

Texte de la 436^e conférence de l'Université de tous les savoirs donnée le 15 juillet 2002**La diversité végétale****Par Jacques Mugnier**

Parler de la diversité des plantes, c'est évoquer 250 000 espèces très diverses, depuis les plantes arborescentes, de taille parfois impressionnante, comme les grands séquoias, aux herbacées à fleurs minuscules, comme les fleurs de *Lemna* ou, au contraire, impressionnantes comme les fleurs de *Rafflesia* qui peuvent atteindre un kilo.

L'objectif de la *taxonomie végétale* est de rendre cette diversité intelligible par le moyen d'une classification. Celle-ci se fonde sur la *phylogénie* végétale, c'est-à-dire sur la reconstruction de l'histoire évolutive des plantes. Discipline récente (moins de 10 ans), la phylogénie moléculaire s'inscrit dans la continuité de la taxonomie des plantes - ou botanique -, qui représentent, quant à elles, l'aboutissement de plusieurs siècles de travaux.

L'exposé sera divisé en cinq parties.

La première partie, après un historique sur la botanique traditionnelle, présente quelques principes de la taxonomie.

La seconde partie aborde la taxonomie moléculaire et les apports de cette approche dans différents domaines : discussion sur les critères de classification, origine des plantes à fleur concernant les critères de classification classique, et l'origine des plantes à fleur par rapport aux travaux antérieurs.

La troisième partie a pour but d'expliquer certains mécanismes de l'évolution, essentiellement l'hybridation. La co-évolution plantes-insectes représente un autre mode de spéciation, qui sera également illustré.

Une quatrième partie montre les limites de la phylogénie moléculaire.

La dernière partie, à la lumière de ces connaissances nouvelles sur l'évolution des plantes, aborde le problème récent des risques des transgènes.

I. Histoire de la classification végétale

Pour comprendre les bases actuelles de la phylogénie moléculaire, une recherche historique sur la botanique est capitale. C'est le minimum exigible dans un exposé sur la diversité des plantes.

A. Historique de la taxonomie

La taxonomie des plantes - ou botanique- est apparue en Europe, entre le XVI^e et le XVIII^e siècle. Les concepts et théories qui la fondent n'ont jamais été figés mais, au contraire, ont toujours évolué.

De manière arbitraire, j'ai choisi de démarrer cette histoire de la botanique par Linné. Il a proposé un système de classification, toujours en vigueur, où les plantes sont regroupées de manière hiérarchisée en ordre, divisées en familles, puis en genres et enfin en espèces. Linné a donné l'idée d'une unité de la classification. Très influent sur ces contemporains, il refusait l'idée d'Évolution, dont il a, par son influence, retardé la propagation dans la communauté scientifique.

L'École française est particulièrement brillante à la fin du XVII^e siècle, tout d'abord avec le botaniste Pierre Magnol (1638-1715). Il est le premier, avant Linné, à regrouper les espèces en famille. Ensuite vient le botaniste Michel Adanson (1727-1806), qui, un an avant Linné, propose une classification animale binomiale. Il est le créateur de la phénétique : ce mode de classification se fonde, non pas sur la comparaison d'un caractère, mais sur la comparaison de l'ensemble des caractères de la plante. A la lumière de l'histoire, on peut dire que, sans ses démêlés avec ses contemporains et la Révolution de 1789, Adanson serait probablement considéré comme le père de la botanique. Véritable dynastie, les Jussieu poursuivent la voie ouverte par Adanson. Diffusant les idées de son oncle Bernard, Antoine Laurent de Jussieu formule le *Principe de subordination des caractères*, selon lequel les caractères observés n'ont qu'une importance relative, qui doit être hiérarchisée.

En Suisse, les Candolle père et fils se distinguent au sein du jardin botanique de Genève et suivent les principes de Jussieu. Augustin Pyrame (1778-1841) est l'inventeur du terme « taxonomie ». Il a combattu la vision fixiste de Linné, en estimant que les espèces évoluaient. En Angleterre, la botanique est représentée par Dalton Hooker (1817-1911), dans la continuité des Jussieu et de Candolle. Il utilise sa propre description des plantes qui reste, de nos jours, un outil précieux pour les taxonomistes.

Après que les idées de Darwin se furent imposées dans la communauté scientifique, la classification cherche à mettre en évidence relations évolutives, de parenté, entre les

organismes : c'est la phylogénie. L'Allemand Adolf Engler propose la première classification phylogénique conséquente, entre 1887 et 1915. Son contemporain, Charles Bessey (1845-1915) est le premier botaniste américain. C'est un fervent partisan de Darwin.

On entre dans l'ère de la botanique moderne avec, entre autres, deux auteurs qui publient, indépendamment, en 1968 : l'Américain Arthur Cronquist et le Russe Armen Takhtajan. En fait, leur classification s'avère extrêmement proche. Un botaniste danois Rolf M.T. Dahlgren (1932-1987) réalise une classification originale en comparant des critères physico-chimiques. Toutes ces classifications se fondent sur la comparaison de données plus sophistiquées et variées que précédemment.

Actuellement, le chercheur James Reveal est en train de rendre la botanique accessible sur internet. La taxonomie est remise au goût du jour en raison des possibilités offertes par l'étude de l'ADN.

B. Critères de classification

Après ce survol de l'histoire de la classification végétale, il paraît important de pointer les éléments de la construction de ces classifications.

Le principe de la taxonomie, c'est de placer dans un groupe, qu'on appelle un taxon, les espèces monophylétiques, c'est-à-dire toutes celles qui ont hérité d'un ancêtre commun un ensemble de caractères. Ce travail présente deux difficultés :

- tout d'abord, le choix, primordial, du caractère, qui doit permettre de comparer différentes espèces. En classification, on définit un « caractère » comme un trait héritable que possède un organisme. L'étape du choix du caractère est arbitraire : c'est aux botanistes de choisir les caractères qu'ils supposent liés à l'évolution des plantes. Par exemple, Linné fonde sa classification sur les étamines, Magnol sur le calice. Les études à cette époque étaient poussées au niveau de la description des pièces florales et des organes reproducteurs : les botanistes anciens ont souvent basé leur classification sur les caractères de la fleur et en particulier, le nombre de pétales et d'étamines. Adanson est le premier à affirmer la nécessité de comparer le plus grand nombre de caractères possibles et non les seules pièces florales.

- l'hypothèse sur le caractère ancestral ou dérivé des réalisations du caractère. Pour grouper les espèces dans un taxon, il faut les comparer à un ancêtre commun. Quand les données sur l'état ancestral d'une espèce manquent, les auteurs formulent des hypothèses de travail. Par exemple, Engler a bâti sa classification sur l'hypothèse que les fleurs simples sont primitives par rapport aux fleurs complexes, et que les monocotylédones sont primitives par rapport aux dicotylédones. Bessey a rejeté les idées d'Engler sur cette nature des fleurs

primitives. Il suppose en revanche que les Magnolias sont les ancêtres primitifs des autres fleurs. Différents caractères étaient ainsi jugés, de façon arbitraire, archaïques, ou, au contraire, évolués.

Ces hypothèses de travail arbitraire ont été à l'origine d'erreurs dans la vision de l'histoire évolutive des plantes. La classification moléculaire a permis de discuter de la pertinence de ces caractères comme critères de classification, mais rencontre également des problèmes équivalents.

II. La botanique moléculaire

La botanique moléculaire est une science très récente puisqu'il faut attendre les années 1980 pour que différentes inventions favorisent l'engouement pour cette nouvelle discipline.

A. Les origines

Les phylogénies moléculaires sont fondées sur la comparaison de séquences d'ADN. Les nucléotides sont les caractères de la botanique moléculaire. Cela implique que le matériel génétique puisse être facilement caractérisé et comparé, ce qui a été rendu possible par trois innovations techniques :

- tout d'abord, la PCR (*polymerase chain reaction*), méthode qui permet d'étudier l'ADN – connue à l'origine comme outil permettant de relever les empreintes génétiques. On peut aujourd'hui étudier l'ADN de manière assez facile en laboratoire. Cette technique a valu à son inventeur, Kary Mullis, le prix Nobel de chimie en 1993.

- le deuxième outil est le développement d'internet. Toutes les séquences d'ADN obtenues par les chercheurs font l'objet de travaux publiés où les techniques d'investigation et l'objet d'étude doivent être décrits précisément. Si la publication étudie une séquence, la séquence doit être disponible pour la communauté scientifique. Les séquences sont déposées sur un site internet, le site « Genbank », qui regroupe l'ensemble des séquences décrites, ainsi que les génomes complets. En ce qui concerne les plantes, le seul génome complet est celui d'*Arabidopsis*, plante modèle en biologie moléculaire végétale.

- enfin, il faut pouvoir comparer toutes ces séquences. Un chercheur américain de l'Université de Washington, Joe Felsenstein, a développé des méthodes mathématiques pour comparer ces séquences.

B. Les gènes étudiés

A partir de là, plusieurs équipes vont travailler sur différents gènes, à caractère universel, ce qui permet de les comparer chez toutes les plantes à fleur (ou Angiospermes).

Une première équipe du jardin botanique de Kew en Angleterre compare un gène *chloroplastique*. D'autres équipes, notamment l'équipe de Soltis (Douglas et Pamela, de l'Université de Washington) travaillent à partir de l'ARN ribosomique. En deux mots, le *ribosome* est divisé en deux sous-unités, une petite sous-unité et une grande sous-unité. Il est en partie composé d'ARN, nommés ARN 26S et ARN 18S. Les séquences d'ADN codant pour ces ARN sont séparées par des « espaces », appelés les ITS (*internal transcribed spacers*).

En 1998, le groupe de Mark Chase publie la première classification moléculaire des plantes à fleur, la classification APG (pour *angiosperm phylogeny group*). Ils sont suivis l'année suivante par les époux Soltis, qui obtiennent la même phylogénie. D'autres groupes, dont le mien, travaillent à partir des ITS et obtiennent, à peu près, la même classification que les deux autres équipes.

C'est très important d'obtenir les mêmes résultats, à partir de séquences différentes, d'autant plus que ces nouvelles classifications révèlent quelques surprises par rapport aux conceptions anciennes.

C. Les résultats de la taxonomie moléculaire

Il n'est pas question d'évoquer ici les 250 000 espèces végétales contenues dans cette classification. Nous allons juste aborder quelques exemples, qui remettent en cause les classifications antérieures et les hypothèses sur lesquelles elles se fondaient.

1. La remise en cause des critères des classifications traditionnelles

A l'embranchement des Ranunculales (ex : le coquelicot), se trouvent des familles comme les Buxacées et les Trochodendracées. La classification moléculaire contredit entre autre Takhtajan, qui avait classé les Trochodendracées comme plantes très archaïques en raison du caractère primaire des vaisseaux conducteurs de sève.

Les Hamamélidacées, sont mises dans le même groupe que les pivoines. Or, les Hamamélidacées ont des fleurs très simples, contrairement aux pivoines, aux très nombreux pétales, les étamines s'étant transformés en pétales. Précédemment, les Vitacées (la vigne) étaient classées dans les Rhamnacées parce que leurs étamines alternent aux pétales. La

phylogénie moléculaire montre que la vigne n'appartient pas aux Rhamnacées : c'était une erreur due à un processus de convergence évolutive.

Ainsi, ces exemples montrent que les caractères morphologiques, en particulier les étamines et les fleurs, ont souvent trompé les botanistes. Ces caractères se révèlent très variables, même entre espèces proches évolutivement.

2. Correspondance entre critères moléculaires et caractéristiques morphologiques

La question qu'on peut se poser, c'est de savoir si les taxons de la phylogénie moléculaire sont liés à des propriétés morphologiques ou physico- chimiques.

En 1998, l'équipe de Chase met côte à côte deux familles : les Brassicacées (la famille de la moutarde), et les Caricacées (la papaye), dans l'ordre des Brassicales. Lors de la présentation de cette classification, il y a eu beaucoup de scepticisme : c'était impensable d'associer des familles aussi différentes. En revanche, le chercheur danois, Dahlgren, que j'ai évoqué précédemment, avait bien placé les papayes à côté de la moutarde car elles produisent toutes deux le même composé volatil, de l'essence de moutarde. Actuellement, les plantes classées dans les Brassicales produisent toutes cette essence de moutarde, et toutes n'étaient auparavant pas classées dans ce taxon.

Dans le groupe des Rosidées (la rose), la caractéristique commune est de posséder des ovules entourés de plusieurs couches de cellules - ou ovules crassinucellés. Dans le groupe adjacent, les Astéridées, au contraire, les assises de cellules s'amincissent au point de n'avoir presque qu'une couche de cellules autour de l'ovule. Ainsi, la taxonomie moléculaire a classé dans les Astéridées toutes les familles qui avaient des ovules tenuinucellés, et dans les Rosidées, toutes les familles à ovules crassinucellés (soit 149 familles). Deux grands ensembles monophylétiques sont ainsi définis par une caractéristique très sûre. De la même façon, l'ensemble des plantes à fleur partage la caractéristique de réaliser une double fécondation, c'est-à-dire la fécondation de l'œuf et la fécondation de l'endosperme.

La nouvelle classification APG, APG 2, en cours de publication, comporte une petite révolution : elle supprime la division des Angiospermes en monocotylédones et dicotylédones. Cette classification propose de diviser les plantes à fleur selon la nature du grain de pollen, ce qui distingue deux grands groupes : les Eudicotylédones et les Magnoliides. Chez les Eudicotylédones, le grain de pollen présente trois pores (pollen tri-apperturé) ; les Magnoliides sont mono-aperturées (le grain de pollen n'a qu'un pore). Ainsi, dans le groupe des Magnoliides sont classées les monocotylédones et d'anciennes

dicotylédones. Les monocotylédones sont à présent considérées comme le groupe le plus récent dans l'évolution des angiospermes mono-aperturées.

3. La convergence évolutive

En fondant la classification sur des caractéristiques morphologiques, on peut se heurter à des problèmes de convergence évolutive. Il s'agit d'homoplasie c'est-à-dire qu'on compare des caractères qui ne descendent pas d'un ancêtre commun et sont apparus indépendamment, par des voies différentes.

Je vous en présente un seul exemple, parmi beaucoup d'autres connus. Les Nymphéacées sont actuellement considérées comme une des familles les plus primitives, située à la base des plantes à fleur : ce sont les nénuphars. Les botanistes traditionnels, même Cronquist, associaient le lotus au Nymphéacées. Vous avez une convergence formidable de la fleur qui a longtemps fait penser que ces familles étaient très proches. En réalité, la phylogénie moléculaire a révélé que les familles du lotus et du nénuphar sont très éloignées dans l'histoire évolutive. Si on examine les grains de pollen, ceux des Nymphéacées ont un pore ; ceux du lotus, trois pores. Le classement selon les apertures de grains de pollen est pertinent.

La Nature par des mécanismes encore méconnus a produit des formes qui se ressemblent beaucoup, mais n'ont absolument pas la même origine phylogénétique.

4. Classification moléculaire et classification traditionnelle

Comment se situent les botanistes traditionnelles par rapport à la nouvelle classification des plantes à fleur ?

Bessey, le véritable initiateur des systèmes de classification évolutifs, avait déjà vu l'origine des monocotylédones très proches du groupe des Magnolia. Bessey avait une vision de l'origine des plantes particulièrement efficace. Au contraire, le système de Cronquist est très déstabilisé par la phylogénie moléculaire, notamment parce qu'il avait accordé une importance excessive à la formation des étamines.

Dahlgren, en donnant une classification se fondant sur des critères physico-chimiques, a obtenu une vision proche de la vision moléculaire, à quelques doutes près, en raison du caractère trompeur de étamines chez certaines familles (famille du thé, famille du Camélia).

D. Les apports évolutifs

1. L'origine des plantes à fleurs

A la base des Angiospermes, vous avez la famille des Amboréllacées. Cette famille n'a qu'un seul représentant, un petit arbuste de Nouvelle Calédonie. Actuellement, cinq études indépendantes ont confirmé ce résultat : pour l'heure, la plante la plus ancienne connue serait *Amborella* de Nouvelle Calédonie.

2. Datation : l'hypothèse de l'horloge moléculaire

La phylogénie moléculaire offre la possibilité d'évaluer la date d'apparition des espèces. Cette estimation se fonde sur l'hypothèse de l'*horloge moléculaire*, selon laquelle l'ADN évolue régulièrement dans le temps. Ainsi, le nombre de différences moléculaires constatées entre les séquences de deux espèces est lié au temps qui les séparent depuis leur premier ancêtre commun. Cela reste une hypothèse à tester, qui peut être source d'erreurs.

Selon cette méthode, on a estimé qu'*Amborella*, la plus vieille Angiosperme connue serait apparue il y a 132 millions d'années. Les Nymphéacées seraient apparues il y a 130 millions d'années. Or, événement remarquable, on a découvert au Portugal des fossiles particulièrement bien conservés datés à 125–120 millions d'années. En 2002, de manière assez inattendue aussi, dans le New Jersey, un fossile qui ressemblait à des feuilles de *Triuris* (famille des Triuridacées) a été mis à jour. Il s'agit d'une plante *saprophyte* qui pousse sans chlorophylle et représente la plus ancienne dicotylédone connue. A côté des *Triuris*, on trouve une plante connue exclusivement au Japon, *Japonelirion*, également *saprophyte*, qui est estimée à 110 millions d'années.

L'apparition des Platanacées et des Nelumbonacées (le lotus) est située à 108 par l'horloge moléculaire et à 100 millions d'années par les fossiles. L'horloge moléculaire a minimisé l'ancienneté des Magnoliacées et des Pipéracées, qui seraient apparues il y a 90 millions d'années. Les Ranunculacées, les légumineuses et les composées (Rosidés, Astéridés, Renonculacées) seraient apparues il y a 30 millions d'années, à la fois par estimation selon le principe de l'horloge moléculaire et par les fossiles connus de ces groupes.

Actuellement, un engouement énorme pousse les chercheurs à intégrer les données de la paléobotanique et celles de la phylogénie moléculaire, afin de comparer la fiabilité des données de part et d'autre.

III. Les mécanismes de l'évolution et de la spéciation chez les plantes

A. Polyploïdie et hybridation

La diversification des végétaux repose une propriété qui leur est particulière : la possibilité d'être *polyploïde* [voir ploïdie]. Chez les animaux, la polyploïdie est létale. Chez les plantes, cette propriété crée des possibilités supplémentaires de *spéciations*, par l'*hybridation* entre espèces.

Des familles entières seraient issues de la polyploïdie (rosacées, oléacées, salicacées, etc). On considère même que 70 à 80 % des Angiospermes seraient issues de la polyploïdie. La polyploïdie permet l'hybridation c'est-à-dire le croisement d'espèces différentes. Certaines espèces ont une capacité d'hybridation considérable. Ainsi, les *Dactyloriza*, des orchidées de nos régions, s'hybrident si rapidement qu'il est difficile d'en définir les espèces.

L'exemple le plus connu d'hybridation artificielle, cité comme cas d'école, est la tentative de croisement réalisée par un scientifique russe, Karpenchenko. Son idée était de croiser le radis et le chou, pour obtenir un hybride avec des racines de radis et des feuilles de choux – et doublement comestible. En première génération (notée F1) de ce croisement, il a obtenu des hybrides stériles, diploïdes, à $2n=18$ chromosomes. Ensuite, il a doublé le nombre de chromosomes et obtient des individus allotétraploïdes à $4n$ chromosomes. Ces hybrides, s'ils sont croisés avec l'un ou l'autre des parents, donnent des individus triploïdes, $3n$ stériles (comme la plupart des triploïdes). Ce mécanisme est responsable de la spéciation car les hybrides ne peuvent pas se recroiser avec leur parents, mais seulement entre eux. Ainsi, Karpenchenko a obtenu une nouvelle espèce, *Raphanobrassica*. Hélas ! Pas de chances : elle a les racines du chou et les feuilles du radis !

La plante la plus utilisée au niveau des modèles végétaux est *Arabidospis thaliana*, dont le génome est complètement séquencé. Elle est utilisée pour mettre au point les méthodologies moléculaires permettant d'étudier l'hybridation ou l'origine des espèces. Jusqu'à présent, la seule façon d'apporter la preuve d'une hybridation était de croiser les parents supposés de l'hybride. On pouvait observer des morphologies « intermédiaires » chez les descendants obtenus en laboratoire et les comparer à l'hybride supposé. Cependant, c'était très long et aléatoire.

Des techniques moléculaires sont actuellement développées et mises en oeuvre dans cette perspective. Elles consistent :

- 1) Premièrement, à marquer par sonde des séquences d'ADN. Une sonde permet de déterminer si une séquence d'ADN est présente chez un individu. Les sondes des

parents vont pouvoir être détectée - ou non - chez l'hybride, où les deux lots de chromosomes sont mélangés.

- 2) Les techniques RAPD permettent d'identifier les allèles hérités d'un parent ou de l'autre.
- 3) La visualisation de l'ADN chimériques, des séquences où les nucléotides proviennent d'un mélange des nucléotides des parents.

Ces techniques ont permis de déterminer quelles sont les espèces « parents » de plantes supposées hybrides. Une étude a porté sur les *Tragopogons*, une espèce de salsifis. Certaines espèces de salsifis ont été introduites aux Etats-Unis, autour de 1900, en provenance d'Europe. Deux espèces notamment, *T. dubius* et *T. pratensis* se sont répandues dans tous les Etats-Unis. Environ 50 ans après, des espèces hybrides, tétraploïdes, sont apparues. Leur ITS de ces espèces sont chimériques provenant en partie de *T. dubius*, une autre partie de *T. pratensis* : cela prouve qu'il s'agit d'hybrides. Ces hybrides présentent des propriétés physiologiques modifiées par rapport aux parents, qui leur confèrent la capacité de s'installer dans des zones rudérales. Elles ont ainsi prospéré. Il n'y a pas eu de spéciation géographique : ces hybrides coexistent dans la même zone que leur parents. Ce type de spéciation est dite « sympatrique ».

Les *Encelia* illustrent le phénomène inverse. Deux espèces existent : *E. actoni* et *E. frutescens*. Une nouvelle espèce à morphologie intermédiaire est apparue, supposée hybride, ce qui est prouvé par ses ITS, chimériques. Ces espèces vivent dans des zones géographiques différentes. *E. actonis* vit dans les zones montagneuses à l'est de la Californie, dans des aires tempérées, tandis que *E. frutescens* s'établit dans des zones désertiques du Nevada, où il fait très chaud. L'hybride aime les températures intermédiaires, ni trop chaud, ni trop froid : il s'établit dans l'Utah. Ainsi, il s'est développé dans une aire voisine de l'aire de répartition de ses parents : il s'agit d'une spéciation « parapatrique ».

B. La co-évolution

L'hybridation et la polyploïdie n'ont pas été les seuls mécanismes, ou forces, de l'évolution. Un élément de l'évolution des plantes à fleur est l'interaction avec les insectes.

Je développerai l'exemple du figuier pour illustrer ce phénomène. Le figuier est un genre qui regroupe de très nombreuses espèces. Les figues ne peuvent être pollinisées que par un seul insecte, une petite guêpe : un blastophage. Une espèce de blastophage ne peut polliniser qu'une seule espèce de figue et réciproquement, une espèce de figue ne nourrit qu'une espèce de blastophage. On compte ainsi autant d'espèces de figuiers que d'espèces de blastophages.

La phylogénie basée sur des ITS et celle fondée sur les critères morphologiques ne coïncident absolument pas. Pourtant, chez les figuiers, il n'y a aucun phénomène d'hybridation connue, c'est une plante diploïde à $2n=20$ chromosomes. On n'arrive pas à expliquer les différences entre les deux classifications par les artéfacts classiques en génétique.

En revanche, la classification moléculaire des insectes correspond parfaitement à la classification moléculaire de figuiers. En fait, les blastophages ont joué le rôle de taxonomistes : ils ont sélectionné des caractères. Il y a eu une co-évolution étroite entre insectes pollinisateurs et les figuiers.

Cet exemple pourrait être multiplié par des milliers. Je n'en mentionne qu'un, mais c'est un facteur extrêmement important dans l'évolution des plantes à fleur.

III. Les limites des phylogénies moléculaires

A. L'exemple du coton

Le coton offre un exemple intéressant de contradictions entre phylogénies. Cette plante a plusieurs origines : africaine, américaine, et australienne. Quand on établit la phylogénie des espèces sauvages, en considérant deux gènes différents (gène chloroplastique, ITS), les résultats sont complètement contradictoires.

A partir des ITS, toutes les espèces australiennes sont monophylétiques, c'est-à-dire se trouvent dans la même branche. De même, tous les cotons africains appartiennent à une même branche, ainsi que les cotons sauvages du nouveau monde. En revanche, avec l'étude des gènes chloroplastiques, on n'arrive pas à différencier les cotons sauvages américains des cotons sauvages africains. Pourtant, il est clair que depuis la formation de l'océan atlantique, antérieure à l'apparition du coton, la spéciation a différencié les cotons sauvages de chacun des continents.

Ainsi, les ITS donnent une bonne image de l'évolution de l'espèce. En revanche, les gènes chloroplastiques se sont dupliqués sans évoluer, indépendamment du reste du génome (on parle de gènes égoïstes). Ce qu'il faut retenir, c'est que des gènes ont évolué, ont suivi l'histoire de l'espèce - les ITS - tandis que d'autres gènes - les gènes du chloroplaste - n'ont quasi pas évolué, et ne font pas apparaître les divergences entre les espèces des différents continents.

On est confronté à la limite de la méthode. En utilisant des gènes différents, on peut obtenir des phylogénies très différentes. Cette étude a été le point de départ de nombreuses recherches pour comprendre ces contradictions entre les phylogénies fondées sur différents gènes.

B. Comment expliquer ce problème de contradiction entre phylogénies ?

L'évolution concertée

Les erreurs résultent de l'utilisation de familles multi-géniques pour construire les classifications. Par exemple, le gène de l'ARN ribosomique est constitué de deux sous unités. Pour chacune, le gène est répété 100-200 fois dans le génome. Ces unités répétées sont très homogènes : toutes les petites sous unités (18S) sont semblables ; toutes les grandes sous-unités (28S) sont identiques entre elles. Un phénomène d'évolution concertée agit comme système de régulation et permet cette homogénéité des séquences. Si une mutation apparaît au niveau des ITS, au cours de l'évolution, cette mutation est réparée, de telle sorte que les ITS deviennent homogènes au sein de l'espèce.

De la même façon, quand une espèce apparaît par hybridation, les séquences provenant des parents s'homogénéisent avec le temps au sein de la nouvelle espèce, de telle sorte que le polymorphisme dû aux deux origines de gènes disparaît. Pourtant, on a vu précédemment qu'il est possible de distinguer les ITS provenant de deux parents – les séquences restent « chimériques ». Cela n'est possible que lorsque l'hybridation est très récente : l'homogénéisation des ITS par évolution concertée n'a pas eu le temps de se produire et le polymorphisme « parental » est conservé à l'intérieur d'individus de même espèce.

En pratique, pour certaines espèces ayant divergé il y a très longtemps, ce polymorphisme se rencontre encore. Pourquoi ?

Les conditions de l'évolution concertée

En biologie végétale, un des modèles les plus utilisés est la pivoine. La reine des fleurs, « la reine des herbes » dans la Grèce Antique est devenue la reine des cytologistes. Elle offre l'avantage de posséder un petit nombre de chromosomes de grosse taille. Par la méthode de fluorescence *in situ*, la fameuse méthode FISH, on peut notamment localiser les gènes sur ces chromosomes.

Les pivoines seraient apparues dans le bassin méditerranéen, il y a près de 20 millions d'années. L'évolution concertée a œuvré - leurs ITS sont parfaitement homogènes. En l'étudiant, on s'est aperçu que les gènes utilisés pour construire les phylogénies se situent souvent près des centromères. C'est une zone particulière au niveau des chromosomes. Cette

position des gènes favoriserait l'homogénéisation des séquences. Il semblerait que la proximité des centromères est responsable d'une bonne homogénéisation des ITS, qui, par conséquent, permettent une bonne différenciation entre espèces.

Cependant, quand on compare *Arabidopsis* à des *Brassica*, bien que leur divergence remonte à plus de 20 millions d'années, il existe encore un très fort polymorphisme. Apparemment, le temps n'est pas suffisant pour homogénéiser les familles multigéniques par évolution concertée dans ce cas. Pour résoudre cette contradiction, les auteurs ont regardé la position des gènes ribosomiques chez les *Brassica*. Ils se situent très loin des centromères, ce qui peut expliquer le polymorphisme des ITS.

Pour éviter les erreurs dues au choix du gène, la règle de base pour la construction d'une phylogénie moléculaire, les études d'hybridation ou d'évolution, est d'étudier plusieurs séquences d'ADN. Cette règle va sans doute devenir obligatoire pour que les résultats d'une étude soient acceptés.

IV. Les risques de transgénèse

Je vais terminer cet exposé en vous présentant des exemples de risques de transgénèse. L'utilisation d'outils moléculaires a révélé que la spéciation par hybridation est un phénomène courant et parfois extrêmement rapide.

Le maïs fournit la base alimentaire d'une grande partie de l'humanité. Il a été domestiqué à partir d'une plante, la téosinthe, qui n'est pas très appétissante et produit peu de graines. L'ensemble des espèces de maïs, sauvages, cultivées, téosinthes, est tenu en collection au Mexique, une collection fantastique, unique au Monde. Cette collection a été contaminée par le transgène Bt, cultivé illégalement au Mexique. Ce transgène confère au maïs Bt la résistance à la pyrale grâce à l'introduction des gènes de résistance de la bactérie *Bacillus thuringiensis*. La publication (dans la revue *Nature*) qui décrivait cette contamination a soulevé une polémique, avec contestation des résultats. Il reste possible que cette introgression du Bt dans les collections ne soit pas stable et disparaisse... mais cela reste à prouver.

Le blé cause encore davantage de problème. Son ancêtre est probablement un *Aegilops* primitif, qu'on peut qualifier de « mauvaise herbe ». Parmi les espèces proches du blé, se trouvent l'*Aegilops cylindrica* et *Hordeum maritimum*, deux mauvaises herbes européennes. Toutes deux peuvent se croiser avec le blé – cela a été démontré. Il est donc interdit de cultiver des blés transgéniques en Europe. En revanche, ces blés transgéniques sont déjà

cultivés en Amérique du Nord. Il y aura probablement de problème d'introgession de gènes chez des mauvaises herbes, tels qu'*Aegilops* ou *Hordeum*. On ne peut nier ce risque, il existe bel et bien.

Il est inutile de parler du cas des crucifères (*Brassica*) - colza, moutarde... - qui peuvent s'hybrider avec n'importe quelle autre crucifère, même de genre différent. Chez les colzas, les éléments transgéniques passeraient très rapidement dans les espèces sauvages.

Conclusion

Lors de cette conférence, j'ai abordé de manière rapide les connaissances issues de la nouvelle classification des plantes à fleur. Les opportunités de recherches sur les questions d'hybridation sont nombreuses. Les exemples présentés datent de 2002 : c'est réellement un domaine scientifique très jeune et porteur.

Les hypothèses sur l'horloge moléculaire demandent encore confirmation. Cependant, on commence à posséder de bonnes bases puisque les estimations par techniques moléculaires concordent avec les données paléontologiques.

Je vous ai également mis en garde sur ces techniques, très puissantes. Actuellement, dans mon laboratoire, on peut produire des centaines de séquences d'ITS par jour. La capacité de production de données en laboratoire est devenue impressionnante. Cette information surabondante, est accessible à tous les chercheurs. Cela signifie qu'en cas de conflit entre taxonomistes, ils peuvent utiliser des éléments expérimentaux communs, accessibles gratuitement sur internet.

Même si l'information se multiplie, la compréhension des génomes reste parcellaire. Les gènes ne forment pas un ensemble homogène. Au contraire, le génome est une mosaïque complexe de gènes ayant des vitesses d'évolution différentes, avec des phénomènes de convergence, des comportements « égoïstes » de gènes, etc. On peut générer des résultats artefactuels si on se limite à des études peu approfondies.

Enfin, j'ai mentionné très rapidement les risques des transgènes. Il faut manipuler ces éléments avec d'innombrables précautions pour ne pas polluer, à travers les phénomènes d'hybridation, les espèces proches. Ces modifications peuvent se passer très rapidement et modifier profondément les propriétés des plantes sauvages, à une échelle de temps humaine.

Glossaire

Espèce : ensemble des individus capables par reproduction de donner des descendants non stériles.

Étamine : appareil reproducteur mâle, où se forment les grains de pollen

Evolution concertée : tendance de différents gènes d'une famille de gène à évoluer de conserve, c'est-à-dire que chaque locus de la famille a tendance à présenter le même variant, la même séquence génétique.

Famille de gènes : un ensemble de gènes liés qui occupent différents endroits (ou locus) dans l'ADN, la plupart sont issus de la duplication d'un gène ancêtre et présentant la même séquence. Les membres d'une famille de gène peuvent être très proches fonctionnellement, ou, au contraire, très différents.

Phylogénie : science qui décrit les relations évolutives entre organismes

Ploïdie :

Chaque espèce a un nombre n donné de chromosomes. La plupart des organismes sont diploïdes, ce qui est noté $2n$: chaque chromosome est présent en deux exemplaires. Un lot de n chromosomes est apporté par le père, l'autre par la mère - les cellules reproductrices (ou gamètes) mâles et femelles sont haploïdes, contenant n chromosomes. On estime que le tiers des plantes à fleurs contiennent plus de deux lots de chromosomes : on dit qu'elles sont polyploïdes.

Une cellule diploïde peut connaître un doublement du nombre de ses chromosomes: il en résulte une cellule tétraploïde, à $4n$ chromosomes. Ce phénomène a peu de probabilité de se réaliser spontanément, mais par utilisation de produits chimiques, on peut ainsi obtenir de tétraploïdes à haute fréquence en laboratoire. Un autre processus de doublement est quant à lui fréquent : l'union de gamètes restés diploïdes $2n$ - des gamètes non réduits. Les tétraploïdes peuvent être :

- autotétraploïdes : les lots de chromosomes sont homologues, i.e. chaque lot de n chromosomes sont identiques. Cela se produit par doublement du nombre de chromosomes d'une cellule diploïde, ou par union de gamètes diploïdes de même espèce.

- allotétraploïdes : des lots de chromosomes non homologues sont mis en présence. Cela peut se produire par union de gamètes $2n$ provenant d'espèces diploïdes différentes. Ces allotétraploïdes se comportent comme une nouvelle espèce.

Taxonomie : science qui nomme et classe les organismes

Saprophytes : organisme hétérotrophe vivant sur de la matière organique non vivante

Gène : unité d'information héréditaire, composée d'une séquence d'ADN. Un gène comprend l'ensemble des séquences impliquées dans la production d'une protéine c'est-à-dire les séquences codantes (qui codent a proprement parlé pour la protéine) et les séquences régulatrices (qui permettent de moduler l'expression du gène).