584 ^b	197.5	38	PG	0.05 ^a	0.14 ^b	0.05 ^a	0.07	0		
		PG	0.03 ^a	0.09 ^{ab}	0.05 ^a	0.14 ^b	0.06	0.03								
		NT-p	0.21 ^a	0.17 ^a	0.14 ^a	0.22 ^a	0.005	0.053								
Lpssr23	4	MS-p	0.24 ^a	0.26 ^a	0.26 ^a	0.33 ^a	0.045	0.025	PG	0.07 ^a	0.20 ^b	0.06 ^a	0.02	0.06		
		HE	98 ^a	101 ^a	104 ^a	96 ^a	1.5	6.1	HE	76 ^a	78 ^a	81 ^a	1	3.75	e: F, f:G	
		HE	102 ^{ab}	110 ^b	96 ^a	94 ^a	4	3.4	HE	77 ^a	85 ^b	75 ^a	1.5	3.4	e: F, f:G	
		MS	250 ^a	478 ^b	239 ^a	220 ^a	15	96.4	NT	38 ^a	51 ^b	45 ^{ab}	2.5	6.8		
		PG	0.05 ^a	0.13 ^b	0.06 ^a	0.02 ^a	0.015	0.052	MS	158 ^a	283 ^b	188 ^a	14.5	63.1		
Lp-SUT4	5	HE	112 ^a	87 ^b	114 ^c	90 ^b	8.5	6.1	HE	87 ^a	68 ^b	85 ^a	7.8	2.8	a,d: G ; b,c: F	
		NT	57 ^a	29 ^b	29 ^b	54.9 ^a	10.8	3.1	NT	84 ^a	35 ^b	36.2 ^b	9.3	0.8		
		MS	458 ^a	123 ^b	123 ^b	151.8 ^b	107.7	37.3	MS	298 ^a	110 ^b	264.8 ^a	87.8	1.3		
		PG	0.09 ^a	0.03 ^b	0.03 ^b	0.04 ^a	0	0.04	PG	0.15 ^a	0.03 ^b	0.14 ^a	0.04 ^b	0.025	0.014	
		MS-p	0.16 ^a	0.21 ^b	0.16 ^a	0.21 ^{ab}	0.03	0.004	PG	0.10 ^a	0.05 ^b	0.14 ^a	0.04 ^b	0.025	0.014	
Lmgssr16-4F	7	HE	104.5 ^a	87.4 ^b	114.4 ^c	90.2 ^b	8.5	6.1	HE	83.3 ^a	67.8 ^b	85.4 ^a	7.8	2.8	a,d: G ; b,c: F	
		NT	51.2 ^a	29.6 ^b	29.6 ^b	54.9 ^a	10.8	3.1	NT	52.4 ^a	33.9 ^b	50 ^a	9.3	0.8		
		MS	367.2 ^a	151.8 ^b	445.1 ^a	156.4 ^b	107.7	37.3	MS	286.3 ^a	110.7 ^b	264.8 ^a	133.3 ^b	87.8	1.3	
		PG	0.04 ^a	0.04 ^a	0.04 ^a	0.04 ^a	0	0.04	PG	0.10 ^a	0.05 ^b	0.14 ^a	0.04 ^b	0.025	0.014	
		MS-p	0.16 ^{ab}	0.22 ^{ab}	0.16 ^a	0.21 ^{ab}	0.03	0.004	PG	0.10 ^a	0.05 ^b	0.14 ^a	0.04 ^b	0.025	0.014	
Lp165	7	HE	101 ^a	104 ^a	96 ^a	97 ^a	2	0.6	HE	80 ^a	78 ^a	75 ^a	2	1.5	e: G, f:G	
		MS-p	0.22 ^{ab}	0.27 ^{ab}	0.30 ^a	0.21 ^b	0.025	0.009	PG	0.10 ^a	0.05 ^b	0.14 ^a	0.04 ^b	0.025	0.014	

* la classe ee n'est pas indiquée à cause de la distorsion du marqueur (seulement 3 individus dans cette classe)
a, b, c Valeurs des traits significativement différentes (P < 0.05) (test de Newman-Keuls)

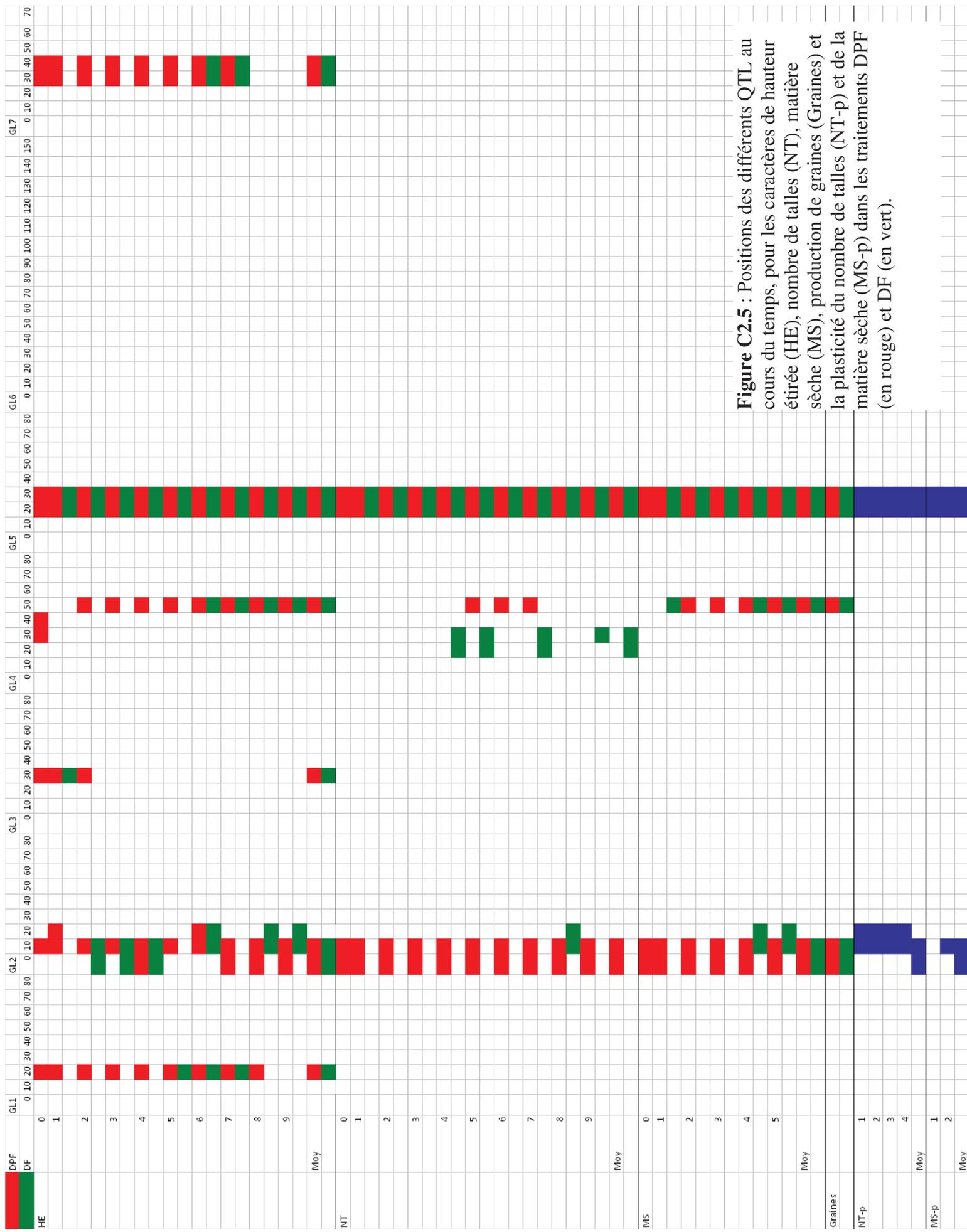


Figure C2.5 : Positions des différents QTL au cours du temps, pour les caractères de hauteur étirée (HE), nombre de talles (NT), matière sèche (MS), production de graines (Graines) et la plasticité du nombre de talles (NT-p) et de la matière sèche (MS-p) dans les traitements DPF (en rouge) et DF (en vert).

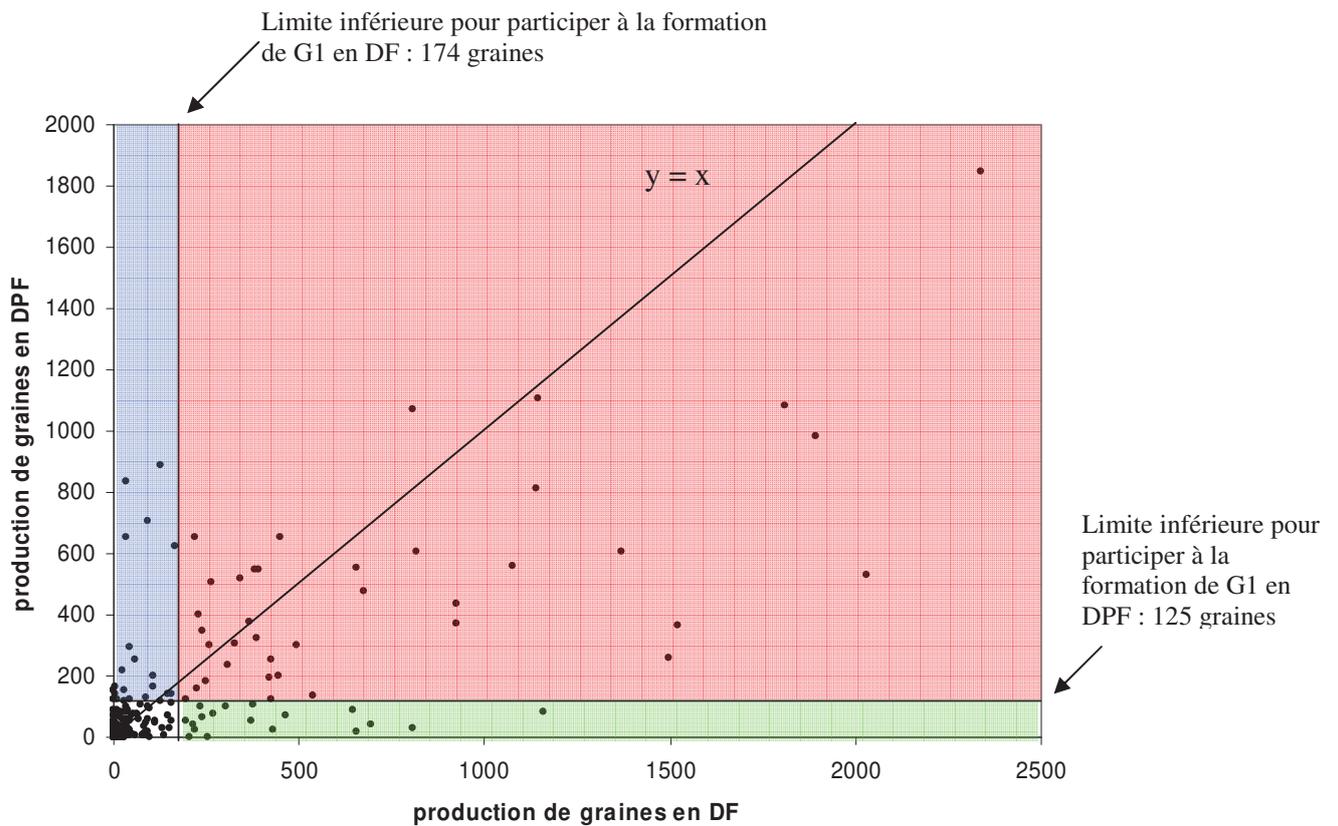
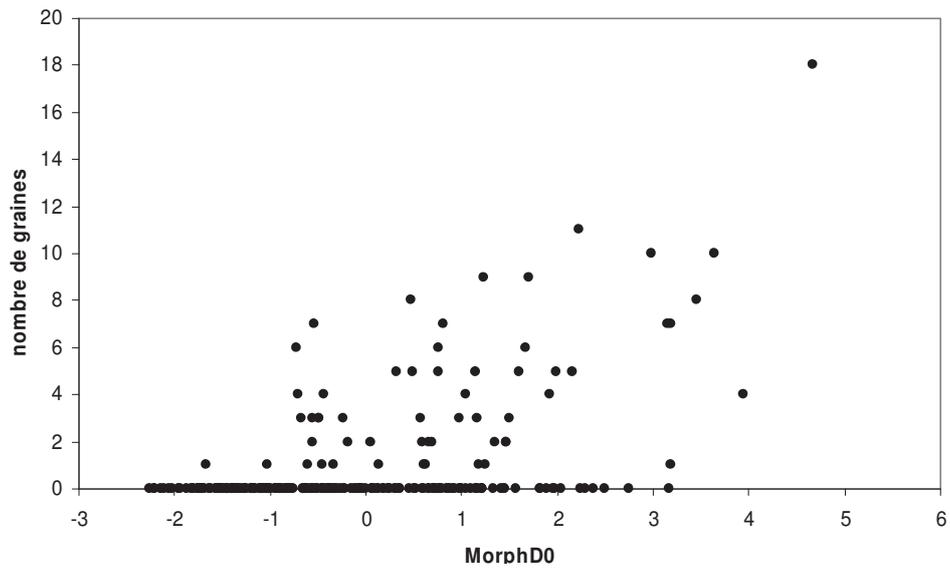


Figure C2.6 : Production de graines de chaque génotype (répliquâts cumulés) dans le traitement DF et DPF. En rouge : les génotypes sont sélectionnés pour participer dans les deux populations G1 (38 génotypes); en vert : les génotypes sont sélectionnés pour participer uniquement dans la population G1-DFb (18 génotypes) ; en bleu : les génotypes sont sélectionnés pour participer uniquement dans la population G1-DPFb (18 génotypes) ; en blanc : les génotypes ne participent à aucune des populations G1 (162 génotypes). Cette participation est uniquement basée sur la production de graines.

C2.3.4. Passage de la génération G0 à la génération G1

La composition de la génération G1 a été réalisée de manière proportionnelle à la contribution en production de graines des individus de la génération G0. Compte tenu du nombre de graines total en G0 et du nombre de plantes souhaité (240) dans la génération G1 pour chacun des traitements, pour qu'un génotype de la génération G0 puisse participer à la génération G1 il fallait qu'il ait produit au minimum 125 graines (répliquats cumulés) dans le traitement DPF et 174 graines dans le traitement DF (Fig.C2.6). Dans chaque traitement, 24% des génotypes de la population G0 ont participé à la formation de la génération G1-DPFb ou G1-DFb car ils ont fourni suffisamment de graines pour être représentés au moins une fois. Ces 24% représentent 56 génotypes de G0, parmi lesquels 38 ont participé à la fois dans les deux traitements (Fig.C2.6 en rouge) et 18 génotypes ont participé uniquement à l'un des deux traitements (Fig.C2.6 en bleu ou vert). Les 38 génotypes communs aux deux traitements représentaient une contribution de 76% dans le traitement DPF et 80% dans le traitement DF du nombre total de graines sélectionnées pour former ces populations. En effet, ces génotypes communs ont produit beaucoup de graines dans les deux traitements et ont été donc représentés en proportion. De plus, en considérant les tests de paternité (cf. annexe 4 : tests de paternité), on s'est aperçu que certains génotypes ont participé à la reproduction uniquement du côté paternel. En considérant le côté paternel et maternel, on a observé que 48.5% des génotypes de G0 ont participé à la formation de la génération G1 soit du côté maternel (graines) soit du côté paternel (pollen) soit des deux côtés. Ces 48.5% représentent 114 génotypes de G0 dont 79 sont communs aux deux populations G1-DPFb et G1-DFb. Les génotypes communs ont été les parents de 88% de la population G1-DPFb et 90% de la population G1-DFb. Il ressort donc que la grande majorité des individus de la génération G1 pour les deux traitements sont provenus de la moitié des génotypes de la population G0.

Défoliation peu fréquente



Défoliation fréquente

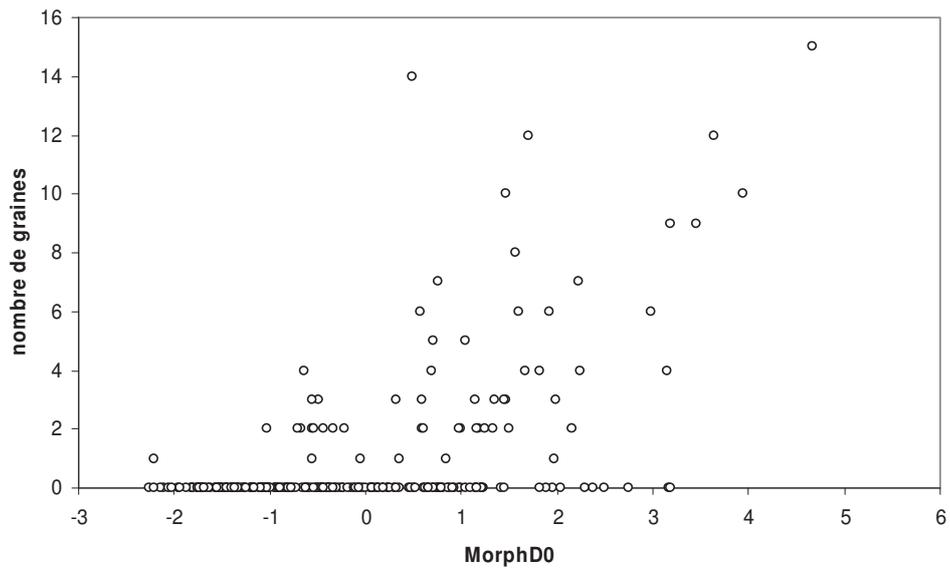


Figure C2.7 : Nombre de graines des individus de G0 dans le traitement DPF et DF conservées pour la formation de la génération G1. Dans les deux traitements les génotypes ayant une valeur de MorphD0 élevée ont contribué davantage à la génération G1 que les génotypes ayant une faible valeur de MorphD0.

Néanmoins, la contribution des génotypes de la génération G0 à la génération G1 a été différente entre les traitements du fait des différences de production de graines entre les traitements (Fig.C2.6). En comparant la relation entre le morphotype des génotypes de la génération G0 et le nombre de graines fourni pour l'obtention des populations G1 (Fig.C2.7), on a observé que les génotypes ayant contribué fortement via le nombre de graines ont un morphotype fourrage dans les deux traitements.

D'après ces résultats, il est probable d'obtenir des variations de fréquences alléliques au passage de la génération G0 à la génération G1. Etant donné les corrélations positives entre la production de graines avec les valeurs des traits morphologiques (Tab.C2.1) et la contribution différente à la génération G1 entre génotypes selon leur morphotype les variations de fréquences alléliques devraient impliquer les caractères morphologiques et donc des QTL. Les variations de fréquences alléliques devraient avoir globalement la même direction dans les deux populations G1 issues de traitements différents. Cependant, il est probable d'avoir de faibles différences entre celles-ci car les contributions des génotypes G0 à la génération G1 n'ont pas été égales entre traitements.

Les intensités de sélection ont été modérées pour tous les caractères (Tab.C2.7). Elles sont toutes positives concernant les caractères et négatives concernant les plasticités sauf à la dernière date concernant la plasticité du nombre de talles. Les intensités de sélection les plus forts ont été observés pour la production de graines (1.55 dans le traitement DPF et 1.75 dans le traitement DF). Les intensités les moins fortes concernaient les indices de plasticité du nombre de talles et de biomasse sèche.

Tableau C2.7 : Intensité de sélection (i) des caractères de hauteur étirée (HE), nombre de talles (NT), biomasse sèche (MS), plasticité du nombre de talles (NT-p), plasticité de la biomasse sèche (MS-p) et production de graines (G) aux différentes dates et dans les deux traitements (DPF ; DF).

Date	Trait	i_{DPF}	i_{DF}
1	HE	0.81	0.78
2	HE	0.88	0.65
3	HE	1.01	0.91
4	HE	0.99	1.06
5	HE	0.98	0.87
6	HE	0.86	0.90
7	HE	0.87	0.97
8	HE	0.99	1.09
9	HE	1.08	1.18
1	NT	0.92	0.79
2	NT	1.07	0.74
3	NT	1.09	0.79
4	NT	1.07	0.83
5	NT	1.05	0.80
6	NT	0.97	0.80
7	NT	1.03	0.86
8	NT	0.98	0.98
9	NT	0.75	1.00
1	MS	1.04	0.98
2	MS	1.15	0.79
3	MS	1.21	0.95
4	MS	1.23	1.13
5	MS	1.24	1.18
1	NT-p	-0.41	-0.22
2	NT-p	-0.70	-0.55
3	NT-p	-0.70	-0.50
4	NT-p	-0.58	-0.34
5	NT-p	-0.60	-0.39
6	NT-p	-0.50	-0.27
7	NT-p	-0.43	-0.19
8	NT-p	-0.25	-0.03
9	NT-p	0.09	0.27
1	MS-p	-0.56	-0.40
2	MS-p	-0.58	-0.39
3	MS-p	-0.47	-0.23
4	MS-p	-0.54	-0.25
5	MS-p	-0.55	-0.27
	G	1.55	1.75

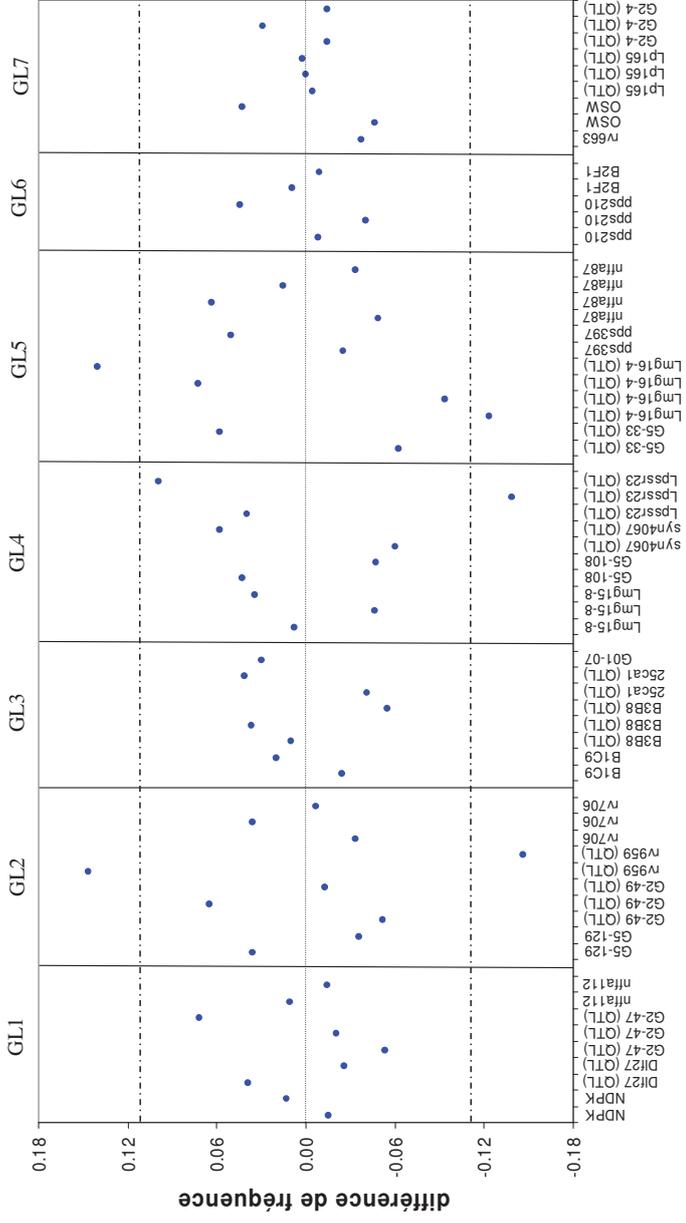
C2.3.5. Fréquences alléliques

Pour évaluer si les six régions du génome présentant des QTL de morphologie ont été soumises à sélection dans le passage de la génération G0 à G1, trois stratégies ont été adoptées.

La première stratégie a consisté à évaluer si les fréquences alléliques des QTL variaient plus qu'en moyenne ($1.96 \times$ écart type de 0.057 pour G1-DPFb et 0.076 pour G1-DFb) sur le génome (Fig.C2.8). Des variations de fréquences alléliques plus importantes que la moyenne ont été notées pour les QTL sur les GL2, 4 et 5 au passage de la population G0 aux populations G1-DPFb et G1-DFb. Ces QTL sont impliqués dans les variations de l'ensemble des caractères morphologiques dont la production de graines. Cependant, au passage à la population G1-DPFb on a observé des marqueurs proches de ces QTL dont les fréquences variaient peu. De plus, une variation importante a été observée sur le QTL du GL3 uniquement pour le passage dans la population G1-DFb. Ce QTL est impliqué dans la hauteur des plantes dans les deux traitements DPF et DF. Les variations de fréquences alléliques entre G0 et G1 ont été proches des variations observées en moyenne pour les QTL des GL1 et 7 correspondant à des QTL à effet faible et uniquement pour la hauteur.

La deuxième stratégie a consisté à comparer les évolutions de fréquences alléliques entre les trois répliquats (Fig.C2.9). Les variations ont été de manières générales, plus fortes pour les marqueurs QTL que pour les marqueurs non QTL. De plus, les variations importantes de fréquences des allèles des marqueurs QTL (GL2, 4 et 5 pour G1-DPFb et GL2, 3, 4 et 5 pour G1-DFb) allaient tous dans le même sens tandis que concernant les marqueurs non QTL, les variations semblaient plutôt aléatoires (augmentation ou diminution de fréquence). On a observé toutefois, concernant un marqueur QTL, un répliquat qui différait des autres sur le GL4 de la population G1-DPFb. Les marqueurs situés dans les groupes statistiques les plus extrêmes correspondaient à des marqueurs QTL dans les deux populations G1 (Tab.C2.8).

Evolution des fréquences alléliques G1-DPF



Evolution des fréquences alléliques G1-DF

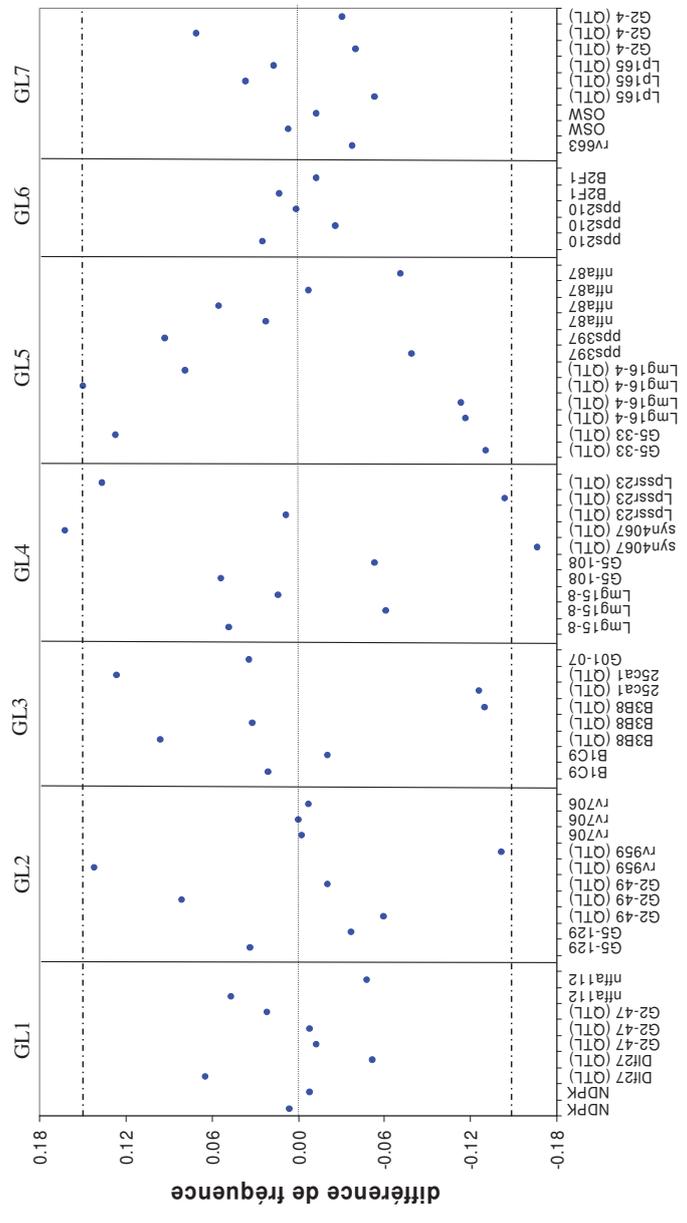
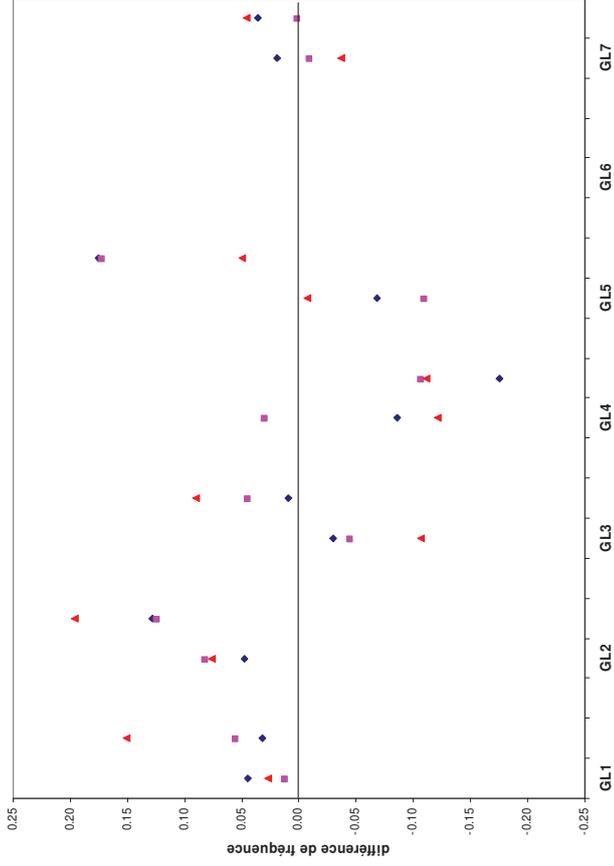
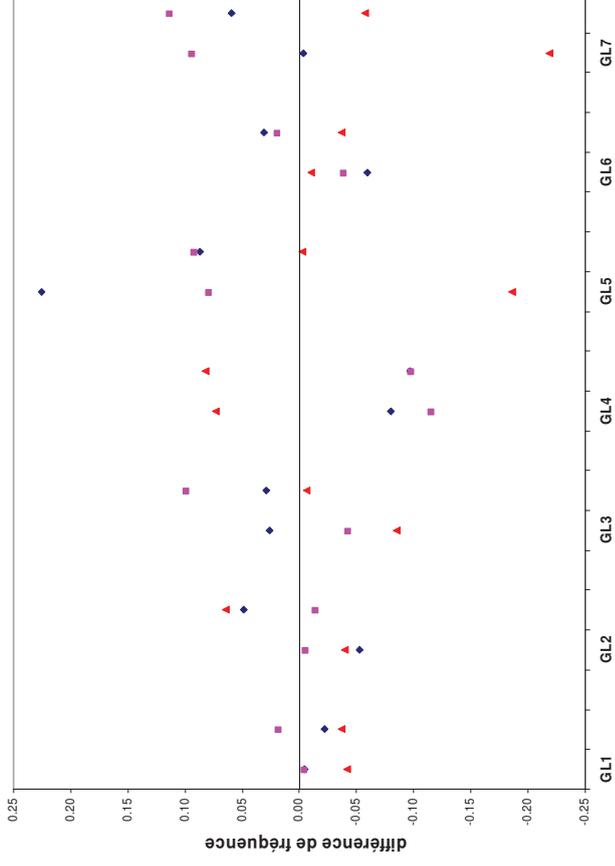


Figure C2.8 : Différence de fréquences alléliques entre la génération G0 d'une part et les générations G1-DPFb (issue d'individus défoliés peu fréquemment) et G1-DFb (issue d'individus défoliés fréquemment) d'autre part. La ligne en pointillée représente 1.96 fois l'écart-type.

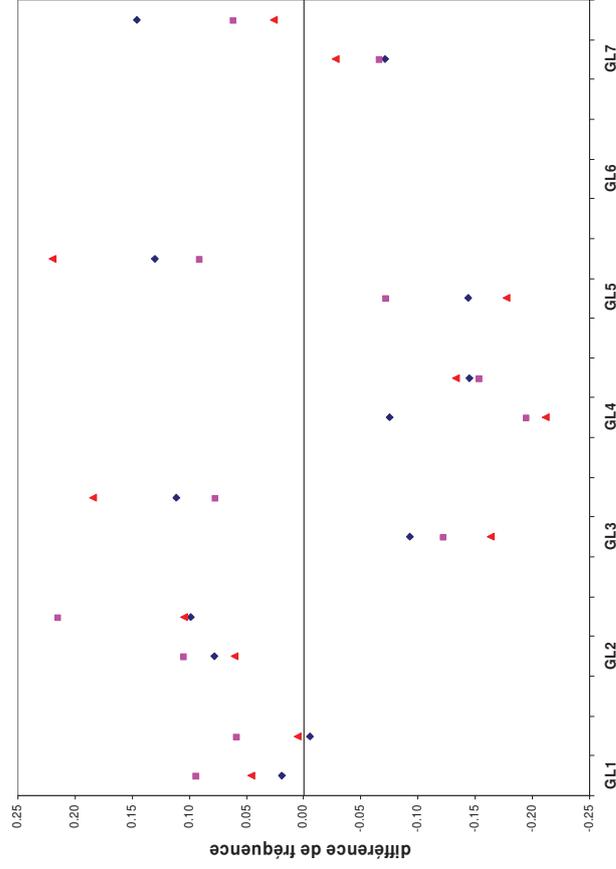
Répliquâts G1-DPF marqueurs QTL



Répliquâts G1-DPF marqueurs non QTL



Répliquâts G1-DF marqueurs QTL



Répliquâts G1-DF marqueurs non QTL

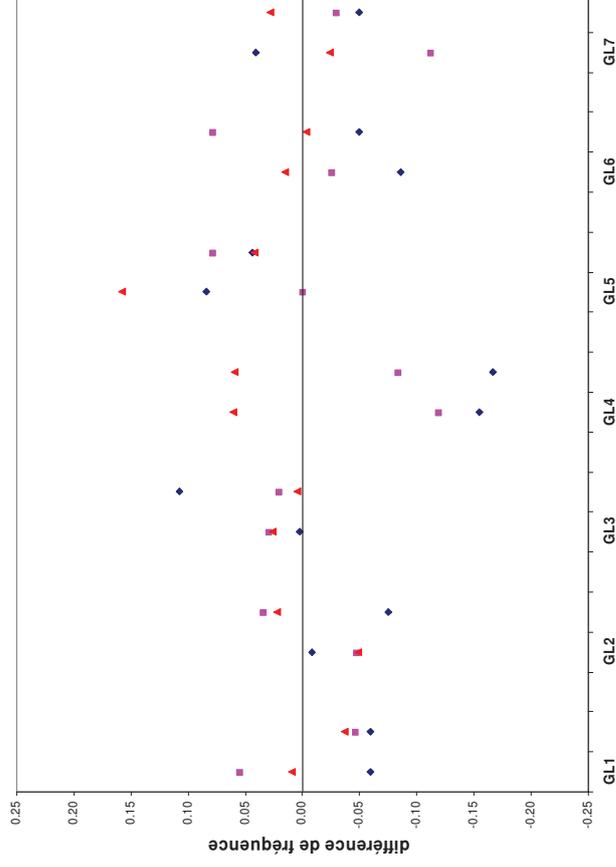


Figure C2.9 : Différence de fréquences alléliques entre la génération G0 d'une part et les générations G1-DPFb (issue d'individus peu fréquemment) et G1-DFb (issue d'individus défoliés fréquemment) d'autre part pour chaque répliquâts de G0. En abscisse, les différents marqueurs le long des groupes de liaison (GL). Pour chaque marqueur, seul l'allèle variant le plus est conservé. Les différents répliquâts sont indiqués en bleu, rouge et rose.

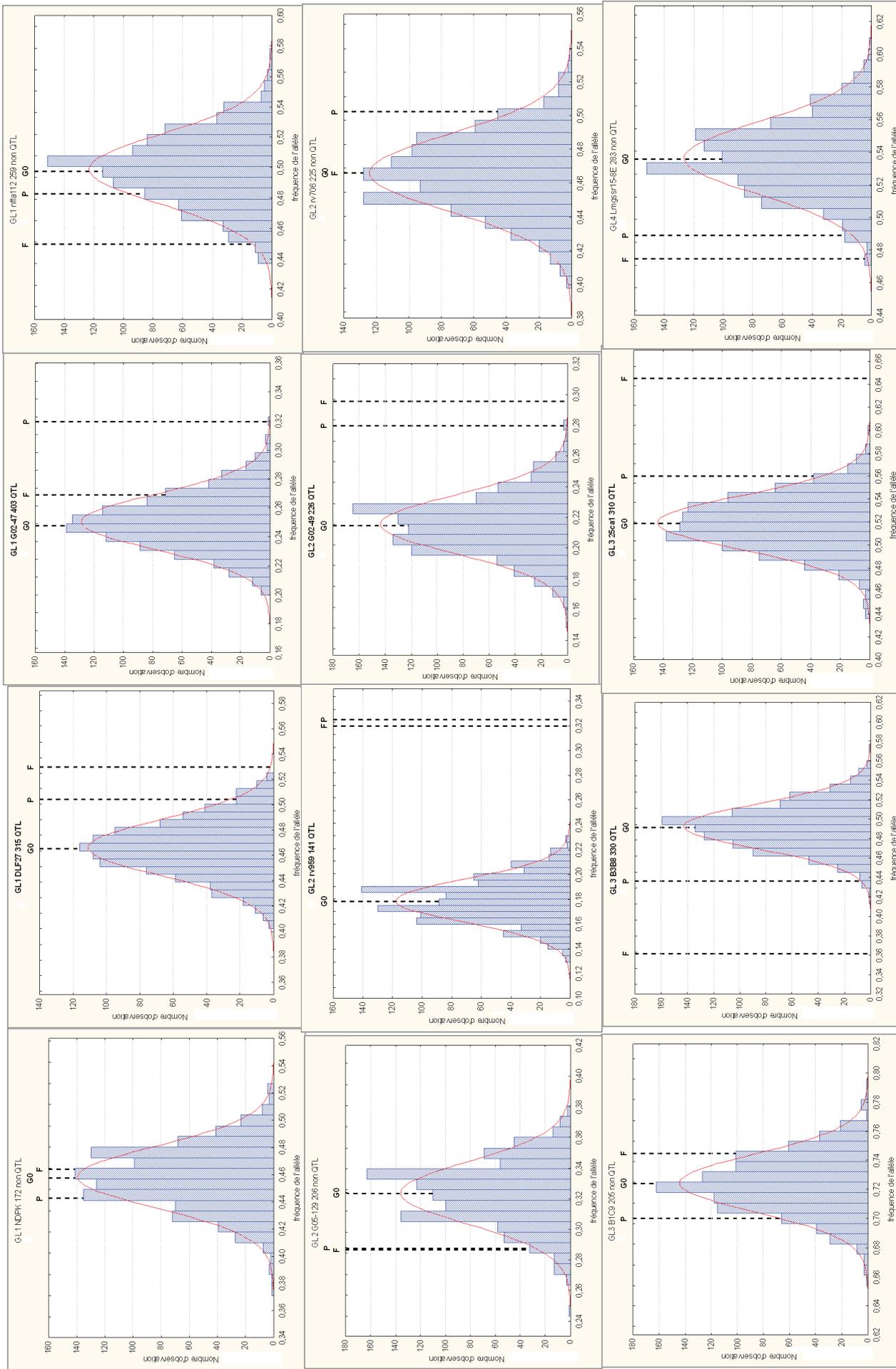
Tableau C2.8 : Différences de fréquence moyenne des marqueurs, pour chaque population G1, réalisées à partir des trois répliquats. Les groupes NK représentent les différences significatives à 5% calculées à l'aide du test de Newman et Keuls. Les barres verticales représentent les différents groupes statistiques. Les marqueurs QTL sont indiqués en gras. Pour chaque marqueur, seul l'allèle variant le plus est conservé.

G1-DPFb				G1-DFb			
GL	Marqueur	fréquence	NK	GL	Marqueur	fréquence	NK
2	rv959	0.1496	a	5	Lmgssr16-4F	0.1468	a
5	Lmgssr16-4F	0.1322	ab	2	rv959	0.1391	ab
1	G02-47	0.0794	abc	3	25ca1	0.1245	abc
2	G02-49	0.0687	abc	2	G02-49	0.0810	abcd
5	nffa87	0.0589	abc	7	G02-04	0.0778	abcd
3	25ca1	0.0481	abc	5	nffa87	0.0544	abcd
3	dias7	0.0406	abc	1	DLF27	0.0528	abcd
7	OSW	0.0385	abc	3	dias7	0.0443	abcd
2	rv706	0.0329	abc	1	G02-47	0.0192	abcde
1	DLF27	0.0278	abc	3	B1C9	0.0190	abcde
7	G02-04	0.0276	abc	6	B2F1	0.0084	abcdef
6	B2F1	0.0047	abcd	1	NDPK	0.0016	abcdef
7	Lp165	-0.0090	bcd	2	rv706	-0.0065	abcdefg
1	nffa112	-0.0136	bcd	7	OSW	-0.0171	bcdefg
1	NDPK	-0.0170	bcd	6	pps210	-0.0322	cdefg
2	G05-129	-0.0326	cd	2	G05-129	-0.0346	cdefg
3	B1C9	-0.0337	cd	1	nffa112	-0.0475	defg
6	pps210	-0.0363	cd	7	Lp165	-0.0552	defg
4	G05-108	-0.0377	cd	4	G05-108	-0.0634	defg
4	Lmgssr15-8E	-0.0404	cd	4	Lmgssr15-8E	-0.0711	defg
4	syn4067	-0.0589	cd	3	B3B8	-0.1264	efg
3	B3B8	-0.0603	cd	5	G05-33	-0.1311	efg
5	G05-33	-0.0615	cd	4	Lpssr23	-0.1443	fg
4	Lpssr23	-0.1312	d	4	syn4067	-0.1603	g

Dans la population G1-DPFb ces marqueurs étaient situés sur les groupes de liaison 1, 2, 3, 4 et 5 ; dans la population G1-DFb ces marqueurs étaient situés sur les groupes de liaison 2, 3, 4, 5 et 7.

La troisième stratégie a consisté à comparer pour chaque marqueur les fréquences alléliques observées à celles attendues (simulations) uniquement sous dérive (sans sélection) (Fig.C2.10). Ces résultats montrent que les plus grandes différences de fréquences alléliques constatées au niveau des QTL sur les GL2, 4 et 5, dans les deux populations G1 étaient bien en dehors des distributions théoriques obtenues (Fig.C2.10). Dans les deux populations G1, les marqueurs encadrant un QTL avaient des fréquences en dehors de l'intervalle de confiance à 95% sauf sur le GL7 pour la population G1-DPFb (Tab.C2.9). La plupart des fréquences alléliques des populations G1 pour les marqueurs non QTL se situaient dans la distribution obtenue par tirage aléatoire, il y avait cependant quelques marqueurs non QTL pour lesquels la fréquence allélique des populations G1 était assez éloignée (Tab.C2.9). Il s'agissait de marqueurs sur les GL4 et GL5. Les distances entre marqueurs n'ont pas été prises en compte et un modèle plus réaliste pourrait éventuellement expliquer ce phénomène par les recombinaisons et l'intensité des forces de sélection agissant au QTL. Pour la population G1-DPFb, deux autres valeurs de fréquences alléliques de marqueurs non QTL se sont révélées en dehors de l'intervalle de confiance sur les GL6 et GL7, ces fréquences étaient à la limite extérieure de l'intervalle.

En considérant les résultats des trois stratégies, il ressort que nous avons observé une évolution importante des fréquences alléliques dans trois groupes de liaisons (GL2, 4, 5) dans les deux populations G1 et ces variations ont été plus importantes aux marqueurs QTL. Nous avons observé également des évolutions plus faibles, sur le GL1, et le GL3 qui ont affecté davantage la population G1-DFb que la population G1-DPFb ainsi qu'une faible évolution et sur le GL7 qui n'a affecté que la population G1-DFb.



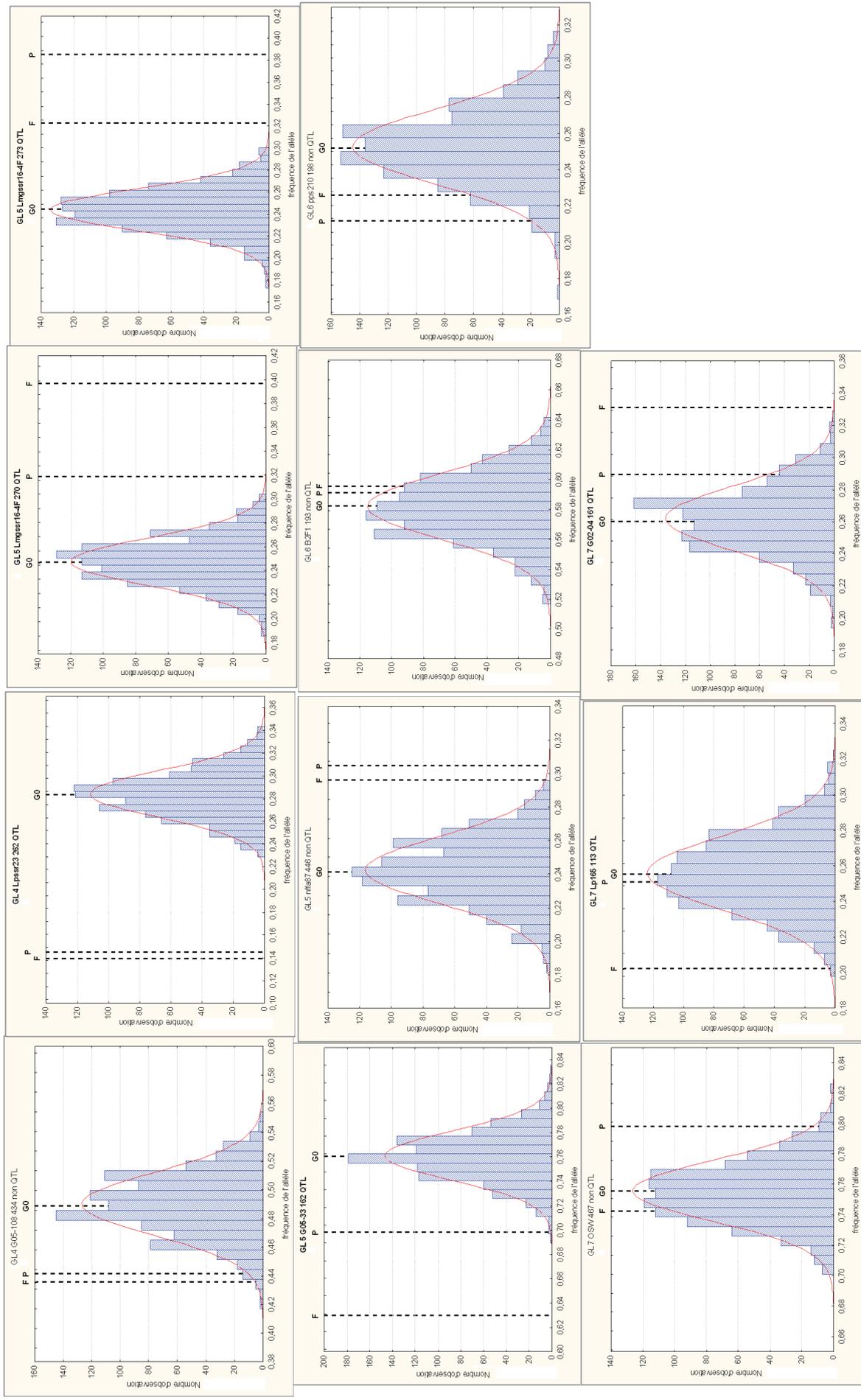


Figure C2.10 : Résultats des simulations. Les histogrammes représentent les distributions des fréquences effectués avec la courbe normale associée. Au dessus de chaque graphique est indiqué le groupe de liaison, le nom du marqueur, la taille de l'allèle et si le marqueur est considéré comme QTL ou non. Les barres verticales en pointillées représentent les fréquences des populations **G0**, **G1-DPFb (P)** et **G1-DFb (F)**. Seul l'allèle du marqueur dont la fréquence varie le plus est indiqué sauf pour le marqueur Lmgssr16-4F car ce n'est pas le même allèle qui varie le plus dans les deux populations **G1**.

Tableau C2.9 : Fréquence allélique observées des marqueurs et intervalle de confiance (IC) à 95% sous hypothèse de dérive génétique. Les marqueurs QTL sont indiqués avec un nom en gras. Les fréquences en dehors de l'intervalle sont indiquées en gras.

GL	marqueur	allèle	IC 95%	G1-DPFb	G1-DFb
1	NDPK	172	0.4146 ; 0.5000	0.4426	0.4637
1	DLF27	315	0.4208 ; 0.5104	0.5043	0.5297
1	G02-47	403	0.2125 ; 0.2896	0.3196	0.2692
1	nffa112	259	0.4535 ; 0.5410	0.4828	0.4494
2	G05-129	206	0.2827 ; 0.3598	0.2878	0.2866
2	G02-49	226	0.1792 ; 0.2521	0.2797	0.2954
2	rv959	141	0.1458 ; 0.2125	0.3250	0.3201
2	rv706	225	0.4208 ; 0.5104	0.5022	0.4660
3	B1C9	205	0.6875 ; 0.7625	0.7000	0.7448
3	B3B8	330	0.4479 ; 0.5375	0.4364	0.3617
3	25ca1	310	0.4735 ; 0.5631	0.5603	0.6453
4	Lmgssr15-8E	283	0.4917 ; 0.5813	0.4891	0.4745
4	G05-108	434	0.4461 ; 0.5315	0.4413	0.4353
4	Lpsr23	262	0.2417 ; 0.3250	0.1450	0.1396
5	G05-33	162	0.7208 ; 0.7979	0.6983	0.6297
5	Lmgssr16-4F	270	0.2083 ; 0.2875	0.3191	0.3966
5	Lmgssr16-4F	273	0.2042 ; 0.2813	0.3851	0.3228
5	nffa87	446	0.2021 ; 0.2792	0.3046	0.2962
6	pps210	198	0.2125 ; 0.2875	0.2118	0.2263
6	B2F1	193	0.5375 ; 0.6229	0.5913	0.5957
7	OSW	467	0.7178 ; 0.7949	0.7982	0.7425
7	Lp165	113	0.2188 ; 0.2958	0.2511	0.2021
7	G02-04	161	0.2208 ; 0.3021	0.2894	0.3312

C2.3.6. Effet des allèles et leurs évolutions

Précédemment, nous avons mis en évidence les effets des allèles sur le phénotype pour les marqueurs proches des QTL ainsi que leur origine gazon ou fourrage (Tab.C2.6). Des différences phénotypiques significatives ont été observées concernant les GL1, 2, 4 et 5. Il apparaît bien que les allèles associés à une grande taille à ces marqueurs ont vu leur fréquence augmenter et ceci dans les deux populations : sur le GL1 l'allèle 'h' (315) du marqueur DLF27 et sur le GL2 l'allèle 'e' (226) du marqueur G02-49, sur le GL4 les allèles 'ef' (257-275) du marqueur Lpssr23 (hétérosis). Bien que pour le marqueur Lp-SUT4 situé proche du QTL majeur du groupe de liaison 5, nous n'avons pas pu discerner toutes les classes génotypiques ce qui a eu pour conséquence de sous estimer les effets génotypiques, des variations de fréquences ont été observées (différence de -0.0531 pour G1-DPFb et de -0.1163 pour G1-DFb). Le tableau C2.10 résume l'origine des allèles, leur répartition chez les parents ainsi que le sens des variations de fréquences.

C2.3.7. Diversité génétique

Le nombre d'allèle est resté identique au passage à la génération G1, c'est-à-dire qu'il n'y a pas eu de perte allélique. Aucun allèle n'était rare en G0. La diversité génétique estimée par l'hétérozygotie attendue est présentée dans le tableau C2.11, figure C2.11 et figure C2.12. On remarque que les différences ont été plus importantes parmi les marqueurs QTL que les marqueurs non QTL (Tab.C2.12) et ceci en particulier pour les marqueurs QTL des GL2, 4 et 5 pour la population G1-DPFb et les GL2, 3, 4 et 5 pour la population G1-DFb. On remarque toutefois, un marqueur non QTL sur le GL7 (OSW) qui a présenté des différences importantes dans la population G1-DPFb.

Tableau C2.10 : Génotype des parents et grands parents de la population G0 aux marqueurs QTL et non QTL. Les marqueurs QTL sont indiqués en gras, pour chacun d'eux les allèles qui augmentent en fréquence au passage à la génération G1 sont indiqués en rouge, les allèles dont la fréquence diminue sont indiqués en bleu.

GL	Marqueurs	Gagny		Imagine		C2-13		C2-14	
1	NDPK	172	172	175	175	172	175	172	175
1	DLF27	315	315	318	318	315	318	315	318
1	G02-47	380	403	396	396	403	396	380	396
1	nffa112	257	259	257	257	259	257	257	259
2	G05-129	203	203	203	206	203	206	203	203
2	G02-49	226	226	230	221	226	231	226	221
2	rv959	141	141	144	144	141	144	141	144
2	rv706	225	228	212	228	225	228	212	225
3	B1C9	205	205	205	230	205	205	205	230
3	B3B8	330	330	320	325	330	320	330	325
3	25ca1	306	306	310	310	306	310	306	310
3	dias7	0	0	224	0	0	224	0	0
4	Lmgssr15-8E	281	285	283	283	283	285	281	283
4	G05-108	429	429	429	434	429	434	429	434
4	syn4067	472	493	0	493	472	0	493	0
4	Lpsr23	275	275	257	262	275	257	275	262
5	G05-33	162	162	162	172	162	162	162	172
5	Lmgssr16-4F	265	273	251	270	251	273	265	270
5	pps397	245	0	0	272	0	0	245	272
5	nffa87	446	460	437	462	446	462	437	460
6	pps210	196	200	198	200	196	198	196	200
6	B2F1	193	195	193	193	193	193	193	195
7	rv663	137	0	0	0	0	0	137	0
7	OSW	464	467	467	467	464	467	467	467
7	Lp165	118	113	115	115	115	118	115	113
7	G02-04	161	157	169	169	169	161	169	157

Tableau C2.11 : Hétérozygotie attendue calculée chez G0, G1-DPFb et G1-DFb pour chaque marqueur et différences en valeurs absolues entre les populations G1 et G0.

GL	Marqueurs QTL	He			Différences	
		G0	G1-DPFb	G1-DFb	DPFb	DFb
1	DLF27	0.4976	0.4869	0.4860	0.0107	0.0116
1	G02-47	0.5907	0.5913	0.5945	0.0006	0.0039
2	G02-49	0.6437	0.6621	0.6642	0.0183	0.0205
2	rv959	0.2934	0.4388	0.4353	0.1453	0.1419
3	B3B8	0.6291	0.6548	0.6654	0.0256	0.0363
3	25ca1	0.4993	0.4927	0.4578	0.0066	0.0415
4	Lpssr23	0.6320	0.5658	0.5392	0.0662	0.0928
5	G05-33	0.3641	0.4239	0.4694	0.0598	0.1054
5	Lmgssr16-4F	0.7498	0.7073	0.6996	0.0425	0.0502
7	Lp165	0.6342	0.6352	0.6130	0.0010	0.0213
7	G02-04	0.6293	0.6343	0.6352	0.0050	0.0058
Moyenne					0.0347	0.0483
GL	Marqueurs non QTL	G0	G1-DPFb	G1-DFb	DPFb	DFb
1	NDPK	0.4964	0.4957	0.4996	0.0006	0.0032
1	nffa112	0.5000	0.5038	0.4972	0.0038	0.0028
2	G05-129	0.4378	0.4099	0.4149	0.0279	0.0229
2	rv706	0.6398	0.6260	0.6453	0.0137	0.0055
3	B1C9	0.3995	0.4225	0.3801	0.0230	0.0193
4	Lmgssr15-8E	0.6049	0.6315	0.6367	0.0265	0.0317
4	G05-108	0.4997	0.4980	0.4916	0.0017	0.0081
5	nffa87	0.7485	0.7478	0.7415	0.0007	0.0070
6	pps210	0.6370	0.6372	0.6249	0.0002	0.0121
6	B2F1	0.4864	0.4833	0.4817	0.0031	0.0047
7	OSW	0.3691	0.3239	0.3856	0.0452	0.0165
Moyenne					0.0133	0.0122

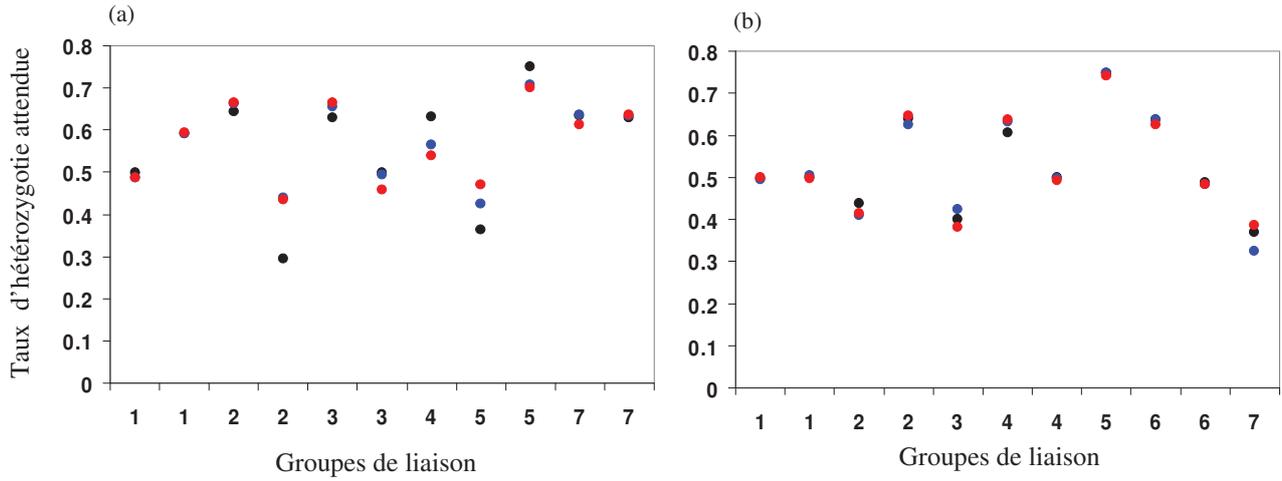


Figure C2.11 : Taux d'hétérozygotie attendue dans les populations G0 (noir), G1-DFb (rouge), G1-DPFb (bleue) sur les marqueurs liés aux QTL (a) et non liés aux QTL (b).

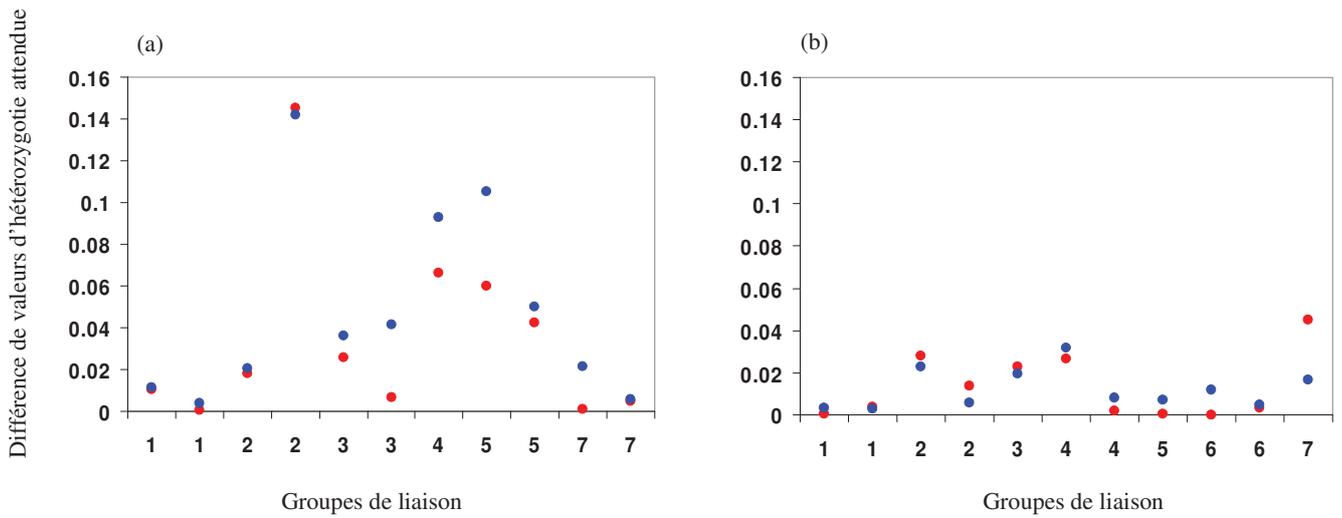


Figure C2.12 : Valeurs absolues des différences d'hétérozygoties attendues entre la population G0 et la population G1-DFb (en rouge) et G1-DPFb (en bleue) sur les marqueurs liés aux QTL (a) et non liés aux QTL (b).

Tableau C2.12 : Différences d'hétérozygotie attendue moyenne (d He) pour chaque population G1 des marqueurs réalisées à partir des trois répliquâts. Les groupes NK représentent les différences significatives à 5% calculées à l'aide du test de Newman et Keuls. Les barres verticales représentent les différents groupes statistiques. Les marqueurs QTL sont indiqués en gras.

G1-DPFb				G1-DFb			
GL	Marqueur	d He	NK	GL	Marqueur	d He	NK
2	rv959	-0.1454	a	5	rv959	-0.1345	a
5	G05-33	-0.0565	bc	5	G05-33	-0.1009	a
3	B1C9	-0.0262	bc	3	B3B8	-0.0337	b
3	B3B8	-0.0194	bc	2	G02-49	-0.0192	bc
2	G02-49	-0.0180	bc	7	OSW	-0.0188	bc
4	Lmgssr15-8E	-0.0113	bc	4	Lmgssr15-8E	-0.0173	bc
1	DLF27	-0.0061	bc	2	rv706	-0.0048	bc
1	nffa112	-0.0026	bc	1	DLF27	-0.0033	bc
7	G02-04	-0.0022	bc	7	G02-04	-0.0001	bc
6	pps210	0.0001	bc	1	NDPK	0.0021	bc
7	Lp165	0.0006	bc	1	G02-47	0.0035	bc
1	NDPK	0.0011	bc	1	nffa112	0.0051	bc
6	B2F1	0.0033	bc	6	B2F1	0.0085	bc
1	G02-47	0.0066	bc	5	nffa87	0.0125	bc
3	25ca1	0.0105	bc	6	pps210	0.0179	bc
5	nffa87	0.0106	bc	3	B1C9	0.0180	bc
4	G05-108	0.0125	bc	2	G05-129	0.0206	bc
2	rv706	0.0165	bc	7	Lp165	0.0235	bc
2	G05-129	0.0259	bc	4	G05-108	0.0283	bc
5	Lmgssr16-4F	0.0496	c	3	25ca1	0.0445	bc
7	OSW	0.0503	c	5	Lmgssr16-4F	0.0562	cd
4	Lpssr23	0.0687	c	4	Lpssr23	0.0996	d

C2.4. Discussion

C2.4.1 Cartographie génétique

Pour la réalisation de la carte génétique de la population G0, 45% des marqueurs ayant donné une amplification étaient homozygotes chez les parents C2.13 et C2.14. Bien que la proportion de marqueurs polymorphes pour la réalisation de cartes n'est généralement pas indiquée dans la littérature, cette absence de polymorphisme apparaît comme anormalement élevée au regard du polymorphisme existant chez cette espèce allogame (un SNP tous les 10-60 bases, Auzanneau *et al.*, 2007) et en considérant que les deux grands-parents sont issus de variétés très contrastées au niveau phénotypique (fourrage *versus* gazon) et de l'origine (France *versus* Etats-Unis). De plus, 22% des marqueurs testés n'ont pas permis une amplification. Ceci était certainement dû au polymorphisme au niveau des amorces entraînant couramment chez le ray-grass anglais des allèles nuls et/ou des différences d'intensité d'amplification (Barre com. pers.). Il semble donc que les marqueurs permettant une amplification dans une large gamme de matériel végétal aient leurs amorces définies dans des régions conservées mais ils révèlent relativement peu de polymorphisme au niveau de la taille des allèles. Une stratégie pourrait être de se servir d'amorces dans des régions conservées mais ensuite de rechercher des différences de séquences par des techniques comme les courbes de fusions (High Resolution Melting) que nous avons utilisé pour les marqueurs Lp-SUT ou par séquençage des produits d'amplification avec les nouvelles technologies de séquençages, comme le454 de Roche, en identifiant chaque génotype. Cependant, ces techniques restent encore trop onéreuses pour être utilisées à grande échelle pour du génotypage.

La carte réalisée dans ce chapitre comprenait sept groupes de liaison comme attendu chez le ray-grass anglais. Elle couvrait 618.5 cM ce qui est légèrement inférieur à ce qui est observé

dans la littérature : 675 à 1 684 cM (Jensen *et al.*, 2005 ; Faville *et al.*, 2004 ; Gill *et al.*, 2006 ; Hirata *et al.*, 2006 ; Barre *et al.*, 2009 ; Studer *et al.*, 2010). Le nombre limité de marqueurs en communs entre les différentes cartes rend difficile la comparaison de l'ordre des marqueurs. Nous avons trouvé un certain nombre de marqueurs distordus sur les GL1 et GL2 ce qui n'est pas étonnant puisqu'ils sont connus pour posséder un locus d'auto-incompatibilité, (Yang *et al.*, 2008 ; Thorogood *et al.*, 2002).

C2.4.2. Détection de QTL pour les caractères adaptatifs

Des QTL associés à la morphogénèse aérienne chez le *Lolium perenne* L. ont été identifiés dans plusieurs études sur différentes populations (Yamada *et al.*, 2004 ; Barre *et al.*, 2009 ; Kobayashi *et al.*, 2011 ; Turner *et al.*, 2008 ; Anhalt *et al.*, 2009). De ces études, il ressort que les variations de morphogénèse aérienne sont expliquées par de nombreux QTL à effets faibles souvent variables selon les conditions environnementales, révélant un déterminisme génétique complexe avec de fortes interactions GxE. Ces interactions peuvent aller jusqu'à l'absence de détection de QTL en considérant plusieurs dates de mesure alors qu'au sein d'une date l'héritabilité est élevée (Turner *et al.*, 2008). Cependant, dans certaines études avec du matériel végétal contrasté comme dans Barre *et al.*, 2009 (hybrides feuilles courtes *versus* feuilles longues) et dans Anhalt *et al.*, 2009 (ray-grass anglais introgressé de fétuque des près), certains QTL se retrouvent à différentes dates et dans différents environnements. C'est ce que nous avons retrouvé dans notre étude qui a été réalisée dans une population particulièrement contrastée concernant la morphogénèse aérienne. Des QTL à effets forts ont été détectés sous deux régimes de défoliation et ceci au cours du temps.

Pour la première fois chez le ray-grass anglais des QTL associés à la plasticité phénotypique entre deux rythmes de défoliation ont été détectés. Les QTL de plasticité présentaient des effets moins élevés que ceux des caractères ce qui est en accord avec un effet de l'interaction

GxE inférieur à l'effet génotype (Cf. Chapitre 1). Les QTL de plasticité co-localisent avec les QTL des caractères dans chacun des traitements. Ceci semble indiquer que ce serait l'effet du gène constitutif qui serait modulé par l'environnement, comme c'est le cas dans d'autres études (Lacaze *et al.*, 2009 ; Bergland *et al.*, 2008 ; Gerald *et al.*, 2006 ; Wang *et al.*, 2005 ; Tetard-Jones *et al.*, 2011 ; Shimizu *et al.*, 2010).

C2.4.3. Origine des différences des types fourrages gazons

Les variétés de ray-grass anglais fourrage et les variétés gazons présentent des morphogénèses aériennes très contrastées : les gazons présentent des feuilles plus courtes et plus fines que celles des fourrages, une densité de talles supérieure et une meilleure adaptation à la défoliation fréquente et intense (Casler, 2003). La sélection des gazons a débuté en 1962 aux Etats-Unis avec C.R. Funk de l'université de Rutgers et a consisté dans la sélection de plantes de type gazon dans des vieux gazons coupés fréquemment et initialement semés avec des variétés de types fourrages. La reproduction sexuée étant très limitée dans ce système d'exploitation, les plantes de type gazon étaient présentes dans les variétés de type fourrage semées initialement mais à très faible fréquence. Par la suite, les cycles de recombinaisons et sélection ont permis d'aboutir grâce à des ségrégations transgressives aux morphotypes gazons très particuliers que l'on connaît aujourd'hui. Cependant, jusqu'à présent, aucune information n'était disponible sur les régions impliquées dans les différences morphologiques observées entre les variétés gazon et fourrage. Il pourrait s'agir d'une accumulation d'allèles à effets faibles à de nombreux loci ou d'introgession d'allèles à effets majeurs (nanisme) sur un nombre limité de loci.

Il ressort de cette thèse que les différences observées de morphogénèse aérienne étaient dues à un nombre limité de QTL avec en particulier un QTL à effet majeur (GL5). Cependant, contrairement à l'attendu, au niveau de ce QTL, un allèle fourrage présentait un effet négatif

sur la hauteur, le nombre de talles et la biomasse. Les différences phénotypiques observées entre la plante d'Imagine (gazon) et celle de Gagny (fourrage) seraient dues à l'accumulation d'allèles à effets faibles ou modérés comme sur les groupes de liaisons 1, 2 et 4 et certainement au niveau d'autres loci avec des effets faibles non détectés. Mais il nous faudrait réaliser le même type d'étude à partir de nombreux autres croisements, représentatifs de la diversité des variétés, afin de vérifier si nos résultats sont généralisables.

Dans la descendance il apparaît des phénotypes transgressifs (cf. annexe 5 : génotypes transgressifs) qui dépassent les morphologies moyennes des grands parents car ils accumulent plus d'allèles positifs ou négatifs. Le fait d'avoir observé des QTL avec des allèles de type gazon provenant du parent fourrage permet d'expliquer les ségrégations transgressives observées. Rieseberg *et al.* (1999) montrent que ce type de ségrégation est courant dans plusieurs types de populations. Chez le *Lolium perenne* Rose-Fricker *et al.* (1986) mettent en évidence ce type de ségrégation pour un caractère de résistance à la rouille, Opsahl-Ferstad *et al.* (1994) sur des caractères de réponse androgénétique, Waldron *et al.* (1998) sur la tolérance au froid.

C2.4.4. Evolution des fréquences alléliques au passage à la génération G1 et sélection sur les QTL

Une seule génération de sélection peut limiter la possibilité de voir émerger des différences importantes de fréquence alléliques mais cela dépend largement de l'intensité de la sélection (Kingsolver et Pfenning, 2007 ; Carroll *et al.*, 2007). Dans notre étude, il est apparu des évolutions de fréquences alléliques à certains loci, supérieures à celles attendues sans sélection et quasi systématiquement de manière plus importante au niveau des QTL que sur le reste du génome. Il apparaît donc qu'il y ait eu une sélection au niveau des QTL des caractères de hauteur de plante, de nombre de talles et de biomasse. Ces résultats restent à

approfondir à l'aide d'un modèle de génétique des populations plus complet intégrant les déséquilibre de liaison entre marqueurs afin de mieux positionner et quantifier l'action de la sélection sur les régions du génome. Des résultats similaires ont été obtenus dans une étude de Loywyck *et al.* (2008), avec trois lignées de poulets sur 11 générations de sélection, en comparant des marqueurs supposés neutres et d'autres dans sept régions QTL. Ils ont mis en évidence que trois de ces régions étaient soumises à sélection en comparant l'évolution des fréquences alléliques observées à celle obtenue par simulation prenant en compte uniquement la dérive génétique.

Les résultats des variations de fréquences alléliques indiquent que la sélection s'est effectuée dans une même direction dans les deux traitements pour les QTL majeurs (GL2, 4 et 5). Ces résultats sont cohérents avec ce qui a été observé au niveau phénotypique : les individus qui se sont reproduits le plus dans les deux traitements sont ceux de type fourrage. Cependant, les variations de fréquences alléliques ont montré une intensité plus forte dans le traitement DF (variations plus élevées) que dans le traitement DPF et une sélection sur le GL3 uniquement en DF. Cette sélection au niveau des QTL plus importante en DF qu'en DPF pourrait être due au fait que le rythme de défoliation fréquent perturbe davantage les plantes et apparaît comme celui imposant des pressions de sélection plus fortes. En effet, la défoliation inflige à la plante une perte de biomasse, d'énergie et de nutriments (Turner *et al.*, 2006 ; Matthew *et al.*, 2000). Nous avons constaté des variations des fréquences alléliques sur quelques marqueurs « non QTL » sur les groupes de liaisons 4 et 5. Ce résultat pourrait être expliqué par le déséquilibre de liaison existant entre ces marqueurs et des QTL à effets forts. Ce type d'association entre marqueur QTL et non QTL est fréquent et est appelé : effet d'auto-stop moléculaire (Smith et Haigh, 1974 ; Barton, 1998). On peut aussi imaginer que certaines régions génomiques soient soumises à sélection, et donc présentent des variations de fréquences alléliques qui s'écartent de l'attendu aléatoire, sans pour autant que ce soit des régions pour lesquelles nous avons

déecté des QTL. En effet, il peut s'agir de régions impliquées dans des caractères ou des processus physiologiques adaptatifs non mesurés.

C2.4.5. Impacts sur la diversité génétique

La sélection fait varier les fréquences alléliques (Nielsen, 2005) ce qui peut avoir différents effets sur la diversité génétique selon le type de type de sélection.

Par exemple, dans le cas d'une sélection directionnelle sur un allèle, en considérant que la diversité génétique est maximale quand tous les allèles d'un locus ont des fréquences identiques (Mahoney et Springer, 2009), cette sélection aura un effet sur la diversité génétique dépendant de la fréquence allélique initiale. Les résultats de notre étude sont en accord avec cela, nous avons observé pour certains loci, une diminution de diversité (H_e) sous l'effet de variation de fréquences alléliques lorsque la fréquence initiale de l'allèle sélectionné était importante, alors que la diversité augmentait pour des fréquences initiales faibles.

Dans un environnement constant et en absence d'autres forces évolutives (migration, mutation, dérive), on peut s'attendre, après plusieurs générations, à ce que la diversité génétique diminue puisque les allèles favorables devraient continuer d'augmenter en fréquence.

Conclusion et Perspectives

C3.1 Plasticité, sélection, diversité

Nous avons pu mettre en évidence le rôle majeur de la plasticité phénotypique dans l'évolution de la morphologie, en particulier la hauteur, le nombre de talles et la biomasse, d'une population de ray-grass soumise à une pression de défoliation. Cette plasticité a entraîné une homogénéisation morphologique de la population, limitant ainsi l'expression de la variabilité génotypique et maintenant une certaine diversité génétique de façon cryptique. Mais cette plasticité de caractères morphologiques répondant à la défoliation était variable entre individus et relativement dépendante des valeurs initiales de ces caractères. Nous avons pu mettre en évidence une base génétique de ces caractères et de leur plasticité. Les QTL identifiés pour ces caractères morphologiques expliquent jusqu'à 37 % de la variance de certains d'entre eux et environ 5% de la variabilité de la plasticité des caractères. Ces QTL à effets forts et stables, devraient être étudiés dans d'autres environnements (en plante isolée par exemple) ainsi nous pourrions préciser l'association entre les QTL morphologiques et les QTL de plasticité. De plus, il serait intéressant de préciser leurs positions et leurs effets par une cartographie plus fine de ces zones suivie de l'identification de gènes candidats.

Nos données morphologiques et l'étude de la valeur sélective des individus laissent suggérer une action de la sélection impactant la morphologie des générations futures. La plasticité phénotypique des caractères étudiés ne paraissait pas impacter la valeur sélective des individus et en ce sens, peu interagir avec le processus de sélection, mais cela devra être confirmé par l'analyse de la valeur sélective d'individus de morphotypes équivalents et présentant des valeurs de plasticité différentes. La présence de cet effet apparemment neutre de la plasticité sur la valeur sélective des individus pourrait être le résultat d'une contrainte liée à la co-localisation des régions génomiques impliquées dans l'expression du caractère lui-même et sa plasticité.

Même si (i) nous avons confirmé, par la détection de signatures génomiques de la sélection sur les régions QTL des caractères répondant à la défoliation, l'action de la sélection, et (ii) que l'action de la sélection était visible et variable sur la diversité moléculaire des loci impliqués dans les caractères répondant à la défoliation, avec des patrons de variation du taux d'hétérozygotie contrastés selon les loci. Son intensité ne semble pas assez forte pour être visible morphologiquement sur une seule génération. L'action de la sélection n'a pas entraîné de modification des moyennes et des variances morphologiques de la génération suivante, n'impactant donc pas la diversité morphologique. Ce maintien de diversité morphologique pourrait être le fruit d'une action de la plasticité mais aussi du brassage gamétique qui s'est produit pour générer cette nouvelle génération. Mais d'autres séries de mesures, d'une part sur la génération G1 pour confirmer ou infirmer l'effet non visible de la sélection sur cette génération, et d'autre part sur la génération G0 soumise aux différentes fréquences de défoliation pour estimer la valeur sélective des individus sur plusieurs années compte tenu de la pérennité des individus chez cette espèce, seraient nécessaires.

C3.2 Apport dans l'amélioration des plantes fourragères

Ces résultats ouvrent des perspectives de recherches concernant l'évolution et l'amélioration de la valeur agronomique des prairies dans lesquelles souvent la reproduction intervient peu (faible re-semis en couvert dense, Eriksson, 1989 ; Briske et Silverstow, 1993 ; Briske et Anderson, 1992) et dont on peut estimer que la plasticité phénotypique a un impact majeur sur l'évolution de la morphologie et la production de la prairie. Nous avons observé que les individus les plus productifs (type fourrage) avaient une production supérieure aux individus de types gazons quelle que soit la fréquence de défoliation. Ainsi, le morphotype fourrage semble être l'idéotype à sélectionner quelle que soit la conduite d'exploitation de la prairie. Mais il faudra s'assurer que ces morphotypes fourrages puissent survivre et produire en

conditions de défoliation très intenses en termes de récurrence, hauteur de défoliation et durée d'exploitation. Et de mettre en place un test pour estimer le rôle de la plasticité de ces morphotypes fourrages dans leurs capacités de survie et de production sous différentes pressions de défoliation. Si la plasticité s'avérée avoir un rôle majeur dans la performance de ces morphotypes, compte tenu de son héritabilité mise en évidence de notre étude, nous pourrions envisager une sélection de ce caractère dans les programmes de sélection du ray-grass anglais.

Annexes

Annexe 1

Title: HOW DO SELECTION AND PHENOTYPIC PLASTICITY DRIVE GENETIC DIVERSITY?

Authors: S. Grenier, P. Barre, I. Litrico

Affiliation: Unité de Recherche Pluridisciplinaire Prairie et Plantes Fourragères (URP3F)
INRA Lusignan France

Corresponding author: Isabelle Litrico ; Unité de Recherche Pluridisciplinaire Prairie et Plantes Fourragères (URP3F) INRA Le chêne RD 150 BP80006. 86600 Lusignan France. Tel: +33 5 49 55 61 48 Fax: +33 5 49 55 60 44. e-mail: isabelle.litrico@lusignan.inra.fr

Abstract:

Hypothesis: Selection and plasticity allow populations to adapt in a changing environment and their interaction may impact genetic diversity.

Methods: We reviewed existing literature on selection and phenotypic plasticity in the evolution of populations.

Conclusion: Plasticity can affect the intensity of selection and may disrupt the evolution of genetic diversity expected under selection alone. We emphasize that selection and phenotypic plasticity could be link through the individual fitness: adaptive plasticity results in increasing fitness, but plasticity costs could decrease it. Investigators now need to display experimental design to demonstrate combine effect of selection and plasticity on adaptation of populations.

Keywords

Selection, phenotypic plasticity, genetic diversity

Populations live in a dynamic environment with which they are constantly interacting. The biotic and abiotic factors that make up the environment vary over time, and lead to new environmental conditions, which may limit the sustainability of populations. In this context, populations must adapt to survive (Hoffman and Sgro 2011). These adjustments cover morphological, physiological or behavioural changes through different mechanisms operating at individual level. The phenotype of an individual (P) is defined by $P = G + E$ with G the genetic component and E the environmental component. The individual variations are translated at population level by a phenotypic variation (V_p) which can be defined by $V_p = V_g + V_e + V_{g*e} + \varepsilon$ with V_g the variation due to different genotypes, V_e the variation due to the environment, V_{g*e} the interaction indicating a different response of the population genotypes to environment, and ε representing the residual variation (Pigliucci 2001). The phenotype distribution among the population can vary due to different mechanisms. The genetic selection results in changes in the genetic component (V_g) and phenotypic plasticity modifies components V_e and V_{g*e} . Through genetic selection, the frequency of favorable alleles increases over generations and allele frequency of individuals that have not been selected tends to disappear. Through phenotypic plasticity, plastic traits of individuals are modified *via* changes in gene expression without genetic modification of population. If the phenotype of individuals tends to vary according to environment conditions (Przybylo *et al.* 2000), plasticity may be a way for individuals to increase their survival (Kopp and Tollrian 2003; Irschick and Meyers 2007; Reed *et al.* 2011). This sometimes adaptive characteristic of plasticity highlights that selection and plasticity mechanisms are not mutually exclusive and even that they can interact. The interaction between selection and plasticity occurs when plastic traits are subjected to selection (Robinson and Wilson 1996; Nussey *et al.* 2005; Aubret *et al.* 2007) and/or if plasticity of a trait has a cost. Relations between selection and plasticity are complex, as are their consequences on the genetic diversity of populations that can be antagonistic (Hoffman and Parsons 1991; Sultan and Bazzaz 1993; Cheetham *et al.* 1995; Agrawal 2001). Many studies have been devoted to selection forces and their consequences on genetic diversity (Nei 1973; Jolley *et al.* 2005; van Heerwaarden *et al.* 2010; Kotowska *et al.* 2010) and in recent years phenotypic plasticity has been studied more extensively (Scheiner and Lyman 1991; Via 1993; Chapman *et al.* 2000; Pigliucci 2005; Geng *et al.* 2006; Peluc *et al.* 2008). But despite a common or even systematic coexistence of plasticity and selection in natural populations (Sultan and Spencer 2002; Latta *et al.* 2007; Roder *et al.* 2008), there are few data on their interaction and on their combined influence on the evolution of the genetic diversity of populations. The purpose of this review is to evaluate

the consequences of these mechanisms as well as their interaction on the genetic diversity of populations. We will first define the selection and plasticity processes and then detail the means by which they can interact as well as the impacts on the genetic diversity of populations.

Definition, measures and effects of genetic selection

There is selection within a population when offspring of some genotype contribute more, not randomly, than others in a next generation. Selection performs a sorting process on population individuals; those bearing traits that confer a selective advantage in survival and reproduction will be selected and the alleles they carry may increase in frequency in the population over generations. Selection may therefore result in an evolution of phenotypic values over generations with a change in the distribution of the target trait. But some conditions are necessary for selection to occur. Selection within population is only possible (i) if there is a populational variation of traits (V_g and $V_{g \times e}$ terms, variations between genotypes), (ii) if this variation affects traits related directly or indirectly to the ability to reproduce and (iii) if trait modalities are heritable. Selection acts on different character types, physiological processes (resistance of plants to metals (Meyer *et al.* 2010), behaviours (predator avoidance (Brodie 1992; Brodie and Russell 1999), or morphological variations (industrial melanism of the peppered moth (Majerus 2009).

As stated, selection results in a differential reproduction between individuals that represents their relative fitness. Estimates of reproductive success are thus generally based on the reproductive effort of individuals which maybe correlated with fitness. This effort corresponds to the proportion of energy of an individual invested in reproductive processes (Hirshfield and Tinkle 1975). It can be measured by different traits related to reproduction such as seed production, clutch size or ovary weight / body weight ratio... Although relatively expensive, molecular tools, allow the detection of selection at the genomic level. The evolution of allele frequencies can be tested against the neutralist hypothesis. Analysis of molecular markers with Bayesian statistics currently allows a greater investigation of selection in natural populations (Beaumont and Rannala 2004; Gaggiotti 2010).

Selection acts at individual level or even at gene level (Dawkins 1976; Gouyon *et al.* 1997) but its action is visible on the distribution of diversity across the population.

At phenotypic level, selection varies the mean and/or the variance (V_g) of the genetic component. Selection can be of three types: directional, stabilizing or disruptive. For a normal distribution of a trait, directional selection favours phenotypes at one extreme of the

distribution and thus moves the mean of trait in one direction or another (Hoekstra *et al.* 2001). Gerhardt and Brook (2009) showed this type of selection in frog species in which females choose males who make long and frequent calls, thus promoting the evolution of the signal in this direction. But Gerhardt and Brook (2009) detect a low variation on the spectrum of sounds, with females preferring the spectra close to those of the population mean as their auditory system is more sensitive to these levels. This is the stabilizing selection phenomenon, which eliminates most divergent phenotypes, thereby reducing heterogeneity and thus trait variance (Zhang and Hill 2007). In contrast, disruptive selection favours extreme phenotypes at the expense of average phenotypes, causing a bimodal distribution (Rueffler *et al.* 2006). This form of selection has been highlighted by Duffy *et al.* (2008) in *Daphnia* species, during an epidemic period of a parasitic fungus. This fungus attacks the most common phenotype in the population and transforms the unimodal distribution of phenotypes into bimodal distribution.

At molecular level, it is possible, to obtain allele fixation (homogenization of all individuals) or loss (allele not found in population). But selection can also maintain alleles at intermediate frequencies through (i) advantage of heterozygotes (individuals with two different alleles have better fitness), (ii) frequency dependence (the allele advantage depends on its frequency relative to other alleles in a given population). Among a salmon species, Evans and Neff (2009) have shown an advantage of heterozygote in relation to selection pressure due to bacterial parasites. The frequency dependence often occurs in the system of plant self-incompatibility (Matton *et al.* 1994; Hiscock and McInnis 2003; Takayama and Isogai 2005): when two plants share the same incompatibility allele, they are unable to mate (Castric and Vekemans 2004; Castric *et al.* 2010). Rare alleles have more success at mating and therefore spread through the population. These mechanisms lead the alleles to intermediate frequencies and reduce the possibilities of fixation or disappearance.

Response to selection results in allele frequency changes at traits implicated in individual fitness. This response represents genetic adaptation and leads to modifications of phenotypic and genotypic diversities within a population. When environment is constant, genetic adaptation leads to specialization. A local adaptation of the population is then possible, as is the case with sea beet where populations have more or less vernalisation requirements based on their latitude, which is a temperature-related parameter (VanDijk *et al.* 1997; Boudry *et al.* 2002). Adaptive traits are different according to spatial or temporal environments. The emergence of different strategies can occur, such as a slow development, late maturity and long life or conversely a rapid development, high fecundity but a short longevity (Stearns

1977; Kneitel and Chase 2004). Among some mountain plants, reproduction is favoured at a low altitude while survival and sustainability are selected at a high altitude (Totland 2001; Gonzalo-Turpin and Hazard 2009). Among a fish species, Reimchen and Nosil (2002) have shown an increase of the number of dorsal spines when avian predators were frequent, but a decrease when predator insects were frequent. Dorsal spines have an antagonistic role against both these predators. Genetic specialisation emphasises a limit of selection that is irreversible when mutation is neglected. Selection may decrease the genetic adaptability of population through a loss of allele diversity. In addition, environment adaptations do not necessarily produce the optimum population for all traits. Compromises are often carried out by trade offs between traits (Hoffman and Sgro 1995). Organisms invest energy in their different activities according to their costs and benefits. The phenotypic plasticity process allows individuals to change their phenotype according to environmental variation without genetic change.

Definition, measures and effects of phenotypic plasticity

The definition of phenotypic plasticity is consistent in a large number of studies (Bradshaw 1965; Schlichting 1986; Via 1993; Scheiner 1993; Sultan 2000; Agrawal 2001; Debat and David 2001; Pigliucci and Kolodynska 2002; Miner *et al.* 2005; Swallow *et al.* 2005; Gorur *et al.* 2005; West-Eberhard 2005; Ghalambor *et al.* 2007). Plasticity is defined as the ability of a genotype to express different phenotypes according to its environment (environmental component, E term). The concept of plasticity induces a pattern of possible phenotypic expression of a single genotype across a range of environments. This functional relationship is called the reaction norm. All genotypes do not have the same reaction norm. It is the genetic variability of plasticity estimated by GxE.

Phenotypic plasticity refers to one or more organism traits, it may be gradual or discrete (Debat and David 2001). For a given genotype, phenotypic plasticity is estimated by the difference between trait values in different environments. Plastic responses are often complex and non linear. It is difficult in natural populations to evaluate the reaction norm of a trait, given that studies often focus on two environments only and that it may be impossible to have genetically identical individuals in different environments. Different methods of quantitative estimation of plasticity are used according to whether one considers a population or a genotype. The most common indices use the trait mean, the trait variation coefficient, the trait reaction norm, the trait extreme values or phenotypic distances (Valladares *et al.* 2006).

Plasticity acts at individual level. A plant or animal organism, with a plastic trait, receives a signal from the environment that will determine the trait (Sultan 2000; Borges 2005; Beldade

et al. 2011; Nicotra 2010). For example, the great tit (*Parus major*) adjusts its clutch size according to individual density and thus to competition pressure (Both 1998). To explain this plasticity, studies (Novaes *et al.* 2009) and models (Pigliucci 2005; Ma *et al.* 2008) suggest different hypotheses: (i) an allelic sensitivity effect *via* gene expression is contingent on the environment; (ii) a heterozygosity effect *via* different allelic expressions which can lead to either less or more plasticity (Yampolsky and Scheiner 1994), (iii) a control effect by epistasis, where a locus that is sensitive to environment affects the expression of other loci; (iv) a pleiotropic effect, where the action of a gene on several traits is determined by the environment or (v) by epi-genetic effects (Scheiner and Lyman 1991; Scheiner 1993; Jablonka and Lamb 1998; Grant-Downton and Dickinson 2006; Amoah *et al.* 2008; Ma *et al.* 2008). Some studies highlight allelic sensitivity or epistasis control. These studies have detailed the reaction cascades caused by an environment signal that lead to morphological diversity (Buckley and Hofmann 2002; Muller and Schmidt 2004; Malamy 2005; Moore *et al.* 2006; Swynghedauw 2006).

Plasticity may be reversible or irreversible. Teleost fish have a rate of myogenesis conditioned by the temperature and oxygen concentrations at the embryonic and larval stages and this plasticity is irreversible (Johnston 2006). In contrast, pythons have a rapid increase in ventricular muscle mass after eating, in order to meet their metabolic needs and this hypertrophy is completely reversible after digestion (Andersen *et al.* 2005).

The plasticity effect is visible both at individual and at population levels. As discussed above, values of plastic traits at individual level vary with environment (E term). Unlike selection, for which response is measured by the passing from one generation to another, plastic response is more or less rapid and is visible across a generation. At population level, phenotypic plasticity may cause a shift in trait(s) mean(s) and/or modification of variance (V_e term, variation due to environment) (Fig.1).

In essence, plasticity results in phenotypic variations without changes in gene sequence, but reality is different and the effect of phenotypic plasticity on genetic diversity is relatively complex. If genetic plasticity determinism is independent of genetic trait determinism, then phenotypic plasticity affects the individual morphology without genotypic changes for the considered trait. We do not expect any effect on the genetic population diversity at loci involved in the phenotype of this trait. It is important at this stage to note the different ways of considering plasticity in order to understand its effect on the genetic diversity of a population. Plasticity can be regarded as a trait as such. In this case, if plasticity is genetically determined and if there is variability between genotypes (V_g*e), plasticity may be subject to selection as

may any other trait acting on fitness. This leads to a variation of genetic diversity in the plasticity loci in the selected population (see previous paragraph). Some studies have demonstrated a genetic determinism of plasticity. Plasticity is partly heritable (Scheiner and Lyman 1989) and varies among individuals (Scheiner 2002; Jong 2005). In *Drosophila*, some authors (Scheiner and Lyman 1991) have shown that the plasticity of a trait can respond to selection and that this response is partially independent of the response of the trait mean. But this independence is still controversial (Via *et al.* 1995; Jong 1995; Jong and Bijma 2002). In addition, a measure of plasticity as such is difficult because “the global plasticity” scale of the individual is relative to the plasticity of the different traits of the individual (De Kroon *et al.* 2005). In this review, we discuss the plasticity of one or more traits and it is the effect of plasticity on the diversity of this (these) trait(s) that will be studied. Plasticity can change the response to selection pressures by changing the phenotype. The interaction between selection and plasticity may involve a modification of the genetic diversity of plastic trait(s).

Interaction selection / plasticity, a history of fitness and cost

Morphological characters do not all have the same degree of plasticity within a species (Schlichting and Levin 1990; Volis *et al.* 2002). This difference in plasticity between traits is generally preserved among individuals. But this consistency in the classification of the trait plasticity does not lead to a consistency of the reaction norm of plastic traits between individuals (Lehmann and Rebele 2005). For example, in *Arabidopsis* faced with changes in light intensity, a different plastic response was shown from one genotype to another (Callahan and Pigliucci 2005). Genotypic variability of the plastic capacity between individuals is frequent (Fig.2). But this interaction between genotype and environment (V_{g*e}) is often poorly studied or neglected for the plant or animal improvement because its action is generally weaker than the action of the direct environment (V_e) and individuals that are artificially selected are those favourable in several environments. While the variation of GxE interaction is rarely studied in plant or animal improvement, it may be the driving force of natural selection in evolution. Differences in plastic responses of genotypes can change their fitness and influence the intensity of selection on some alleles.

When plastic response acts on fitness, it causes a shift of the fitness peak (Price *et al.* 2003); this shift may be closer or further to an optimal phenotype (Ghalambor *et al.* 2007). According to the effect of plasticity on individual fitness, plasticity can be characterized by several terms. Phenotypic plasticity is defined as mal-adaptive when the effect on fitness is negative; it is deemed neutral if it has no effect and adaptive when it has a positive effect.

Plasticity is mal-adaptive if the trait variation under the environment effect induces a decrease in fitness of the individual, or if it is irreversible when the environment changes several times in the generational time. In the case of irreversible plasticity, plasticity is only adaptive if the environment in the early development stage of the individual is a good indicator of the future conditions of its life. This applies, for example, to many insects and amphibians that are aquatic as larvae and terrestrial at the adult stage. The larval environment is different of the adult environment and may lead to mal-adaptive plasticity (Relyea 2001). This situation shows the interest of reversible plasticity (Gabriel 2005).

To determine whether plasticity is adaptive, it is necessary to measure a positive genetic correlation between trait plasticity and fitness of the individual (Scheiner 1993). There are various adaptive plastic responses. A plastic response of a ciliate species, faced with the introduction of a predator, has been shown as this species has developed lateral wings which increase its protection by inhibiting predator ingestion; in return, a plastic response of the predators has been observed as they have increased their gape size to limit the ciliate's defence without cancelling it (mutual plasticity) (Kopp and Tollrian 2003). In plants, other example of adaptive plastic responses relate to longer inter-nodes in response to shade, in order to access more light (Schmitt *et al.* 1999), to herbivore-resistance mechanisms (Agrawal *et al.* 2002), or the number of simultaneous mature flowers according to the number of pollinators (Harder and Johnson 2005). But plasticity may be adaptive in a range of environments experienced by the organism because selection has already acted by eliminating non-adapted responses. However, beyond this range, plasticity becomes mal-adaptive (Ghalambor *et al.* 2007). For example, when competition for light is very strong, some plants can increase their inter-node size but if the neighbouring plants are too high, the plastic capacity of increasing inter-node size becomes mal-adaptive (Donohue *et al.* 2000; Weinig 2000; Steinger *et al.* 2003).

Phenotypic plasticity may lead to costs (Merila *et al.* 2004; Kleunen and Fischer 2005; Kleunen and Fischer 2007), although these may be difficult to demonstrate (Dewitt 1998; Loman and Claesson 2003; Volis 2009). We consider that there is a cost when genotype fitness is reduced by expressing a phenotype through plastic development compared to the same phenotype through a fixed development. For the same phenotypic value, a plastic genotype is more or less likely to achieve the average fitness compared to a fixed genotype and it is this difference which is representative of plasticity cost. It is likely that costs are environment-specific rather than global. As explains by DeWitt *et al.* (1998), there are several assumptions of the origin of this cost: (i) maintenance (sensory structure, metabolic regulation

mechanism of plasticity); (ii) production (a plasticity-developed structure could be more costly than if it were genetically-determined); (iii) acquisition of information (process may be risky; it requires energy or reduces feeding or breeding efficiency); (iv) imprecision of development (non-specific plastic change); (v) genetic costs (genetic linkage with deleterious alleles at other loci; pleiotropy; epistasis). Valladares *et al.* (2007) also suggest an ecological cost as adaptive plasticity of one species may affect interactions with other species. For example when the plastic response due to herbivores reduces the attractiveness of pollinators, there is an ecological cost. Lind and Johansson (2009) suggest that the cost increases with the level of plasticity in the population.

Ernande and Dieckmann's model (2004) makes a difference between maintenance costs and production costs that have different consequences. Maintenance costs involve an adaptation of the reaction norm in common rather than in infrequent environments while production costs do not cause this adaptation. The study by Edelaar *et al.* (2005) gives an example of estimating the cost of maintaining a plastic response; the plastic response of a species faced with predators is maintained despite a long time without exposure to them, thereby suggesting that the cost is low because it has not been eliminated by selection, which probably would have been the case if the cost was important. The study by Dechaine *et al.* (2007) suggests that plasticity has genetic costs; these costs occur when the alleles responsible for the plastic trait are associated with some alleles of other genes as this association causes a decrease of fitness.

The estimate of these costs, as stated earlier, is to compare the fitness of plastic genotypes to that of fixed genotypes for the same phenotypic value. This can be carried out using the following multiple regression in each environment:

$$W_j = \text{constant} + (B_1 \times Z_j) + (B_2 \times P_j)$$

Where W_j is the fitness of a family (j) in one environment, where B_1 is the selection coefficient on the phenotypes, B_2 is the selection coefficient on plasticity, Z_j is the phenotype exhibited by family j in one environment, and P_j is the plasticity exhibited by family j in different environments (Van Tienderen 1991; Scheiner and Berrigan 1998; Relyea 2002). A significantly negative regression coefficient of the plasticity term indicates a genetic cost (cost of maintenance, of production or of development instability). This cost could be different in each environment. Dewitt *et al.* (1998) adopt this method and analyzes it in order to quantify the relationship between the phenotype and the fitness in each environment by regression analysis or by cubic splines (Brodie *et al.* 1995). This adaptation has the advantage of allowing nonlinear relationships between phenotype and fitness. This mathematical

relationship allows calculation of a theoretical fitness that can be compared to the observed one. The residues of the fitness equation are shown graphically, based on the genotype degree of plasticity in order to visualize the trend. There is a cost when the most plastic genotypes tend to have a lower fitness than expected and when the fixed genotypes tend to have a higher fitness (Fig.3). This method is interesting but a bias occurs when the phenotypic values are correlated with phenotypic plasticity (Auld *et al.* 2010). This correlation must therefore be verified before calculating the cost of plasticity by using this method. In several studies, we found the most extreme phenotypes associated with a high plasticity (Agrawal *et al.* 2002; Relyea 2002), which requires a reinterpretation of the results.

If costs of plasticity are very high, they may have a considerable impact on the evolution of plasticity (Lynch and Gabriel 1987; Van Tienderen 1991; Moran 1992; Sultan and Spencer 2002). Although as indicated by the analysis of Van Buskirk and Steiner (2009) in both animals and plants, costs of plasticity are often low and can influence phenotype evolution under stressful conditions only. Beyond the costs, plasticity also shows limits and in particular the inability to express the optimal phenotype in one environment (Pigliucci 2005). This limit of plasticity is related to several parameters, such as environmental signals (misinterpretation or imperfect correlation between signals and environment), response time (delay in the phenotypic response to environmental changes), range of development (a fixed development could produce more extreme phenotypes), phenotype development issues (a structure developed by plasticity could be less robust than if produced by a genetically determined development) (Dewitt *et al.* 1998), potential of successive plastic responses (limits to the number of plastic changes in life) (Weinig and Delph 2001).

Plasticity costs and limits therefore probably tend to constrain the evolution of adaptive phenotypic plasticity. But even if plasticity could be related to genetic constraints that are difficult to remove by genetic selection, the ubiquity of plasticity suggests that the benefits outweigh the costs in a wide range of conditions (Agrawal 2001). One question however remains unanswered: how does the plasticity / selection interaction act on the evolution of the diversity of populations?

Selection, plasticity and diversity

As previously described, selection and plasticity interact when plasticity influences the fitness of the individual. Plasticity affects selection by changing the influence of the latter on the plastic trait and selection acts on plasticity through the fitness of plastic individuals. Selection acts on plastic characters in two cases: (i) plasticity is mal-adaptive, (ii) plasticity is adaptive

and the effect on diversity of its interaction with selection will depend on the induced fitness increase and on the costs of this plasticity.

If plastic response is not suitable and has a cost, it may be selected against in favour of a return to the initial phenotype at population level. All individuals who have a mutation to express a more stable (less plastic) phenotype will be favoured to achieve the original phenotype (before plastic response). It is therefore a genetic change that results in reducing the phenotypic plasticity at population level and even the morphological and genetic diversity of initially plastic characters.

If plastic response is close to the optimal phenotype, the cost of achieving the phenotype by plasticity will determine the impact of selection on the plastic individual and therefore on trait diversity. If the cost of plasticity is substantial, then the achieving optimal phenotype *via* fixed development is better than doing it *via* phenotypic plasticity. In the case of a fixed development, we can overcome the costs of plasticity (cost of maintenance, of production or cost related to the effects of pleiotropy or epistasis). Individuals that have a mutation to directly achieve the optimal phenotype will be selected in a stable environment. There is a genetic evolution that results in reducing plasticity and in reducing the diversity of trait. This evolution of plasticity due to the cost of plasticity is slower than evolution due to maladaptive plasticity (see previous paragraph), for which the selection intensity is generally stronger.

If the plastic response is a little further from the optimum phenotype but still favourable, a genetic evolution by directional selection can complete it and bring it closer to the optimal phenotype. In this case, there are both a plastic response and a change related to selection in order to obtain the phenotype (Price *et al.* 2003).

But according to the conditions encountered by populations and their initial states, several hypotheses can be formulated in the case of adaptive plasticity.

Plasticity can, for example, soften the effects of natural selection by allowing individuals to adapt quickly phenotypically to new conditions. Chevin *et al.* (2010) have developed a model to predict the population persistence in a changing environment. It can estimate how plasticity might interfere populations' capacities to evolve in response to environmental change.

By reducing the response to selection, phenotypic plasticity may promote the maintenance of genetic diversity within a population. If individuals have plastic traits, they can adjust their phenotypes to the environment. Several different genotypes with different phenotype in one environment may have the same phenotype in another environment and therefore some genetic variability is maintained. Genetic variations that are few or not expressed in the

environment due to plasticity (Schlichting and Smith 2002) become neutral (if there is no cost of plasticity), and avoid a fitness decrease. These predictions are carried out from theoretical models (Gillespie and Turelli 1989; Zhivotovsky and Gavrillets 1992; Scheiner 1993) and there are few experimental data to verify these predictions (Sultan and Bazzaz 1993; Cheetham *et al.* 1995). In a *Quercus coccifera* tree species with several ecotypes, Baquedano *et al.* (2008) show that phenotype plasticity hides differences between genotypes which maintain a genetic variability that is inaccessible to selection.

But we can find populations with a low genetic diversity that are maintained with the aid of plasticity. Plasticity could allow a morphological adaptation without the need of genetic variability. The study by Geng *et al.* (2006) compares two species whose morphologic variance is close. Morphologic variance in one species is mainly due to genotypic variations, while in the other species which has a low genetic diversity, it is due to plasticity.

As plasticity influences genetic changes by affecting the intensity of selection, we can expect an overall change of genetic diversity through a reorganization of the evolutionary dynamics and thus of the evolution rate (Duckworth 2009). Intensity of selection varies with plasticity, thus upsetting the expected evolution in the absence of plasticity (Price 2006; Fordyce 2006; West-Eberhard 1989). In a population of lizards (*Urosaurus ornatus*), a directional selection has been shown to favour the fastest males. But a seasonal plasticity increases the fitness of the slowest individuals during the breeding season. This seasonal plasticity homogenizes the speed of the male population at breeding time and reduces the effect of selection for high speed (Irschick and Meyers 2007). To assess the impact of selection and plasticity on the evolution of genetic diversity, models allow us to assess the rate of the genetic changes caused by plasticity. Hinton and Nowlan (1987) developed a model that shows how learning increases the rate of evolution. This model was modified by Behera and Nanjundiah (1995) in order to obtain a more realistic model. They have used a haploid population with a fixed size, different levels of plasticity and a cost associated to this plasticity. Their results indicate that plasticity slows down the evolution pace but enhances the adaptation level. But other models of the same type, that explore more parameters, obtain more mixed results (Nolfi and Floreano 1999; Dopazo *et al.* 2001; Borenstein *et al.* 2006).

To estimate the evolution rates, Ancel (2000) uses a quantitative model and a reaction norm model (modelling of plasticity by reaction norm instead of by genotype – phenotype points). Ancel's model is highly dependent on initial population conditions and on fitness. However, in most cases, the simulations obtained show that plasticity slows the evolution rate from the appearance up to the fixation of the population on an optimal phenotype. When plasticity is

not sufficiently costly, it protects suboptimal phenotypes from elimination by natural selection. In contrast, when plasticity is too costly, it fails to provide any advantage. Furthermore, the phenotype ranges for which plasticity speeds up evolution, are frequently ranges for which a plastic individual is less fit than its non plastic counterpart.

Paenke *et al.* (2007) have sought conditions under which evolution is accelerated or delayed by plasticity under directional selection. In the case of adaptive plasticity, when it concerns mainly genotypes with already significant fitness, plasticity reinforces selection and accelerates evolution. On the contrary, if plasticity favours genotypes with a lower fitness instead, evolution will be slower. If plasticity acts similarly on genotypes, irrespective of their fitness, evolution is (i) accelerated if the logarithm of the fitness function (defined by the relationship between phenotype and fitness) follows a convex curve, and (ii) slowed down if this curve is concave (Fig.4).

De Jong (2005) considers the possibilities of evolution in the presence of plasticity but explains that there is no answer to the question whether phenotypic plasticity promotes evolution. Everything depends on the studied case and on all the parameters associated to it.

Conclusion

The study of phenotypic plasticity has developed in recent years and we now have a clearer view on what plasticity is and how it evolves. However, the understanding of this mechanism is not complete, especially as regards the genetic bases that explain it. As for the interaction of selection and plasticity, experimental work is needed to better understand how selection acts on the reaction norm of phenotype against environments and better define the costs of plasticity. It should be noted that most studies often focus on two environments. We have few data on environment ranges that are frequently experienced by natural populations and on the changes of the generated selection pressures. If further experiments on selection and plasticity were performed, explicit models of evolution of quantitative traits could be refined in order to better predict the consequences of the interaction between selection and plasticity on the dynamics of genetic diversity.

Acknowledgements

The authors are grateful to Corinne Melin for her help in managing references. We thank INRA and the region Poitou-Charentes for funding.

References

- Agrawal, A.A. 2001. Ecology - Phenotypic plasticity in the interactions and evolution of species. *Science*, **294**: 321-326.
- Agrawal, A.A., Conner, J.K., Johnson, M.T.J. and Wallsgrave, R. 2002. Ecological genetics of an induced plant defense against herbivores: Additive genetic variance and costs of phenotypic plasticity. *Evolution*, **56**: 2206-2213.
- Amoah, S., Wilkinson, M., Dunwell, J. and King, G. 2008. Understanding the relationship between DNA methylation and phenotypic plasticity in crop plants. *Comp. Biochem. Phys. A*, **150**: S145.
- Ancel, L.W. 2000. Undermining the Baldwin expediting effect: Does phenotypic plasticity accelerate evolution? *Theor. Popul. Biol.*, **58**: 307-319.
- Andersen, J.B., Rourke, B.C., Caiozzo, V.J., Bennett, A.F. and Hicks, J.W. 2005. Physiology: Postprandial cardiac hypertrophy in pythons. *Nature*, **434**: 37-38.
- Aubret, F., Bonnet, X. and Shine, R. 2007. The role of adaptive plasticity in a major evolutionary transition: early aquatic experience affects locomotor performance of terrestrial snakes. *Funct. Ecol.*, **21**: 1154-1161.
- Auld, J.R., Agrawal, A.A. and Relyea, R.A. 2010. Re-evaluating the costs and limits of adaptive phenotypic plasticity. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, **277**: 503-511.
- Baquedano, F., Valladares, F. and Castillo, F. 2008. Phenotypic plasticity blurs ecotypic divergence in the response of *Quercus coccifera* and *Pinus halepensis* to water stress. *Eur. J. Forest Res.*, **127**: 495-506.
- Beaumont, M.A. and Rannala, B. 2004. The Bayesian revolution in genetics. *Nat. Rev. Genet.*, **5**: 251-261.
- Behera, N. and Nanjundiah, V. 1995. An Investigation Into the Role of Phenotypic Plasticity in Evolution. *J. Theor. Biol.*, **172**: 225-234.
- Beldade, P., Rita, A., Mateus, A., and Keller, R.A. 2011. Evolution and molecular mechanisms of adaptive developmental plasticity. *Mol. Ecol.*, **20**: 1347-1363.
- Borenstein, E., Meilijson, I. and Ruppin, E. 2006. The effect of phenotypic plasticity on evolution in multi-peaked fitness landscapes. *J. Evol. Biol.*, **19**: 1555-1570.
- Borges, R.M. 2005. Do plants and animals differ in phenotypic plasticity? *J. Bioscience*, **30**: 41-50.
- Both, C. 1998. Density dependence of clutch size: habitat heterogeneity or individual adjustment? *J. Anim. Ecol.*, **67**: 659-666.
- Boudry, P., McCombie, H. and Van Dijk, H. 2002. Vernalization requirement of wild beet *Beta vulgaris* ssp *maritima*: among population variation and its adaptive significance. *J. Ecol.*, **90**: 693-703.
- Bradshaw, A.D. 1965. Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. *Adv. Genet.*, **13**: 115-155.
- Brodie, E.D. 1992. Correlational Selection for Color Pattern and Antipredator Behavior in the Garter Snake *Thamnophis-Ordinoides*. *Evolution*, **46**: 1284-1298.
- Brodie, E.D., Moore, A.J. and Janzen, F.J. 1995. Visualizing and Quantifying Natural-Selection. *Trends Ecol. Evol.*, **10**: 313-318.
- Brodie, E.D. and Russell, N.H. 1999. The consistency of individual differences in behaviour: temperature effects on antipredator behaviour in garter snakes. *Anim. Behav.*, **57**: 445-451.
- Buckley, B.A. and Hofmann, G.E. 2002. Thermal acclimation changes DNA-binding activity of heat shock factor 1 (HSF1) in the goby *Gillichthys mirabilis*: implications for plasticity in the heat-shock response in natural populations. *J. Exp. Biol.*, **205**: 3231-3240.
- Callahan, H. and Pigliucci, M. 2005. Indirect consequences of artificial selection on plasticity to light quality in *Arabidopsis thaliana*. *J. Evol. Biol.*, **18**: 1403-1415.
- Castric, V., Bechsgaard, J.S., Grenier, S., Noureddine, R., Schierup, M.H. and Vekemans, X. 2010. Molecular evolution within and between self-incompatibility specificities. *Mol. Biol. Evol.*, **27**: 11-20.
- Castric, V. and Vekemans, X. 2004. Plant self-incompatibility in natural populations: a critical assessment of recent theoretical and empirical advances. *Mol. Ecol.*, **13**: 2873-2889.
- Chapman, L.J., Galis, F. and Shinn, J. 2000. Phenotypic plasticity and the possible role of genetic assimilation: Hypoxia-induced trade-offs in the morphological traits of an African cichlid. *Ecol. Lett.*, **3**: 387-393.
- Cheetham, A.H., Jackson, J.B.C. and Hayek, L.A.C. 1995. Quantitative Genetics of Bryozoan Phenotypic Evolution .3. Phenotypic Plasticity and the Maintenance of Genetic-Variation. *Evolution*, **49**: 290-296.
- Chevin, L-M., Lande, R., and Mace, G.M. 2010. Adaptation, Plasticity, and Extinction in a Changing Environment: Towards a Predictive Theory. *Plos Biol.*, **8**: e1000357.
- Dawkins, R. 1976. *The Selfish Gene*. Oxford University Press.
- De Kroon, H., Huber, H., Stuefer, J.F. and van Groenendael, J.M. 2005. A modular concept of phenotypic plasticity in plants. *New Phytol.*, **166**: 73-82.
- Debat, V. and David, P. 2001. Mapping phenotypes: canalization, plasticity and developmental stability. *Trends Ecol. Evol.*, **16**: 555-561.

- Dechaine, J.M., Johnston, J.A., Brock, M.T. and Weinig, C. 2007. Constraints on the evolution of adaptive plasticity: Costs of plasticity to density are expressed in segregating progenies. *New Phytol.*, **176**: 874-882.
- Dewitt, T.J. 1998. Costs and limits of phenotypic plasticity: Tests with predator-induced morphology and life history in a freshwater snail. *J. Evol. Biol.*, **11**: 465-480.
- Dewitt, T.J., Sih, A. and Wilson, D.S. 1998. Costs and limits of phenotypic plasticity. *Trends Ecol. Evol.*, **13**: 77-81.
- Donohue, K., Messiqua, D., Pyle, E.H., Heschel, M.S. and Schmitt, J. 2000. Evidence of adaptive divergence in plasticity: Density- and site-dependent selection on shade-avoidance responses in *Impatiens capensis*. *Evolution*, **54**: 1956-1968.
- Dopazo, H., Gordon, M.B., Perazzo, R. and Risau-Gusman, S. 2001. A model for the interaction of learning and evolution. *B. Math. Biol.*, **63**: 117-134.
- Duckworth, R.A. 2009. The role of behavior in evolution: a search for mechanism. *Evol. Ecol.*, **23**: 513-531.
- Duffy, M., Brassil, C., Hall, S., Tessier, A., Caceres, C. and Conner, J. 2008. Parasite-mediated disruptive selection in a natural Daphnia population. *BMC Evol. Biol.*, **8**: 80.
- Edelaar, P., Piersma, T. and Postma, E. 2005. Retained non-adaptive plasticity: gene flow or small inherent costs of plasticity? *Evol. Ecol. Res.*, **7**: 489-495.
- Ernande, B. and Dieckmann, U. 2004. The evolution of phenotypic plasticity in spatially structured environments: implications of intraspecific competition, plasticity costs and environmental characteristics. *J. Evol. Biol.*, **17**: 613-628.
- Evans, M. and Neff, B. 2009. Major histocompatibility complex heterozygote advantage and widespread bacterial infections in populations of Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Mol. Ecol.*, **18**: 1716-1729.
- Fordyce, J.A. 2006. The evolutionary consequences of ecological interactions mediated through phenotypic plasticity. *J. Exp. Biol.*, **209**: 2377-2383.
- Gabriel, W. 2005. How stress selects for reversible phenotypic plasticity. *J. Evol. Biol.*, **18**: 873-883.
- Gaggiotti, O.E. 2010. Bayesian statistical treatment of the fluorescence of AFLP bands leads to accurate genetic structure inference. *Mol. Ecol.*, **19**: 4586-4588.
- Geng, Y.P., Pan, X.Y., Xu, C.Y., Zhang, W.J., Li, B. and Chen, J.K. 2006. Phenotypic plasticity of invasive *Alternanthera philoxeroides* in relation to different water availability, compared to its native congener. *Acta Oecol.*, **30**: 380-385.
- Gerhardt, H.C. and Brooks, R. 2009. Experimental Analysis of Multivariate Female Choice in Gray Treefrogs (*Hyla Versicolor*): Evidence for Directional and Stabilizing Selection. *Evolution*, **63**: 2504-2512.
- Ghalambor, C.K., McKay, J.K., Carroll, S.P. and Reznick, D.N. 2007. Adaptive versus non-adaptive phenotypic plasticity and the potential for contemporary adaptation in new environments. *Funct. Ecol.*, **21**: 394-407.
- Gillespie, J.H. and Turelli, M. 1989. Genotype-Environment Interactions and the Maintenance of Polygenic Variation. *Genetics*, **121**: 129-138.
- Gonzalo-Turpin, H. and Hazard, L. 2009. Local adaptation occurs along altitudinal gradient despite the existence of gene flow in the alpine plant species *Festuca eskia*. *J. Ecol.*, **97**: 742-751.
- Gorur, G., Lomonaco, C. and Mackenzie, A. 2005. Phenotypic plasticity in host-plant specialisation in *Aphis fabae*. *Ecol. Entomol.*, **30**: 657-664.
- Gouyon, P.H., Henry, J.P. and Arnould, J. 1997. *Les avatars du gène : théorie néodarwinienne de l'évolution*. Belin, coll. « Regard sur la science », Paris.
- Grant-Downton, R.T. and Dickinson, H.G. 2006. Epigenetics and its implications for plant biology 2. The 'epigenetic epiphany': Epigenetics, evolution and beyond. *Ann. Bot.*, **97**: 11-27.
- Harder, L.D. and Johnson, S.D. 2005. Adaptive plasticity of floral display size in animal-pollinated plants. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.*, **272**: 2651-2657.
- Hinton, G.E. and Nowlan, S.J. 1987. How learning can guide evolution. *P. Soc. Photo-opt. Ins.*, **1**: 495-502.
- Hirshfield, M.F. and Tinkle, D.W. 1975. Natural-Selection and Evolution of Reproductive Effort. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, **72**: 2227-2231.
- Hiscock, S.J. and McInnis, S.M. 2003. The diversity of self-incompatibility systems in flowering plants. *Plant Biol.*, **5**: 23-32.
- Hoekstra, H.E., Hoekstra, J.M., Berrigan, D., Vignieri, S.N., Hoang, A., Hill, C.E. et al. 2001. Strength and tempo of directional selection in the wild. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, **98**: 9157-9160.
- Hoffman, A.A., and Parsons, P.A. 1991. *Evolutionary Genetics and Environmental Stress*. Oxford University Press: Oxford.
- Hoffman, A.A., and Sgro, C.M. 1995. Ecological population genetics: the interface between genes and the environment. *Annu. Rev. Genetics*, **29**: 349-370
- Hoffman, A.A. and Sgro, C.M. 2011. Climate change and evolutionary adaptation. *Nature*, **470**: 479-485.
- Irschick, D.J. and Meyers, J.J. 2007. An analysis of the relative roles of plasticity and natural selection in the morphology and performance of a lizard (*Urosaurus ornatus*). *Oecologia*, **153**: 489-499.

- Jablonka, E. and Lamb, M.J. 1998. Epigenetic inheritance in evolution. *J. Evol. Biol.*, **11**: 159-183.
- Johnston, I.A. 2006. Environment and plasticity of myogenesis in teleost fish. *J. Exp. Biol.*, **209**: 2249-2264.
- Jolley, K.A., Wilson, D.J., Kriz, P., Mcvean, G. and Maiden, M.C.J. 2005. The influence of mutation, recombination, population history, and selection on patterns of genetic diversity in *Neisseria meningitidis*. *Mol. Biol. Evol.*, **22**: 562-569.
- Jong, G. 1995. Phenotypic Plasticity as a Product of Selection in a Variable Environment. *Am. Nat.*, **145**: 493-512.
- Jong, G. 2005. Evolution of phenotypic plasticity: patterns of plasticity and the emergence of ecotypes. *New Phytol.*, **166**: 101-118.
- Jong, G. and Bijma, P. 2002. Selection and phenotypic plasticity in evolutionary biology and animal breeding. *Livest. Prod. Sci.*, **78**: 195-214.
- Kleunen, M. and Fischer, M. 2005. Constraints on the evolution of adaptive phenotypic plasticity in plants. *New Phytol.*, **166**: 49-60.
- Kleunen, M. and Fischer, M. 2007. Progress in the detection of costs of phenotypic plasticity in plants. *New Phytol.*, **176**: 727-730.
- Kneitel, J.M. and Chase, J.M. 2004. Trade-offs in community ecology: linking spatial scales and species coexistence. *Ecol. Lett.*, **7**: 69-80.
- Kopp, M. and Tollrian, R. 2003. Reciprocal phenotypic plasticity in a predator-prey system: inducible offences against inducible defences? *Ecol. Lett.*, **6**: 742-748.
- Kotowska, A., Cahill, J. and Keddie, B. 2010. Plant genetic diversity yields increased plant productivity and herbivore performance. *J. Ecol.*, **98**: 237-245.
- Latta, L.C., Bakelar, J.W., Knapp, R.A. and Pfrender, M.E. 2007. Rapid evolution in response to introduced predators II: the contribution of adaptive plasticity. *BMC Evol. Biol.*, **7**: 21.
- Lehmann, C. and Rebele, F. 2005. Phenotypic plasticity in *Calamagrostis epigejos* (Poaceae): response capacities of genotypes from different populations of contrasting habitats to a range of soil fertility. *Acta Oecol.*, **28**: 127-140.
- Lind, M.I. and Johansson, F. 2009. Costs and Limits of Phenotypic Plasticity in Island Populations of the Common Frog *Rana Temporaria* Under Divergent Selection Pressures. *Evolution*, **63**: 1508-1518.
- Loman, J. and Claesson, D. 2003. Plastic response to pond drying in tadpoles *Rana temporaria*: tests of cost models. *Evol. Ecol. Res.*, **5**: 179-194.
- Lynch, M. and Gabriel, W. 1987. Environmental Tolerance. *Am. Nat.*, **129**: 283-303.
- Ma, C.X., Yu, Q.B., Berg, A., Drost, D., Novaes, E., Fu, G.F. *et al.* 2008. A statistical model for testing the pleiotropic control of phenotypic plasticity for a count trait. *Genetics*, **179**: 627-636.
- Majerus, M.E.N. 2009. Industrial Melanism in the Peppered Moth, *Biston betularia*: An Excellent Teaching Example of Darwinian Evolution in Action. *Evo. Edu. Outreach*, **2**: 63-74.
- Malamy, J.E. 2005. Intrinsic and environmental response pathways that regulate root system architecture. *Plant Cell Environ.*, **28**: 67-77.
- Matton, D.P., Nass, N., Clarke, A.E. and Newbigin, E. 1994. Self-Incompatibility - How Plants Avoid Illegitimate Offspring. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, **91**: 1992-1997.
- Merila, J., Laurila, A. and Lindgren, B. 2004. Variation in the degree and costs of adaptive phenotypic plasticity among *Rana temporaria* populations. *J. Evol. Biol.*, **17**: 1132-1140.
- Meyer, C., Kostecka, A., Saumitou-Laprade, P., Creach, A., Castric, V., Pauwels, M. *et al.* 2010. Variability of zinc tolerance among and within populations of the pseudometallophyte species *Arabidopsis halleri* and possible role of directional selection. *New Phytol.*, **185**: 130-142.
- Miner, B.G., Sultan, S.E., Morgan, S.G., Padilla, D.K. and Relyea, R.A. 2005. Ecological consequences of phenotypic plasticity. *Trends Ecol. Evol.*, **20**: 685-692.
- Moore, I., Samalova, M. and Kurup, S. 2006. Transactivated and chemically inducible gene expression in plants. *Plant J.*, **45**: 651-683.
- Moran, N.A. 1992. The Evolutionary Maintenance of Alternative Phenotypes. *Am. Nat.*, **139**: 971-989.
- Muller, M. and Schmidt, W. 2004. Environmentally induced plasticity of root hair development in *arabidopsis*. *Plant Physiol.*, **134**: 409-419.
- Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, **70**: 3321-3323.
- Nicotra, A.B., Atkin, O.K., Bonser, S.P., Davidson, A.M., Finnegan, E.J., Mathesius, U. *et al.* 2010. Plant phenotypic plasticity in a changing climate. *Trends Plant Sci.* **15**: 684-692
- Nolfi, S. and Floreano, D. 1999. Learning and evolution. *Auton. Robot.*, **7**: 89-113.
- Novaes, E., Osorio, L., Drost, D.R., Miles, B.L., Boaventura-Novaes, C.R.D., Benedict, C. *et al.* 2009. Quantitative genetic analysis of biomass and wood chemistry of *Populus* under different nitrogen levels. *New Phytol.*, **182**: 878-890.
- Nussey, D.H., Postma, E., Gienapp, P. and Visser, M.E. 2005. Selection on heritable phenotypic plasticity in a wild bird population. *Science*, **310**: 304-306.

- Paenke, I., Sendhoff, B. and Kawecki, T.J. 2007. Influence of plasticity and learning on evolution under directional selection. *Am. Nat.*, **170**: E47-E58.
- Peluc, S.I., Sillett, T.S., Rotenberry, J.T. and Ghalambor, C.K. 2008. Adaptive phenotypic plasticity in an island songbird exposed to a novel predation risk. *Behav. Ecol.*, **19**: 830-835.
- Pigliucci, M. 2005. Evolution of phenotypic plasticity: where are we going now? *Trends in Ecology and Evolution*, **20**: 481-486.
- Pigliucci, M. 2001. *Phenotypic plasticity: beyond nature and the nurture*. The John Hopkins university press.
- Pigliucci, M. and Kolodnynska, A. 2002. Phenotypic plasticity to light intensity in *Arabidopsis thaliana*: invariance of reaction norms and phenotypic integration. *Evol. Ecol.*, **16**: 27-47.
- Price, T.D. 2006. Phenotypic plasticity, sexual selection and the evolution of colour patterns. *J. Exp. Biol.*, **209**: 2368-2376.
- Price, T.D., Qvarnstrom, A. and Irwin, D.E. 2003. The role of phenotypic plasticity in driving genetic evolution. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, **270**: 1433-1440.
- Przybylo, R., Sheldon, B.C. and Merila, J. 2000. Climatic effects on breeding and morphology: evidence for phenotypic plasticity. *J. Anim. Ecol.*, **69**: 395-403.
- Reed, T.E., Schindler, D.E. and Waples, R.S. 2011. Interacting effects of phenotypic plasticity and evolution on population persistence in a changing climate. *Conserv. Biol.* **25**: 56-63
- Reimchen, T.E. and Nosil, P. 2002. Temporal variation in divergent selection on spine number in threespine stickleback. *Evolution*, **56**: 2472-2483.
- Relyea, R.A. 2002. Costs of phenotypic plasticity. *Am. Nat.*, **159**: 272-282.
- Relyea, R.A. 2001. The lasting effects of adaptive plasticity: Predator-induced tadpoles become long-legged frogs. *Ecology*, **82**: 1947-1955.
- Robinson, B.W. and Wilson, D.S. 1996. Genetic variation and phenotypic plasticity in a trophically polymorphic population of pumpkinseed sunfish (*Lepomis gibbosus*). *Evol. Ecol.*, **10**: 631-652.
- Roder, G., Rahier, M. and Naisbit, R.E. 2008. Counter-intuitive developmental plasticity induced by host quality. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, **275**: 879-885.
- Rueffler, C., Van Dooren, T.J.M., Leimar, O. and Abrams, P.A. 2006. Disruptive selection and then what? *Trends Ecol. Evol.*, **21**: 238-245.
- Scheiner, S. and Lyman, R. 1989. The genetics of phenotypic plasticity. I. Heritability. *J. Evol. Biol.*, **2**: 97-107.
- Scheiner, S. and Lyman, R. 1991. The genetics of phenotypic plasticity. II. Response to selection. *J. Evol. Biol.*, **4**: 23-50.
- Scheiner, S.M. 1993. Genetics and Evolution of Phenotypic Plasticity. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, **24**: 35-68.
- Scheiner, S.M. 2002. Selection experiments and the study of phenotypic plasticity. *J. Evol. Biol.*, **15**: 889-898.
- Scheiner, S.M. and Berrigan, D. 1998. The genetics of phenotypic plasticity. VIII. The cost of plasticity in *Daphnia pulex*. *Evolution*, **52**: 368-378.
- Schlichting, C.D. 1986. The evolution of phenotypic plasticity in plants. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, **17**: 667-693.
- Schlichting, C.D. and Levin, D.A. 1990. Phenotypic Plasticity in Phlox .3. Variation Among Natural-Populations of Phlox-Drummondii. *J. Evol. Biol.*, **3**: 411-428.
- Schlichting, C.D. and Smith, H. 2002. Phenotypic plasticity: linking molecular mechanisms with evolutionary outcomes. *Evol. Ecol.*, **16**: 189-211.
- Schmitt, J., Dudley, S.A. and Pigliucci, M. 1999. Manipulative approaches to testing adaptive plasticity: Phytochrome-mediated shade-avoidance responses in plants. *Am. Nat.*, **154**: S43-S54.
- Stearns, S.C. 1977. Evolution of Life-History Traits - Critique of Theory and A Review of Data. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, **8**: 145-171.
- Steinger, T., Roy, B.A. and Stanton, M.L. 2003. Evolution in stressful environments II: adaptive value and costs of plasticity in response to low light in *Sinapis arvensis*. *J. Evol. Biol.*, **16**: 313-323.
- Sultan, S.E. 2000. Phenotypic plasticity for plant development, function and life history. *Trends Plant Sci.*, **5**: 537-542.
- Sultan, S.E. and Bazzaz, F.A. 1993. Phenotypic Plasticity in Polygonum-Persicaria .2. Norms of Reaction to Soil-Moisture and the Maintenance of Genetic Diversity. *Evolution*, **47**: 1032-1049.
- Sultan, S.E. and Spencer, H.G. 2002. Metapopulation structure favors plasticity over local adaptation. *Am. Nat.*, **160**: 271-283.
- Swallow, J.G., Rhodes, J.S. and Garland, T. 2005. Phenotypic and evolutionary plasticity of organ masses in response to voluntary exercise in house mice. *Integr. Comp. Biol.*, **45**: 426-437.
- Swynghedauw, B. 2006. Phenotypic plasticity of adult myocardium: molecular mechanisms. *J. Exp. Biol.*, **209**: 2320-2327.
- Takayama, S. and Isogai, A. 2005. Self-incompatibility in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.*, **56**: 467-489.
- Totland, O. 2001. Environment-dependent pollen limitation and selection on floral traits in an alpine species. *Ecology*, **82**: 2233-2244.

- Valladares, F., Gianoli, E. and Gomez, J.M. 2007. Ecological limits to plant phenotypic plasticity. *New Phytol.*, **176**: 749-763.
- Valladares, F., Sanchez-Gomez, D. and Zavala, M.A. 2006. Quantitative estimation of phenotypic plasticity: bridging the gap between the evolutionary concept and its ecological applications. *J. Ecol.*, **94**: 1103-1116.
- Van Buskirk, J. and Steiner, U.K. 2009. The fitness costs of developmental canalization and plasticity. *J. Evol. Biol.*, **22**: 852-860.
- Van Heerwaarden, J., van Eeuwijk, F.A. and Ross-Ibarra, J. 2010. Genetic diversity in a crop metapopulation. *Heredity*, **104**: 28-39.
- Van Tienderen, P.H. 1991. Evolution of Generalists and Specialists in Spatially Heterogeneous Environments. *Evolution*, **45**: 1317-1331.
- VanDijk, H., Boudry, P., McCombie, H. and Vernet, P. 1997. Flowering time in wild beet (*Beta vulgaris* ssp. *maritima*) along a latitudinal cline. *Acta Oecol.*, **18**: 47-60.
- Via, S. 1993. Adaptive Phenotypic Plasticity - Target Or By-Product of Selection in A Variable Environment. *Am. Nat.*, **142**: 352-365.
- Via, S., Gomulkiewicz, R., Dejong, G., Scheiner, S.M., Schlichting, C.D. and Vantienderen, P.H. 1995. Adaptive Phenotypic Plasticity - Consensus and Controversy. *Trends Ecol. Evol.*, **10**: 212-217.
- Volis, S. 2009. Plasticity, its cost, and phenotypic selection under water and nutrient stress in two annual grasses. *Biol. J. Linn. Soc. Lond.*, **97**: 581-593.
- Volis, S., Mendlinger, S. and Ward, D. 2002. Differentiation in populations of *Hordeum spontaneum* Koch along a gradient of environmental productivity and predictability: plasticity in response to water and nutrient stress. *Biol. J. Linn. Soc. Lond.*, **75**: 301-312.
- Weinig, C. 2000. Plasticity versus canalization: Population differences in the timing of shade-avoidance responses. *Evolution*, **54**: 441-451.
- Weinig, C. and Delph, L.F. 2001. Phenotypic plasticity early in life constrains developmental responses later. *Evolution*, **55**: 930-936.
- West-Eberhard, M.J. 1989. Phenotypic plasticity and the origins of diversity. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, **20**:249-278
- West-Eberhard, M.J. 2005. Phenotypic accommodation: Adaptive innovation due to developmental plasticity. *J. Exp. Zool. Part B*, **304B**: 610-618.
- Yampolsky, L.Y. and Scheiner, S.M. 1994. Developmental Noise, Phenotypic Plasticity, and Allozyme Heterozygosity in *Daphnia*. *Evolution*, **48**: 1715-1722.
- Zhang, X.S. and Hill, W.G. 2007. Competition can maintain genetic but not environmental variance in the presence of stabilizing selection. *Evolution*, **61**: 1532-1545.
- Zhivotovsky, L.A. and Gavrillets, S. 1992. Quantitative Variability and Multilocus Polymorphism Under Epistatic Selection. *Theor. Popul. Biol.*, **42**: 254-283.

Figure legends

Figure A1.1. Scenarios for change in mean and/or variance of a trait in a population between constitutive phenotype expressed prior to an interaction (dark shading) and the induced phenotype following an interaction (light shading). (A) An increase in mean and variance of a trait. (B) Decrease in variance, mean unchanged. (C) Increase in variance, mean unchanged. (Fordyce 2006).

Figure A1.2. The lines represent the reaction norms (i.e. the genotype-specific environment-phenotype functions) of each genotype. Both lines have a slope in the environment-phenotype space, which means that both genotypes are plastic. The population shows GxE in the sense that there is genetic variation for the slope of the reaction norm, which would be detected by a standard analysis of variance (Pigliucci 2005).

Figure A1.3. (A) Relationship between phenotypic values and fitness in one environment for population genotypes. (B) Relationship between degree of plasticity and fitness residuals; there is a cost of plasticity when the slope of the regression is negative (Dewitt *et al.* 1998).

Figure A1.4. Schematic representation of how directional plasticity affects the way variation in the genotypic values x translates into variation in log fitness, which in turn of mean x to selection. The solid line shows the log of the fitness function, and the shaded areas symbolize the distributions of phenotypes and fitness without plasticity (light shading) and with plasticity (dark shading). Directional plasticity (symbolized by an arrow) shifts the distribution of the phenotypes (mean and variance). The curvature of the log fitness function (convex in A; concave in B) determines how the shift in the mean of the distribution changes the variation in log fitness (Paenke *et al.* 2007).

Fig. A1.1

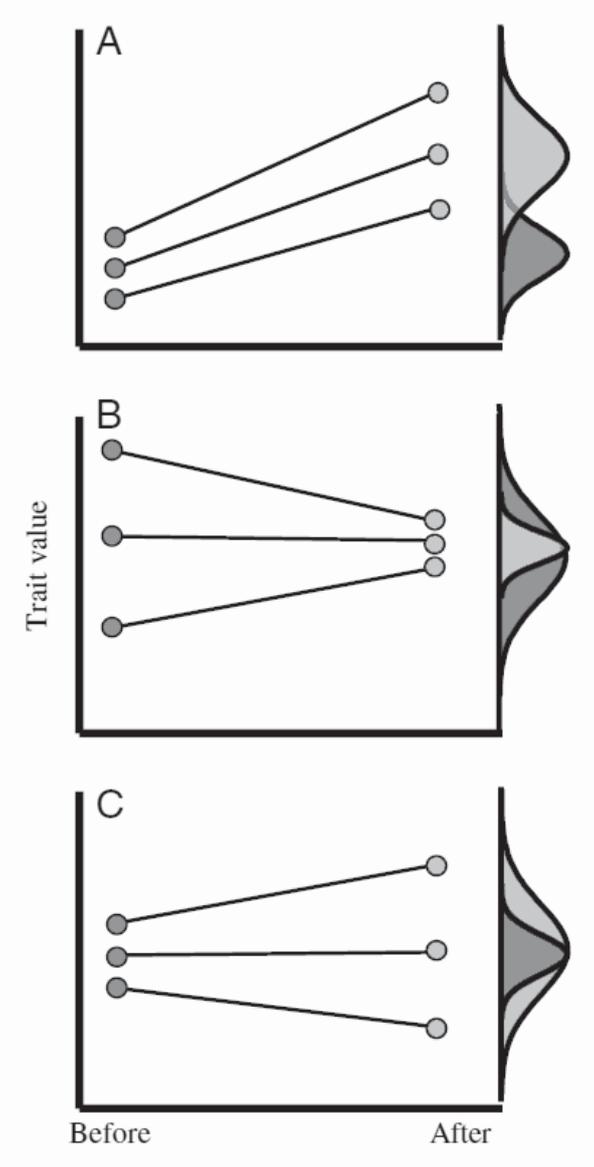


Fig.A1.2

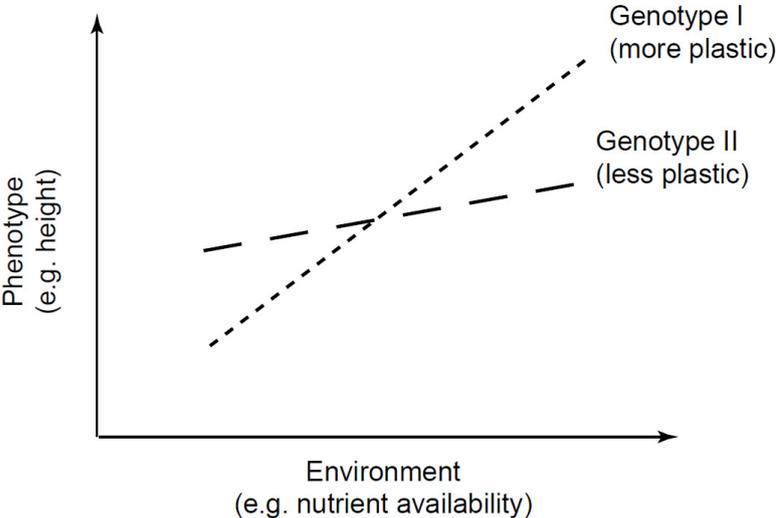


Fig.A1.3

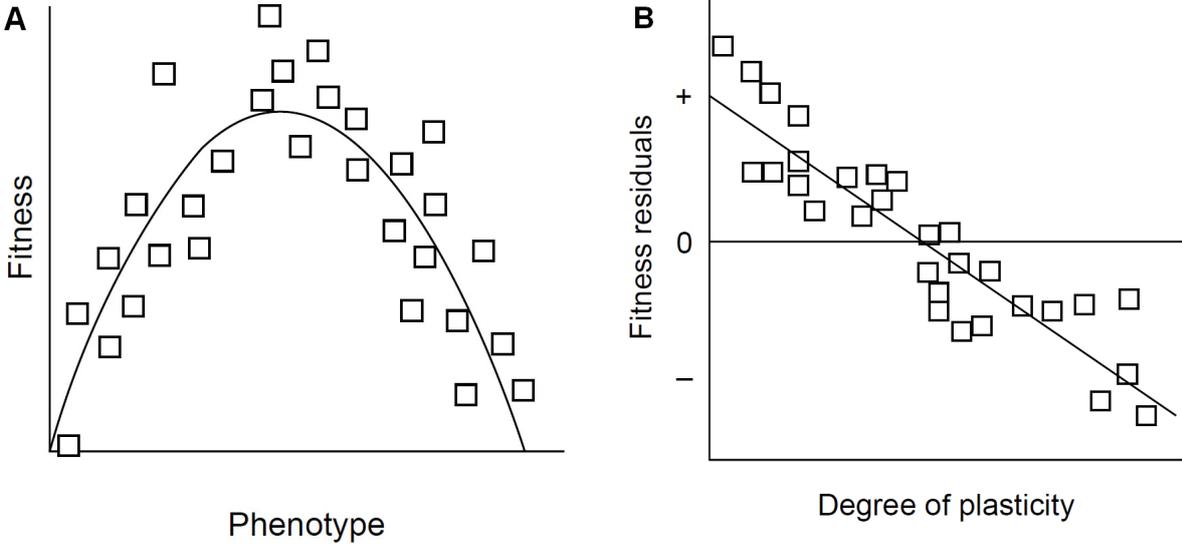
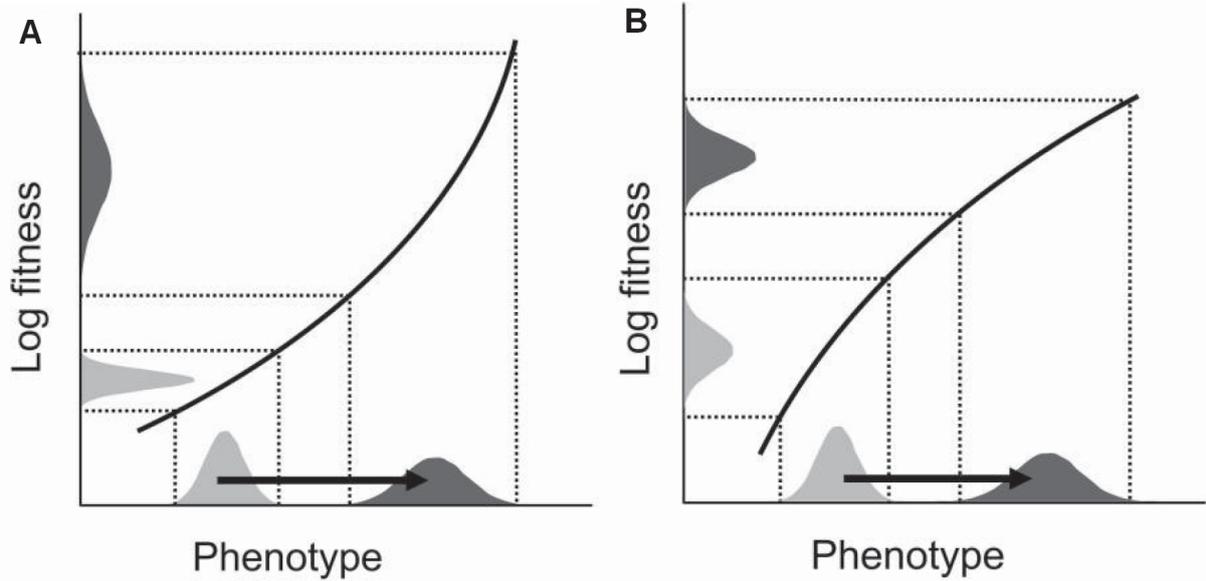


Fig.A1.4



Annexe 2 : Géotypage

Extraction d'ADN

Principe

L'extraction est réalisée à partir d'un prélèvement de feuille pour chaque géotype. Le protocole d'extraction CIMMYT est utilisé, il s'agit de casser mécaniquement les parois par broyage à l'aide d'un broyeur à peinture le matériel végétal qui est soit séché soit dans de l'azote liquide. Ensuite un détergeant (CTAB) est utilisé pour casser les membranes cytoplasmiques et nucléaires pour permettre la libération de l'ADN du noyau dans une solution aqueuse. Du chloroforme est utilisé pour éliminer les molécules hydrophobes (ex : chloroplastes) et les protéines liées à l'ADN, cet ADN est ensuite précipité dans de l'isopropanol pour obtenir une pelote qui est remis en suspension dans une solution tampon (tris-EDTA) (Fig.A2.1). L'ADN ainsi obtenu est dosé sur gel d'agarose par comparaison avec de l'ADN à des concentrations connues.

Protocole de l'extraction :

- 1- Broyer 1 à 3 min selon le matériel végétal à la mélangeuse à peinture.
- 2- Déposer à la pipette multicanaux 700 μ l de tampon de lyse (ajouter extemporanément 1% de bisulfite de sodium et de la RNase à 10 μ g/ml final), thermosouder un thermoseal et agiter au vortex vitesse maximum.
- 3- Incuber 1H00 à 60°C et agiter toutes les 15 min au vortex.
- 4- Centrifuger 30 min à 4000 rpm à 20 °C. Retirer le thermoseal.
- 5- Pipeter 400 μ l de surnageant à la pipette multicanaux et le transférer dans une nouvelle plaque 96 puits de 0.8 ml.
- 6- Ajouter 200 μ l de chloroforme/octanol (24:1), thermosouder un thermoseal, et mélanger par retournement pendant 5 min.
- 7- Centrifuger 30 min à 4000 rpm à 20 °C. Retirer le thermoseal.

- 8- Prélever délicatement la phase supérieure, 200 μ l, à la pipette multicanaux et la transférer dans une nouvelle plaque 96 puits de 0.8 ml.
- 9- Ajouter 120 μ l (0,6 Volume) d'isopropanol, thermosouder un easypeel, et mélanger délicatement par retournement, pour obtenir une pelote d'ADN.
- 10- Laisser 15 min à température ambiante.
- 11- Centrifuger 30 min à 4000 rpm à 20°C.
- 12- Vider le surnageant par retournement de la plaque
- 13- Rincer les culots avec 150 μ l de solution de nettoyage 1.
- 14- Centrifuger 10 min à 4000 rpm à 20 °C.
- 15- Vider la solution de nettoyage 1 par retournement de la plaque.
- 16- Rincer les culots avec 150 μ l de solution de nettoyage 2.
- 17- Centrifuger 10 min à 4000 rpm à 20 °C.
- 18- Vider la solution de nettoyage 2 par retournement de la plaque.
- 19- Reprendre les culots dans 100 μ l de TE 10.1 pH 8. Thermosouder un easypeal
- 20- Laisser 1 nuit à température ambiante et au noir.
- 21- Remettre en suspension l'ADN délicatement avec une pipette multicanaux.

Dosage quantitatif et qualitatif des ADN :

Dans une plaque 96 puits de 200 μ l, répartir :

2 μ l d'ADN

8 μ l d'H₂O

2 μ l de bleu de charge pour agarose

Déposer 6 μ l du mélange sur un gel d'agarose à 0.8%.

Tampon de Lyse	2 plaques 150 ml	4 plaques 300 ml
Tris 1M pH 7,5	15 ml	30 ml
NaCl 5M	21 ml	42 ml
EDTA 0,5M pH 8	15 ml	30 ml
Eau u.p.	97.5 ml	195 ml
Chauffer à 65°C puis ajouter :		
CTAB	3 g	6 g
Bisulfite de sodium (Na ₂ S ₂ O ₅)	1.5 g	3 g
Rnase	10 /g/ml (1500/g ou 1.5mg)	10 /g/ml
	Soit 150/l à 10 mg/ml	

NB : le bisulfite de sodium est un agent anti-oxydant et le CTAB permet de solubiliser les différents composants cellulaires.

Solution de nettoyage 1

	40 ml	80 ml
Ethanol absolu	30.4 ml	60.8 ml
Acétate de sodium (C ₂ H ₃ O ₂ Na) 2,5M	3.2 ml	6.4 ml
Eau u.p.	6.4 ml	12.8 ml

Solution de nettoyage 2

	40 ml	80 ml
Ethanol absolu	30.4 ml	60.8 ml
Acétate d'ammonium (C ₂ H ₇ NO ₂) 1M	0.4 ml	0.8 ml
Eau u.p.	9.2 ml	18.4 ml



Figure A2.1 : Illustration d'une partie du matériel utilisé pour réaliser l'extraction ADN.

Génotypage

Les marqueurs microsatellites

Le génotypage s'est effectué par amplification PCR suivit d'une électrophorèse. La méthode employée (Oetting et al., 1995) consiste à appliquer une révélation fluorescente grâce à l'ajout en extrémité 5' d'une queue M13 fluorescente à l'une des amorces. Le segment M13 fluorescent est ajouté au mélange PCR durant l'amplification. La migration et l'acquisition de l'image du gel se fait grâce à un séquenceur Li-Cor Global IR² (LI-COR, Lincoln, NE, USA, Biosciences). Le principe consiste à détecter les produits PCR fluorescents par deux lasers qui transmettent l'image des bandes au serveur. Le dépôt des produits de PCR, auxquels un tampon de charge est ajouté, se fait après dénaturation (5min à 95°C) sur un gel d'acrylamide.

L'image brute est exportée sur le logiciel d'analyse SAGA GTTM (LI-COR, Inc. Lincoln, Nebraska USA) afin d'obtenir la taille des allèles sur la base d'une comparaison avec un marqueur de taille (Fig.A2.2). La liste des marqueurs utilisés dans la cartographie est présentée dans le tableau A2.1, la liste complète des marqueurs testés est présentée dans le tableau A2.2.



Figure A2.1 : Séquenceur Li-Cor Global IR² utilisé pour le génotypage des individus.

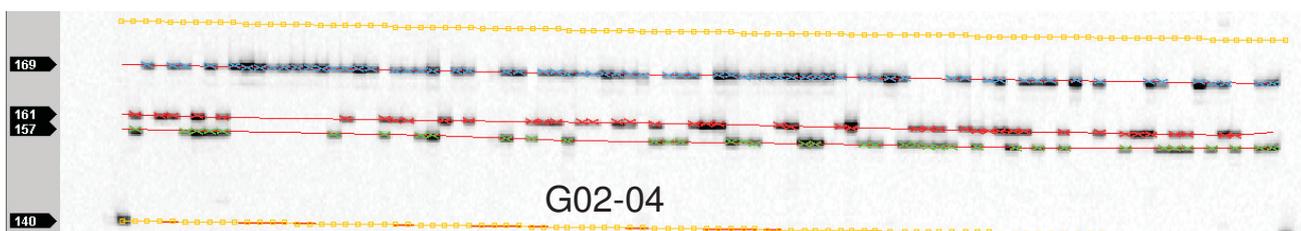


Figure A2.2 : Exemple d'image obtenu à l'aide du séquenceur Li-Cor et analysée à l'aide du logiciel SAGA. Ici un marqueur microsatellite avec 3 allèles est représenté aux positions 157, 161 et 169 paires de base.

Les réactions PCR ont été réalisées dans un volume de 10 μ L contenant :

- Tampon 10X Qiagen
- dNTP (10 μ M)
- amorce étendue par une queue M13 (10 μ M)
- amorce non étendue (10 μ M)
- segment M13 fluorescent
- Taq polymérase (Qiagen ou Biomédical)
- ADN (50ng)

Les conditions PCR ont été les suivantes :

- Dénaturation : 5 minutes à 95°C

8 cycles :

- Dénaturation : 30 secondes à 95°C
- Hybridation des amorces : 30 secondes à 62°C
- Diminution de -1°C/cycle
- Elongation : 30 secondes à 72°C

28 cycles :

- Dénaturation : 30 secondes à 95°C
- Hybridation des amorces : 30 secondes à 55°C
- Elongation : 30 secondes à 72°C
- Extension terminale : 5 minutes à 72°C

Une estimation des erreurs de génotypage est réalisée sur 7 marqueurs microsatellites qui sont génotypés à deux reprises sur la population (PCR + migration électrophorèse).

Tableau A2.1 : Références bibliographique des marqueurs microsatellites utilisés.

Références	Marqueurs
Lem et Lallemand, 2003	NDPK, CYP, OSW
Jensen <i>et al.</i> , 2005	B2F1, DLF27, Lpssr23
Kubik <i>et al.</i> , 2001	Lp165
Studer <i>et al.</i> , 2008	dias7 (G01-07), dias47 (G01-47), dias68 (G01-68), G02-04, G02-47, G02-49, G03-49, G04-56, G05-33, G05-108, G05-129, G07-65
Gill <i>et al.</i> , 2006	rv244, rv454, rv663, rv706, rv959, 25ca1
Lauvergeat <i>et al.</i> , 2005	B1A8, B1C9, B3B8
Saha <i>et al.</i> , 2005	nffa87, nffa112
Barre <i>et al.</i> , 2009	syn4067
Faville <i>et al.</i> , 2004	pps49, pps210, pps299, pps397
Hirata <i>et al.</i> , 2011	Lmgssr01-8H, Lmgssr16-4F
Hirata <i>et al.</i> , 2006	Lmgssr15-8E, Lmgssr15-9F

Nous avons ajouté à ces marqueurs deux autres situés sur des gènes impliqués dans les transporteurs de saccharose par une procédure PCR HRM (High Resolution Melt ; Berthier, 2011):

Marqueurs développés		Séquences des amorces
Lp-SUT1	F	CTTCATTCATGTGGCTCTGC
	R	TATTTCTTAGCGCCATCCAA
Lp-SUT4	F	AGGAGGCTTTCCTCTTCGAG
	R	AGCCCAAGATTCTCAACACG

Les marqueurs AFLP

La première étape pour obtenir ces marqueurs est la digestion de l'ADN par un mélange d'enzyme bactérien EcoR I et Mse I durant 2 heures à 37°C. Nous procédons ensuite à la ligation des adaptateurs EcoRI et MseI durant 2 heures à 20°C.

Adaptateur EcoRI : 5'CTCGTAGACTGCGTACC
CATCTGACGCATGGTTAA 3'

Adaptateur MseI : 5' GACGATGAGTCCTGAG
TACTCAGGACTCAT 3'

La pré-amplification est réalisée en utilisant les amorces suivantes :

EcoRI : 5' GACTGCGTACCAATTCA

MseI : 5' GATGAGTCCTGAGTAAC

Les réactions PCR ont été réalisées dans un volume de 25µL contenant :

- amorce EcoRI (10µM)
- amorce MseI (10µM)
- dNTP (10mM)
- Tampon 10x MP biomedicals
- Taq MP Biomedicals 5U/µL
- ADN digéré, ligué

Les conditions PCR ont été les suivantes :

20 cycles :

- Dénaturation : 30 secondes à 94°C
- Hybridation des amorces : 1 minute à 56°C
- Elongation : 1 minute à 72°C

L'amplification spécifique est réalisée à partir d'une dilution au 1/40^e des produits de pré-amplification. Les amorces utilisées sont les mêmes que pour la pré-amplification avec une extension en 3' de deux bases sélectives supplémentaires. Les amorces EcoRI sont liées à un fluorochrome pour une visualisation après passage dans le séquenceur Li-Cor. Les couples d'amorces utilisés sont les suivants : AAC-CTA ; AAG-CAC ; ACA-CAG ; ACA-CTG ; ACC-CAC ; ACC-CAG ; ACG-CAC ; ACG-CTG ; AGG-CAG ; AGG-CCA et AGG-CTG. L'image brute est exportée sur le logiciel d'analyse SAGA GTTM afin d'obtenir la taille des allèles sur la base d'une comparaison avec un marqueur de taille (Fig.A2.3).

Les réactions PCR ont été réalisées dans un volume de 20µL contenant :

- Tampon 10x MP Biomedicals
- dNTP (10 mM)
- Amorce M-C XX (10µL)
- Amorce E-A XX (10µL)
- Taq MP biomedicals 5U/µL
- ADN pré-amplifié

Les conditions PCR ont été les suivantes :

- Dénaturation : 4 minutes à 94°C

10 cycles :

- Dénaturation : 1 minute à 94°C
- Hybridation des amorces : 1 minute à 65°C
- Diminution de -1°C/cycle
- Elongation : 1 minute 30 secondes à 72°C

23 cycles :

- Dénaturation : 1 minute à 94°C
- Hybridation des amorces : 30 secondes à 56°C
- Elongation : 1 minute à 72°C
- Extension terminale : 2 minutes à 72°C

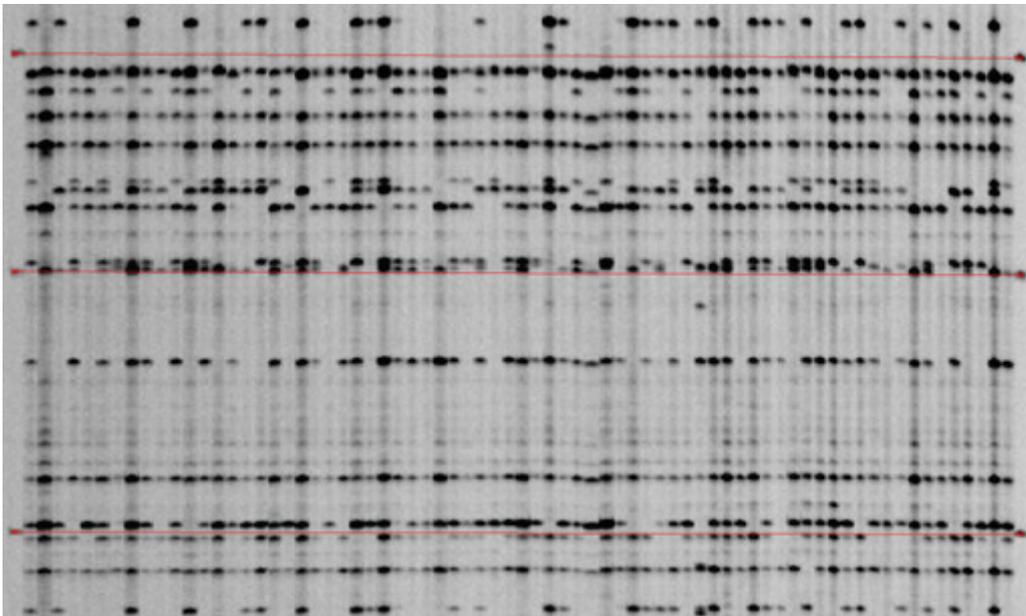


Figure A2.3 : Exemple d'image obtenu à l'aide du séquenceur Li-Cor et analysée à l'aide du logiciel SAGA. Ici les résultats pour un couple d'amorce ALFP sont représentés.

Tableau A2.2 : Liste des marqueurs testés et leurs références.

marqueur	commentaire	référence	marqueur	commentaire	référence	marqueur	commentaire	référence	marqueur	commentaire	référence
14ga1	polymorphe	Gill et al., 2006	G07_058	polymorphe	Studer et al., 2008	r0985-1	polymorphe	Gill et al., 2006	G05_073	polymorphe non retenu	Studer et al., 2008
25ea1	polymorphe	Gill et al., 2006	G07_065	polymorphe	Studer et al., 2008	rv112	polymorphe	Gill et al., 2006	G05_081	polymorphe non retenu	Studer et al., 2008
B1A3	polymorphe	Lauvegeat et al., 2005	LM16	polymorphe	Studer et al., 2006	rv133	polymorphe	Gill et al., 2006	G05_083	polymorphe non retenu	Studer et al., 2008
B1B6	polymorphe	Lauvegeat et al., 2005	LMgSSR01-02H	polymorphe	Hirata et al., 2011	syn4067_1	polymorphe	Barre et al., 2009	G05_090	polymorphe non retenu	Studer et al., 2008
B1C9	polymorphe	Lauvegeat et al., 2005	LMgSSR01-08H	polymorphe	Hirata et al., 2011	B1B3	polymorphe non retenu	Lauvegeat et al., 2005	G05_109	polymorphe non retenu	Studer et al., 2008
B2F1	polymorphe	Jensen et al., 2005	LMgSSR02-05G	polymorphe	Hirata et al., 2011	B1C8	polymorphe non retenu	Lauvegeat et al., 2005	G06_021	polymorphe non retenu	Studer et al., 2008
B3B8	polymorphe	Lauvegeat et al., 2005	LMgSSR02-10B	polymorphe	Hirata et al., 2006	B3B7	polymorphe non retenu	Lauvegeat et al., 2005	G06_086	polymorphe non retenu	Studer et al., 2008
B4E1	polymorphe	Lauvegeat et al., 2005	LMgSSR08-03B	polymorphe	Hirata et al., 2011	B3C11	polymorphe non retenu	Lauvegeat et al., 2005	G07_034	polymorphe non retenu	Studer et al., 2008
CYP	polymorphe	Lem et Lallemand, 2003	LMgSSR15-08E	polymorphe	Hirata et al., 2006	B3G4	polymorphe non retenu	Lauvegeat et al., 2005	G07_037	polymorphe non retenu	Studer et al., 2008
D1F027	polymorphe	Jensen et al., 2005	LMgSSR15-09F	polymorphe	Hirata et al., 2006	B4D7	polymorphe non retenu	Lauvegeat et al., 2005	G07_057	polymorphe non retenu	Studer et al., 2008
ESTD1AS35	polymorphe	Studer et al., 2008	LMgSSR16-04F	polymorphe	Hirata et al., 2011	D1F03	polymorphe non retenu	Lauvegeat et al., 2005	G07_066	polymorphe non retenu	Studer et al., 2008
ESTD1AS37	polymorphe	Studer et al., 2008	LMgSSR18-04A	polymorphe	Hirata et al., 2006	D1F08	polymorphe non retenu	Jensen et al., 2005	G07_071	polymorphe non retenu	Studer et al., 2008
ESTD1AS47	polymorphe	Studer et al., 2008	Lp165	polymorphe	Kubik et al., 2001	D1F08	polymorphe non retenu	Jensen et al., 2005	LpSSR066	polymorphe non retenu	Jensen et al., 2005
ESTD1AS54	polymorphe	Studer et al., 2008	LpSSR020	polymorphe	Jensen et al., 2005	ESTD1AS1	polymorphe non retenu	Studer et al., 2008	NFFA036	polymorphe non retenu	Saha et al., 2005
ESTD1AS68	polymorphe	Studer et al., 2008	lpsr023	polymorphe	Jensen et al., 2005	ESTD1AS44	polymorphe non retenu	Studer et al., 2008	rv0757	polymorphe non retenu	Gill et al., 2006
ESTD1AS7	polymorphe	Studer et al., 2008	lpsr076	polymorphe	Jensen et al., 2005	ESTD1AS46	polymorphe non retenu	Studer et al., 2008	syn2611	polymorphe non retenu	Barre et al., 2009
ESTD1AS75	polymorphe	Studer et al., 2008	LpSSR112	polymorphe	Jensen et al., 2005	ESTD1AS48	polymorphe non retenu	Studer et al., 2008	syn279_2	polymorphe non retenu	Barre et al., 2009
ESTD1AS90	polymorphe	Studer et al., 2008	LTPK-018	polymorphe	Senda et al., 2004	ESTD1AS72	polymorphe non retenu	Studer et al., 2008	syn397-1	polymorphe non retenu	Barre et al., 2009
ESTD1AS95	polymorphe	Studer et al., 2008	M15-185	polymorphe	Kubik et al., 2001	ESTD1AS73	polymorphe non retenu	Studer et al., 2008	B1A2	monomorphe	Lauvegeat et al., 2005
G02_004	polymorphe	Studer et al., 2008	NDPK	polymorphe	Lem et Lallemand, 2003	ESTD1AS91	polymorphe non retenu	Studer et al., 2008	B3A6	monomorphe	Lauvegeat et al., 2005
G02_025	polymorphe	Studer et al., 2008	NFFA041	polymorphe	Saha et al., 2005	ESTD1AS94	polymorphe non retenu	Studer et al., 2008	B3D2	monomorphe	Lauvegeat et al., 2005
G02_047	polymorphe	Studer et al., 2008	NFFA112	polymorphe	Saha et al., 2005	ESTD1AS97	polymorphe non retenu	Studer et al., 2008	D1F020	monomorphe	Jensen et al., 2005
G02_049	polymorphe	Studer et al., 2008	NFFA87	polymorphe	Saha et al., 2005	G02_017	polymorphe non retenu	Studer et al., 2008	ESTD1AS10	monomorphe	Studer et al., 2008
G02_053	polymorphe	Studer et al., 2008	OSV	polymorphe	Lem et Lallemand, 2003	G02_022	polymorphe non retenu	Studer et al., 2008	ESTD1AS11	monomorphe	Studer et al., 2008
G02_010	polymorphe	Studer et al., 2008	PHDS	polymorphe	Lem et Lallemand, 2003	G02_069	polymorphe non retenu	Studer et al., 2008	ESTD1AS13	monomorphe	Studer et al., 2008
G02_028	polymorphe	Studer et al., 2008	pps0006	polymorphe	Faville et al., 2004	G02_092	polymorphe non retenu	Studer et al., 2008	ESTD1AS24	monomorphe	Studer et al., 2008
G02_043	polymorphe	Studer et al., 2008	pps0007	polymorphe	Faville et al., 2004	G03_003	polymorphe non retenu	Studer et al., 2008	ESTD1AS27	monomorphe	Studer et al., 2008
G02_054	polymorphe	Studer et al., 2008	pps0040	polymorphe	Faville et al., 2004	G03_016	polymorphe non retenu	Studer et al., 2008	ESTD1AS28	monomorphe	Studer et al., 2008
G02_055	polymorphe	Studer et al., 2008	pps0049	polymorphe	Faville et al., 2004	G03_020	polymorphe non retenu	Studer et al., 2008	ESTD1AS31	monomorphe	Studer et al., 2008
G02_065	polymorphe	Studer et al., 2008	pps0164	polymorphe	Faville et al., 2004	G03_045	polymorphe non retenu	Studer et al., 2008	ESTD1AS34	monomorphe	Studer et al., 2008
G04_034	polymorphe	Studer et al., 2008	pps0210	polymorphe	Faville et al., 2004	G03_079	polymorphe non retenu	Studer et al., 2008	ESTD1AS36	monomorphe	Studer et al., 2008
G04_048	polymorphe	Studer et al., 2008	pps0299	polymorphe	Faville et al., 2004	G03_089	polymorphe non retenu	Studer et al., 2008	ESTD1AS38	monomorphe	Studer et al., 2008
G04_056	polymorphe	Studer et al., 2008	pps0397	polymorphe	Faville et al., 2004	G04_043	polymorphe non retenu	Studer et al., 2008	ESTD1AS39	monomorphe	Studer et al., 2008
G05_033	polymorphe	Studer et al., 2008	pps0447	polymorphe	Faville et al., 2004	G04_057	polymorphe non retenu	Studer et al., 2008	ESTD1AS40	monomorphe	Studer et al., 2008
G05_060	polymorphe	Studer et al., 2008	PRG	polymorphe	Kubik et al., 2001	G04_059	polymorphe non retenu	Studer et al., 2008	ESTD1AS43	monomorphe	Studer et al., 2008
G05_076	polymorphe	Studer et al., 2008	rv0244	polymorphe	Gill et al., 2006	G04_067	polymorphe non retenu	Studer et al., 2008	ESTD1AS45	monomorphe	Studer et al., 2008
G05_088	polymorphe	Studer et al., 2008	rv0454	polymorphe	Gill et al., 2006	G04_098	polymorphe non retenu	Studer et al., 2008	ESTD1AS53	monomorphe	Studer et al., 2008
G05_099	polymorphe	Studer et al., 2008	rv0641	polymorphe	Gill et al., 2006	G05_030	polymorphe non retenu	Studer et al., 2008	ESTD1AS63	monomorphe	Studer et al., 2008
G05_108	polymorphe	Studer et al., 2008	rv0693	polymorphe	Gill et al., 2006	G05_041	polymorphe non retenu	Studer et al., 2008	ESTD1AS63	monomorphe	Studer et al., 2008
G05_129	polymorphe	Studer et al., 2008	rv0663	polymorphe	Gill et al., 2006	G05_044	polymorphe non retenu	Studer et al., 2008	ESTD1AS79	monomorphe	Studer et al., 2008
G05_134	polymorphe	Studer et al., 2008	rv0706	polymorphe	Gill et al., 2006	G05_046	polymorphe non retenu	Studer et al., 2008	ESTD1AS80	monomorphe	Studer et al., 2008
G07_056	polymorphe	Studer et al., 2008	rv0953	polymorphe	Gill et al., 2006	G05_065	polymorphe non retenu	Studer et al., 2008	ESTD1AS84	monomorphe	Studer et al., 2008
						G05_070	polymorphe non retenu	Studer et al., 2008	ESTD1AS98	monomorphe	Studer et al., 2008

marqueur	commentaire	référence	marqueur	commentaire	référence	marqueur	commentaire	référence	marqueur	commentaire	référence	commentaire	référence
G02_013	monomorphe	Studer et al., 2008	LM27	monomorphe	Studer et al., 2006	PRE+PR8	monomorphe	Kubik et al., 2001	LMgSSR09-10H	pas d'amplification	Hirata et al., 2006		
G02_018	monomorphe	Studer et al., 2008	LM28	monomorphe	Studer et al., 2006	rv0941	monomorphe	Gill et al., 2006	LMgSSR09-12A	pas d'amplification	Hirata et al., 2006		
G02_029	monomorphe	Studer et al., 2008	LM31	monomorphe	Studer et al., 2006	NGLRILM4-9F	monomorphe	Kindiger, 2006	LMgSSR10-06C	pas d'amplification	Hirata et al., 2006		
G02_032	monomorphe	Studer et al., 2008	LMgSSR01-01E	monomorphe	Hirata et al., 2006	NGLRILM2-5A	monomorphe	Kindiger, 2006	LMgSSR10-12D	pas d'amplification	Hirata et al., 2006		
G02_057	monomorphe	Studer et al., 2008	LMgSSR01-02G	monomorphe	Hirata et al., 2006	NGLRILM3-4F	monomorphe	Kindiger, 2006	LMgSSR12-05E	pas d'amplification	Hirata et al., 2006		
G02_079	monomorphe	Studer et al., 2008	LMgSSR01-08A	monomorphe	Hirata et al., 2011	syn20738_1	monomorphe	Barre et al., 2009	LMgSSR13-01H	pas d'amplification	Hirata et al., 2006		
G03_002	monomorphe	Studer et al., 2008	LMgSSR01-09C	monomorphe	Hirata et al., 2006	syn340-1	monomorphe	Barre et al., 2009	LMgSSR13-08F	pas d'amplification	Hirata et al., 2006		
G03_013	monomorphe	Studer et al., 2008	LMgSSR02-05D	monomorphe	Hirata et al., 2011	unf001	monomorphe	Jensen et al., 2005	LMgSSR14-01A	pas d'amplification	Hirata et al., 2006		
G03_039	monomorphe	Studer et al., 2008	LMgSSR02-10E	monomorphe	Hirata et al., 2006	B3D12	pas d'amplification	Lauvegeat et al., 2005	LMgSSR14-05G	pas d'amplification	Hirata et al., 2006		
G03_052	monomorphe	Studer et al., 2008	LMgSSR03-04E	monomorphe	Hirata et al., 2006	ESTDIAS20	pas d'amplification	Studer et al., 2008	LMgSSR15-07C	pas d'amplification	Hirata et al., 2006		
G03_069	monomorphe	Studer et al., 2008	LMgSSR03-04F	monomorphe	Hirata et al., 2011	ESTDIAS25	pas d'amplification	Studer et al., 2008	LMgSSR15-10H	pas d'amplification	Hirata et al., 2006		
G03_072	monomorphe	Studer et al., 2008	LMgSSR03-10B	monomorphe	Hirata et al., 2006	ESTDIAS56	pas d'amplification	Studer et al., 2008	LMgSSR16-01E	pas d'amplification	Hirata et al., 2006		
G03_073	monomorphe	Studer et al., 2008	LMgSSR04-09F	monomorphe	Hirata et al., 2011	G03_015	pas d'amplification	Studer et al., 2008	LMgSSR16-12B	pas d'amplification	Hirata et al., 2006		
G03_092	monomorphe	Studer et al., 2008	LMgSSR09-04A	monomorphe	Hirata et al., 2006	G03_058	pas d'amplification	Studer et al., 2008	LMgSSR17-04E	pas d'amplification	Hirata et al., 2011		
G03_096	monomorphe	Studer et al., 2008	LMgSSR09-07G	monomorphe	Hirata et al., 2006	G04_028	pas d'amplification	Studer et al., 2008	LMgSSR17-10D	pas d'amplification	Hirata et al., 2006		
G04_002	monomorphe	Studer et al., 2008	LMgSSR09-08D	monomorphe	Hirata et al., 2006	G05_071	pas d'amplification	Studer et al., 2008	LMgSSR18-02H	pas d'amplification	Hirata et al., 2006		
G04_052	monomorphe	Studer et al., 2008	LMgSSR15-11H	monomorphe	Hirata et al., 2006	G05_127	pas d'amplification	Studer et al., 2008	LMgSSR18-07D	pas d'amplification	Hirata et al., 2006		
G04_055	monomorphe	Studer et al., 2008	LMgSSR17-02F	monomorphe	Hirata et al., 2011	G05_132	pas d'amplification	Studer et al., 2008	Lp8	pas d'amplification	Kubik et al., 2001		
G04_065	monomorphe	Studer et al., 2008	LMgSSR18-05D	monomorphe	Hirata et al., 2006	G06_006	pas d'amplification	Studer et al., 2008	lpsr021	pas d'amplification	Jensen et al., 2005		
G05_014	monomorphe	Studer et al., 2008	lpsr011	monomorphe	Jensen et al., 2005	G06_061	pas d'amplification	Studer et al., 2008	LpSSR082	pas d'amplification	Jensen et al., 2005		
G05_023	monomorphe	Studer et al., 2008	LpSSR100	monomorphe	Jensen et al., 2005	G07_038	pas d'amplification	Studer et al., 2008	LTPK-001	pas d'amplification	Senda et al., 2004		
G05_024	monomorphe	Studer et al., 2008	LpSSRH01E10	monomorphe	Jones et al., 2001	G07_075	pas d'amplification	Studer et al., 2008	LTPK-006	pas d'amplification	Senda et al., 2004		
G05_028	monomorphe	Studer et al., 2008	LpSSRH01H06	monomorphe	Jones et al., 2001	LM20	pas d'amplification	Studer et al., 2006	LTPK-008	pas d'amplification	Senda et al., 2004		
G05_035	monomorphe	Studer et al., 2008	LTPK-012	monomorphe	Senda et al., 2004	LM24	pas d'amplification	Studer et al., 2006	LTPK-009	pas d'amplification	Senda et al., 2004		
G05_056	monomorphe	Studer et al., 2008	LTPK-019	monomorphe	Senda et al., 2004	LM29	pas d'amplification	Studer et al., 2006	LTPK-011	pas d'amplification	Senda et al., 2004		
G05_082	monomorphe	Studer et al., 2008	LTPK-021	monomorphe	Senda et al., 2004	LMgSSR01-01B	pas d'amplification	Hirata et al., 2006	LTPK-015	pas d'amplification	Senda et al., 2004		
G05_092	monomorphe	Studer et al., 2008	LTPK-024	monomorphe	Senda et al., 2004	LMgSSR01-07B	pas d'amplification	Hirata et al., 2006	LTPK-016	pas d'amplification	Senda et al., 2004		
G05_122	monomorphe	Studer et al., 2008	M4-136	monomorphe	Kubik et al., 1999	LMgSSR01-08E	pas d'amplification	Hirata et al., 2006	LTPK-020	pas d'amplification	Senda et al., 2004		
G05_139	monomorphe	Studer et al., 2008	M4-213	monomorphe	Kubik et al., 1999	LMgSSR01-10G	pas d'amplification	Hirata et al., 2006	LTPK-025	pas d'amplification	Senda et al., 2004		
G06_029	monomorphe	Studer et al., 2008	NFFA015	monomorphe	Saha et al., 2005	LMgSSR01-11G	pas d'amplification	Hirata et al., 2006	LTPK-027	pas d'amplification	Senda et al., 2004		
G06_031	monomorphe	Studer et al., 2008	NFFA017	monomorphe	Saha et al., 2005	LMgSSR02-06A	pas d'amplification	Hirata et al., 2006	NFFA069	pas d'amplification	Saha et al., 2005		
G06_041	monomorphe	Studer et al., 2008	NFFA023	monomorphe	Saha et al., 2005	LMgSSR02-07F	pas d'amplification	Hirata et al., 2006	NFFA123	pas d'amplification	Saha et al., 2005		
G06_079	monomorphe	Studer et al., 2008	NFFA024	monomorphe	Saha et al., 2005	LMgSSR03-04D	pas d'amplification	Hirata et al., 2006	NFFA143	pas d'amplification	Saha et al., 2005		
G07_025	monomorphe	Studer et al., 2008	NFFA059	monomorphe	Saha et al., 2005	LMgSSR03-06F	pas d'amplification	Hirata et al., 2006	pps0286	pas d'amplification	Faville et al., 2004		
G07_074	monomorphe	Studer et al., 2008	NFFA066	monomorphe	Saha et al., 2005	LMgSSR07-02F	pas d'amplification	Hirata et al., 2006	rv00005	pas d'amplification	Gill et al., 2006		
G07_083	monomorphe	Studer et al., 2008	NFFA113	monomorphe	Saha et al., 2005	LMgSSR07-07G	pas d'amplification	Hirata et al., 2011	rv0910	pas d'amplification	Gill et al., 2006		
G07_098	monomorphe	Studer et al., 2008	NFFA114	monomorphe	Saha et al., 2005	LMgSSR08-05D	pas d'amplification	Hirata et al., 2006	rv0392	pas d'amplification	Gill et al., 2006		
LM15	monomorphe	Studer et al., 2006	NFFA38	monomorphe	Saha et al., 2005	LMgSSR08-06G	pas d'amplification	Hirata et al., 2011	rv1266	pas d'amplification	Gill et al., 2006		
LM21	monomorphe	Studer et al., 2006	pps0080	monomorphe	Faville et al., 2004	LMgSSR08-08B	pas d'amplification	Hirata et al., 2006	rv1284	pas d'amplification	Gill et al., 2006		
LM22	monomorphe	Studer et al., 2006	pps0094	monomorphe	Faville et al., 2004	LMgSSR08-10G	pas d'amplification	Hirata et al., 2006	syn3806-1	pas d'amplification	Barre et al., 2009		
LM23	monomorphe	Studer et al., 2006	pps0199	monomorphe	Faville et al., 2004	LMgSSR09-02F	pas d'amplification	Hirata et al., 2006	syn4775-1	pas d'amplification	Barre et al., 2009		
LM26	monomorphe	Studer et al., 2006	pps0259	monomorphe	Faville et al., 2004	LMgSSR09-10D	pas d'amplification	Hirata et al., 2006					

Annexe 3 : Détection de la sélection

Tableau A3.1 Résultats de l'analyse de variance avec le génotype comme effet principal dans le traitement DPF, DF et la plasticité entre ces traitements (détail par date).

Traitement	Trait	Date	DF	MS	Pr>F	σ_g^2	σ_e^2	H		
DPF	Nombre de tailles	0	237	164	<0.0001	43	37	0.77		
		1	237	437	<0.0001	115	107	0.73		
		2	235	2560	<0.0001	687	671	0.75		
		3	235	6136	<0.0001	1614	1679	0.73		
		4	234	5142	<0.0001	1427	1195	0.77		
		5	234	3322	<0.0001	919	861	0.75		
		6	234	1698	<0.0001	447	498	0.70		
		7	231	1810	<0.0001	476	551	0.70		
		8	231	2130	<0.0001	477	858	0.61		
		9	231	1159	<0.0001	262	440	0.56		
Hauteur étirée		0	237	6044	<0.0001	1721	959	0.81		
		1	237	6137	<0.0001	1715	1146	0.79		
		2	235	3186	<0.0001	847	777	0.71		
		3	235	1412	<0.0001	391	306	0.79		
		4	234	1234	<0.0001	329	298	0.76		
		5	234	531	<0.0001	149	116	0.78		
		6	234	488	<0.0001	121	160	0.69		
		7	231	396	<0.0001	110	104	0.75		
		8	231	483	<0.0001	131	135	0.74		
		9	231	1497	<0.0001	374	518	0.66		
Matière sèche		0	237	343899	<0.0001	94003	72791	0.79		
		1	237	368571	<0.0001	96381	100145	0.74		
		2	235	589236	<0.0001	152782	173129	0.72		
		3	235	331344	<0.0001	93404	79967	0.78		
		4	234	575322	<0.0001	156963	152652	0.76		
		5	234	105734	<0.0001	29426	28933	0.75		
		1	236	186	<0.0001	42	66	0.61		
		2	234	575	<0.0001	137	180	0.64		
		DF	Nombre de tailles							

Tableau A3.1 (suite)

Traitement	Trait	Date	DF	MS	Pr>F	σ_g^2	σ_e^2	H
DF	Nombre de tailles	3	233	1660	<0.0001	383	567	0.65
		4	233	1936	<0.0001	470	618	0.68
		5	233	1510	<0.0001	357	498	0.67
		6	231	1041	<0.0001	214	433	0.59
		7	230	1041	<0.0001	235	386	0.64
		8	230	1355	<0.0001	313	478	0.66
		9	230	1771	<0.0001	406	639	0.65
		1	236	1814	<0.0001	457	454	0.74
		2	234	500	<0.0001	114	176	0.66
Hauteur étirée	3	233	408	<0.0001	107	113	0.73	
	4	233	465	<0.0001	124	123	0.74	
	5	233	126	<0.0001	25	55	0.57	
	6	231	430	<0.0001	99	156	0.62	
	7	230	292	<0.0001	68	110	0.59	
	8	230	458	<0.0001	122	126	0.72	
	9	230	1585	<0.0001	410	470	0.66	
	1	236	32261	<0.0001	8319	8699	0.72	
	2	234	124948	<0.0001	29764	42627	0.66	
Matière sèche	3	233	124187	<0.0001	32041	38593	0.71	
	4	233	230064	<0.0001	62583	60902	0.75	
	5	233	30783	<0.0001	29426	28933	0.75	
	1	232	0.129	0.0011	0.0102	0.0951	0.18	
	2	231	0.233	<0.0001	0.0416	0.1167	0.48	
	3	226	0.260	<0.0001	0.0402	0.1462	0.38	
	4	225	0.193	0.0006	0.0203	0.1345	0.27	
	5	224	0.172	0.0669				
	6	222	0.132	0.0846				
DF-DPF	Plasticité du nombre de tailles	7	222	0.123	0.3043			
		8	221	0.112	0.6933			
		9	221	0.079	0.2118			
		1	233	0.258	0.0007	0.0257	0.1816	0.28
		2	233	0.275	0.0287	0.0187	0.2221	0.19
		3	225	0.314	0.0545			
		4	225	0.256	0.1348			
		5	225	0.293	0.3016			
		Plasticité de la matière sèche						

Tableau A3.2 : Résultats de la détection de QTL pour le caractère de la hauteur étirée (HE), dans le traitement de défoliation peu fréquent DPFF; GL : groupe de liaison ; l'intervalle d'incertitude est déterminé autour du QTL = LOD-1 ; r² est le pourcentage de variance phénotypique expliquée par le QTL (détail par date).

Traitement	Trait	Date	GL	Position (cM)	marqueurs flancants	LOD	intervalle	r ² (%)
DPF	HE	0	1	24.4	DLF27; dias68	8.63	19.6 – 29.1	7.2
		1	1	22.4	DLF27; dias68	4.84	19.6 – 31.1	4.2
		2	1	24.4	DLF27; dias68	5.56	19.6 – 30.1	4.4
		3	1	23.4	DLF27; dias68	6.64	19.6 – 30.1	5.3
		4	1	25	dias68; dias68	4.52	19.6 – 32	3.9
		5	1	25	dias68; dias68	6.61	19.6 – 31.1	5.9
		6	1	23.4	DLF27; dias68	10.69	19.6 – 29.1	10.6
		7	1	23.4	DLF27; dias68	9.63	19.6 – 29.1	10.3
		8	1	24.4	DLF27; dias68	5.54	19.6 – 29.1	6.7
		0	2	15.8	G02-49; rv959	8.22	11 – 19.6	6.7
		1	2	15.8	G02-49; rv959	8	11 – 22.6	7.1
		2	2	15.8	G02-49; rv959	9.39	11.8 – 19.6	7.7
		3	2	14.8	G02-49; rv959	18.81	10 – 17.8	16.9
		4	2	12.8	G02-49; rv959	15.16	7 – 16.8	14.7
		5	2	15.8	G02-49; rv959	10.88	10 – 19.6	10.1
		6	2	16.8	G02-49; rv959	12.37	12.8 – 25.6	12.3
		7	2	14.2	G02-49; rv959	6.96	7 – 19.6	7.2
		8	2	14.8	G02-49; rv959	7.81	6 – 19.6	9.6
		9	2	11.8	G02-49; rv959	12.63	7 – 16.8	15.6
		0	3	33.8	ACC-CAG_77; B3B8	4.83	29.8 – 38.3	3.9
		1	3	33.8	ACC-CAG_77; B3B8	5.22	30.8 – 39.3	4.5
		2	3	32.8	ACC-CAG_77; B3B8	5.73	29.8 – 41.2	4.6
		9	3	25.2	B1C9; B1C9	4.12	21.5 – 29.8	4.7
		0	4	40.4	G05-108; rv454	5.75	35.4 – 46.4	4.6
		2	4	55.6	syn4067; Lpssr23	6.6	50.7 – 58.6	5.3
		3	4	53.7	syn4067; Lpssr23	8.63	49.7 – 58.6	7
		4	4	54.1	syn4067; Lpssr23	8.44	49.7 – 58.6	7.6
		5	4	54.7	syn4067; Lpssr23	10.41	50.7 – 58.6	9.7
		6	4	55.7	syn4067; Lpssr23	6.06	50.7 – 59.6	5.7
		7	4	56.6	Lpssr23; Lpssr23	6.26	51.7 – 59.6	6.5
		8	4	55.1	syn4067; Lpssr23	5.86	49.7 – 60.6	7.1
		9	4	58.6	Lpssr23; Lp-SUTI	5.83	50.7 – 61.9	6.7
		0	5	29.9	LpSUT4; ACG-CTG_450	33.65	26.9 – 33.9	35.5
		1	5	29.9	LpSUT4; ACG-CTG_450	32.62	25.9 – 32.9	37.3
		2	5	22.9	LpSUT4; ACG-CTG_450	33.63	25.9 – 33.9	35.3
		3	5	31.9	LpSUT4; ACG-CTG_450	28.37	27.9 – 36.9	27.4
		4	5	31.9	LpSUT4; ACG-CTG_450	26.62	27.9 – 35.9	27.9
		5	5	31.9	LpSUT4; ACG-CTG_450	25	26.9 – 35.9	26.3
		6	5	31.9	LpSUT4; ACG-CTG_450	17.86	26.9 – 35.9	18.5
		7	5	31.9	LpSUT4; ACG-CTG_450	15.53	25.9 – 36.9	17.4
		8	5	28.4	LpSUT4; ACG-CTG_450	13.4	20.6 – 34.9	17.5
		9	5	22.7	AAG-CAC_300; LpSUT4	12.82	20.6 – 33.9	15.8
		0	7	42.6	Lp165; Lp165	4.91	37.1 – 47.6	3.9
		1	7	42.6	Lp165; Lp165	5.84	38.1 – 46.6	5.1
		2	7	43.6	Lp165; G02-04	6.06	39.1 – 48.3	4.9
		3	7	43.6	Lp165; G02-04	5.03	40.1 – 48.3	4
		4	7	42.6	Lp165; Lp165	5	39.1 – 46.6	4.4
		5	7	42.6	Lp165; Lp165	4.55	38.1 – 46.6	4
		6	7	43.6	Lp165; G02-04	7.15	38.1 – 46.6	6.8
		7	7	42.6	Lp165; Lp165	7.06	39.1 – 45.6	7.4

Tableau A3.2 : Résultats de la détection de QTL pour le caractère du nombre de talles (NT) dans le traitement de défoliation peu fréquent DPF; GL : groupe de liaison ; l'intervalle d'incertitude est déterminé autour du QTL = LOD-1 ; r^2 est le pourcentage de variance phénotypique expliquée par le QTL (détail par date).

Traitement	Trait	Date	GL	Position (cM)	marqueurs flanquants	LOD	intervalle	r^2 (%)
DPF	NT	0	2	14.8	G02-49; rv959	7.47	4 – 19.6	9.8
		1	2	14.8	G02-49; rv959	7.75	6 – 19.6	10.2
		2	2	13.8	G02-49; rv959	9.25	6 – 18.8	12.8
		3	2	14.8	G02-49; rv959	10.19	8 – 19.6	14.1
		4	2	13.8	G02-49; rv959	9.79	8 – 18.8	13.6
		5	2	15.8	G02-49; rv959	10.22	11 – 21.6	13.3
		6	2	14.8	G02-49; rv959	9.87	11 – 19.6	12.9
		7	2	13.8	G02-49; rv959	9.22	11 – 18.8	12.5
		8	2	13.8	G02-49; rv959	7.22	6 – 19.6	11
		9	2	14.8	G02-49; rv959	6.86	6 – 19.6	11.2
DPF	NT	5	4	56	syn4067; Lpssr23	4.46	50.7 – 60.6	5.5
		6	4	55.7	syn4067; Lpssr23	4.26	49.7 – 59.6	5.4
		7	4	56.6	Lpssr23; Lpssr23	4.09	50.7 – 59.6	5.4
		0	5	30.9	LpSUT4; ACG-CTG_450	21.24	25.9 – 34.9	31.8
		1	5	30.9	LpSUT4; ACG-CTG_450	20.72	25.9 – 34.9	31
		2	5	28.9	LpSUT4; ACG-CTG_450	17.63	20.7 – 34.9	26.4
		3	5	29.9	LpSUT4; ACG-CTG_450	17.17	21.7 – 34.9	25.5
		4	5	29.9	LpSUT4; ACG-CTG_450	17.73	20.7 – 34.9	26.5
		5	5	30.9	LpSUT4; ACG-CTG_450	15.88	22.7 – 35.9	21.9
		6	5	31.9	LpSUT4; ACG-CTG_450	16.63	25.9 – 36.9	23.5
DPF	NT	7	5	31.9	LpSUT4; ACG-CTG_450	14.92	25.9 – 36.9	21.6
		8	5	31.4	LpSUT4; ACG-CTG_450	13.76	20.6 – 36.9	22.3
		9	5	32.4	LpSUT4; ACG-CTG_450	10.45	20.7 – 38.9	17.5

Tableau A3.2 : Résultats de la détection de QTL pour le caractère de la matière sèche (MS) et la production de graines (G) dans le traitement de défoliation peu fréquent DPF; GL : groupe de liaison ; l'intervalle d'incertitude est déterminé autour du QTL = LOD-1 ; r² est le pourcentage de variance phénotypique expliquée par le QTL (détail par date).

Traitement	Trait	Date	GL	Position (cM)	marqueurs flanquants	LOD	intervalle	r ² (%)
DPF	MS	0	2	13.8	G02-49; rv959	7.9	3 – 19.6	10.4
		1	2	13.8	G02-49; rv959	7.23	3 – 19.6	9.9
		2	2	12.8	G02-49; rv959	6.83	5 – 19.6	9.2
		3	2	14.3	G02-49; rv959	8.12	6 – 19.6	11.1
		4	2	14.8	G02-49; rv959	8.8	8 – 19.6	11.9
		5	2	14.8	G02-49; rv959	9.37	8 – 19.6	12.2
		2	4	55.7	syn4067; Lpssr23	4.65	50.7 – 61.9	6.1
		3	4	54.7	syn4067; Lpssr23	4.85	49.7 – 61.6	6.4
		4	4	55.7	syn4067; Lpssr23	5.4	50.7 – 60.6	7.1
		5	4	56.6	Lpssr23; Lpssr23	8.04	51.7 – 60.6	10.4
		0	5	29.9	LpSUT4; ACG-CTG_450	20.39	24.7 – 34.9	30.3
		1	5	27.9	LpSUT4; ACG-CTG_450	17.42	22.7 – 33.9	26.6
		2	5	28.9	LpSUT4; ACG-CTG_450	13.98	20.7 – 34.9	20.3
		3	5	29.4	LpSUT4; ACG-CTG_450	13	20.7 – 35.9	18.6
		4	5	30.9	LpSUT4; ACG-CTG_450	13.44	21.7 – 36.9	18.9
5	5	31.9	LpSUT4; ACG-CTG_450	13.79	25.9 – 37.9	18.5		
G		2	2	15.3	G02-49; rv959	5.29	3 – 19.6	8.2
		4	4	56.6	Lpssr23; Lpssr23	5.16	52.7 – 60.6	8.1
		5	5	37.9	LpSUT4; ACG-CTG_450	6.42	26.9 – 40.8	9.9

Tableau A3.2 : Résultats de la détection de QTL pour le caractère de la hauteur étirée (HE) dans le traitement de défoliation fréquent DF ; GL : groupe de liaison ; l'intervalle d'incertitude est déterminé autour du QTL = LOD-1 ; r^2 est le pourcentage de variance phénotypique expliquée par le QTL (détail par date).

DF	Traitement	Trait	Date	GL	Position (cM)	marqueurs flanquants	LOD	intervalle	r^2 (%)
		HE	5	1	22.4	DLF27; dias68	3.88	19.6 – 31.1	5.4
			6	1	26.5	dias68; G02-49	4.47	19.6 – 32	4.8
			7	1	24.9	DLF27; dias68	5.04	19.6 – 32	5.5
			2	2	6	G05-129; G02-49	3.86	0 – 19.6	5.7
			3	2	13.8	G02-49; rv959	8.04	4 – 18.8	9.9
			4	2	15.8	G02-49; rv959	6.8	4 – 19.6	8.3
			6	2	22.6	rv959; ACA-CTG_252	5.17	11.8 – 30.6	5.6
			8	2	16.8	G02-49; rv959	8.34	11 – 21.6	10.9
			9	2	16.8	G02-49; rv959	11.15	11.8 – 22.6	13.9
			1	3	34.3	B3B8; B3B8	5.08	31.8 – 41.2	6.6
			6	4	52.7	syn4067; Lpssr23	4.17	47.5 – 58.6	4.4
			7	4	52.7	syn4067; Lpssr23	7.74	48.7 – 56.6	8.5
			8	4	52.7	syn4067; Lpssr23	5.63	48.7 – 56.6	7.1
			9	4	53.7	syn4067; Lpssr23	7.88	49.7 – 56.6	9.4
			1	5	29.4	LpSUT4; ACG-CTG_450	22.69	21.7 – 33.9	35.1
			2	5	30.9	LpSUT4; ACG-CTG_450	15.66	21.7 – 35.9	25.9
			3	5	28.9	LpSUT4; ACG-CTG_450	24.32	22.7 – 32.9	35.5
			4	5	29.9	LpSUT4; ACG-CTG_450	25.24	24.7 – 33.9	37.3
			5	5	27.9	LpSUT4; ACG-CTG_450	16.56	20.6 – 33.9	26.6
			6	5	29.9	LpSUT4; ACG-CTG_450	22.13	22.7 – 33.9	28.5
			7	5	27.9	LpSUT4; ACG-CTG_450	22.29	20.7 – 32.9	29.2
			8	5	23.7	AAG-CAC_300; LpSUT4	16.96	20.6 – 32.9	24.5
			9	5	23.2	AAG-CAC_300; LpSUT4	17.06	20.6 – 29.9	22.8
			6	7	43.6	Lp165; G02-04	4.19	38.1 – 48.3	4.5
			7	7	42.6	Lp165; Lp165	4.83	38.1 – 46.6	5.3

Tableau A3.2 : Résultats de la détection de QTL pour le caractère du nombre de talles (NT), la matière sèche (MS), la production de graines (G) dans le traitement de défoliation fréquent DF ; GL : groupe de liaison ; l'intervalle d'incertitude est déterminé autour du QTL = LOD-1 ; r² est le pourcentage de variance phénotypique expliquée par le QTL (détail par date).

Traitement	Trait	Date	GL	Position (cM)	marqueurs flanquants	LOD	intervalle	r ² (%)
DF	NT	8	2	19.6	rv959; rv959	4.3	13.8 – 25.6	6.1
		4	4	35.4	G05-108; G05-108	4.13	25.4 – 39.4	6
		5	4	35.4	G05-108; G05-108	3.78	25.4 – 39.4	5.7
		7	4	35.4	G05-108; G05-108	5.21	29.1 – 38.4	7.8
		9	4	35.4	G05-108; G05-108	5.11	30.1 – 38.4	7.5
		1	5	32.9	LpSUT4; ACG-CTG_450	12.65	27.9 – 38.9	22.5
		2	5	32.4	LpSUT4; ACG-CTG_450	13.9	26.9 – 37.9	24.7
		3	5	30.9	LpSUT4; ACG-CTG_450	15.74	25.9 – 36.9	27.5
		4	5	29.9	LpSUT4; ACG-CTG_450	15.63	21.7 – 34.9	25.5
		5	5	30.9	LpSUT4; ACG-CTG_450	14.18	21.7 – 35.9	23.5
DF	MS	4	2	16.8	G02-49; rv959	4.55	11 – 28.6	5.8
		5	2	16.8	syn4067; Lpssr23	4	11 – 27.6	5.3
		1	4	50.7	syn4067; Lpssr23	3.97	47.5 – 56.6	5.3
		4	4	52.7	syn4067; Lpssr23	4.77	47.5 – 57.6	6
		5	4	51.7	syn4067; Lpssr23	5.51	47.5 – 55.7	7.2
		1	5	31.9	LpSUT4; ACG-CTG_450	20.51	27.9 – 35.9	32.2
		2	5	31.9	LpSUT4; ACG-CTG_450	15.74	26.9 – 36.9	27.3
		3	5	30.9	LpSUT4; ACG-CTG_450	17.4	26.9 – 35.9	30
		4	5	31.9	LpSUT4; ACG-CTG_450	21.05	27.9 – 35.9	30.5
		5	5	31.9	LpSUT4; ACG-CTG_450	18.3	26.9 – 35.9	27.1
DF	G	4	2	14.8	G02-49; rv959	6.31	2 – 19.6	9
		4	4	53.7	syn4067; Lpssr23	7.61	50.7 – 58.6	11
		5	5	27.9	LpSUT4; ACG-CTG_450	8	20.6 – 35.9	11.7

Tableau A3.2 : Résultats de la détection de QTL pour la plasticité du nombre de talle (NT-p), la plasticité de la matière sèche (MS-p) entre les traitements de défoliation peu fréquent DPF et fréquent DF ; GL : groupe de liaison ; l'intervalle d'incertitude est déterminé autour du QTL = LOD-1 ; r^2 est le pourcentage de variance phénotypique expliquée par le QTL (détail par date).

Traitement	Trait	Date	GL	Position (cM)	marqueurs flanquants	LOD	intervalle	r^2 (%)
DF – DPF	NT-p	1	2	15.8	G02-49; rv959	3.97	11 – 24.6	7.1
		2	2	12.8	G02-49; rv959	6.41	11 – 18.8	10.5
		3	2	14.8	G02-49; rv959	4.46	11 – 23.6	7.9
		4	2	11.8	G02-49; G02-49	4.05	11 – 18.8	7.5
DF – DPF	MS-p	1	5	27.9	LpSUT4; ACG-CTG_450	5.17	20.7 – 37.9	9.4
		2	5	29.9	LpSUT4; ACG-CTG_450	8.61	21.7 – 37.9	14.9
		3	5	34.4	LpSUT4; ACG-CTG_450	7.94	26.9 – 40.8	14.4
		4	5	32.9	LpSUT4; ACG-CTG_450	4.53	21.7 – 40.8	8.6
		2	2	15.8	G02-49; rv959	5.22	11 – 21.6	9.3
		1	5	30.4	LpSUT4; ACG-CTG_450	6.25	22.7 – 39.9	12.1
		2	5	32.4	LpSUT4; ACG-CTG_450	4.24	20.6 – 40.8	7.6

Tableau A3.3 : Evolution des fréquences alléliques aux marqueurs proches des QTL détectés au passage de la génération G0 à G1 dans les 2 traitements (DPF et DF) ; les différences sont faites entre les fréquences de G1 – les fréquences de G0.

GL	Marqueurs	allèles	fréq G0	fréq G1-DPF	différence	fréq G1-DF	différence
1	DLF27	315 318	0.4654 0.5346	0.5043 0.5087	0.0390 -0.0260	0.5297 0.4831	0.0643 -0.0516
1	G02-47	380 396 403	0.1989 0.5553 0.2478	0.1435 0.5348 0.3196	-0.0534 -0.0205 0.0718	0.1838 0.5470 0.2692	-0.0131 -0.0083 0.0214
2	G02-49	221 226 230	0.4227 0.2146 0.3627	0.3708 0.2797 0.3496	-0.0520 0.0651 -0.0131	0.3629 0.2954 0.3418	-0.0599 0.0808 -0.0209
2	rv959	141 144	0.1786 0.8214	0.3250 0.6750	0.1464 -0.1464	0.3201 0.6799	0.1415 -0.1415
3	B3B8	320 325 330	0.2489 0.2597 0.4914	0.2585 0.2966 0.4364	0.0095 0.0370 -0.0550	0.3447 0.2915 0.3617	0.0958 0.0318 -0.1297
3	25ca1	306 310	0.4810 0.5190	0.4397 0.5603	-0.0413 0.0413	0.3547 0.6453	-0.1263 0.1263
4	syn4067	472 493	0.5749 0.4251	0.5144 0.4833	-0.0605 0.0581	0.4080 0.5873	-0.1668 0.1621
4	Lpsst23	257 262 275	0.2338 0.2835 0.4827	0.2731 0.1450 0.5819	0.0393 -0.1386 0.0992	0.2417 0.1396 0.6188	0.0079 -0.1440 0.1361
5	G05-33	162 172	0.7607 0.2393	0.6983 0.2975	-0.0624 0.0582	0.6297 0.3661	-0.1310 0.1268
5	Lmgssr16-4F	251 265 270 273	0.2621 0.2467 0.2467 0.2445	0.1383 0.1532 0.3191 0.3851	-0.1238 -0.0935 0.0725 0.1406	0.1456 0.1329 0.3966 0.3228	-0.1165 -0.1138 0.1499 0.0783
7	Lp165	113 115 118	0.2555 0.4803 0.2642	0.2511 0.4805 0.2662	-0.0044 0.0002 0.0020	0.2021 0.5170 0.2809	-0.0533 0.0367 0.0167
7	G02-04	157 161 169	0.2489 0.2603 0.4909	0.2340 0.2894 0.4766	-0.0148 0.0291 -0.0143	0.2089 0.3312 0.4599	-0.0400 0.0709 -0.0310

Tableau A3.4 : Evolution des fréquences alléliques aux marqueurs non QTL détectés au passage de la génération G0 à G1 dans les 2 traitements (DPF et DF) ; les différences sont faites entre les fréquences de G1 – les fréquences de G0.

GL	Marqueurs	allèles	fréq G0	fréq G1-DPF	différence	fréq G1-DF	différence
1	NDPK	172	0.4574	0.4426	-0.0149	0.4637	0.0062
		175	0.5426	0.5553	0.0128	0.5342	-0.0084
1	nffa112	257	0.5024	0.5129	0.0105	0.5485	0.0461
		259	0.4976	0.4828	-0.0148	0.4494	-0.0482
2	G05-129	203	0.6763	0.7122	0.0358	0.7092	0.0329
		206	0.3237	0.2878	-0.0358	0.2866	-0.0370
2	rv706	212	0.2815	0.2478	-0.0337	0.2787	-0.0028
		225	0.4662	0.5022	0.0359	0.4660	-0.0003
	228	0.2523	0.2457	-0.0066	0.2447	-0.0076	
3	B1C9	205	0.7242	0.7000	-0.0242	0.7448	0.0206
		230	0.2758	0.2958	0.0200	0.2552	-0.0206
3	dias7	224	0.4619	0.4917	0.0298	0.4958	0.0339
4	Lmgssr15-8E	281	0.2225	0.2304	0.0079	0.2702	0.0477
		283	0.5359	0.4891	-0.0468	0.4745	-0.0614
	285	0.2416	0.2761	0.0345	0.2553	0.0137	
4	G05-108	429	0.5113	0.5543	0.0430	0.5647	0.0534
		434	0.4887	0.4413	-0.0474	0.4353	-0.0534
5	pps397	245	0.5000	0.4748	-0.0252	0.4211	-0.0789
		272	0.5000	0.5503	0.0503	0.5928	0.0928
5	nffa87	437	0.2759	0.2269	-0.0490	0.2983	0.0225
		446	0.2414	0.3046	0.0632	0.2962	0.0548
	460	0.2241	0.2395	0.0154	0.2164	-0.0078	
	462	0.2586	0.2248	-0.0338	0.1870	-0.0716	
6	pps210	196	0.4735	0.4651	-0.0084	0.4978	0.0244
		198	0.2522	0.2118	-0.0404	0.2263	-0.0259
	200	0.2743	0.3188	0.0444	0.2759	0.0015	
6	B2F1	193	0.5825	0.5913	0.0088	0.5957	0.0131
		195	0.4175	0.4087	-0.0088	0.4043	-0.0131
7	rv663	137	0.5127	0.4750	-0.0377	0.4750	-0.0377
7	OSW	464	0.2442	0.1974	-0.0469	0.2511	0.0068
		467	0.7558	0.7982	0.0425	0.7425	-0.0133

Différenciation des populations

La structuration génétique au sein d'un ensemble de populations a d'abord été décrite par les statistiques F de Wright (1965) au niveau allélique. Elle a été généralisée au niveau d'un locus puis d'un ensemble de loci par Nei (1973, 1977). Le coefficient de différenciation génétique entre populations (G_{ST}) est défini de la manière suivante au niveau d'un locus :

$$G_{ST} = 1 - H_S / H_T$$

Où H_S est la moyenne (sur toutes les populations) des diversités génétiques intrapopulations ; H_T est la diversité génétique sur l'ensemble des populations considérées comme une population unique (diversité totale).

Les G_{ST} entre chaque paire de populations à donc pu être calculer afin d'obtenir une mesure de la différenciation génétiques des populations G0, G1-DPFb et G1-DFb (Tab.A3.5), le calcul du G_{ST} a été réalisé à l'aide du logiciel Genetix 4.03 (Belkhir *et al.*, 1996-2001).

Ces résultats confirment les évolutions de fréquences observées (cf chapitre 2). Les différences maximales concernent les marqueurs QTL, les seuls pour lesquels des différences sont supérieurs à 1%. Les populations les plus différenciées sont la population G0 et G1-DFb et les moins différenciées sont les deux populations G1. Les marqueurs pour lesquels les populations sont les plus différenciées correspondent aux marqueurs proches des QTL à effets importants sur le GL2, GL4 et GL5, ce sont les QTL qui co-localisent la majorité des caractères. Nous pouvons remarquer également une différence importante sur le GL3 entre les populations G0 et G1-DFb, cette différence se retrouve aussi dans l'évolution des fréquences alléliques. Outre le fait de confirmer les résultats visibles au niveau des fréquences alléliques, cette différence entre les différenciations entre les marqueurs QTL et les marqueurs non QTL accrédite fortement l'hypothèse d'une action de la sélection à ces loci.

Tableau A3.5 : Valeurs de G_{ST} en pourcentage calculé entre les populations prises deux à deux pour les marqueurs QTL et les marqueurs non QTL. Les valeurs supérieures à 1% sont indiquées en rouge.

	GL	marqueurs QTL	G0_G1-DPPFb	G0_G1-DFb	G1-DPPFb_G1-DFb	marqueurs non-QTL	G0_G1-DPPFb	G0_G1-DFb	G1-DPPFb_G1-DFb
1		DLF27	0.11	0.33	0.06	NDPK	0.02	0.01	0.05
1		G02-47	0.36	0.03	0.18	nffa112	0.02	0.22	0.12
2		G02-49	0.27	0.4	0.01	G05.129	0.15	0.14	0
2		rv959	2.85	2.67	0	rv706	0.1	0	0.09
3		B3B8	0.18	1.03	0.49	dias7	0.39	0	0.39
4		syn4067	0.35	2.69	1.11	Lmgssr15-8E	0.14	0.25	0.09
4		Lpssr23	1.26	1.65	0.11	G05.108	0.21	0.29	0.01
5		G05-33	0.46	1.96	0.53	pps397	0.14	0.7	0.22
5		Lmgssr16-4F	1.66	1.87	0.37	nffa87	0.26	0.29	0.24
6						pps210	0.14	0.05	0.12
6						B2F1	0.01	0.02	0
7		Lp165	0	0.18	0.16	rv663	0.44	0.44	0.22
7		G02-04	0.05	0.3	0.1	OSW	0.29	0.02	0.42

Annexe 4 : Tests de paternité

Etude de paternité sur SPPR

Choix de la méthode d'affectation :

Affectation catégorielle

Choix des marqueurs moléculaires :

Parmi les microsatellites disponibles à la fois sur G0 et G1, le choix se porte sur des marqueurs répartis sur tout le génome. Les marqueurs sans allèle nuls sont conservés, notamment les plus informatifs c'est-à-dire les plus polymorphes. Un total de 22 microsatellites a été utilisé.

Choix du logiciel d'analyse :

Le choix s'est porté sur le logiciel CERVUS (Kalinowski *et al.*, 2007) qui est le plus utilisé et le plus puissant quand tous les candidats parents sont échantillonnés (Jones *et al.*, 2010). Ce logiciel s'accommode des erreurs de génotypage et permet de prendre en compte l'autofécondation. Certains marqueurs retenus sont liés sur le même groupe de liaison ce qui peut fausser l'estimation de fiabilité de l'analyse c'est pourquoi afin de garantir de meilleurs résultats un second logiciel a été choisi. Il s'agit du logiciel FAMOZ (Gerber *et al.*, 2003) qui utilise des méthodes similaires d'analyse. Il prend également en compte les erreurs possibles de génotypage.

Paramètres utilisés avec CERVUS :

10000 descendants générés ; 236 père candidats ; proportion de père échantillonnés de 0.98 ; proportion de loci génotypés de 0.9698352 ; proportion de loci mal génotypés de 0.03 (estimé à partir d'un double génotypage de 7 marqueurs) ; taux d'erreur de calcul de 0.01 ; niveau de confiance strict de 0.97 relâché de 0.95.

Résultats avec les LOD score strict 81% affectation juste, 98% en relâché ; avec le delta 92% en strict et 97% en relâché.

Paramètres utilisés avec FAMOZ :

10000 descendants générés ; proportion d'erreur de simulation de 0.03 ; proportion d'erreur de calcul de LOD de 0.01 ; déficit en hétérozygote de 0.125 (moyenne des marqueurs utilisés).

Résultats de 81.43% d'affectation juste.

Seule les affectations communes aux deux logiciels sont conservées c'est-à-dire 371; 109 sont rejetée parmi lesquels 10 individus formés à partir de pollen étranger (possédant plusieurs allèles absents dans la population G0) et un individu ayant un nombre de marqueur génotypé insuffisant. Soit un total de 75.8% d'affectation commune contre 24.2% d'affectation différente.

Les résultats des tests de paternité ont permis de mettre en évidence des descendants issus de pollen provenant de l'extérieur car ces génotypes possèdent de nombreux allèles qui ne sont pas présents chez les parents. Ainsi au total 10 individus sont issus de pollen extérieur parmi lesquels 5 génotypes se retrouvent dans la population G1-DPFb et 5 génotypes dans la population G1-DFb. Ces individus sont par ailleurs différents sur le plan phénotypique, en effet leur morphologie générale est plus grande que les autres (Fig.A4.1).



Figure A4.1 : Les géotypes issus de pollen étranger (entourés en rouge) présentent une morphologie différente.

Annexe 5 : Génotypes transgressifs

L'ACP réalisée sur les données phénotypiques initiales dans le chapitre 1 a permis de mettre en évidence une ségrégation transgressive des descendants (Fig.A5.1). En particulier, un groupe de génotype se distingue à la droite de l'axe1. Il s'agit de 8 génotypes (12 ; 27 ; 28 ; 48 ; 59 ; 60 ; 62 et 125) (Fig.A5.1). En rapprochant les résultats QTL, nous pouvons remarquer que ces individus ont tous le même génotype aux marqueurs entourant les QTL sur GL2 et GL5 (marqueur G02-49, rv959 et G05-33, Lp-SUT4). Ils ont les allèles sélectionnés à ces marqueurs, mais en tout 26 génotypes partagent ce génotype. Ces 8 génotypes ont également en commun le même génotype aux marqueurs ACA-CAG_207 (GL1), G05-134 (GL3), G05-108 (GL4) et Lp-SUT1 (GL4), il y a encore 7 autres génotypes qui partagent ce génotype. Toutefois, ces marqueurs derniers ne semblent pas directement impliqués dans des QTL.

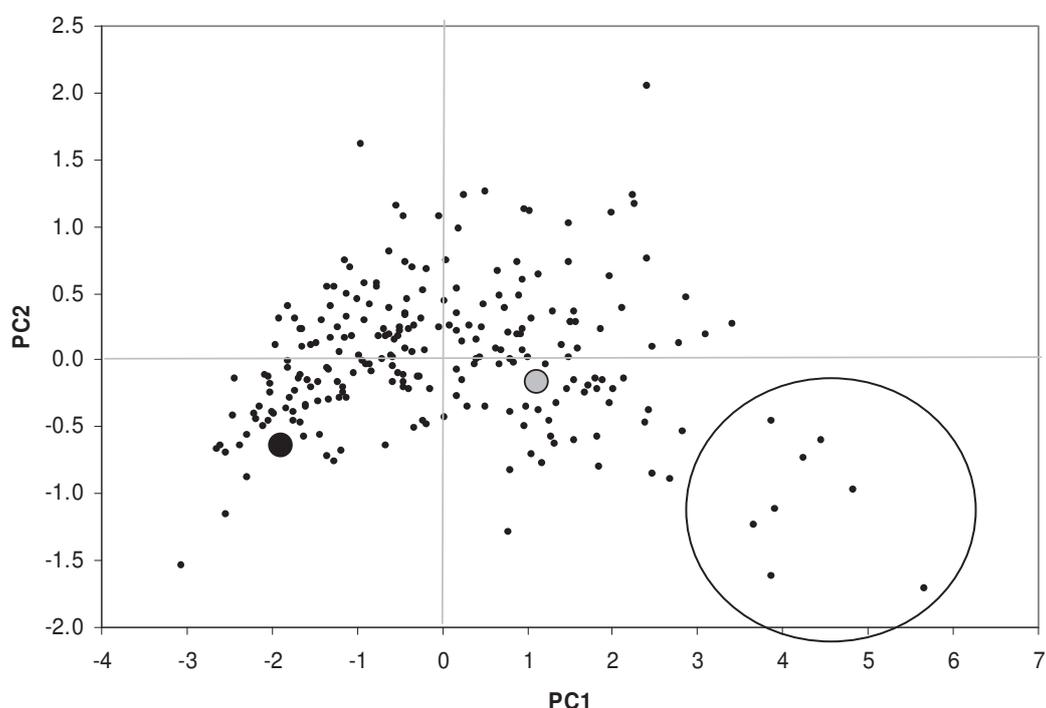


Figure A5.1 : Répartition des génotypes sur l'axe 1 et 2 de l'ACP caractérisant le morphotype des génotypes. L'axe 1 capture 87% de la variance et l'axe 2 capture 10% de la variance. Les deux parents à l'origine de la population sont indiqués : le parent gazon est représenté par un rond noir et le parent fourrage est représenté par un rond gris. Le groupe de 8 génotypes les plus extrêmes est entouré.

Table des figures

Figure I.1 : Effets des différents types de sélection sur la distribution phénotypique d'une population. En jaune les individus sélectionnés dans la population d'origine ; les flèches indiquent le déplacement des modes de la distribution par l'action de la sélection.

Figure I.2 : La plasticité peut entraîner différents changements de la distribution d'un trait dans la population. Par exemple, A : augmentation de la moyenne et de la variance ; B : moyenne identique mais diminution de la variance ; C : moyenne identique mais augmentation de la variance (Fordyce, 2006).

Figure I.3 : (a) Individu de *Lolium perenne* L.. Nous pouvons distinguer ici trois talles possédant chacune plusieurs feuilles. (b) schéma d'un individu de *Lolium perenne* L.. nous distinguons la gaine, le limbe et la feuille composée de la gaine et du limbe.

Figure I.4 : Inflorescence en épis d'épillets et graines de ray-grass anglais.

Figure C1.1 : Photos des individus croisés pour l'obtention de la population G0.

Figure C1.2 : Schéma du dispositif expérimental. En vert défoliation fréquente, en rouge défoliation peu fréquente.

Figure C1.3 : Disposition des individus dans les bacs. Les individus sont espacés de 5cm, leur position est référencée (quadrillage) pour un suivi dans le temps. On peut remarquer la présence de 5 capteurs lumineux (ronds blancs) / bac et le système d'irrigation (tuyaux marrons).

Figure C1.4 : Schéma des répliquats et de la disposition des clones dans les bacs. Chaque génotype a des voisins différents d'un répliquat à l'autre mais les mêmes voisins à l'intérieur d'un répliquat entre traitements.

Figure C1.5 : Les bacs sont disposés en serre durant l'hiver pour éviter la vernalisation et sorti au printemps. Les bacs gardent la même disposition.

Figure C1.6 : Des cages d'isolement ont été placées sur chaque bac durant la période de floraison afin de limiter au maximum l'apport de pollen extérieur.

Figure C1.7 : Chaque plante a été ensachée pour récolter les graines individuellement puis les graines ont été comptées après battage manuel.

Figure C1.9 : Chaque individu est coupé individuellement. La touffe de talles des individus est étirée afin de couper toute la biomasse supérieure à 3 cm. Chaque prélèvement est ensuite séché puis peser.

Figure C1.10 : Relation entre le nombre de talles et le diamètre des 90 individus de l'échantillon à la date D0.

Figure C1.11 : Distributions des caractères mesurés en D0. A : la longueur de limbe ; B : le nombre de talles ; C : la matière sèche. La position du parent Gagny (fourrage) est indiquée par un trait plein vertical ; La position du parent Imagine (gazon) est indiquée par un trait pointillé vertical.

Figure C1.12 : Répartition des génotypes sur l'axe 1 et 2 de l'ACP caractérisant le morphotype des génotypes. L'axe 1 capture 87% de la variance et l'axe 2 capture 10% de la variance. Les deux parents à l'origine de la population sont indiqués : le parent gazon est représenté par un rond noir et le parent fourrage est représenté par un rond gris.

Figure C1.13 : Evolution des moyennes de la population G0 et des coefficients de variation pour la hauteur étirée, le nombre de talles et la matière sèche. Le traitement DPF est indiqué par des lignes pleines ; le traitement DF est indiqué par des lignes pointillées. Les barres verticales représentent l'erreur standard. Les triangles noirs représentent les défoliations peu fréquentes ; les triangles gris représentent les défoliations fréquentes.

Figure C1.14 : Pourcentage cumulé de la mortalité dans chacun des traitements au cours du temps. Le traitement DPF est représenté en bleu ; le traitement DF est représenté en vert.

Figure C1.15 : Production de graines par génotype dans le traitement DPF et DF.

Figure C1.16 : Relation entre MorphD0 et la production de graines dans chaque traitement. Le traitement DF est représenté par des points verts et la régression par une ligne verte; le traitement DPF est représenté par des points bleus et la régression par une ligne bleue.

Figure C1.17 : Moyenne de la plasticité (distance relative, rd') du nombre de talles (A) et de la biomasse sèche (B), de la population aux différentes dates.

Figure C1.18 : Distribution des plasticités de nombre de talles (A, B, C), de biomasse sèche (D, E) et de production de graines (F) aux dates D1 (A, D), D5 (B, E) et D9 (C).

Figure C1.19 : Relations entre MorphD0 et la plasticité du nombre de talles (NT-p) et de la biomasse sèche (MS-p) à la date D1 (A et B) D5 (C et D) et D9 (E). Une valeur positive de l'indice de plasticité indique une valeur du caractère plus élevée dans le traitement DF.

Figure C1.20 : Distribution des caractères morphologiques de hauteur étirée (HE), diamètre (D), nombre de talles (NT) et longueur de limbe (LL) dans les populations G0bis, G1-DF et G1-DPF aux deux dates de mesure (D1' et D2').

Figure C2.1 : Moyennes des parents et grands-parents, moyennes et intervalles (minimum, maximum) des descendants (population G0) dans les traitements DPF (A,B,C) et DF (D,E,F) et pour la plasticité entre les traitements (G,H).

Figure C2.2 : Cartographie génétique consensus à partir des deux parents de la population G0 avec la fonction Haldane, les marqueurs distordus sont marqués d'un (*). Les 7 groupes de liaisons (GL) sont présents avec les distances en cM. Les marqueurs polymorphes chez le parent C2.13 sont indiqués en jaune, chez le parent C2.14 en vert, chez les deux parents en rouge ; les marqueurs du type « ab x ab » sont indiqués en bleu.

Figure C2.3 : Représentation du niveau de variance phénotypique expliqué au cours du temps pour chaque QTL. Les QTL sont indiqués en fonction de leur groupe de liaison (GL1 à GL7). A et B représentent les QTL impliqués dans la hauteur étirée ; C et D représentent les QTL impliqués dans le nombre de talles ; E et F représentent les QTL impliqués dans la matière sèche ; G représente les QTL impliqués dans la plasticité du nombre de talles et H représente les QTL impliqués dans la plasticité de la matière sèche. A ; C et E représentent le traitement DPF ; B ; D et F représentent le traitement DF.

Figure C2.4 : Positions des QTL détectés pour les moyennes des différents caractères au cours du temps: HE : hauteur ; NT : nombre de talles ; MS : matière sèche ; G : production de graines ; NT-p : plasticité du nombre de talles ; MS-p : plasticité de la matière sèche ; dans les deux traitements DPF et DF. Les intervalles d'incertitudes (LOD-1) sont représentés.

Figure C2.5 : Positions des différents QTL au cours du temps, pour les caractères de hauteur étirée (HE), nombre de talles (NT), matière sèche (MS), production de graines (Graines) et la plasticité du nombre de talles (NT-p) et de la matière sèche (MS-p) dans les traitements DPF (en rouge) et DF (en vert).

Figure C2.6 : Production de graines de chaque génotype (répliquats cumulés) dans le traitement DF et DPF. En rouge : les génotypes sont sélectionnés pour participer dans les deux populations G1 (38 génotypes); en vert : les génotypes sont sélectionnés pour participer uniquement dans la population G1-DFb (18 génotypes) ; en bleu : les génotypes sont sélectionnés pour participer uniquement dans la population G1-DPFb (18 génotypes) ; en blanc : les génotypes ne participent à aucune des populations G1 (162 génotypes). Cette participation est uniquement basée sur la production de graines.

Figure C2.7 : Nombre de graines des individus de G0 dans le traitement DPF et DF conservées pour la formation de la génération G1. Dans les deux traitements les génotypes ayant une valeur de MorphD0 élevée ont contribué davantage à la génération G1 que les génotypes ayant une faible valeur de MorphD0.

Figure C2.8 : Différence de fréquences alléliques entre la génération G0 d'une part et les générations G1-DPFb (issue d'individus défoliés peu fréquemment) et G1-DFb (issue d'individus défoliés fréquemment) d'autre part. La ligne en pointillée représente 1.96 fois l'écart-type.

Figure C2.9 : Différence de fréquences alléliques entre la génération G0 d'une part et les générations G1-DPFb (issue d'individus défoliés peu fréquemment) et G1-DFb (issue d'individus défoliés fréquemment) d'autre part pour chaque répliquât de G0. En abscisse, les différents marqueurs le long des groupes de liaison (GL). Pour chaque marqueur, seul l'allèle variant le plus est conservé. Les différents répliquâts sont indiqués en bleu, rouge et rose.

Figure C2.10 : Résultats des simulations. Les histogrammes représentent les distributions des 1000 tirages effectués avec la courbe normale associée. Au dessus de chaque graphique est indiqué le groupe de liaison, le nom du marqueur, la taille de l'allèle et si le marqueur est considéré comme QTL ou non. Les barres verticales en pointillées représentent les fréquences des populations G0, G1-DPFb (P) et G1-DFb (F). Seul l'allèle du marqueur variant le plus est indiqué sauf pour le marqueur Lmgssr16-4F car ce n'est pas le même allèle qui varie le plus dans les deux populations G1.

Figure C2.11 : Taux d'hétérozygotie attendue aux loci QTL dans les populations G0 (noir), G1-DFb (rouge), G1-DPFb (bleue)

Figure C2.12 : Valeurs absolues des différences d'hétérozygoties attendues entre la population G0 et la population G1-DFb (en rouge) et G1-DPFb (en bleue) sur les marqueurs liés aux QTL (a) et non liés aux QTL (b).

Figure A1.1. Scenarios for change in mean and/or variance of a trait in a population between constitutive phenotype expressed prior to an interaction (dark shading) and the induced phenotype following an interaction (light shading). (A) An increase in mean and variance of a trait. (B) Decrease in variance, mean unchanged. (C) Increase in variance, mean unchanged. (Fordyce 2006).

Figure A1.2. The lines represent the reaction norms (i.e. the genotype-specific environment-phenotype functions) of each genotype. Both lines have a slope in the environment-phenotype space, which means that both genotypes are plastic. The population shows GxE in the sense that there is genetic variation for the slope of the reaction norm, which would be detected by a standard analysis of variance (Pigliucci 2005)

Figure A1.3. (A) Relationship between phenotypic values and fitness in one environment for population genotypes. (B) Relationship between degree of plasticity and fitness residuals; there is a cost of plasticity when the slope of the regression is negative (Dewitt *et al.* 1998).

Figure A1.4. Schematic representation of how directional plasticity affects the way variation in the genotypic values x translates into variation in log fitness, which in turn of mean x to selection. The solid line shows the log of the fitness function, and the shaded areas symbolize the distributions of phenotypes and fitness without plasticity (light shading) and with plasticity (dark shading). Directional plasticity (symbolized by an arrow) shifts the distribution of the phenotypes (mean and variance). The curvature of the log fitness function (convex in A; concave in B) determines how the shift in the mean of the distribution changes the variation in log fitness (Paenke *et al.* 2007).

Figure A2.1 : Illustration d'une partie du matériel utilisé pour réaliser l'extraction ADN.

Figure A2.1 : Séquenceur Li-Cor Global IR² utilisé pour le génotypage des individus.

Figure A2.2 : Exemple d'image obtenu à l'aide du séquenceur Li-Cor et analysée à l'aide du logiciel SAGA. Ici un marqueur microsatellite avec 3 allèles est représenté aux positions 157, 161 et 169 paires de base.

Figure A2.3 : Exemple d'image obtenu à l'aide du séquenceur Li-Cor et analysée à l'aide du logiciel SAGA. Ici les résultats pour un couple d'amorce ALFP sont représentés.

Figure A4.1 : Les géotypes issus de pollen étranger (entourés en rouge) présentent une morphologie différente.

Figure A5.1 : Répartition des géotypes sur l'axe 1 et 2 de l'ACP caractérisant le morphotype des géotypes. L'axe 1 capture 87% de la variance et l'axe 2 capture 10% de la variance. Les deux parents à l'origine de la population sont indiqués : le parent gazon est représenté par un rond noir et le parent fourrage est représenté par un rond gris. Le groupe de 8 géotypes les plus extrêmes est entouré.

Table des tableaux

Tableau C1.1 : Ecart-type, variance et tests de normalité sur la longueur de feuille (LF), le nombre de talle (NT) et la matière sèche (MS).

Tableau C1.2 : Moyenne de la population G0 et valeur des parents Gagny et Imagine.

Tableau C1.3 : Analyse de variance sur la longueur de feuille (LF), le nombre de talle (NT) et la matière sèche (MS); R^2 : taux explicatif du modèle ; DF : degré de liberté ; CM : carré moyen. Pr : probabilité d'égalité des moyennes ; σ^2 : pourcentage de variance expliquée.

Tableau C1.4 : Analyse en composantes principales des trois traits morphologiques collectés avant l'application du traitement.

Tableau C1.5 : Analyse de variance pour l'effet traitement, génotype et l'interaction entre le génotype et le traitement sur la hauteur étirée. Les composants de la variance pour le génotype et l'interaction entre le génotype et le traitement sont indiquées. R^2 : taux explicatif du modèle ; DF : degré de liberté ; CM : carré moyen.

Tableau C1.6 : Analyse de variance pour l'effet génotype dans chacun des traitements sur la hauteur étirée. Les composants de la variance pour le génotype sont indiqués (%). R^2 : taux explicatif du modèle ; DF : degré de liberté ; CM : carré moyen.

Tableau C1.7 : Analyse de variance pour l'effet traitement, génotype et l'interaction entre le génotype et le traitement sur le nombre de talles (NT), la biomasse sèche (MS), l'effort reproducteur (G). Les composants de la variance pour le génotype et l'interaction entre le génotype et le traitement sont indiquées. R^2 : taux explicatif du modèle ; DF : degré de liberté ; CM : carré moyen.

Tableau C1.8 : Test de différence de mortalité entre les traitements.

Tableau C1.9 : Analyse de variance pour l'effet groupe (groupe 1 : individu vivant ; groupe 2 : individu mort ; groupe 3 : individu ayant fait au moins une graine ; groupe 4 : individu n'ayant pas fait de graine), sur la variable MorphD0, sur les deux traitements confondus puis par traitement (DPF –DF).

Tableau C1.10 : Analyse de variance pour l'effet génotype, sur la plasticité du nombre de talles (NT-p), de la biomasse sèche (MS-p) et de l'effort reproducteur (G-p).

Tableau C1.11 : Coefficients de corrélation de Spearman entre l'indice de plasticité du nombre de talles (NT-p), de la biomasse sèche (MS-p) avec la variable MorphD0.

Tableau C1.12 : Analyse de variance pour l'effet groupe (groupe 1 : aucun individu mort ; groupe 2 : au moins un répliquât mort), sur la plasticité du nombre de talles (NT-p) et de la biomasse sèche (MS-p).

Tableau C1.13 : Moyennes et coefficients de variation de la population G0bis, G1 issue d'individus G0 sous défoliation peu fréquente (G1-DPF) et G1 issue d'individus G0 sous défoliation fréquente (G1-DF), pour la hauteur étirée (HE en mm), le diamètre (D en mm), nombre de talles (NT) et la longueur de limbe (LL en mm) et la biomasse (MS) au cours du temps.

Tableau C1.14 : **A** : Analyse de variance pour l'effet de la population sur les traits de hauteur étirée (HE), de diamètre (D), de nombre de talles (NT) et de longueur de limbe (LL). G1-DPF : G1 issue d'individus G0 sous défoliation peu fréquente ; G1-DF : G1 issue d'individus G0 sous défoliation fréquente. R^2 : taux explicatif du modèle ; DF : degré de liberté ; CM : carré moyen. Test de comparaison des variances (Levene). **B** : test de comparaison des moyennes (Tukey).

Tableau C2.1 : Marqueurs définis comme « QTL » : proche de QTL et marqueurs « non QTL » : plus éloignés des QTL.

Tableau C2.2 : Moyennes, coefficients de variation (CV) et corrélations phénotypiques entre les caractères étudiés (N : nombre de talles ; M : biomasse sèche en g ; H : hauteur en mm) des dates 0 à 9 et le nombre de graines obtenues en 2009 et ceci pour les deux traitements. Les

corrélations sont faites entre mesures de même date sauf pour les graines.

Tableau C2.3 : Résultats de l'analyse de variance avec le génotype comme effet principal dans le traitement DPF, DF et la plasticité entre ces traitements pour les moyennes des nombre de talles (NT), hauteur étirée (HE), matière sèche (MS), plasticité du nombre de talles (NT-p) et plasticité de la matière sèche (MS-p). H : héritabilité au sens large.

Tableau C2.4 : Moyennes des parents, moyennes, intervalles (minimum, maximum) et variances des descendants dans les traitements DPF et DF pour les moyennes des caractères.

Tableau C2.5 : Résultats de la détection de QTL pour la moyenne des différentes dates (Moy-...) des caractères de la hauteur étirée (HE), le nombre de talle (NT), la matière sèche (MS), la production de graines (G), la plasticité du nombre de talle (NT-p), la plasticité de la matière sèche (MS-p) dans le traitement de défoliation peu fréquent DPF et fréquent DF ; GL : groupe de liaison ; l'intervalle d'incertitude est déterminé autour du QTL = LOD-1 ; r^2 est le pourcentage de variation phénotypique expliqué par le QTL.

Tableau C2.6 : Valeurs moyennes des traits des classes génotypiques des marqueurs proches de QTL impliqués dans la hauteur étirée (HE), le nombre de talles (NT), la matière sèche (MS), la production de graines (PG), la plasticité du nombre de talles (NT-p) et la plasticité de la matière sèche (MS-p) dans le traitement DPF et DF. a : effet additif ; d : effet dominance. L'origine des allèles est indiquée : F : fourrage ; G : gazon. GL : groupe de liaison.

Tableau C2.7 : Intensité de sélection (i) des caractères de hauteur étirée (HE), nombre de talles (NT), biomasse sèche (MS), plasticité du nombre de talles (NT-p), plasticité de la biomasse sèche (MS-p) et production de graines (G) aux différentes dates et dans les deux traitements (DPF ; DF).

Tableau C2.8 : Différences de fréquence moyenne des marqueurs, pour chaque population G1, réalisées à partir des trois répliquâts. Les groupes NK représentent les différences significatives à 5% calculées à l'aide du test de Newman et Keuls. Les barres verticales représentent les différents groupes statistiques. Les marqueurs QTL sont indiqués en gras. Pour chaque marqueur, seul l'allèle variant le plus est conservé.

Tableau C2.9 : Fréquence allélique observées des marqueurs et intervalle de confiance (IC) à 95% sous hypothèse de dérive génétique. Les marqueurs QTL sont indiqués avec un nom en gras. Les fréquences en dehors de l'intervalle sont indiquées en gras.

Tableau C2.10 : Génotype des parents et grands parents de la population G0 aux marqueurs QTL et non QTL. Les marqueurs QTL sont indiqués en gras, pour chacun d'eux les allèles qui augmentent en fréquence au passage à la génération G1 sont indiqués en rouge, les allèles dont la fréquence diminue sont indiqués en bleu.

Tableau C2.11 : Hétérozygotie attendue calculée chez G0, G1-DPFb et G1-DFb pour chaque marqueur et différences en valeurs absolues entre les populations G1 et G0.

Tableau C2.12 : Différences d'hétérozygotie attendue moyenne (d He) pour chaque population G1 des marqueurs réalisées à partir des trois répliquâts. Les groupes NK représentent les différences significatives à 5% calculées à l'aide du test de Newman et Keuls. Les barres verticales représentent les différents groupes statistiques. Les marqueurs QTL sont indiqués en gras.

Tableau A2.1 : Références bibliographique des marqueurs microsatellites utilisés.

Tableau A2.2 : Liste des marqueurs testés et leurs références.

Tableau A3.1 Résultats de l'analyse de variance avec le génotype comme effet principal dans le traitement DPF, DF et la plasticité entre ces traitements (détail par date).

Tableau A3.2 : Résultats de la détection de QTL pour le caractère de la hauteur étirée (HE), dans le traitement de défoliation peu fréquent DPF; GL : groupe de liaison ; l'intervalle d'incertitude est déterminé autour du QTL = LOD-1 ; r^2 est le pourcentage de variance phénotypique expliqué par le QTL (détail par date).

Tableau A3.3 : Evolution des fréquences alléliques aux marqueurs proches des QTL détectés au passage de la génération G0 à G1 dans les 2 traitements (DPF et DF) ; les différences sont faites entre les fréquences de G1 – les fréquences de G0.

Tableau A3.4 : Evolution des fréquences alléliques aux marqueurs non QTL détectés au passage de la génération G0 à G1 dans les 2 traitements (DPF et DF) ; les différences sont faites entre les fréquences de G1 – les fréquences de G0.

Tableau A3.4 : Valeurs de G_{ST} en pourcentage calculé entre les populations prises deux à deux pour les marqueurs QTL et les marqueurs non QTL. Les valeurs supérieures à 1% sont indiquées en rouge.

Bibliographie

Références bibliographiques

- Agrawal, A. A.** 2001. Ecology - Phenotypic plasticity in the interactions and evolution of species. *Science*, 294: 321-326.
- Anderson, T., Starmer, W. & Thorne, M.** 2007. Bimodal root diameter distributions in Serengeti grasses exhibit plasticity in response to defoliation and soil texture: implications for nitrogen uptake. *Functional Ecology*, 21: 50-60.
- Anhalt, U., Heslop-Harrison, P., Piepho, H., Byrne, S. & Barth, S.** 2009. Quantitative trait loci mapping for biomass yield traits in a *Lolium* inbred line derived F(2) population. *Euphytica*, 170: 99-107.
- Auzanneau, J., Huyghe, C., Julier, B. & Barre, P.** 2007. Linkage disequilibrium in synthetic varieties of perennial ryegrass. *Theoretical and Applied Genetics*, 115: 837-847.
- Balfourier, F., Charmet, G., Betin, M. & Bourgoin, B.** 1992. Ryegrasses. *Amélioration Des Espèces Vegetales Cultivées: Objectifs Et Critères De Sélection.*, 310.
- Baquedano, F., Valladares, F. & Castillo, F.** 2008. Phenotypic plasticity blurs ecotypic divergence in the response of *Quercus coccifera* and *Pinus halepensis* to water stress. *European Journal of Forest Research*, 127: 495-506.
- Barre, P., Moreau, L., Mi, F., Turner, L., Gastal, F., Julier, B. & Ghesquiere, M.** 2009. Quantitative trait loci for leaf length in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Grass and Forage Science*, 64: 310-321.
- Barton, K. E.** 2008. Phenotypic plasticity in seedling defense strategies: compensatory growth and chemical induction. *Oikos*, 117: 917-925.
- Belkhir, K., Borsa, P., Chikhi, L., Raufaste, N., and Bonhomme, F.** GENETIX 4.03, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations. 1996.
- Benoit, M., Saintot, D. & Gaury, F.** 1995. Measurement of the losses of nitrates in farmers' fields. Variability under different farming systems and modelling of the water quality of a watershed. *Comptes Rendus De L'Académie D'Agriculture De France*, 81: 175-188.
- Benoit, M. and Simon, J.** 2004. Grassland and water resources: recent findings and challenges in Europe. *Land Use Systems in Grassland Dominated Regions. Proceedings of the 20th General Meeting of the European Grassland Federation, Luzern, Switzerland, 21-24 June 2004*, 117-128.
- Bergland, A. O., Genissel, A., Nuzhdin, S. V. & Tatar, M.** 2008. Quantitative trait loci affecting phenotypic plasticity and the allometric relationship of ovariole number and thorax length in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 180: 567-582.
- Berthier, A.** 2011. Transport du saccharose chez le ray-grass anglais (*Lolium perenne* L.) : réponse à la défoliation et à l'intensité lumineuse. PhD Thesis Université de Caen.

- Bircham, J. S.** 1981. Herbage growth and utilisation under continuous stocking management. PhD Thesis University of Edimburgh. .
- Bradshaw, A. D.** 1965. Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. *Advances in Genetics*, 13: 115-155.
- Briske, D.** 1996. *Strategies of plant survival in grazed systems: a functional interpretation*, CAB International, Wallingford U.K. edn.
- Briske, D. and Anderson, V. J.** 1992. Competitive Ability of the Bunchgrass Schizachyrium-Scoparium As Affected by Grazing History and Defoliation. *Vegetatio*, 103: 41-49.
- Briske, D. and Silvertown, J.** 1993. Plant demography and grassland community balance: the contribution of population regulation mechanisms. *Grasslands for Our World.*, 105-111.
- Callahan, H. S., Pigliucci, M. & Schlichting, C. D.** 1997. Developmental phenotypic plasticity: Where ecology and evolution meet molecular biology. *Bioessays*, 19: 519-525.
- Carroll, S. P., Hendry, A. P., Reznick, D. N. & Fox, C. W.** 2007. Evolution on ecological time-scales. *Functional Ecology*, 21: 387-393.
- Caruso, C. M., Maherali, H. & Sherrard, M.** 2006. Plasticity of physiology in Lobelia: Testing for adaptation and constraint. *Evolution*, 60: 980-990.
- Casler, M.D. and Duncan, R.R.** 2003. *Turfgrass biology, genetics, and breeding*. John Wiley.
- Castric, V. and Vekemans, X.** 2004. Plant self-incompatibility in natural populations: a critical assessment of recent theoretical and empirical advances. *Molecular Ecology*, 13: 2873-2889.
- Castric, V., Bechsgaard, J. S., Grenier, S., Nouredine, R., Schierup, M. H. & Vekemans, X.** 2010. Molecular evolution within and between self-incompatibility specificities. *Mol Biol Evol*, 27.
- Cavalli-Sforza, L. L.** 1966. Population structure and human evolution. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Containing Papers of a Biological Character*. Royal Society (Great Britain), 164: 362-379.
- Cheetham, A. H., Jackson, J. B. C. & Hayek, L. A. C.** 1995. Quantitative Genetics of Bryozoan Phenotypic Evolution .3. Phenotypic Plasticity and the Maintenance of Genetic-Variation. *Evolution*, 49: 290-296.
- Chevin, L. M. and Lande, R.** 2010. When do Adaptive Plasticity and Genetic Evolution Prevent Extinction of A Density-Regulated Population? *Evolution*, 64: 1143-1150.
- Chisci, G. and Zanchi, C.** 1981. The influence of different tillage systems and different crops on soil losses on hilly silty-clayey soil. *Soil Conservation. Problems and Prospects.*, 211-217.

- Cullen, B. R., Chapman, D. F. & Quigley, P. E.** 2006. Comparative defoliation tolerance of temperate perennial grasses. *Grass and Forage Science*, 61: 405-412.
- De Jong, G.** 2005. Evolution of phenotypic plasticity: patterns of plasticity and the emergence of ecotypes. *New Phytologist*, 166.
- Dewitt, T. J.** 1998. Costs and limits of phenotypic plasticity: Tests with predator-induced morphology and life history in a freshwater snail. *Journal of Evolutionary Biology*, 11: 465-480.
- Diaz, S., Lavorel, S., McIntyre, S., Falczuk, V., Casanoves, F., Milchunas, D. G., Skarpe, C., Rusch, G., Sternberg, M., Noy-Meir, I., Landsberg, J., Zhang, W., Clark, H. & Campbell, B. D.** 2007. Plant trait responses to grazing - a global synthesis. *Global Change Biology*, 13: 313-341.
- Doerge, R. W. and Churchill, G. A.** 1996. Permutation tests for multiple loci affecting a quantitative character. *Genetics*, 142: 285-294.
- Donaghy, D. J. and Fulkerson, W. J.** 1997. The importance of water-soluble carbohydrate reserves on regrowth and root growth of *Lolium perenne* (L.). *Grass and Forage Science*, 52: 401-407.
- Donaghy, D. J. and Fulkerson, W. J.** 1998. Priority for allocation of water-soluble carbohydrate reserves during regrowth of *Lolium perenne*. *Grass and Forage Science*, 53: 211-218.
- Elgersma, A. and Schlepers, H.** 1997. Performance of white clover perennial ryegrass mixtures under cutting. *Grass and Forage Science*, 52: 134-146.
- Eriksson, O.** 1989. Seedling Dynamics and Life Histories in Clonal Plants. *Oikos*, 55: 231-238.
- Evans, M. and Neff, B.** 2009. Major histocompatibility complex heterozygote advantage and widespread bacterial infections in populations of Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Molecular Ecology*, 18.
- Faville, M. J., Vecchies, A. C., Schreiber, M., Drayton, M. C., Hughes, L. J., Jones, E. S., Guthridge, K. M., Smith, K. F., Sawbridge, T., Spangenberg, G. C., Bryan, G. T. & Forster, J. W.** 2004. Functionally associated molecular genetic marker map construction in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 110: 12-32.
- Fordyce, J. A.** 2006. The evolutionary consequences of ecological interactions mediated through phenotypic plasticity. *Journal of Experimental Biology*, 209: 2377-2383.
- Friedel, M. and James, C.** 1995. How does grazing of native pastures affect their biodiversity? *Conserving Biodiversity: Threats and Solutions.*, 249-259.
- Gabriel, W.** 2006. Selective advantage of irreversible and reversible phenotypic plasticity. *Archiv Fur Hydrobiologie*, 167: 1-20.

- Gallais, A. and Bannerot, H.** 1992. *Amelioration des especes vegetales cultivees: objectifs et criteres de selection*. Inra.
- Garmendia, A., Garmendia, L. & Salvador, A.** 2008. The importance of the intensity and frequency of perturbations on the germination delay. *Mathematical Biosciences*, 211: 153-165.
- Gastal, F., Dawson, L. A. & Thornton, B.** 2010. Responses of plant traits of four grasses from contrasting habitats to defoliation and N supply. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 88: 245-258.
- Gautier, H., Varlet-Grancher, C. & Hazard, L.** 1999. Tillering responses to the light environment and to defoliation in populations of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) selected for contrasting leaf length. *Annals of Botany*, 83: 423-429.
- Gerald, J. N. F., Lehti-Shiu, M. D., Ingram, P. A., Deak, K. I., Biesiada, T. & Malamy, J. E.** 2006. Identification of quantitative trait loci that regulate Arabidopsis root system size and plasticity. *Genetics*, 172: 485-498.
- Gerber, S., Chabrier, P. & Kremer, A.** 2003. FAMOZ: a software for parentage analysis using dominant, codominant and uniparentally inherited markers. *Molecular Ecology Notes*, 3: 479-481.
- Ghalambor, C. K., McKay, J. K., Carroll, S. P. & Reznick, D. N.** 2007. Adaptive versus non-adaptive phenotypic plasticity and the potential for contemporary adaptation in new environments. *Functional Ecology*, 21: 394-407.
- Ghesquiere, M., Hazard, L. & Betin, M.** 1994. Breeding for Management Adaptation in Perennial Ryegrass (*Lolium-Perenne* L) .2. Genetic-Variability and Heritability of Leaf Morphogenesis Components. *Agronomie*, 14: 267-272.
- Gill, G. P., Wilcox, P. L., Whittaker, D. J., Winz, R. A., Bickerstaff, P., Echt, C. E., Kent, J., Humphreys, M. O., Elborough, K. M. & Gardner, R. C.** 2006. A framework linkage map of perennial ryegrass based on SSR markers. *Genome*, 49: 354-364.
- Gillespie, J. H. and Turelli, M.** 1989. Genotype-Environment Interactions and the Maintenance of Polygenic Variation. *Genetics*, 121: 129-138.
- Gillet, M.** 1980. *Les graminees fourrageres: description, fonctionnement, applications a la culture de l'herbe*. Gauthier-Villars.
- Grant, S.A. and King, J.** 1983. *Grazing management and pasture production: the importance of sward morphological adaptations and canopy photosynthesis H.F.R.O. Bienn. Rep., 1982-83, 119-129*, The hill farming research organisation edn. Edinmburg, Escoria 1982-83 Palmerston North (Biennial Report).
- Grattapaglia, D. and Sederoff, R.** 1994. Genetic-Linkage Maps of Eucalyptus-Grandis and Eucalyptus-Urophylla Using A Pseudo-Testcross - Mapping Strategy and Rapd Markers. *Genetics*, 137: 1121-1137.
- Grime, J. P. and Mackey, J. M. L.** 2002. The role of plasticity in resource capture by plants. *Evolutionary Ecology*, 16: 299-307.

- Haldane, J. B. S.** 1919. The combination of linkage values, and the calculation of distance between the loci of linked factors. *J Genet*, 8: 299-309.
- Haldane, J. B. S.** 2006. Disease and Evolution Malaria: Genetic and Evolutionary Aspects Springer US.
- Hanks, J. D., Waldron, B. L., Johnson, P. G., Jensen, K. B. & Asay, K. H.** 2005. Breeding CWG-R crested wheatgrass for reduced-maintenance turf. *Crop Science*, 45: 524-528.
- Hawkes, C. V. and Sullivan, J. J.** 2001. The impact of herbivory on plants in different resource conditions: A meta-analysis. *Ecology*, 82: 2045-2058.
- Hazard, L. and Ghesquiere, M.** 1995. Evidence from the use of isozyme markers of competition in swards between short-leaved and long-leaved perennial ryegrass. *Grass and Forage Science*, 50: 241-248.
- Hazard, L. and Ghesquiere, M.** 1997. Productivity under contrasting cutting regimes of perennial ryegrass selected for short and long leaves. *Euphytica*, 95: 295-299.
- Hazard, L., Barker, D. J. & Easton, H. S.** 2001. Morphogenetic adaptation to defoliation and soil fertility in perennial ryegrass (*Lolium perenne*). *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 44: 1-12.
- Hazard, L., Betin, M. & Molinari, N.** 2006. Correlated response in plant height and heading date to selection in perennial ryegrass populations. *Agronomy Journal*, 98: 1384-1391.
- Hirata, M., Cai, H. W., Inoue, M., Yuyama, N., Miura, Y., Komatsu, T., Takamizo, T. & Fujimori, M.** 2006. Development of simple sequence repeat (SSR) markers and construction of an SSR-based linkage map in Italian ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.). *Theoretical and Applied Genetics*, 113: 270-279.
- Hirata, M., Kiyoshi, T., Yuyama, N. & Cai, H.** 2011. Development of simple sequence repeat markers for inbreeding *Lolium* species. *Grassland Science*, 57: 35-45.
- Hoffmann, A. A., Sgro, C. M. & Lawler, S. H.** 1995. Ecological population genetics: The interface between genes and the environment. *Annual Review of Genetics*, 29: 349-370.
- Hood, G. R. and Ott, J. R.** 2010. Developmental plasticity and reduced susceptibility to natural enemies following host plant defoliation in a specialized herbivore. *Oecologia*, 162: 673-683.
- Irschick, D. J. and Meyers, J. J.** 2007. An analysis of the relative roles of plasticity and natural selection in the morphology and performance of a lizard (*Urosaurus ornatus*). *Oecologia*, 153: 489-499.
- Jensen, L. B., Muylle, H., Arens, P., Andersen, C. H., Holm, P. B., Ghesquiere, M., Julier, B., Lubberstedt, 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*, 5: 951-957.

- Jones, A. G., Small, C. M., Paczolt, K. A. & Ratterman, N. L.** 2010. A practical guide to methods of parentage analysis. *Molecular Ecology Resources*, 10: 6-30.
- Kalinowski, S. T., Taper, M. L. & Marshall, T. C.** 2007. Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Molecular Ecology*, 16: 1099-1106.
- Kim, D., Jung, W., Lee, B., Kim, K., Kim, T., Kim, D., Jung, W., Lee, B., Kim, K. & Kim, T.** 2001. Effect of cutting height on C and N reserves and consequent regrowth in frequently defoliated turf-type perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Journal of the Korean Society of Grassland Science*, 21: 89-96.
- Kingsolver, J. G. and Pfennig, D. W.** 2007. Patterns and power of phenotypic selection in nature. *Bioscience*, 57: 561-572.
- Kobayashi, S., Humphreys, M. O., Tase, K., Sanada, Y. & Yamada, T.** 2011. Molecular Marker Dissection of Ryegrass Plant Development and its Response to Growth Environments and Foliage Cuts. *Crop Science*, 51: 600-611.
- Kopp, M. and Tollrian, R.** 2003. Reciprocal phenotypic plasticity in a predator-prey system: inducible offences against inducible defences? *Ecology Letters*, 6: 742-748.
- Lacaze, X., Hayes, P. M. & Korol, A.** 2009. Genetics of phenotypic plasticity: QTL analysis in barley, *Hordeum vulgare*. *Heredity*, 102: 163-173.
- Lander, E. S., Green, P., Abrahamson, J., Barlow, A., Daly, M. J., Lincoln, S. E., Newberg, L. A. & Newburg, L.** 1987. MAPMAKER: an interactive computer package for constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural populations.
- Lauvergeat, V., Barre, P., Bonnet, M. & Ghesquiere, M.** 2005. Sixty simple sequence repeat markers for use in the *Festuca-Lolium* complex of grasses. *Molecular Ecology Notes*, 5: 401-405.
- Lee, J. M., Donaghy, D. J. & Roche, J. R.** 2008. Effect of defoliation severity on regrowth and nutritive value of perennial ryegrass dominant swards. *Agronomy Journal*, 100: 308-314.
- Lehmann, E.L. and D'Abbrera, H.J.M.** 1998. *Nonparametrics: statistical methods based on ranks*. Prentice Hall.
- Lem, P. and Lallemand, J.** 2003. Grass consensus STS markers: an efficient approach for detecting polymorphism in *Lolium*. *Theoretical and Applied Genetics*, 107: 1113-1122.
- Lemaire, G., Gosse, G. & Chartier, M.** 1984. *Modelling of the dry matter growth of a grass stand in spring. Interaction between climatic factors and nitrogen nutrition.*, Proc. 10th Gen. Meet. Europ. Grassl. Ass. As Norway, june 1984, Ed. The norwegian State Agricul. Res. Sta., 515-519. edn.
- Loman, J. and Claesson, D.** 2003. Plastic response to pond drying in tadpoles *Rana temporaria*: tests of cost models. *Evolutionary Ecology Research*, 5: 179-194.

- Loywyck, V., BeD'Hom, B., Pinard-van der Laan, M.-H., Pitel, F., Verrier, E. & Bijma, P.** 2008. Evolution of the polymorphism at molecular markers in QTL and non-QTL regions in selected chicken lines. *Genetics Selection Evolution*, 40: 639-661.
- Lynch, M. and Gabriel, W.** 1987. Environmental Tolerance. *American Naturalist*, 129: 283-303.
- Mabry, C. M. and Wayne, P. W.** 1997. Defoliation of the annual herb *Abutilon theophrasti*: Mechanisms underlying reproductive compensation. *Oecologia*, 111: 225-232.
- Mahoney, C.L. and Springer, D.A.** 2009. *Genetic Diversity*. Nova Science Pub Inc.
- Maschinski, J. and Whitham, T. G.** 1989. The Continuum of Plant-Responses to Herbivory - the Influence of Plant-Association, Nutrient Availability, and Timing. *American Naturalist*, 134: 1-19.
- Matthew, C., Assuero, S., Black, C. & Hamilton, N.** 2000. Tiller dynamics of grazed swards. *Grassland Ecophysiology and Grazing Ecology*.
- McIntyre, S., Lavorel, S. & Tremont, R. M.** 1995. Plant Life-History Attributes - Their Relationship to Disturbance Responses in Herbaceous Vegetation. *Journal of Ecology*, 83: 31-44.
- Merila, J., Laurila, A. & Lindgren, B.** 2004. Variation in the degree and costs of adaptive phenotypic plasticity among *Rana temporaria* populations. *Journal of Evolutionary Biology*, 17: 1132-1140.
- Moran, N. A.** 1992. The Evolutionary Maintenance of Alternative Phenotypes. *American Naturalist*, 139: 971-989.
- Mousseau, T. A. and Roff, D. A.** 1987. Natural-Selection and the Heritability of Fitness Components. *Heredity*, 59: 181-197.
- Nelson, C.** 2000. Shoot morphological plasticity of grasses: leaf growth vs. tillering. *Grassland Ecophysiology and Grazing Ecology*.
- Nei, M.** 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 70.
- Nei, M.** 1977. F-Statistics and Analysis of Gene Diversity in Subdivided Populations. *Annals of Human Genetics*, 41: 225-233.
- Nielsen, R.** 2005. *Molecular signatures of natural selection*.
- Oetting, W. S., Lee, H. K., Flanders, D. J., Wiesner, G. L., Sellers, T. A. & King, R. A.** 1995. Linkage analysis with multiplexed short tandem repeat polymorphisms using infrared fluorescence and M13 tailed primers. *Genomics*, 30: 450-458.
- Opsahl-Ferstad, H. G., Bjornstad, A. & Rognli, O. A.** 1994. Genetic Central of Androgenetic Response in *Lolium-Perenne* l. *Theoretical and Applied Genetics*, 89: 133-138.

- Paige, K. N. and Whitham, T. G.** 1987. Overcompensation in Response to Mammalian Herbivory - the Advantage of Being Eaten. *American Naturalist*, 129: 407-416.
- Parsons, A., Edwards, G., Newton, P., Chapman, D., Caradus, J., Rasmussen, S. & Rowarth, J.** 2011. Past lessons and future prospects: plant breeding for yield and persistence in cool-temperate pastures. *Grass and Forage Science*, 66: 153-172.
- Pflimlin, A. and Poux, X.** 2005. Biodiversity of grasslands and livestock systems in Europe. Redefining the political issues. *Integrating Efficient Grassland Farming and Biodiversity*, 10: 221-226.
- Pigliucci, M.** 2001. *Phenotypic plasticity: beyond nature and the nurture*. The John Hopkins university press.
- Pigliucci, M., Murren, C. J. & Schlichting, C. D.** 2006. Phenotypic plasticity and evolution by genetic assimilation. *Journal of Experimental Biology*, 209: 2362-2367.
- Price, T., Kirkpatrick, M. & Arnold, S. J.** 1988. Directional Selection and the Evolution of Breeding Date in Birds. *Science*, 240: 798-799.
- Price, T. D., Qvarnstrom, A. & Irwin, D. E.** 2003. The role of phenotypic plasticity in driving genetic evolution. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 270: 1433-1440.
- Price, T. D.** 2006. Phenotypic plasticity, sexual selection and the evolution of colour patterns. *Journal of Experimental Biology*, 209: 2368-2376.
- Prosperi, J. M., Guy, P. & Balfourier, F.** 1995. *Ressources genetiques des plantes fourrageres et a gazon*. BRG, Bureau des ressources génétiques.
- Przybylo, R., Sheldon, B. C. & Merila, J.** 2000. Climatic effects on breeding and morphology: evidence for phenotypic plasticity. *Journal of Animal Ecology*, 69: 395-403.
- Rautio, P., Markkola, A., Martel, J., Tuomi, J., Harma, E., Kuikka, K., Siitonen, A., Riesco, I. L. & Roitto, M.** 2002. Developmental plasticity in birch leaves: defoliation causes a shift from glandular to nonglandular trichomes. *Oikos*, 98: 437-446.
- Reed, T. E., Schindler, D. E. & Waples, R. S.** 2011. Interacting Effects of Phenotypic Plasticity and Evolution on Population Persistence in a Changing Climate. *Conservation Biology*, 25: 56-63.
- Ridley, M.** 1997. *Evolution biologique*. De Boeck Universite.
- Rieseberg, L. H., Archer, M. A. & Wayne, R. K.** 1999. Transgressive segregation, adaptation and speciation. *Heredity*, 83: 363-372.
- Rijnsdorp, A. and Witthames, P.** 2005. Ecology of reproduction. *Flatfishes: Biology and Exploitation*, 68-93.
- Roach, D. A. and Wulf, R. D.** 1987. Maternal effects in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 18: 209-235.

- Rosefricker, C. A., Meyer, W. A. & Kronstad, W. E.** 1986. Inheritance of Resistance to Stem Rust (*Puccinia-Graminis* Subsp *Graminicola*) in 6 Perennial Ryegrass (*Lolium-Perenne*) Crosses. *Plant Disease*, 70: 678-681.
- Rueffler, C., Van Dooren, T. J. M., Leimar, O. & Abrams, P. A.** 2006. Disruptive selection and then what? *Trends in Ecology & Evolution*, 21: 238-245.
- Saha, M. C., Mian, R., Zwonitzer, J. C., Chekhovskiy, K. & Hopkins, A. A.** 2005. An SSR- and AFLP-based genetic linkage map of tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.). *Theoretical and Applied Genetics*, 110: 323-336.
- Scheiner, S. and Lyman, R.** 1989. The genetics of phenotypic plasticity. I. Heritability. *Journal of Evolutionary Biology*, 2.
- Scheiner, S. M.** 1993. Genetics and Evolution of Phenotypic Plasticity. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 24: 35-68.
- Scheiner, S. M.** 2002. Selection experiments and the study of phenotypic plasticity. *Journal of Evolutionary Biology*, 15: 889-898.
- Schils, R. L. M., Vellinga, T. V. & Kraak, T.** 1999. Dry-matter yield and herbage quality of a perennial ryegrass white clover sward in a rotational grazing and cutting system. *Grass and Forage Science*, 54: 19-29.
- Schlichting, C. D.** 1986. The evolution of phenotypic plasticity in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 17: 667-693.
- Schlichting, C. D. and Smith, H.** 2002. Phenotypic plasticity: linking molecular mechanisms with evolutionary outcomes. *Evolutionary Ecology*, 16: 189-211.
- Shimizu, H., Maruoka, M., Ichikawa, N., Baruah, A. R., Uwatoko, N., Sano, Y. & Onishi, K.** 2010. Genetic control of phenotypic plasticity in Asian cultivated and wild rice in response to nutrient and density changes. *Genome*, 53: 211-223.
- Smith, J. M. and Haigh, J.** 1974. The hitch-hiking effect of a favourable gene. *Genetical Research*, 23: 23-35.
- Stam, P.** 1993. Construction of Integrated Genetic-Linkage Maps by Means of A New Computer Package - Joinmap. *Plant Journal*, 3: 739-744.
- Stearns, S. C., Kaiser, M. & Kawecki, T. J.** 1995. The Differential Genetic and Environmental Canalization of Fitness Components in *Drosophila-Melanogaster*. *Journal of Evolutionary Biology*, 8: 539-557.
- Stinchcombe, J. and Hoekstra, H.** 2008. Combining population genomics and quantitative genetics: finding the genes underlying ecologically important traits. *Heredity*, 100: 158-170.
- Stowe, K. A., Marquis, R. J., Hochwender, C. G. & Simms, E. L.** 2000. The evolutionary ecology of tolerance to consumer damage. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 31: 565-595.

- Straub, C.** 2006. Evolution génétique de prairies monovariétales de ray-grass anglais. PhD Thesis Université de Poitiers.
- Studer, B., Asp, T., Frei, U., Hentrup, S., Meally, H., Guillard, A., Barth, S., Muylle, H., Roldan-Ruiz, I., Barre, P., Koning-Boucoiran, C., Uenk-Stunnenberg, G., Dolstra, O., Skot, L., Skot, K. P., Turner, L. B., Humphreys, M. O., Kolliker, R., Roulund, N., Nielsen, K. K. & Lubberstedt, T.** 2008. Expressed sequence tag-derived microsatellite markers of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Molecular Breeding*, 21: 533-548.
- Studer, B., Kolliker, R., Muylle, H., Asp, T., Frei, U., Roldan-Ruiz, I., Barre, P., Tomaszewski, C., Meally, H., Barth, S., Skot, L., Armstead, I. P., Dolstra, O. & Luebberstedt, T.** 2010. EST-derived SSR markers used as anchor loci for the construction of a consensus linkage map in ryegrass (*Lolium* spp.). *Bmc Plant Biology*, 10.
- Sultan, S. E. and Bazzaz, F. A.** 1993. Phenotypic Plasticity in *Polygonum-Persicaria* .1. Diversity and Uniformity in Genotypic Norms of Reaction to Light. *Evolution*, 47: 1009-1031.
- Sultan, S. E.** 2000. Phenotypic plasticity for plant development, function and life history. *Trends in Plant Science*, 5: 537-542.
- Sultan, S. E. and Spencer, H. G.** 2002. Metapopulation structure favors plasticity over local adaptation. *American Naturalist*, 160: 271-283.
- Tajima, F.** 1989. Statistical-Method for Testing the Neutral Mutation Hypothesis by Dna Polymorphism. *Genetics*, 123: 585-595.
- Takayama, S. and Isogai, A.** 2005. Self-incompatibility in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 56: 467-489.
- Tetard-Jones, C., Kertesz, M. & Preziosi, R.** 2011. Quantitative trait loci mapping of phenotypic plasticity and genotype-environment interactions in plant and insect performance. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences*, 366: 1368-1379.
- Thiele, J., Jorgensen, R. B. & Hauser, T. P.** 2009. Flowering does not decrease vegetative competitiveness of *Lolium perenne*. *Basic and Applied Ecology*, 10: 340-348.
- Thomas, R. L.** 1969. Inter-population variation in perennial ryegrass. 3. Interaction of heritable and environmental variation. *Heredity*, 24: 91-100.
- 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.
- Thrall, P. H., Oakeshott, J. G., Fitt, G., Southerton, S., Burdon, J. J., Sheppard, A., Russell, R. J., Zalucki, M., Heino, M. & Denison, R.** 2011. Evolution in agriculture: the application of evolutionary approaches to the management of biotic interactions in agro-ecosystems. *Evolutionary Applications*, 4: 200-215.

- Trlica, M. J. and Rittenhouse, L. R.** 1993. Grazing and Plant Performance. *Ecological Applications*, 3: 21-23.
- Turner, L., Cairns, A., Armstead, I., Thomas, H., Humphreys, M. & Humphreys, M.** 2008. Does fructan have a functional role in physiological traits? Investigation by quantitative trait locus mapping. *New Phytologist*, 179: 765-775.
- Turner, L. R., Donaghy, D. J., Lane, P. A. & Rawnsley, R. P.** 2006. Effect of defoliation management, based on leaf stage, on perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.), prairie grass (*Bromus willdenowii* Kunth.) and cocksfoot (*Dactylis glomerata* L.) under dryland conditions. 1. Regrowth, tillering and water-soluble carbohydrate concentration. *Grass and Forage Science*, 61: 164-174.
- Valladares, F., Sanchez-Gomez, D. & Zavala, M. A.** 2006. Quantitative estimation of phenotypic plasticity: bridging the gap between the evolutionary concept and its ecological applications. *Journal of Ecology*, 94: 1103-1116.
- Vallejo-Marin, M., Dorken, M.E. & Barrett, S.C.H.** 2010. *The Ecological and Evolutionary Consequences of Clonality for Plant Mating*. ANNUAL REVIEWS, PALO ALTO.
- Van Kleunen, M. and Fischer, M.** 2005. Constraints on the evolution of adaptive phenotypic plasticity in plants. *New Phytologist*, 166.
- Van Kleunen, M. and Fischer, M.** 2007. Progress in the detection of costs of phenotypic plasticity in plants. *New Phytologist*, 176.
- Van Ooijen, J. W. and Voorrips, R. E.** JoinMap® 3.0, Software for the calculation of genetic linkage maps. Plant Research International, Wageningen, the Netherlands. 2001.
- Van Ooijen, J. W.** MapQTL® 6, Software for the Mapping of Quantitative Trait Loci in Experimental Populations. [6]. 2009.
- Van Tienderen, P. H.** 1991. Evolution of Generalists and Specialists in Spatially Heterogeneous Environments. *Evolution*, 45: 1317-1331.
- Vasemagi, A. and Primmer, C. R.** 2005. Challenges for identifying functionally important genetic variation: the promise of combining complementary research strategies. *Molecular Ecology*, 14: 3623-3642.
- Via, S.** 1993. Adaptive Phenotypic Plasticity - Target Or By-Product of Selection in A Variable Environment. *American Naturalist*, 142: 352-365.
- Volis, S.** 2009. Plasticity, its cost, and phenotypic selection under water and nutrient stress in two annual grasses. *Biological Journal of the Linnean Society*, 97: 581-593.
- Voorrips, R. E.** 2002. MapChart: Software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs. *Journal of Heredity*, 93: 77-78.
- Wainwright, J.** 2008. Can modelling enable us to understand the role of humans in landscape evolution? *Geoforum*, 39: 659-674.

- Waldron, B. L., Ehlke, N. J., Wyse, D. L. & Vellekson, D. J.** 1998. Genetic variation and predicted gain from selection for winterhardiness and turf quality in a perennial ryegrass topcross population. *Crop Science*, 38: 817-822.
- Wang, H., Inukai, Y., Kamoshita, A., Wade, L., Siopongco, J., Nguyen, H. & Yamauchi, A.** 2005. QTL analysis on plasticity in lateral root development in response to water stress in the rice plant. *Rice Is Life: Scientific Perspectives for the 21st Century. Proceedings of the World Rice Research Conference Held in Tsukuba, Japan, 4-7 November 2004*, 463-465.
- West-Eberhard, M. J.** 1989. Phenotypic Plasticity and the Origins of Diversity. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 20: 249-278.
- West-Eberhard, M. J.** 2005. Phenotypic accommodation: Adaptive innovation due to developmental plasticity. *Journal of Experimental Zoology Part B-Molecular and Developmental Evolution*, 304B: 610-618.
- Wilkins, P. W.** 1991. Breeding perennial ryegrass for agriculture. *Euphytica*, 52: 201-214.
- Wright, S.** 1965. The Interpretation of Population Structure by F-Statistics with Special Regard to Systems of Mating. *Evolution*, 19: 395-420.
- Wu, L. and Harivandi, M. A.** 1988. In search of low-maintenance turf. *California Agriculture*, 42: 16-17.
- Yamada, T., Jones, E. S., Cogan, N. O. I., Vecchies, A. C., Nomura, T., Hisano, H., Shimamoto, Y., Smith, K. F., Hayward, M. D. & Forster, J. W.** 2004. QTL analysis of morphological, developmental, and winter hardiness-associated traits in perennial ryegrass. *Crop Science*, 44: 925-935.
- Yamada, T. and Spangenberg, G.** 2008. *Molecular breeding of forage and turf: the proceedings of the 5th International Symposium on the Molecular Breeding of Forage and Turf*. Springer.
- Yang, B., Thorogood, D., Armstead, I. & Barth, S.** 2008. How far are we from unravelling self-incompatibility in grasses? *New Phytologist*, 178: 740-753.
- Zhang, X. S. and Hill, W. G.** 2007. Competition can maintain genetic but not environmental variance in the presence of stabilizing selection. *Evolution*, 61: 1532-1545.
- Zhivotovsky, L. A. and Gavrillets, S.** 1992. Quantitative Variability and Multilocus Polymorphism Under Epistatic Selection. *Theoretical Population Biology*, 42: 254-283.

Impact of phenotypic plasticity and selection on morphological and genetic evolution of populations: the case study of a perennial grass, *Lolium perenne*, under defoliation

Population adaptation to environmental pressures can result in morphological changes. These changes may result from two non-exclusive mechanisms, genetic selection and phenotypic plasticity, that can have an antagonistic effect on genetic diversity. While selection may cause a loss in genetic diversity, phenotypic plasticity may limit this loss.

Among populations that are subject to strong environmental pressures, forage species sown in grassland, are a valuable model. For example, perennial ryegrass presents a large genetic diversity and is subject to strong defoliation pressures in time.

The objective of this thesis was to identify the mechanisms involved in the adaptation of a perennial ryegrass population under defoliation and to highlight the effect of these mechanisms on the morphological and genetic evolution of this population over one generation.

In order to answer these questions, we studied, under two defoliation frequencies, a population consisting of 240 genotypes, derived from a cross between an individual of a turf variety and an individual of a forage variety. This population has been phenotyped in time for traits influenced by defoliation and their plasticity has been estimated. Moreover, the fitness of each individual has been estimated by their seed production. Selection has been measured by both the phenotypic measurements and the detection of genomic selection. QTL for traits and their plasticity have been identified and their locations have been compared to the locations of loci under selection.

We demonstrated the major role of phenotypic plasticity in the morphologic evolution of the population under defoliation during one generation. This plasticity homogenised the population morphology, thus limiting the expression of the genetic variability and maintaining a cryptic genetic diversity. But this phenotypic plasticity was variable depending on the genotype and was also dependent on the initial value of the trait. We showed a genetic basis of the traits and their plasticity. QTL explained up to 37% of the phenotypic variance for traits and about 5% of the phenotypic variance for their plasticity. Genomic selection was detected on these QTL, which led to visible and variable effects on the genetic diversity. Nevertheless, the effect of selection seemed not enough strong to be seen at the morphological level from one generation to the other. Phenotypic plasticity of traits seemed to have no effect on the fitness of individuals, which resulted to a low interaction with selection.

Our results on the adaptive effect of plasticity and the morphological effect of selection would have to be confirmed taking into account the persistency of the studied species and the particularity of the intensity of the selection pressure applied. The results of this thesis are discussed in terms of plant breeding for perennial ryegrass varieties soon in grasslands exploited under different defoliation regimes.

Keywords: Genetic variability, phenotypic plasticity, selection (biology), quantitative locus, *Lolium*

Impact de la plasticité phénotypique et de la sélection sur l'évolution morphologique et génétique des populations :

Le cas d'une graminée pérenne, *Lolium perenne*, sous défoliation

L'adaptation des populations aux pressions environnementales peut se traduire par des changements morphologiques qui peuvent résulter de deux mécanismes non exclusifs, la sélection génétique et la plasticité phénotypique, dont l'effet sur la diversité génétique peut être antagoniste. Alors que la sélection peut entraîner une chute de la diversité génétique, la plasticité phénotypique peut, limiter cette perte.

Parmi les populations soumises à de fortes pressions environnementales, les espèces prairiales semées, constituent des modèles de choix. Par exemple, le ray-grass anglais présente une diversité génétique importante et est soumis à de fortes pressions de défoliations variables au cours du temps.

L'objectif de cette thèse était d'identifier les mécanismes impliqués dans l'adaptation d'une population de ray-grass anglais soumis à la défoliation et de mettre en évidence l'effet de ces mécanismes sur l'évolution morphologique et génétique de cette population au cours d'une génération.

Nous avons étudié, sous deux rythmes de défoliation, une population, de 240 génotypes, issue d'un croisement entre un individu de variété gazon et un individu de variété fourrage. Cette population a été phénotypée au cours du temps pour les caractères répondant à la défoliation et leur plasticité a été estimée. De plus la valeur sélective des individus a été estimée par la production grainière. La sélection a été mesurée par le couplage des mesures phénotypiques et la recherche de signature génomique de la sélection. Une identification de QTL des caractères et de leur plasticité a été conduite et leurs positions comparée aux loci soumis à sélection

Nous avons pu mettre en évidence le rôle majeur de la plasticité phénotypique dans l'évolution de la morphologie au sein d'une génération soumise à une pression de défoliation. Cette plasticité a entraîné une homogénéisation morphologique de la population, limitant ainsi l'expression de la variabilité génotypique et maintenant une certaine diversité génétique cryptique. Mais cette plasticité de caractères morphologiques était variable entre individus et relativement dépendante des valeurs initiales de ces caractères. Nous avons pu mettre en évidence une base génétique de ces caractères et de leur plasticité. Les QTL identifiés expliquaient jusqu'à 37 % de la variance pour un QTL majeur et environ 5% de la variabilité de la plasticité. Nous avons détecté des signatures génomiques de la sélection sur ces régions QTL, l'action de la sélection était visible et variable sur la diversité moléculaire, mais son intensité ne semblait pas assez forte pour être visible morphologiquement d'une génération à l'autre. La plasticité phénotypique des caractères étudiés ne paraissait pas impacter la valeur sélective des individus et en ce sens, peu interagir avec le processus de sélection.

Nos résultats concernant le caractère adaptatif de la plasticité et l'effet morphologique de la sélection, restent à confirmer en regard de la pérennité de l'espèce et de l'intensité de la pression de sélection exercée. Les résultats de cette thèse permettent d'entrevoir des perspectives en termes d'amélioration génétique du ray-grass anglais pour les prairies exploitées sous différents modes de défoliation.

Mots clés : Variabilité génétique, plasticité phénotypique, sélection (biologie), locus quantitatif, *Lolium*