

Évolution réticulée et spéciation allopolyploïde chez les plantes : les enseignements des spartines

Malika AINOUCHE

Résumé

L'évolution réticulée (qui résulte de l'hybridation interspécifique) et la polyploïdie (qui résulte de la duplication du génome entier) sont aujourd'hui reconnues comme des processus majeurs de l'évolution des espèces, augmentant de façon significative la diversité à différents niveaux (moléculaire, phénotypique et spécifique) et l'adaptation. Le genre *Spartina* (plantes vivaces de la famille des Poaceae, colonisant les marais salés) illustre particulièrement la fréquence de ces phénomènes : toutes les espèces actuelles sont polyploïdes (de tétraploïdes à dodécaploïdes) et les hybridations interspécifiques y sont récurrentes. Ce genre contient notamment un cas classique de spéciation par allopolyploïdie (duplication du génome d'un hybride interspécifique) récente (XIX^e siècle) ayant conduit à la formation, à partir de parents hexaploïdes, d'une nouvelle espèce vigoureuse et envahissante dans l'ouest de l'Europe, *Spartina anglica* (dodécaploïde), qui est aujourd'hui introduite sur plusieurs continents où son expansion a des conséquences écologiques importantes. Les spartines représentent donc un excellent modèle pour appréhender les mécanismes évolutifs accompagnant la formation d'une nouvelle espèce en conditions naturelles, et pour examiner les conséquences de l'hybridation et de la redondance génétique (superposition de plusieurs niveaux de ploïdie). Ces mécanismes peuvent être à présent explorés à la lumière des approches récentes de génomique, dont les résultats et perspectives sont présentés ici.

Mots clés : spéciation allopolyploïde, hybridation, évolution du génome, *Spartina*.

Abstract

Reticulate evolution (resulting from interspecific hybridization) and polyploidy (resulting from whole genome duplication) are now recognized as major evolutionary processes, generating biodiversity and adaptation.

This is particularly well illustrated in genus *Spartina* which is composed of perennial plants (Poaceae family) colonizing salt-marshes: all species recorded to date are polyploids (ranging from tetraploids to dodecaploids), and hybridization is recurrent between species.

This genus contains a classic example of recent allopolyploid speciation (resulting from duplication of a hybrid genome), namely the new allo-dodecaploid, vigorous invasive species *Spartina anglica* that formed during the 19th century in western Europe, following hybridization between hexaploid species and that is now introduced in several continents.

Spartina then represents an excellent model system to explore the evolutionary mechanisms accompanying the formation of a new species in natural conditions and to analyse the consequences of interspecific hybridization and genetic redundancy (resulting from the superimposition of several genomes at the dodecaploid level).

These mechanisms are now being examined in the light of recent genomic approaches. The contribution of these approaches and perspectives are presented in this paper.

Keywords: allopolyploid speciation, hybridization, genome evolution, *Spartina*.

L'évolution réticulée (résultant de l'hybridation interspécifique), traditionnellement considérée comme anecdotique, voire « mal-adaptative » est aujourd'hui reconnue comme un processus courant de l'évolution des eucaryotes, source de diversité génétique et/ou de formation de nouvelles espèces (Arnold 2006). Si la définition biologique de l'espèce¹ (par mise en place d'isolement reproductif) reste le concept évolutif le mieux accepté dans la mesure où il donne à l'espèce une signification naturelle et non arbitraire, la fréquence de l'évolution réticulée, révélée par les analyses génétiques de plus en plus nombreuses dans les populations animales et végétales, impose une vision plus nuancée et plus complexe de l'évolution du vivant. La fertilité plus ou moins réduite des hybrides est le plus souvent restaurée par la duplication du génome (ou polyploïdie), qui conduit à la présence de plus de deux jeux de chromosomes homologues dans le noyau. La polyploïdie est notamment l'un des mécanismes prépondérants de formation de nouvelles espèces chez les plantes.

Il existe plusieurs voies par lesquelles le nombre de chromosomes peut doubler, dans les cellules somatiques² ou dans les cellules germinales, les gamètes (Ramsey & Schemske 1998). Ce dernier cas, où la duplication génomique est transmise aux générations suivantes, résulte le plus souvent de la formation de gamètes dont le nombre de chromosomes n'est pas réduit de moitié comme dans le cas général au cours de la méiose (figure 1). La fertilité étant généralement plus élevée entre plantes de même nombre chromosomique, il se crée de fait un isolement entre les plantes polyploïdes nouvellement formées et leurs parents diploïdes, ce qui conduit à l'évolution indépendante d'une nouvelle lignée, et donc la formation d'une nouvelle espèce. Ceci est notamment facilité par les possibilités d'autofécondation, fréquentes chez les plantes. Par comparaison avec d'autres modes de spéciation qui font intervenir une séparation géographique (spéciation dite « allopatrique ») et/ou écologique de populations, suivies d'une divergence génétique sur une longue période de temps, la spéciation par polyploïdie s'effectue en quelques générations et peut être considérée comme une spéciation « quasi instantanée » à l'échelle du temps évolutif. La duplication du génome peut intervenir au sein de la même espèce (figure 1B), il se forme alors un génome dit « autopolyploïde » constitué de plusieurs jeux de chromosomes homologues (quatre par exemple chez un autotétraploïde) comme chez la luzerne (*Medicago sativa*, $2n = 32$),

1. Voir l'article de Myriam Harry, p. 51.

2. Dans un organisme pluricellulaire, les cellules somatiques assurent les fonctions végétatives et ne participent pas directement à la reproduction sexuée, au contraire des cellules germinales.

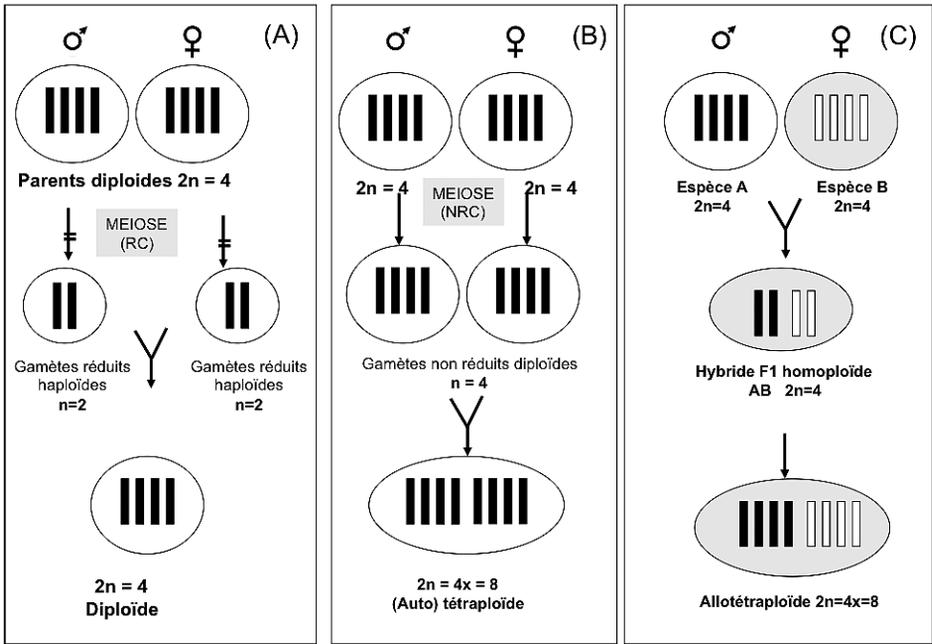


Figure 1 :
Transmission des chromosomes au cours de la méiose

- Méiose normale avec réduction de moitié du nombre de chromosomes (RC). L'union de gamètes réduits haploïdes redonne un œuf diploïde.
- Formation et union de gamètes non réduits (NRC) diploïdes de la même espèce et formation d'un autotétraploïde
- Formation d'un hybride interspécifique de même nombre chromosomique que ses parents (homoploïde) et duplication du génome de l'hybride formant un allotétraploïde qui contient deux lots de chromosomes (noirs et blancs) homéologues (provenant de deux espèces différentes). Le fond gris indique le parent maternel (espèce B).

issue de plantes diploïdes à $2n = 16$. La présence de nombres chromosomiques correspondant à des multiples d'un même nombre chez des espèces voisines, conduit à identifier un nombre de chromosomes « de base, x » haploïde (dans le cas de la luzerne, $x = 8$) qui sera présent en deux lots de chromosomes homologues de même morphologie et portant les mêmes gènes, qui s'apparieront et pourront se recombiner lors de la méiose. La duplication du génome qui intervient chez un hybride interspécifique (dans le cas d'évolution réticulée), forme un génome dit « allopolyploïde » (figure 1C) qui contient deux (chez un allotétraploïde) ou plus génomes « homéologues », plus ou moins divergents, ayant préalablement évolué de façon indépendante chez les espèces parentales. La duplication du génome de l'hybride, plus ou moins stérile, permet de

restaurer la fertilité chez l'allopolyploïde au sein duquel les appariements entre chromosomes homologues peuvent se faire normalement au cours de la méiose. On connaît ainsi de nombreux exemples (en particulier chez les plantes cultivées dont la génétique est bien explorée) d'allopolyploïdes : le Blé dur *Triticum durum* ($2n = 4x = 28$), le Coton *Gossypium hirsutum* ($2n = 4x = 56$), le Colza *Brassica napus* ($2n = 4x = 38$) sont allotétraploïdes.

S'il est assez aisé de distinguer les autopolyploïdes des allopolyploïdes lorsqu'ils sont relativement « jeunes » (jusqu'à quelques millions d'années après leur formation) en raison de différences phénotypiques (détection de la nature hybride à partir de la morphologie par exemple), cytologiques (caryotypes, comportement des chromosomes à la méiose) ou génétiques (mode d'hérédité, présence ou non de gènes homéologues divergents), cette distinction s'estompe pour les polyplôïdes plus anciens et la nature de la polyplôïdie devient plus difficile à établir. De plus, au cours du temps, les polyplôïdes se « diploïdisent » au plan cytologique (leur méiose devient semblable à celle des diploïdes), génétique (les gènes dupliqués par polyplôïdie peuvent être perdus et revenir à l'état de paires de simples copies homologues) et génomique (les caryotypes peuvent se restructurer, et la taille globale du génome se compacter). Il a fallu attendre le séquençage intégral des génomes eucaryotes, qui s'est développé dans la dernière décennie, pour détecter les traces anciennes de polyplôïdie (paléopolyploïdie). Par exemple, l'Arabette *Arabidopsis thaliana*, plante « diploïde » ($2n = 10$), devenue plante modèle en génétique végétale, a été la première angiosperme pour laquelle le génome (relativement petit, 157 MB³) a été séquençé (*Arabidopsis* Genome Initiative 2000). La présence de blocs de gènes anciennement tripliqués (« paléologues ») a permis de montrer que ce génome a subi au moins trois événements de polyplôïdisation ancienne (désignés sous les termes de duplication « alpha », « bêta » et « gamma »), dont la plus récente (alpha) est estimée entre 24 et 40 millions d'années (désormais MA) (Henry *et al.* 2006), et que cette espèce aujourd'hui diploïde est en réalité paléopolyploïde. Le séquençage d'un nombre croissant de génomes végétaux a permis de positionner de nombreux événements de paléopolyploïdisation ayant affecté de façon récurrente l'histoire de la plupart des lignées, depuis l'origine des angiospermes, voire des plantes à graines (Jiao *et al.* 2011).

3. La taille du génome d'un organisme est mesurée par le nombre de paires de nucléotides constituant l'ensemble des molécules d'ADN présentes dans un noyau cellulaire. Le constituant essentiel des nucléotides étant une base azotée, on exprime le résultat en nombre de paires de bases ; 1 MB = 10⁶ paires de bases.

La duplication du génome tout entier a des conséquences importantes du point de vue génétique (évolution de la structure et du fonctionnement des gènes, passée en revue par Wendel 2000 et Chen 2007), phénotypique et adaptatif (voir par exemple Fawcett *et al.* 2009), qui font l'objet d'un intérêt particulier de la communauté scientifique ces dernières années (Ainouche & Jenczewski 2010, numéro spécial de la revue *New Phytologist* consacré à la polypléidie). L'analyse de nouvelles espèces polypléides récemment formées fournit une opportunité particulière d'appréhender ces conséquences et leur signification évolutive. Nous présentons ci-dessous l'apport du modèle *Spartina* à la compréhension des mécanismes évolutifs qui accompagnent la formation d'une nouvelle espèce allopolyploïde.

Histoire évolutive du genre *Spartina*: hybridations et polypléidie récurrentes

Les spartines sont des plantes vivaces de la famille des poacées, colonisant essentiellement les marais salés littoraux, et appartenant à la sous-famille des *Chloridoideae*. Cette lignée aurait divergé il y a environ 40 MA de la sous-famille des *Panicoideae* (contenant le sorgho et le maïs) et environ 50 MA des sous-familles des *Erhartoideae* contenant le riz et des *Pooideae* contenant le blé. À ce jour, trois génomes ont été entièrement séquencés – ceux du riz, du sorgho et du brachypode (proche du blé) – et plusieurs autres génomes sont en cours de séquençage, ce qui représente un défi méthodologique particulier en raison de la taille importante des génomes de ces espèces (notamment pour le maïs 2 500 MB ou le blé 16 000 MB) contenant une part importante de séquences répétées difficiles à assembler et annoter. Les génomes de *Poaceae* séquencés ont également révélé des événements de paléopolypléidisation intervenus avant la diversification des *Poaceae* (Tang *et al.* 2010). Cette famille est particulièrement marquée par la récurrence de la polypléidie qui continue d'affecter la plupart des lignées (on compte plus de 80 % d'espèces polypléides « récentes » détectables par leur nombre chromosomique).

Le genre *Spartina* est constitué d'une quinzaine d'espèces, toutes polypléides, avec un nombre de base haploïde $x = 10$. On ne connaît pas d'espèce diploïde à $2n = 20$. Le genre a évolué en deux lignées principales (Baumel *et al.* 2002a, Ainouche *et al.* 2004a), tétraploïde ($2n = 4x = 40$) et hexaploïde ($2n = 6x = 60$ ou 62) et s'est essentiellement diversifié sur le continent américain. La divergence entre ces deux lignées, estimée

à partir de données moléculaires, est inférieure à 6 MA (Christin *et al.* 2008). Différents niveaux de ploïdie (pentaploïde à dodécaploïde) résultent d'hybridation et polyploïdisation plus récentes impliquant ces deux lignées (Ainouche *et al.* 2009, 2012). Les espèces tétraploïdes sont distribuées sur les côtes ou marais intérieurs d'Amérique du Nord ou du Sud. La lignée hexaploïde (figure 2) est formée de trois espèces : *Spartina alterniflora*, *S. foliosa* et *S. matitima*. *Spartina alterniflora* est native des côtes atlantiques américaines, et distribuée du Canada à l'Argentine ; cette espèce est aujourd'hui introduite sur plusieurs continents où elle est impliquée dans plusieurs cas d'invasion biologique et d'hybridation avec les espèces locales. *Spartina foliosa* est une espèce endémique des côtes californiennes du Pacifique peu différenciée génétiquement de *S. alterniflora* dont elle est phylogénétiquement l'espèce sœur (figure 2).

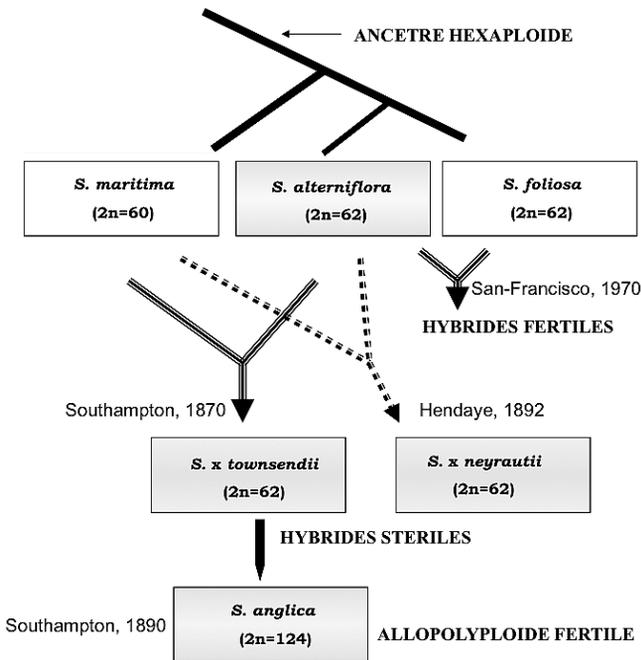


Figure 2 :
Évolution réticulée (hybridations interspécifiques) récente impliquant les espèces hexaploïdes de spartines et origine de la nouvelle espèce allopolyploïde *Spartina anglica* à la fin du XIX^e siècle

Les hybrides et allopolyploïdes européens ont hérité du génome chloroplastique (à transmission maternelle) de *S. alterniflora*. Les nombres chromosomiques sont ceux rapportés par Marchant (1968), qui observa une variation des nombres de chromosomes pour *S. anglica* ($2n = 120, 122, 124$).

L'introduction dans les années 1970 de *S. alterniflora* en Californie et son hybridation avec *S. foliosa* ont permis la formation d'hybrides vigoureux, fertiles et envahissants qui menacent l'intégrité génétique de l'espèce native (Ayres *et al.* 1999) et suscitent un programme de gestion et d'éradication des populations envahissantes⁴. *Spartina maritima* était jusqu'au début du XIX^e siècle, la seule espèce native des côtes atlantiques euro-africaines. L'introduction accidentelle (par ballast de navires) de *S. alterniflora* dans l'ouest de l'Europe a eu pour conséquence la formation indépendante de deux hybrides (issus du croisement entre *S. alterniflora* et *S. maritima*) dans le sud-ouest de la France (*S. x neyrautii*) et dans le sud de l'Angleterre (*S. x townsendii*) (figure 2). Ces deux hybrides stériles continuent à se maintenir par voie végétative sur les lieux de l'hybridation. Bien qu'étant formés à partir des mêmes parents maternel (*S. alterniflora*) et paternel (*S. maritima*) de constitution génétique très proche (Baumel *et al.* 2003), ces deux hybrides présentent une morphologie très différente. En Angleterre, la duplication du génome de *S. x townsendii* a permis la formation de plantes fertiles, et vigoureuses, nommées *S. anglica* (allododécaploïde) observées à partir de 1892, et qui se sont rapidement propagées dans les marais salés ouest-européens. La Spartine anglaise joue un rôle déterminant dans la dynamique sédimentaire des marais salés et modifie profondément son habitat (Thompson 1991), ce qui lui vaut le qualificatif d'« ingénieur d'écosystème ». Elle peut supporter plusieurs heures d'immersion dans l'eau salée à marée haute, et occuper de ce fait une niche vacante en position pionnière dans le bas du schorre⁵. En accélérant les processus d'atterrissement (ses racines et rhizomes vigoureux fixent les sédiments), elle permet l'installation d'espèces moins tolérantes à la salinité. Cette dynamique tend à terme à contrôler son expansion au long de la succession végétale. Elle a été de ce fait introduite délibérément sur différents continents (Europe du Nord, Australie, Chine, Amérique) pour stabiliser les berges, restaurer des marais ou créer des polders; ces introductions ont été suivies d'expansion rapide aux conséquences écologiques multiples, suscitant aujourd'hui des programmes de contrôle ou d'éradication (Triplet & Gallicé 2008).

Au moment où la protection de la biodiversité devient un enjeu planétaire, le cas de la Spartine anglaise représente un exemple fascinant de naissance et d'expansion rapide d'une espèce. L'intérêt qu'elle a suscité

4. <<http://www.spartina.org>>.

5. Le schorre, encore appelé herbu ou pré-salé, est une formation herbacée qui s'installe en limite supérieure des vasières littorales (slikke). Il n'est recouvert par la mer qu'aux marées de vive-eau.

depuis sa formation, auprès des botanistes, des écologistes et, plus récemment, des généticiens de l'évolution, s'est traduit par une abondante littérature concernant les conséquences écologiques de sa progression, les stratégies appropriées de la gestion des populations envahissantes et la compréhension des mécanismes biologiques à l'origine du succès de cette espèce (Ainouche *et al.* 2009). L'originalité de ce modèle tient au fait que le mode de formation, la génétique et l'expansion des populations sont à présent bien connus et ont pu être suivis à une échelle de perception humaine, et, surtout, que son histoire illustre, sur une courte période de temps évolutif, un processus en réalité universel : celui de la formation et de l'évolution d'une espèce. La superposition relativement récente de plusieurs génomes différenciés (à travers l'allopolyploïdie) et la dynamique qui en résulte sont parmi les processus qui sont considérés comme jouant un rôle déterminant dans le succès écologique de cette espèce (Ainouche *et al.* 2004b).

Conséquences génomiques de l'hybridation et de la polyplôïdie chez les spartines

L'hybridation interspécifique met en contact au sein d'un même noyau les génomes des espèces parentales. Cette réunion, considérée comme un « choc génomique », engendre une dynamique particulière : par exemple, des réseaux de régulation de l'expression des gènes, ayant préalablement fonctionné de façon indépendante au sein des parents sont amenés à coexister chez l'hybride. L'expression d'éléments transposables, séquences mobiles constituant une part importante des génomes eucaryotes (et particulièrement des plantes) peut être activée et affecter la structure (en cas de transposition) ou l'expression (en cas d'insertion près des gènes) du génome hybride. Lorsque l'hybridation est suivie de duplication génomique (allopolyploïdie), la duplication simultanée de l'ensemble des gènes a pour conséquence une redondance d'information génétique, source de plasticité fonctionnelle et phénotypique, et donc potentiellement, de nouvelles capacités adaptatives.

Le modèle *Spartina* nous permet d'étudier les conséquences de la polyplôïdie à différentes échelles de temps évolutif : chez les parents hexaploïdes (*S. alterniflora* et *S. maritima*) et chez leurs descendants hybrides (*S. x townsendii*, *S. x neyrautii*) et allododécaploïde (*S. anglica*) récemment formés.

Spartina maritima et *S. alterniflora* ont divergé de part et d'autre de l'océan Atlantique à partir d'un ancêtre commun hexaploïde ($2n = 60$)

au cours des trois derniers millions d'années (S. Bellot & M. Ainouche, données non publiées) ; cette divergence s'est accompagnée d'une évolution de la taille globale du génome, avec 3,8 picogrammes (pg, soit 3 700 MB) chez *S. maritima* et 4,3 pg (soit 4 200 MB) chez *S. alterniflora* (Fortuné *et al.* 2008) et d'une aneuploïdie⁶ ($2n = 60 + 2$) chez *S. alterniflora*, tandis que *S. maritima* a conservé $2n = 60$ chromosomes (Marchant *et al.* 1968). Si chaque gène est potentiellement présent en six copies (trois paires dupliquées) chez ces espèces hexaploïdes, on a pu montrer une rétention différentielle des copies au cours de leur évolution. Par exemple, une seule paire de copies a été trouvée chez *S. maritima* pour le gène *Waxy* codant l'amidon synthase, tandis que trois paires de copies de séquences différentes sont encore présentes chez *S. alterniflora* (Fortuné *et al.* 2007). La perte de copies de gènes dupliqués (et donc redondants) illustre un des aspects du processus de diploïdisation qui affecte l'évolution à long terme des génomes polyploïdes. Ce retour à l'état de simple copie ne se fait pas de façon aléatoire, il semble dépendre de la catégorie fonctionnelle des gènes, comme cela a été montré pour le génome paléopolyploïde d'*Arabidopsis thaliana* (Blanc *et al.* 2004). Si la divergence entre *S. maritima* et *S. alterniflora* reste relativement modérée au niveau des séquences nucléotidiques codantes (en moyenne plus de 98 % d'identité, Chelaifa *et al.* 2010a), ces deux espèces montrent plus de 12 % de gènes différentiellement exprimés (sur environ 11 000 gènes examinés) dans les feuilles lorsqu'elles sont maintenues en mêmes conditions de culture (Chelaifa *et al.* 2010a). Les gènes de croissance et développement cellulaire apparaissent surexprimés chez *S. alterniflora*, tandis que les gènes impliqués dans les réactions au stress apparaissent surexprimés chez *S. maritima*. Il est tentant de mettre en relation ces différences d'expression avec la divergence phénotypique (morphologique, physiologique et écologique) entre ces deux espèces. *Spartina alterniflora* est une plante de grande taille, pouvant atteindre 1,5 mètre de haut, aux longues feuilles souples retombant autour d'axes portant un plus grand nombre d'inflorescences, et présentant de longs rhizomes. Cette espèce est aujourd'hui introduite en dehors de son aire d'origine dans plusieurs régions du globe où elle se montre envahissante (notamment en Californie et en Chine). *S. maritima* est actuellement en régression sur les côtes européennes. Il s'agit d'une plante plus petite (< 40 cm) aux feuilles courtes, étroites et dressées, dépourvue de rhizomes, et qui présente de ce fait une extension

6. Aneuploïdie : présence de chromosomes en plus ou en moins par rapport au nombre le plus commun.

latérale des touffes beaucoup plus lente. La surexpression des gènes de stress en conditions de culture expérimentale (différentes des conditions naturelles) laisserait supposer que cette espèce serait plus sensible aux changements environnementaux (Chelaifa *et al.* 2010a). Les gènes impliqués dans le transport ionique, surexprimés chez *S. alterniflora*, pourraient être mis en relation avec la plus large amplitude écologique de cette espèce qui tolère les eaux salées à saumâtres en remontant le long des estuaires. L'analyse comparative de l'expression des gènes⁷ chez ces deux espèces en différentes conditions naturelles, reste toutefois à explorer afin d'affiner ces hypothèses. À ce jour, il existe peu d'études (en particulier chez les plantes) où on a pu évaluer l'évolution de l'expression globale des gènes, en relation avec la divergence génétique et phénotypique à plus ou moins long terme au cours de la spéciation.

Cette évolution peut être mesurée à plus court terme suite à l'hybridation (chez *S. x townsendii* et *S. x neyrautii*) et à l'allopolyploïdie (chez *S. anglica*) par comparaison avec leurs parents *S. maritima* et *S. alterniflora*.

La formation d'allopolyploïdes dans les populations naturelles se fait souvent de façon récurrente, suite à plusieurs événements d'hybridation pouvant faire intervenir des génotypes parentaux différents, ce qui augmente la diversité génétique interindividuelle des populations hybrides et allopolyploïdes (Soltis & Soltis 1999). Toutefois, il semble qu'une « origine unique » ait présidé à la formation de *S. anglica*, en raison (1) de la très faible variation génétique entre les individus de *S. anglica* dans toutes les populations de l'aire de distribution analysées à ce jour (Raybould *et al.* 1991, Baumel *et al.* 2001, 2002b, Ainouche *et al.* 2004b) et (2) de la faible diversité génétique au sein des populations (*S. alterniflora* et *S. maritima*) sur les sites d'hybridation (Yannic *et al.* 2004, Baumel *et al.* 2003), ce qui indique que même si plusieurs événements d'hybridation se produisaient sur ces sites, ils impliqueraient des génotypes

7. Il existe aujourd'hui plusieurs méthodes pour analyser l'expression des gènes d'une cellule ou d'un tissu. Il est possible de mesurer de façon relative l'expression d'un gène particulier par une méthode quantitative d'amplification (ou PCR – Quantitative) d'ADN complémentaire synthétisé à partir d'ARN messenger (résultat de la transcription des gènes). Les puces à ADN (en anglais « *microarrays* ») permettent d'examiner les niveaux d'expression de milliers de gènes simultanément, en hybridant l'ADN complémentaire de l'organisme d'intérêt sur une lame (« puce ») sur laquelle sont déposés des milliers de sondes (fragments d'ADN correspondant à des gènes connus). Cette technique nécessite la connaissance préalable du génome de l'organisme étudié, sur la base duquel les sondes sont conçues. Enfin, les techniques récentes de séquençage massif permettent de séquencer directement le transcriptome (ensemble des gènes transcrits); la profondeur de séquençage (nombre de fois où la séquence est « lue ») est telle qu'il est possible d'établir une corrélation entre la fréquence des transcrits d'un gène donné et son niveau d'expression. Cette méthode peut être utilisée chez tous les organismes, y compris ceux dont le génome n'était pas connu antérieurement. La masse d'information générée (millions de séquences à analyser) requiert un travail important en bio-informatique et statistique.

similaires, ce qui explique la très forte uniformité génétique (accentuée par la multiplication végétative importante) que l'on observe dans les populations de *S. anglica*. Cette uniformité contraste toutefois avec la forte plasticité phénotypique de cette espèce, se traduisant par une variation morphologique notable dans les populations naturelles (Thompson 1991). Cette variation s'avère organisée en fonction des stades successionnels de la végétation sur les marais salés, les individus en situation pionnière présentant un appareil végétatif et des inflorescences plus réduites que ceux des populations « matures » (Thompson *et al.* 1991a). Une série de travaux fondés sur le maintien de plantes en cultures expérimentales, sur des transplantations réciproques et des mesures de valeur adaptative en conditions contrôlées (Thompson *et al.* 1991a, 1991b, 1991c) ont permis de montrer que l'essentiel de cette variation résultait de plasticité plutôt que de différenciation génétique affectant les traits morphologiques.

La plasticité et le succès écologique de *S. anglica* sont à mettre en relation avec la nature hybride (donc fortement hétérozygote) et hautement dupliquée (donc redondante) au niveau dodécaploïde (figure 3).

LE GENOME DE SPARTINA ANGLICA

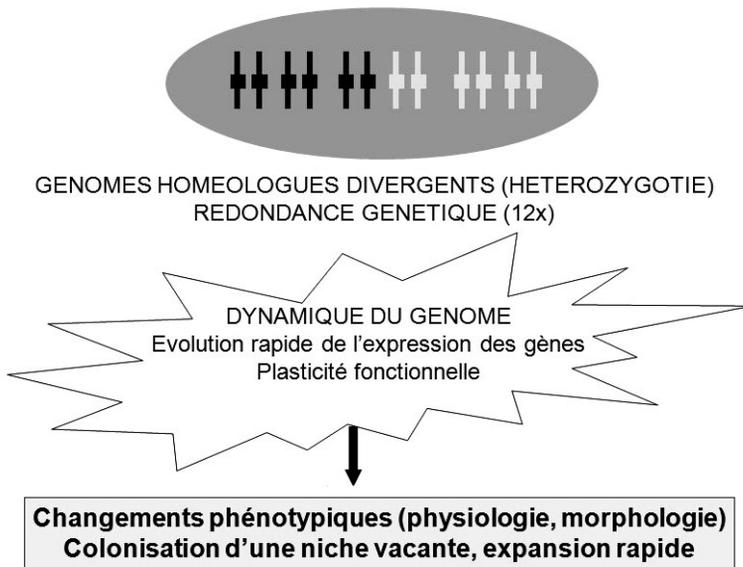


Figure 3 :

Conséquences de la nature hybride et hautement polypléide (12x) du génome de la nouvelle espèce *Spartina anglica* qui a rapidement colonisé les marais salés

La réunion des deux génomes différenciés de *S. maritima* et *S. alterniflora* s'avère avoir un effet important sur les deux hybrides *S. x townsendii* et *S. x neyrautii* formés respectivement en Angleterre et en France, et très différents morphologiquement : le premier présente une morphologie intermédiaire entre les deux espèces parentales, tandis que le second est nettement plus similaire à *S. alterniflora*, parent maternel des deux hybrides qui en ont acquis le génome chloroplastique (Baumel *et al.* 2003). L'hybride anglais (*S. x townsendii*) forme encore une large population d'individus stériles, mais vigoureux et se maintenant par voie végétative sur le site original d'hybridation (Hythe, dans la baie de Southampton), en mélange avec les individus fertiles de *S. anglica* (Renny-Byfield *et al.* 2010). En revanche, au Pays basque, le site initial d'hybridation (estuaire de la Bidassoa) ayant été particulièrement remanié par l'urbanisation (construction de l'aéroport de San Sebastian sur la rive espagnole), seuls quelques individus de *S. x neyrautii* survivent près d'Hendaye (Baumel *et al.* 2003). Chez les deux hybrides, d'importants changements de la méthylation de l'ADN ont été détectés (Salmon *et al.* 2005). La méthylation de l'ADN est connue pour son rôle dans la régulation épigénétique de l'expression des gènes (qui induit des variations héritables de l'expression sans changement dans la séquence du gène concerné). L'allopolyploïde *S. anglica* a hérité des altérations de la méthylation de *S. x townsendii*, sans que la duplication du génome chez cette espèce engendre de nouveaux changements de méthylation. Ce sont les régions voisines des éléments transposables qui paraissent essentiellement la cible de ces changements de méthylation suite à l'hybridation chez les spartines, confirmant le rôle particulier de ces séquences dans la dynamique du génome (Parisod *et al.* 2009). La proportion exacte des éléments transposables dans le génome des spartines n'est pas connue. Une première estimation a pu être récemment effectuée chez *Spartina maritima* en utilisant les nouvelles techniques de séquençage à haut débit (pyroséquençage Roche-454) d'ADN génomique. Sur environ 450 MB séquencées, 27 % ont été identifiées comme correspondant à des séquences répétées contenant en majorité des rétro-éléments (éléments transposables se multipliant selon une mode « copier-coller » dans le génome) de la catégorie des éléments « Gypsy » (J. Ferreira, J. Macas & M. Ainouche, données non publiées).

Dans le cas d'une absence d'évolution de l'expression des gènes suite à la spéciation allopolyploïde, on attendrait chez la nouvelle espèce une addition des niveaux d'expression des gènes observés chez les parents (hypothèse nulle « d'additivité parentale »). Or, l'analyse comparative

de l'expression des gènes indique que les deux hybrides présentent environ 6 % de gènes différentiellement exprimés par rapport à la moyenne attendue des profils d'expression des gènes parentaux dans le cas d'une absence d'évolution (Chelaifa *et al.* 2010b). Parmi ces gènes, on distingue ceux qui s'expriment de façon similaire à l'un des deux parents (« dominance d'expression » parentale), et ceux qui s'expriment de façon extrême (« transgressive »), surexprimés ou sous-exprimés par rapport à la moyenne d'expression parentale, indiquant un effet « transgressif ». Il est à noter que la dominance d'expression maternelle (profils d'expression des gènes similaires à ceux de *S. alterniflora*) est nettement plus marquée chez *S. x townsendii* que chez *S. x neyrautii*. De plus, les gènes à expression transgressive s'avèrent pour la plupart différents chez les deux hybrides : il s'agit essentiellement de gènes impliqués dans les fonctions de transport cellulaire, de détoxification et de réaction au stress, surexprimés chez *S. x townsendii*, tandis que les gènes surexprimés chez *S. x neyrautii* concernent le développement et la croissance cellulaire (Chelaifa *et al.* 2010b). Les gènes différentiellement exprimés entre ces deux hybrides représentent 8,7 % des 11 000 gènes analysés. La duplication du génome chez *S. anglica* entraîne une proportion supplémentaire (4 %) de changements d'expression des gènes par rapport à son parent hybride *S. x townsendii*. Ces changements consistent, d'une part, en une atténuation de la dominance d'expression maternelle qui était observée chez *S. x townsendii*, d'autre part, en l'augmentation du nombre de gènes surexprimés. Si on considère que la proportion des gènes différentiellement exprimés entre les espèces parentales *S. maritima* et *S. alterniflora* (12 %) est le fruit de leur évolution indépendante suite à leur séparation depuis leur ancêtre commun dans les trois derniers millions d'années, on peut constater que la spéciation allopolyploïde a entraîné en quelques générations une évolution rapide, presque aussi importante, des profils d'expression des gènes, à mettre en relation avec les traits de la nouvelle espèce allododécaploïde. Au plan phénotypique, *S. anglica* présente des caractéristiques, par ailleurs bien connues, de l'effet de la polyploïdie : accroissement de la taille cellulaire, des stomates, et du pollen ; forte fertilité et production de semences. Il a été montré que *S. anglica* présentait une activité physiologique de transport de dioxygène et de détoxification des sédiments pollués cinq fois supérieure à celle de son espèce parentale (*S. alterniflora*), ce qui en fait un excellent candidat pour les programmes de phytoremédiation (Lee 2003). Cette tolérance particulière aux conditions réductrices et riches en sulfite des sédiments permettrait l'occupation d'une niche vacante en situation

pionnière (Maricle *et al.* 2006). L'existence de plusieurs copies de gènes à chaque locus augmente sans nul doute la flexibilité fonctionnelle du génome chez cette espèce. En effet, il faut signaler que l'évaluation de l'expression des gènes mentionnée ci-dessus sous-estime en réalité les changements évolutifs pouvant intervenir chez *S. anglica*. En effet, seule l'expression globale des gènes a été comparée, sans distinction des variations potentielles d'expression de chaque copie de gène dupliqué homéologue, puisque les espèces parentales hexaploïdes possèdent déjà jusqu'à trois paires de gènes dupliqués par locus, tandis que l'allododécaploïde *S. anglica* contient les deux génomes (homéologues) dupliqués, soit jusqu'à six paires de copies de gènes par locus. Ces différentes copies peuvent continuer à s'exprimer de la même façon que chez les parents, mais elles peuvent aussi subir une régulation qui les conduit à s'exprimer de façon différentielle dans différents organes ou à différents stades de développement, chaque copie étant alternativement surexprimée, sous-exprimée ou mise sous silence, aboutissant à une partition de l'activité des gènes appelée « sous-fonctionnalisation ». Cette évolution de l'expression des gènes dans le contexte de la spéciation allopolyploïde a été particulièrement bien étudiée chez le coton allotétraploïde (Adams *et al.* 2003 ; Flagel & Wendel 2010). Chez *S. anglica*, l'identification de chaque copie parentale est plus complexe si l'on considère le niveau de ploïdie, mais elle devrait être possible dans un proche avenir grâce aux nouvelles techniques de séquençage parallèle en masse du transcriptome (Wang *et al.* 2009) et le développement d'outils bioinformatiques associés.

Conclusion

Les spartines illustrent de façon particulière l'importance évolutive des hybridations interspécifiques et de la polyploïdie comme sources majeures de biodiversité, d'innovations biologiques et d'adaptation. La formation récente de *S. anglica* permet de comprendre les mécanismes associés à la formation et l'expansion d'une nouvelle espèce allopolyploïde, jouant un rôle écologique important. Les analyses génétiques et génomiques effectuées ces dernières années sur ce modèle soulignent le rôle moteur de l'hybridation interspécifique qui engendre une dynamique particulière au niveau de la régulation de l'expression des gènes. Cette dynamique se traduit par des effets multiples, aboutissant à des phénotypes très différents, comme c'est le cas chez *S. x townsendii* et *S. x neyrautii* formés de façon indépendante à partir des mêmes

espèces parentales. Le génome hybride et fortement dupliqué (au niveau dodécaploïde) de *S. anglica* lui confère une plasticité de fonctionnement pouvant expliquer son succès écologique. Les progrès rapides de la génomique (et des technologies associées) devraient permettre dans un proche avenir, d'explorer de façon plus exhaustive la structure et le fonctionnement (expression, régulation épigénétique) de génomes complexes comme ceux des spartines dans les populations naturelles, et de préciser les liens entre évolution du génome et phénotypes au cours de la spéciation.

Bibliographie

- ADAMS K.L., CRONN R., PERCIFIELD R. & WENDEL J.F. (2003). Genes duplicated by polyploidy show unequal contributions to the transcriptome and organ-specific reciprocal silencing. *PNAS* **100**, 4649-4654.
- AINOUCHE M.L. & JENCZEWSKI E. (2010). Focus on polyploidy. *New Phytologist* **186**, 1-4.
- AINOUCHE M.L., BAUMEL A., SALMON A. & YANNIC G. (2004a). Hybridization, polyploidy and speciation in *Spartina* (Poaceae). *New Phytologist* **161**, 165-172.
- AINOUCHE M.L., BAUMEL A. & SALMON A. (2004b). *Spartina anglica*: a natural model system for analysing early evolutionary changes that affect allopolyploid genomes. *Biol. J. Linn. Soc.* **82**, 475-484.
- AINOUCHE M.L., FORTUNE P.M., SALMON A., PARISOD C., GRANDBASTIEN M.-A., FUKUNAGA K., RICOU M. & MISSET M.-T. (2009). Hybridization, polyploidy and invasion: Lessons from *Spartina* (Poaceae). *Biological Invasion* **11**, 1159-1173.
- AINOUCHE M.L., CHELAIFA H., FERREIRA J., BELLOT S., AINOUCHE A.K. & SALMON A. (2012 in press). Polyploid evolution in *Spartina*: Dealing with highly redundant hybrid genomes. In *Polyploidy and Genome Evolution* (ed. P.S. Soltis & D.E. Soltis). Springer, New York.
- Arabidopsis Genome Initiative (2000). Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*. *Nature* **408**, 796-813.
- ARNOLD M. (2006). *Evolution Through Genetic Exchange*. Oxford University Press, Oxford UK.
- AYRES D.R., GARCIA-ROSSI D., DAVIS H.G. & STRONG D.R. (1999). Extent and degree of hybridization between exotic (*Spartina alterniflora*) and native (*S. foliosa*) cordgrass (Poaceae) in California, USA determined by randomly amplified polymorphic DNA (RAPDs). *Mol. Ecol.* **8**, 1179-1186.
- BARKER M.S., VOGEL H. & SCHRANZ M.E. (2009). Paleopolyploidy in the Brassicales: Analyses of the *Cleome* transcriptome elucidate the history of genome duplications in *Arabidopsis* and other Brassicales. *Genome Biol. Evol.* **1**, 391-399.
- BAUMEL A., AINOUCHE M.L. & LEVASSEUR J.E. (2001). Molecular investigations in populations of *Spartina anglica* C.E. Hubbard (Poaceae) invading coastal Brittany (France). *Mol. Ecol.* **10**, 1689-1701.
- BAUMEL A., AINOUCHE M.L., BAYER R.J., AINOUCHE A.K. & MISSET M.-T. (2002a). Molecular phylogeny of hybridizing species from the genus *Spartina* (Poaceae). *Mol. Phylogenet. Evol.* **22**, 303-314.

- BAUMEL A., AINOUCHE M.L., KALENDAR R. & SCHULMAN A.H. (2002b). Retrotransposons and genomic stability in populations of the young allopolyploid species *Spartina anglica* C.E. Hubbard (Poaceae). *Mol. Biol. Evol.* **19**, 1218-1227.
- BAUMEL A., AINOUCHE M.L., MISSET M.-T., GOURRET J.P. & BAYER R.J. (2003). Genetic evidence for hybridization between the native *Spartina maritima* and the introduced *Spartina alterniflora* (Poaceae) in South-West France: *Spartina neyrautii* re-examined. *Plant Syst. Evol.* **237**, 87-97.
- BLANC G. & WOLFE K.H. (2004). Functional divergence of duplicated genes formed by polyploidy during *Arabidopsis* evolution. *Plant Cell* **16**, 1679-1691.
- CHELAIFA H., MAHÉ F. & AINOUCHE M.L. (2010a). Transcriptome divergence between the hexaploid salt-marsh sister species *Spartina maritima* and *Spartina alterniflora* (Poaceae). *Mol. Ecol.* **19**, 2050-2063.
- CHELAIFA H., MONNIER A. & AINOUCHE M.L. (2010b). Transcriptomic changes following recent natural hybridization and allopolyploidy in the salt marsh species *Spartina x townsendii* and *Spartina anglica* (Poaceae). *New Phytologist* **186**, 161-174.
- CHRISTIN P.-A., BESNARD G., SAMARITANI E., DUVAL M.R., HODKINSON T.R., SAVOLAINEN V. & SALAMINI N. (2008). Oligocene CO₂ decline promoted C4 photosynthesis in grasses. *Current Biology* **18**, 37-43.
- FAWCETT J.A., STEVEN MAERE S. & VAN DE PEER Y. (2009). Plants with double genomes might have had a better chance to survive the Cretaceous-Tertiary extinction event. *PNAS* **106**, 5737-5742.
- FLAGER L.E. & WENDEL J.F. (2010). Evolutionary rate variation, genomic dominance and duplicate gene expression evolution during allotetraploid cotton speciation. *New Phytologist* **186**, 184-193.
- FORTUNE P.M., SCHIERENBECK K., AINOUCHE A.K., JACQUEMIN J., WENDEL J.F. & AINOUCHE M.L. (2007). Evolutionary dynamics of *Waxy* and the origin of hexaploid *Spartina* species. *Mol. Phylogenet. Evol.* **43**, 1040-1055.
- FORTUNE P.M., SCHIERENBECK K., AYRES D., BORTOLUS A., CLATRICE O. & AINOUCHE M.L. (2008). The enigmatic invasive *Spartina densiflora*: a history of hybridizations in a polyploidy context. *Mol. Ecol.* **17**, 4304-4316.
- HENRY Y., BEDHOMME M. & BLANC G. (2006). History, protohistory and prehistory of the *Arabidopsis* chromosome complement. *Trends Plant Sc.* **11**, 267-273.
- JIAO Y. *et al.* (2001). Ancestral polyploidy in seed plants and angiosperms. *Nature* **413**, 97-100.
- LEE R.W. (2003). Physiological adaptations of the invasive cordgrass *Spartina anglica* to reducing sediments: rhizome metabolic gas fluxes and enhanced O₂ and H₂S transport. *Marine Biology* **143**, 9-15.
- MARCHANT C.J. (1968). Evolution in *Spartina* (Graminae). II. Chromosome basic relationships and the problem of *S. x townsendii* agg. *Bot. J. Lin. Soc.* **60**, 381-409.
- MARICLE B.R., CROSIER J.J., BUSSIÈRE B.C. & LEE R.W. (2006). Respiratory enzyme activities correlate with anoxia tolerance in saltmarsh grasses. *J. Exp. Marine Biol. Ecol.* **337**, 30-37.

- PARISOD C., SALMON A., ZERJAL T., TENAILLON M., GRANDBASTIEN M.-A. & AINOUCHE M.L. (2009). Rapid structural and epigenetic reorganization near transposable elements in hybrid and allopolyploid genomes in *Spartina*. *New Phytologist* **184**, 1003-1015.
- RAYBOULD A.F., GRAY A.J., LAWRENCE M.J., MARSHALL D.F. (1991). The evolution of *Spartina anglica* C.E. Hubbard (Gramineae): genetic variation and status of the parental species in Britain. *Biol. J. Linn. Soc.* **44**, 369-380.
- RAMSEY J. & SCHEMSKE D.W. (1998). Pathways, mechanisms, and rates of polyploid formation in flowering plants. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* **29**, 467-501.
- RENNY-BYFIELD S., AINOUCHE M.L., LEITCH I.J., LIM K.Y., LE COMBER S.C. & LEITCH A.R. (2010). Flow cytometry and GISH reveal mixed ploidy populations and *Spartina* nonaploids with genomes of *S. alterniflora* and *S. maritima* origin. *Annals of Botany* **105**, 527-533.
- SALMON A., AINOUCHE M.L. & WENDEL J.F. (2005). Genetic and epigenetic consequences of recent hybridization and polyploidy in *Spartina* (Poaceae). *Mol. Ecol.* **14**, 1163-1175.
- SOLTIS D.E. & SOLTIS P.S. (1999). Polyploidy: recurrent formation and genome evolution. *Trends Ecol. Evol.* **14**, 348-352.
- TANG H., BOWERS J.E., WANG X. & PATERSON A.H. (2010). Angiosperm genome comparisons reveal early polyploidy in the monocot lineage. *PNAS* **107**, 472-477.
- THOMPSON J.D. (1991). The biology of an invasive plant: What makes *Spartina anglica* so successful? *Bioscience* **41**, 393-401.
- THOMPSON J.D., MCNEILLY T. & GRAY A.J. (1991a). Population variation in *Spartina anglica* C. E. Hubbard. I. Evidence from a common garden experiment. *New Phytologist* **117**, 115-128.
- THOMPSON J.D., MCNEILLY T. & GRAY A.J. (1991b). Population variation in *Spartina anglica* C.E. Hubbard. II. Reciprocal transplants among three successional populations. *New Phytologist* **117**, 129-139.
- THOMPSON J.D., MCNEILLY T. & GRAY A.J. (1991c). Population variation in *Spartina anglica* C.E. Hubbard. III. Response to substrate variation in a glasshouse experiment. *New Phytologist* **117**, 141-152.
- TRIPLET P. & GALLICÉ A. (éd.) (2008). Les plantes envahissantes du littoral atlantique : le cas de la Spartine anglaise (*Spartina anglica*). *Aestuarium* **13**, Estuarium, Cordemais.
- WANG Z., GERSTEIN M. & SNYDER M. (2009). RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics. *Nat. Rev. Genet.* **10**, 53-67.
- WENDEL J.F. (2000). Genome evolution in polyploids. *Plant Mol. Biol.* **42**, 225-249.
- YANNIC G., BAUMEL A. & AINOUCHE M.L. (2004). Uniformity of the nuclear and chloroplast genomes of *Spartina maritima* (Poaceae) a salt marshes species in decline along the Western European Coast. *Heredity* **93**, 182-188.