Systèmes de reproduction, structure génétique et microsatellites

Jean-Christophe Simon et François Delmotte

Unité mixte de recherche INRA/ENSAR "Biologie des organismes et des populations appliquées à la protection des plantes (BiO3P)", Centre de recherches INRA de Rennes, B.P. 29 35653 Le Rheu Cedex. Méls: jcsimon@rennes.inra.fr, delmotte@rennes.inra.fr Fax: 02.23.48.51.50., Tél.: 02.23.48.51.54.

Introduction

Le système de reproduction est un facteur qui joue un grand rôle dans le fonctionnement et l'évolution des populations en agissant non seulement sur leur dynamique mais aussi sur leur diversité et leur structure génétique. D'un point de vue fondamental, la connaissance approfondie du mode de reproduction des organismes permet de confronter à la réalité biologique, la multitude des modèles théoriques sur l'évolution des systèmes de reproduction (évolution du sexe, évolution de l'autofécondation, etc.). Sur un plan appliqué, le système de reproduction est un élément très important à considérer puisqu'il a des implications dans des domaines aussi variés que l'amélioration génétique des animaux et des végétaux, la gestion des populations d'organismes bénéfiques ou de bioagresseurs pour l'homme, les animaux ou les plantes cultivées, ou encore, en biologie de la conservation. Pourtant, le système de reproduction d'un bon nombre d'organismes d'intérêt économique ou patrimonial demeure méconnu, et ce d'autant plus, comme nous le verrons plus loin, qu'il peut varier à l'intérieur d'une même espèce.

L'apport des microsatellites à l'étude des systèmes de reproduction chez les eucaryotes a considérablement élargi le champ des modèles pertinents pour ce genre de travaux et dont grand nombre étaient inutilisables pour cause de "pauvreté" génétique lorsque mesurée avec les marqueurs allozymiques ou mitochondriaux. Les microsatellites ont des caractéristiques très adaptées à l'examen approfondi des structures génétiques des populations (neutralité, hypervariabilité, co-dominance). Ils sont notamment des outils précieux pour estimer finement la ségrégation aux locus (déficit ou excès d'hétérozygotes) ou la recombinaison entre les locus, processus fortement affectés par les systèmes de reproduction pratiqués dans les populations naturelles. Si des progrès considérables ont été obtenus grâce à l'utilisation de ces marqueurs hautement polymorphes, il est encore trop tôt pour généraliser les effets d'un système de reproduction donné sur la diversité et la structure génétique des populations qui le pratiquent. Il reste encore à multiplier des études de cas d'espèces, notamment chez les végétaux, pour pouvoir dégager les principales modifications qualitatives et quantitatives de la structure génétique des populations en fonction du système reproducteur.

L'objet de cette présentation est néanmoins de faire une première synthèse des quelques études ayant utilisé les marqueurs microsatellites pour caractériser les systèmes de reproduction des espèces ou en analyser les effets sur la structure génétique de leurs populations. Dans cet article, nous traiterons uniquement des modes de reproduction qui dérogent à la règle de la reproduction sexuée biparentale en considérant les espèces strictement clonales, celles combinant reproduction sexuée et asexuée et enfin, les organismes autogames ou hermaphrodites. Pour l'étude des types d'apparentement lors de la reproduction sexuée, de leurs causes et de leurs conséquences, nous renvoyons au chapitre de Streiff *et al.*.

Systèmes de reproduction et structure génétique des populations

Quelques considérations préalables

Dans une population idéale (sexuée et panmictique, d'effectif illimité, non soumise à la sélection et à la migration), la structure de Hardy-Weinberg est respectée, les déséquilibres de liaison entre locus sont absents et la diversité génétique est forte. Tout écart à la panmixie aura un impact sur l'ensemble de ces paramètres qui définissent la structure génétique d'une population. Lorsque le mode de reproduction d'une population ou d'une espèce est connu, il est intéressant de bien évaluer et quantifier cet impact sur ces différents descripteurs. Plus intéressant, il est possible d'après l'analyse de la structure génétique d'une population d'en déduire son régime de reproduction principal. Néanmoins, la structure génétique des populations n'est pas uniquement modelée par le système de reproduction mais est aussi sensible à l'action des pressions évolutives comme la sélection, la dérive et la migration. Un même effet sur la structure génétique peut donc avoir plusieurs origines et il est quelquefois très difficile de discerner l'influence du mode de reproduction de celle d'autres facteurs. Enfin, les mécanismes impliqués dans l'évolution des systèmes de reproduction auront une incidence importante sur les caractéristiques génétiques des populations et des espèces. C'est notamment le cas pour les organismes asexués dont les modalités d'émergence à partir d'un ancêtre sexué peuvent être différentes selon les espèces ou les populations.

Détection de la reproduction clonale par les microsatellites

Les organismes se reproduisant par reproduction clonale (multiplication végétative, parthénogenèse améï otique, apomixie) sont principalement rencontrés chez les unicellulaires, les champignons, les plantes et les invertébrés. Ils sont beaucoup moins fréquents chez les vertébrés où seuls quelques genres de poissons, de reptiles et d'amphibiens présentent des taxons asexués.

Il existe actuellement très peu d'études de génétique des populations d'organismes clonaux ayant utilisé les microsatellites. Des locus microsatellites ont été isolés chez des espèces clonales de protozoaires, de bryozoaires, de fourmis, de pucerons et de gastéropodes (tableau 1) mais leur application n'a été effective que pour certaines d'entre elles. Le principal intérêt des microsatellites chez les organismes clonaux réside dans la possibilité de renseigner si, par exemple, deux individus prélevés à des échelles spatio-temporelles différentes ont deux génotypes distincts ou s'ils sont des copies d'un même clone. A condition de disposer d'un nombre de locus suffisant, les microsatellites permettent d'évaluer avec une grande fiabilité le degré de clonalité des populations, de suivre la fréquence des clones dans le temps et dans l'espace et de détecter d'éventuels remplacements de génotypes sous l'effet de la sélection.

L'utilisation de 8 locus microsatellites sur des souches de laboratoire du protozoaire *Trypanosoma cruzi*, agent de la maladie de Chagas transmis par les punaises triatomides, a permis d'une part, de confirmer la prévalence de la reproduction asexuée chez cette espèce et d'autre part, de montrer que certaines souches isolées de l'homme ou du vecteur étaient constituées de plusieurs clones (Oliveira *et al.* 1998). Plusieurs études chez les pucerons ont également démontré le régime de reproduction strictement clonale de certains taxons. Seulement 7 génotypes (clones) de *Sitobion miscanthi* ont été détectés parmi 555 individus collectés à l'échelle de l'Australie (Sunnucks *et al.* 1996). De la même manière, 12 clones d'*Aphis gossypii* ont été discriminés parmi 694 pucerons prélevés dans des serres du sud de la France, attestant d'une reproduction asexuée chez cette espèce (Fuller *et al.* 1999). Une récente étude chez la fourmi *Platythyrea punctata* a révélé la structure clonale des populations de cette espèce, chaque colonie étant souvent constituée d'un seul génotype (Schilder *et al.*, 1999). Ce travail est à replacer dans le contexte de l'évolution de la socialité chez les insectes (cf. le chapitre de Keller *et al.*). Chez le gastéropode d'eau douce *Melanoides tuberculata*, la présence de copies de même génotypes (60 génotypes parmi 800 individus examinés) et

l'analyse de la structure génétique des populations de plusieurs continents ont permis de statuer sur un régime de reproduction majoritairement asexuée de l'espèce (malgré l'existence de mâles dans les populations) et de montrer qu'à la plupart des clones correspond un morphotype de coquille particulier (Samadi *et al.* 1999).
Une étude approfondie des populations asexuées du puceron des céréales *Sitobion avenae* à l'aide de microsatellites a apporté un précieux éclairage sur les processus de spécialisation d'habitat et de dispersion à grande échelle des clones. Dans un premier travail, les structures génétiques de populations de *Sitobion avenae* prélevées sur différentes plantes-hôtes ont été analysées et ont révélées que deux génotypes, identifiés avec 12 locus, prédominent dans l'ensemble des cultures échantillonnées et peuvent persister plusieurs années (Haack *et al.*, soumis). Il a été proposé que ces génotypes asexués sont des clones généralistes favorisés par les successions culturales typiques des agrosystèmes céréaliers. Dans un deuxième travail, les données génétiques obtenues sur des populations françaises et anglaises de *S. avenae* avec les mêmes marqueurs microsatellites ont été comparées (Simon *et al.*, données non publiées). Il a permis de montrer que sur les 82 génotypes représentés en multiples copies dans l'échantillon, 40% sont retrouvés à la fois en France et en Angleterre, ce qui confirme l'importance des mouvements chez ce puceron, et qu'un génotype particulièrement performant prédomine dans les deux pays (figure 1).

Organismes combinant reproduction sexuée et asexuée
Ces organismes maintiennent une reproduction sexuée régulière associée à une phase clonale plus ou moins longue. Ce régime de reproduction est employé par de nombreux végétaux et correspond, chez les animaux, à la parthénogenèse cyclique pratiquée par environ 15000 espèces dont les trématodes, les rotifères, les crustacés cladocères (daphnies), les hyménoptères cynipides et les pucerons. Toutefois, dans beaucoup de ces groupes, la phase sexuée peut être perdue, soit au niveau des populations, soit au niveau de l'espèce. Les taxons pour lesquels coexistent des populations sexuées (ou à parthénogenèse cyclique) et asexuées (ou à parthénogenèse obligatoire) constituent ainsi des modèles très intéressants pour comparer les effets du système de reproduction sur la structure génétique.
Parmi les organismes combinant reproduction sexuée et asexuée, seules une espèce végétale et quelques espèces animales (rotifères, cynipides et pucerons) ont fait l'objet d'études populationnelles employant les marqueurs microsatellites. A l'aide de six marqueurs microsatellites, Reusch *et al.* (2000) ont étudié la structure des populations de *Zostera marina*, une espèce d'herbe marine qui domine dans l'hémisphère nord et qui peut se reproduire à la fois par croisement et par multiplication végétative. Cette étude a révélé un fort polymorphisme (comparés aux isozymes) et une importante hétérozygotie observée (H_o=0,5). Elle a aussi fait apparaître une très forte variation du taux de reproduction clonale entre populations: alors que la majorité des populations sont composées d'autant de génotypes différents que d'individus échantillonnés (populations à reproduction sexuée allogame), certaines sont complètement monoclonales (multiplication végétative asexuée).
Chez *Brachionus plicatilis*, rotifère monogonte à parthénogenèse cyclique, Gomez & Carvalho (2000) ont entrepris, à l'aide de 7 microsatellites, la comparaison de la structure génétique des populations en phase sexuée ou clonale de durée variable. Ces auteurs ont tout d'abord montré que les individus directement issus de la reproduction sexuée (qu'ils soient contemporains ou trouvés sous forme d'œufs diapausants vieux de plusieurs années) forment des populations en équilibre de Hardy-Weinberg et sans déséquilibre de liaison. Puis, en analysant les populations en phase parthénogénétique de plus en plus longue (jusqu'à 3 mois de reproduction clonale), ils ont pu détecter des modifications de structure génétique (écarts à Hardy-Weinberg, déséquilibres de liaison, multiplication différentielle des génotypes) imputables à des effets sélectifs amplifiés par la reproduction clonale.

Chez l'hyménoptère cynipide *Diplolepis spinosissimae*, Plantard *et al.* (1998) ont pu mettre en évidence l'existence de deux types de populations : l'un sexué et continental caractérisé par une importante variabilité génétique, un fort taux d'hétérozygotie et une structure de Hardy-Weinberg, l'autre, asexué et océanique, présentant un faible polymorphisme, une hétérozygotie quasi nulle et une structure fortement déséquilibrée (tableau 2). La recherche de *Wolbachia*, bactéries impliquées notamment dans l'induction de la parthénogenèse thélytoque chez les hyménoptères, a permis de montrer que les populations asexuées étaient infectées par les *Wolbachia* alors que celles, sexuées, ne l'étaient pas. Il est logique de penser que l'agent infectieux est à l'origine de la perte de sexualité chez *D. spinosissimae.*

Chez les pucerons, la comparaison des structures génétiques des populations sexuées et asexuées a été réalisée pour deux espèces chez lesquelles ces deux modes de reproduction coexistent: *Rhopalosiphum padi* et *Sitobion avenae.* Pour *R. padi*, comme l'indique le tableau 2, les populations à parthénogenèse cyclique (dites sexuées) présentent pratiquement autant de génotypes que d'individus échantillonnés, une variabilité allélique importante et pratiquement pas de déséquilibre de liaison. Au contraire, les populations à parthénogenèse obligatoire (dites asexuées) sont composées de nombreuses copies de mêmes génotypes, possèdent un plus faible nombre d'allèles et sont très souvent en déséquilibre de liaison. Les populations asexuées présentent cependant une plus forte hétérozygotie observée due à un excès d'hétérozygotes qui pourrait découler du mode d'émergence des lignées asexuées (hybridation avec le pool sexué?). De manière encore inexpliquée, les populations à parthénogenèse cyclique ne sont pas en équilibre de Hardy-Weinberg et sont déficitaires en hétérozygotes (Delmotte *et al.*, données non publiées). Bien que moins nettes, des différences similaires entre les structures génétiques des populations sexuées et asexuées sont également notées chez *S. avenae* (tableau 2). Elles portent principalement sur le taux d'hétérozygotie et les déséquilibres de liaison, plus importants chez les lignées à parthénogenèse obligatoire que celles à parthénogenèse cyclique. Comme pour *R. padi,* les populations sexuées de *S. avenae* n'ont pas une structure de Hardy-Weinberg car elles présentent un déficit en hétérozygotes dont la source n'est pas claire (Sunnucks *et al.* 1997; Simon *et al.* 1999).

Une analyse des relations phylogénétiques entre lignées sexuées et asexuées de *R. padi* a été menée sur les données microsatellites afin de déterminer si la perte de reproduction sexuée avait une ou plusieurs origines chez cette espèce. Si les distances calculées sur les populations séparent très nettement les deux types reproducteurs, celles calculées sur les individus (ici, les génotypes) font apparaître l'existence de lignées asexuées très apparentées aux lignées sexuées qui témoignent de pertes secondaires et récentes de la phase sexuée (figure 2, Delmotte *et al.*, en préparation).

Autogamie chez les champignons, les plantes et les animaux

Les organismes se reproduisant par autofécondation sont dits autogames ou hermaphrodites. Chez les plantes à fleurs, les plantes autogames peuvent avoir des taux d'autofécondation variables et coexister avec des taxons allogames qui se reproduisent principalement en croisement. Chez les animaux, l'hermaphrodisme est fréquent chez les vers plathelminthes et némathelminthes ainsi que chez les gastéropodes.

Peu d'études ont utilisé les microsatellites pour appréhender la structure génétique des populations d'espèces autogames. Ces travaux sont pourtant d'une grande intérêt pour quantifier les taux d'autofécondation et mesurer leur gamme de variation dans les populations naturelles. Une espèce de champignon (*Microbotryum violaceum*), trois espèces ou complexes d'espèces botaniques (la mimule, *Mimulus sp.*, la betterave sauvage, *Beta sp.* et le sorgho, *Sorghum bicolor*), et une espèce animale hermaphrodite (le gastéropode *Bulinus truncatus*) ont déjà fait l'objet d'analyses microsatellites à l'échelle populationnelle.

D'un point de vue théorique, on comprend aisément qu'un système de reproduction autogame entraîne une baisse de la fréquence des hétérozygotes. Ce qui est moins intuitif, c'est que l'autogamie diminue également la variabilité génétique sous l'action conjuguée de plusieurs facteurs: la réduction de la taille efficace des populations qui augmente l'effet de la dérive, la sélection généralisée contre les allèles délétères et les effets d'auto-stop génétiques (Viard *et al.* 1996). Par ailleurs, l'autogamie augmente la différenciation génétique entre populations en limitant les flux géniques entre ces dernières. Nous allons voir comment les données empiriques obtenues sur les modèles biologiques autogames présentés plus haut se conforment aux attendus théoriques (tableau 3).

Le champignon Basidiomycète, *Microbotryum violaceum,* pathogène des plantes de la famille des Caryophyllacées, est une espèce sexuée obligatoire. Les spores déposées sur un nouvel hôte subissent donc une méiose. Les produits de cette méiose (sporidies) conjuguent pour donner un dicaryon qui infecte la nouvelle plante hôte. Les opportunités d'allogamie chez cette espèce sont limitée par la faible probabilité de rencontre des spores issues de plantes différentes. Du reste, Kaltz *et al.* (1999) ont montré par une étude expérimentale que ce champignon pathogène était fortement autogame. La structure des populations de *M. violaceum* se caractérise par une faible variabilité génétique aux 5 locus microsatellites étudiés, une très faible hétérozygotie, de très forts F_{IS}, et une différenciation importante entre populations d'une même plante hôte ou d'hôtes botaniques différents, indiquant une quasi absence de flux de gènes à cette échelle (Bucheli *et al*. 1999, 2000, Delmotte *et al*., 1998).

On trouve chez le complexe de l'espèce botanique *Mimulus guttatus* des taxons dont le mode de reproduction, déduit d'analyses biologiques et allozymiques, varie de l'allogamie à l'autogamie. Le typage génétique des populations de ces différents taxons à l'aide de 6 locus microsatellites a permis de confirmer leur système reproducteur principal et de préciser l'effet de ce dernier sur les structures génétiques (Awadalla & Ritland, 1997). Comme attendu, les populations des taxons allogames présentent un plus fort polymorphisme (mesuré par la variabilité allélique et la diversité génique, H_e), des taux d'hétérozygotie plus importants et des populations moins différenciées que celles des taxons autogames (tableau 3). Le taux d'autofécondation (évalué par l'estimateur du F_{IS}) est nettement supérieur dans les taxons autogames, même si un certain taux d'autofécondation semble se maintenir dans les populations allogames. Des tendances analogues se retrouvent dans les données microsatellites obtenues sur des populations d'espèces allogames et autogames de betteraves (Viard *et al.*, données non publiées). Chez *Beta macrocarpa*, espèce autogame, la diversité génétique est considérablement réduite et les populations sont bien différenciées contrairement à celles de *B. maritima,* espèce allogame (tableau 3). Enfin, les taux d'autofécondation varient entre une allogamie quasi stricte pour *B. maritima* et une autogamie presque complète pour *B. macrocarpa.*

Chez le gastéropode d'eau douce, *Bulinus truncatus*, principal vecteur de schistosomes responsables des bilharzioses, une vaste étude a été menée sur des populations échantillonnées à une large échelle spatio-temporelle et analysées au moyen de marqueurs microsatellites. Elle a permis de bien caractériser le régime reproducteur de cette espèce, en particulier de quantifier son taux d'autofécondation et ses variations en fonction des traits d'histoire de vie du gastéropode (absence de phallus ou aphallie) et des modifications du milieu (Viard *et al.*, 1996; Viard *et al.* 1997a et b). Globalement, les populations de ce gastéropode présentent une faible hétérozygotie, un fort taux d'autofécondation, de nombreux déséquilibres de liaison entre locus microsatellites et sont très différenciées les unes des autres. L'ensemble de ces résultats indique que l'autogamie est le mode de reproduction courant de l'espèce et que les échanges migratoires entre populations sont limités (tableau 3). Par ailleurs, il n'existe pas de relation statistique entre le taux d'autofécondation et l'aphallie (Viard *et al.* 1996) ou le type d'habitat (Viard *et al.* 1997a). Cependant, la diversité génétique (nombre d'allèles et diversité

génique) est significativement plus forte dans les habitats permanents ou semi-permanents que dans les habitats temporaires, ce qui indique que les goulots d'étranglement sont plus importants pour les populations occupant ce dernier type d'habitat (Viard *et al.* 1997b).

Systèmes de reproduction et modalités évolutives des locus microsatellites

Aspects théoriques et modélisation

Il existe deux hypothèses sur le mécanisme générant les variations de taille des allèles des locus microsatellites. Soit elles proviennent d'erreurs de réplication de type "glissement" qui augmentent ou diminuent la longueur des allèles, soit elles sont dues à des recombinaisons entre chromosomes homologues. Selon le type de mécanisme impliqué, le mode de reproduction et notamment le taux de recombinaison qui lui est associé, n'auront pas le même impact sur la variabilité des microsatellites. Dans la première hypothèse, le système reproducteur devrait avoir peu d'influence sur ce paramètre alors que dans la seconde hypothèse, on attend une forte différence de variabilité entre population (ou espèce) sexuée et asexuée. Par ailleurs, les pressions de sélection qui peuvent agir sur la taille des allèles (allèles de grande taille ou différence de taille entre allèles homologues) devraient se manifester différemment selon que la population (l'espèce) est sexuée ou asexuée. En effet, tous les allèles peuvent se trouver appariés l'un à l'autre lors de la méiose des populations sexuées alors que la même paire d'allèles pourra être maintenue indéfiniment sans recombinaison dans les lignées clonales. Samadi *et al.* (1998a) ont analysé par simulation l'influence de la mutation, de la sélection et du système de reproduction (reproduction sexuée ou asexuée) sur la variabilité des locus microsatellites et selon les deux mécanismes qui peuvent la générer. Les principaux résultats de cette étude font apparaître que la sélection contre les allèles de taille différente est très efficace en populations panmictiques (sexuées) alors qu'elle a une influence plus limitée en populations clonales (asexuées) (figure 3). On attend donc une plus forte variance de taille d'allèles dans les populations asexuées que dans les populations sexuées.

Confrontation aux données empiriques

La variation de taille des allèles a été évaluée sur l'ensemble des organismes clonaux ou hermaphrodites pour lesquels nous disposions de données microsatellites, en prenant la différence de taille maximale pour l'espèce (tableau 1, Δ). Aucune relation nette entre la variation de taille d'allèles et le mode de reproduction (reproduction asexuée, parthénogenèse cyclique, hermaphrodisme) ne semble se dégager. Seules les espèces polyploï des paraissent avoir de grandes différences de taille d'allèles au sein de leurs populations. Cette difficulté à mettre en relation la longueur des locus microsatellites et le mode de reproduction est à rapprocher d'un travail de Amos (1999) où cet auteur indique que ce paramètre peut varier avec d'autres caractéristiques des espèces telles la taille de leurs populations ou l'homéothermie. La recherche de corrélations entre taille d'allèles et caractéristiques génétiques ou biologiques des populations nécessite de disposer d'un jeu de données conséquent et de pouvoir gérer habilement un certain nombre de biais liés à la stratégie d'utilisation des microsatellites dans les études populationnelles et à l'exploitation des données de la littérature.

Conclusion

L'utilisation des marqueurs microsatellites dans les études portant sur les systèmes de reproduction n'en est qu'à ses débuts. Les premiers travaux ont néanmoins montré tout l'intérêt de ces marqueurs pour caractériser les régimes reproducteurs pratiqués dans les populations naturelles et pour mieux quantifier l'impact des modes de reproduction sur la structure génétique des populations. Compte tenu de l'intérêt fondamental et appliqué du système de

reproduction en génétique et en dynamique des populations il est prévisible que les études utilisant les microsatellites sur des organismes clonaux ou pratiquant l'autofécondation se multiplient rapidement. L'augmentation du nombre de modèles biologiques à l'étude permettra de tester plus globalement les modèles théoriques liés à l'évolution des systèmes reproducteurs et de mieux appréhender les principales modifications de la structure génétique induites par ces derniers. Ces modifications semblent assez claires pour certains régimes reproducteurs comme l'autofécondation, dans la mesure où la structure génétique des populations d'organismes autogames est affectée de la même manière tant chez les végétaux que chez les animaux. Elles le sont beaucoup moins pour les organismes clonaux. Il est vraisemblable que les différences de structure génétique entre espèces asexuées dépendent beaucoup du degré réel de la clonalité dans les populations naturelles (sexualité résiduelle, coexistence de lignées sexuées et asexuées au sein d'un même taxon) mais aussi du type de mécanisme ayant conduit à l'émergence des taxons asexués à partir de leurs ancêtres sexués (hybridation, mutation, infection par un agent responsable d'une altération du régime de reproduction). L'analyse des relations génétiques entre lignées sexuées et asexuées à l'aide des microsatellites peut s'avérer d'un grand intérêt pour préciser ce mécanisme (Plantard *et al.*, 1998; Delmotte *et al.* en préparation). Enfin, l'influence du système de reproduction sur les modalités évolutives des locus microsatellites est encore bien mal comprise. Si les modèles de simulation ont fourni des attendus théoriques intéressants sur la variation de taille en fonction du mode de reproduction conjugué à d'autres facteurs, il existe trop peu de données empiriques pour les valider.

Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier F. Viard pour avoir mis à leur disposition des données originales non publiées sur le complexe d'espèces de betteraves sauvages.

Références bibliographiques

Amos, W. 1999. A comparative approach to the study of microsatellite evolution, p. 66-79. In D.B. Goldstein and C. Schlötterer (eds.), Microsatellites: evolution and applications. Oxford University Press.

Awadalla, P. & K. Ritland. 1997. Microsatellite variation and evolution in the *Mimulus guttatus* species complex with contrasting mating systems. Molecular Biology and Evolution 14:1023-1034.

Bucheli E., B. Gautschi & J. A. Shykoff. 1999. Isolation and characterisation of microsatellite loci in the anther smut fungus *Microbotryum violaceum*. Molecular Ecology 7 : 665-666

Bucheli E., B. Gautschi & J. A. Shykoff. 2000. Host-specific differentiation in the anther smut fungus *Microbotryum violaceum* as revealed by microsatellites. Journal of Evolutionary Biology 13 :188-198

Cavalli-Sforza, L.L. and A.W. Edwards. 1967. Phylogenetic analysis: models and estimation procedures. American Journal of Human Genetics 19:233-257.

Djè Y., Forcioli D., Ater M., Lefèbvre C. & Vekemans X. 1999. Assessing population genetic structure of sorghum landraces from North-western Morocco using allozyme and microsatellite markers. Theoritical and Applied Genetics 99 :157-163.

Delmotte F., Bucheli E. & Shykoff J. 1998. Host and parasite population structure in a plant pathogen system. Heredity 82: 300-308

Fuller, S.J., P. Chavigny, L. Lapchin, & F. Vanlerberghe-Masutti. 1999. Variation in clonal diversity in glasshouse infestations of the aphid, *Aphis gossypii* Glover in southern France. Molecular Ecology 8:1867-1877.

Gomez, A., C. Clabby, & G.R. Carvalho. 1998. Isolation and characterization of microsatellite loci in a cyclically parthenogenetic rotifer, *Brachionus plicatilis*. Molecular Ecology 7:1619-1621.

Gomez, A. & G.R. Carvalho. 2000. Sex, parthenogenesis and genetic structure of rotifers: microsatellite analysis of contemporary and resting egg bank populations. Molecular Ecology 9:203-214.

Haack, L., J.-C. Simon, J.P. Gauthier, M. Plantegenest, & C.A. Dedryver. Predominance of generalist clones in a cyclically parthenogenetic organism evidenced by combined demographic and genetic analyses. Molecular Ecology (soumis).

Hoare, K., R.N. Hughes, & C.J. Gliddon. 1998. Polymorphic microsatellite markers isolated from the Bryozoan *Cellephora hyalina* (L.). Molecular Ecology 7:355-356.

Kaltz O. & Shykoff J.A. 1999. Selfing versus outcrossing propensy of the fungal pathogen *Microbotryum violaceum* across *Silene latifolia* host plants. Journal of Evolutionary Biology 12 : 340-349.

Oliveira, R.P., N.E. Broude, A.M. Macedo, C.R. Cantor, & C.L. Smith. 1998. Probing the genetic population structure of *Trypanosoma cruzi* with polymorphic microsatellites. Proceedings of National Academy of Sciences of the USA 95:3776-3780.

Plantard, O., J.Y. Rasplus, G. Mondor, I. Le Clainche, & M. Solignac. 1998. *Wolbachia*-induced thelytoky in the rose gallwasp *Diplolepis spinosissimae* (Giraud) (Hymenoptera: Cynipidae), and its consequences on the genetic structure of its host. Proceedings of Royal Society of London Series B 265:1075-1080.

Ramachandran, S.R., L.W. Beukeboom, L. Gerace, N. Pavlovic, S. Carranza, & N.K. Michiels. 1997. Isolation and characterization of microsatellite loci from the planarian *Dugesia polychroa* (Schmidt) (Platyhelminthes: Tricladida). Molecular Ecology 6:389-391.

Reusch, T.B.H. 2000. Five microsatellite loci in eelgrass *Zostera marina* and test of cross-species amplification in *Z. noltii* and *Z. japonica*. Molecular Ecology 9 : 371-373

Reusch, T.B.H., W. T. Stam & J.L. Olsen. 2000. A microsatellite-based estimation of clonal diversity and population subdivision in *Zostera marina*, a marine flowering plant. Molecular Ecology 9 : 127-140.

Samadi, S., A. Estoup, & P. Jarne. 1998a. The influence of mutation, selection and reproductive systems on microsatellite variability: a simulation approach. Genetical Research (Cambridge) 71:213-222.

Samadi, S., E. Artiguebielle, A. Estoup, J.-P. Pointier, J.-F. Silvain, J. Heller, M.-L. Cariou, & P. Jarne. 1998b. Density and variability of dinucleotide microsatellites in the parthenogenetic polyploid snail *Melanoides tuberculata.* Molecular Ecology 7:1233-1236.

Samadi, S., J. Mavarez, J.-P. Pointier, B. Delay, & P. Jarne. 1999. Microsatellites and morphological analysis of population structure in the parthenogenetic freshwater snail *Melanoides tuberculata*: insights into creation of clonal variablity. Molecular Ecology 1141-1153.

Schilder, K., K. Heinze, R. Gross, & B. Hölldobler. 1999. Microsatellites reveal clonal structure of populations of the thelytokous ant *Plathythyrea punctata* (F. Smith) (Hymenoptera, Formicidae). Molecular Ecology 1497-1507.

Simon, J.-C., S. Baumann, P. Sunnucks, P.D.N. Hebert, J.S. Pierre, J.F. Le Gallic, & C.A. Dedryver. 1999. Reproductive mode and population genetic structure of the cereal aphid *Sitobion avenae* studied using phenotypic and microsatellite markers. Molecular Ecology 8:531-545.

Sunnucks, P., P.R. England, A.C. Taylor, & D.F. Hales. 1996. Microsatellite and chromosome evolution of parthenogenetic *Sitobion* aphids in Australia. Genetics 144:747-756.

Sunnucks, P., P.J. De Barro, G. Lushai, N. Maclean, & D.F. Hales. 1997. Genetic structure of an aphid studied using microsatellite: cyclic parthenogenesis, differentiated lineages, and host specialization. Molecular Ecology 6:1059-1073.

Vanlerberghe-Masutti, F., P. Chavigny, & S.J. Fuller. 1999. Characterization of microsatellite loci in the aphid species *Aphis gossypii* Glover. Molecular Ecology 8:693-695.

Viard, F., P. Bremond, R. Labbo, F. Justy, B. Delay, & P. Jarne. 1996. Microsatellites and the genetics of highly selfing populations in the freshwater snail *Bulinus truncatus*. Genetics 142:1237-1247.

Viard, F., F. Justy, & P. Jarne. 1997a. The influence of self-fertilization and population dynamics on the genetic structure of subdivided populations: a case study using microsatellite markers in the freshwater snail *Bulinus truncatus*. Evolution 51:1518-1528.

Viard, F., F. Justy, & P. Jarne. 1997b. Population dynamics inferred from temporal variation at microsatellite loci in the selfing snail *Bulinus truncatus*. Genetics 146:973-982.

Weir, B.S. & C.C. Cockerham. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. Evolution 38:1358-1370.

Wilson, A.C.C., P. Sunnucks, & D.F. Hales. 1999. Microevolution, low clonal diversity and genetic affinities of parthenogenetic *Sitobion* aphids in New Zealand. Molecular Ecology 8:1655-1666.

Tableau 1: Caractéristiques des microsatellites d'organismes sexués (S), clonaux (C), utilisant la multiplication végétative (MV), hermaphrodites (H), à parthénogenèse cyclique (PC) ou thélytoque (PT). Nl: nombre de locus microsatellites, Na: nombre d'allèles moyen par locus, H_o: hétérozygotie observée, Δ: variation de taille des allèles (moyenne de tous les locus).

Taxons	Référence	Nl	Na	H_o	Δ	Mode reproducteur
Protozoaires						
Trypanosoma cruzi	Oliveira *et al.* (1998)	8	9,1	0,49	33,8	C, diploï de
Plante marine						
Zostera marina	Reusch (2000)	6	4,7	0,5	24,4	S+MV, diploï de
Bryozoaires						
Cristatella mucedo	Freeland *et al.* (1998)	10	15,4	0,14	15,4	C, diploï de
Celleporella hyalina	Hoare *et al.* (1998)	6	8,3	0,33	45,7	C, diploï de
Rotifères						
Brachionus plicatilis	Gomez *et al.* (1998)	7	4,9	0,48	26,6	PC, diploï de
Plathelminthes						
Dugesia polychroa	Ramachandran *et al.* (1997)	8	14,9	0,32	128,3	H+PT, polyploï de
Insectes						
Homoptères						
Aphis gossypii	Vanlerberghe *et al.* (1999)	8	7,0	0,45	25,0	PT, diploï de
Rhopalosiphum padi	Delmotte *et al.* (non publié)	6	11,8	0,72	26,0	PC+PT, diploï de
Sitobion avenae	Simon *et al.* (1999)	5	8,2	0,57	31,2	PC+PT, diploï de
Sitobion miscanthi	Wilson *et al.* (1999)	12	5,2	0,68	28	PT, diploï de
Hyménoptères						
Diplolepis spinosissimae	Plantard *et al.* (1998)	3	5,0		14,7	S+PT, haplodiploï de
Platythyrea punctata	Schilder *et al.* (1999)	5	2,8	0,51	9,6	PT ,diploï de
Gastéropodes						
Bulinus truncatus	Viard *et al.* (1996)	4	4,7	0,11	85,3	H, allotétraploï de
Melanoides tuberculata	Samadi *et al.* (1998b)	3	40	?	88,3	H+PT, polyploï de

Tableau 2: Influence du mode de reproduction chez des organismes (pucerons et cynipides) au sein desquels coexistent des populations sexuées (ou à parthénogenèse cyclique) et asexuées (parthénogenèse obligatoire). N_{ind}: nombre d'individus analysés, $N_{géno}$: nombre de génotypes détectés, Na: nombre d'allèles moyen, H_o: hétérozygotie observée, HW: test de l'équilibre de Hardy-Weinberg, Déficit et Excès H: tests sur les déficits ou excès en hétérozygotes, DL: test de déséquilibre de liaison (paires de locus en déséquilibre/paires en équilibre).

Taxons	N_{ind}	$N_{géno}$	Na	H_o	HW	Déficit H	Excès H	DL
Homoptères								
Rhopalosiphum padi[1]								
Parthénogenèse cyclique (sexuée)	178	176	11,5	0,59	s	s	ns	1/15
Parthénogenèse obligatoire (asexuée)	139	53	6,7	0,85	s	ns	s	9/15
Sitobion avenae[2]								
Parthénogenèse cyclique (sexuée)	50	34	5,8	0,41	s	s	ns	1/10
Parthénogenèse obligatoire (asexuée)	40	25	6,2	0,59	s	ns	s	7/10
Hyménoptère								
Diplolepis spinosissimae[3]								
Reproduction sexuée	57	26-46	3,0	0,87	ns	ns	ns	2/6
Parthénogenèse thélytoque	178	1-3	1,3	0,01	s	s	ns	---

[1] Delmotte *et al.* (données non publiées), [2] Simon *et al.* (1999), [3] Plantard *et al.* (1998)

Tableau 3: Caractéristiques génétiques des populations d'un champignon pathogène (*Microbotryum violaceum)*, d'une céréale cultivée autogame (*Sorghum bicolor*, Poacées), de deux complexes plantes allo-autogames (*Mimulus guttatus*, Scrofulariacées et *Beta macrocarpa* / *B. vulgaris maritima*, Chénopodiacées), d'un gastéropode d'eau douce hermaphrodite (*Bulinus truncatus*) déduites de l'analyse de locus microsatellites. N: nombre d'individus, Nl: nombre de locus microsatellites, Na: nombre d'allèles moyen, H_e: diversité génique, H_o: hétérozygotie observée, f: estimateur du F_{IS} (Weir & Cockerham, 1984), S: taux d'autofécondation [f=S/(2-S)], θ: estimateur du F_{ST} (Weir & Cockerham,1984).

Taxons	N	Nl	Na	H_e	H_o	f	S	θ	Mode reproducteur
Microbotryum violaceum[1]	120	5	2.2	0.14	0.07	0.57	0.73	0.75	autogame
Sorghum bicolor[2]	300	3	6	0.72	0.27	0.7	0.82	0.14	autogame
Mimulus[3]									
M. guttatus	42	6	3,9	0,50	0,34	0,33	0,49	0,32	allogame
M. nasutus	38	6	4,0	0,49	0,41	0,28	0,44	---	autogame facultatif
M. laciniatus	36	6	2,4	0,33	0,10	0,80	0,88	0,60	autogame
M. depauperatus	34	6	2,7	0,27	0,10	0,67	0,80	---	autogame
Beta[4]									
B. macrocarpa	90	6	1,8	0,19	0,04	0,78	0,92	0,35	autogame
B. v. maritima	163	6	6,0	0,61	0,58	0,01	0,02	0,05	allogame
Bulinus truncatus									
Niger[5]	399	4	4,7	0,52	0,11	0,87	0,93	0,42	hermaphrodite
Afrique de l'Ouest[6]	1210	4	4,2	0,36	0,05	0,88	0,94	0,54	hermaphrodite

[1] Bucheli *et al*. (2000), [2] Djè *et al.* (1999), [3] Awadalla & Ritland (1997), [4] Viard *et al*. (données non publiées), [5] Viard *et al*. (1996), [6] Viard *et al.* (1997a)

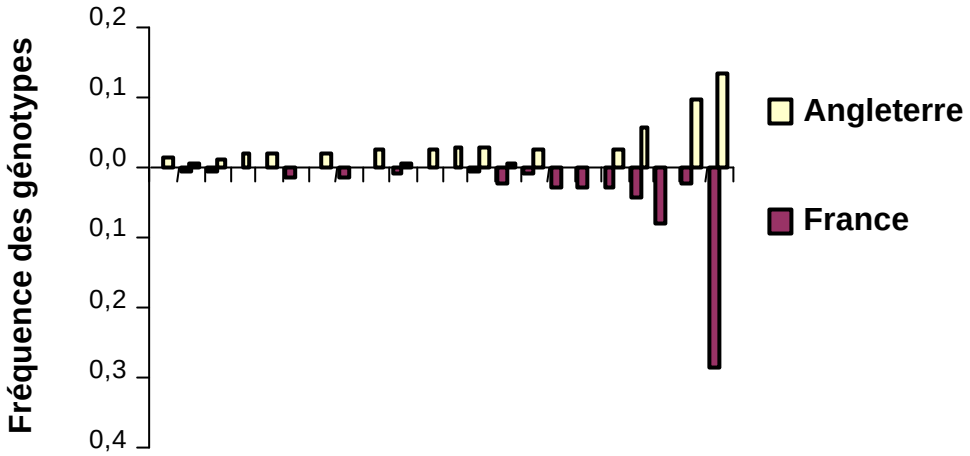

Figure 1: Fréquence des génotypes du puceron *Sitobion avenae* détectés, par les marqueurs microsatellites, en nombre de copies supérieur à 10, en France et en Angleterre.

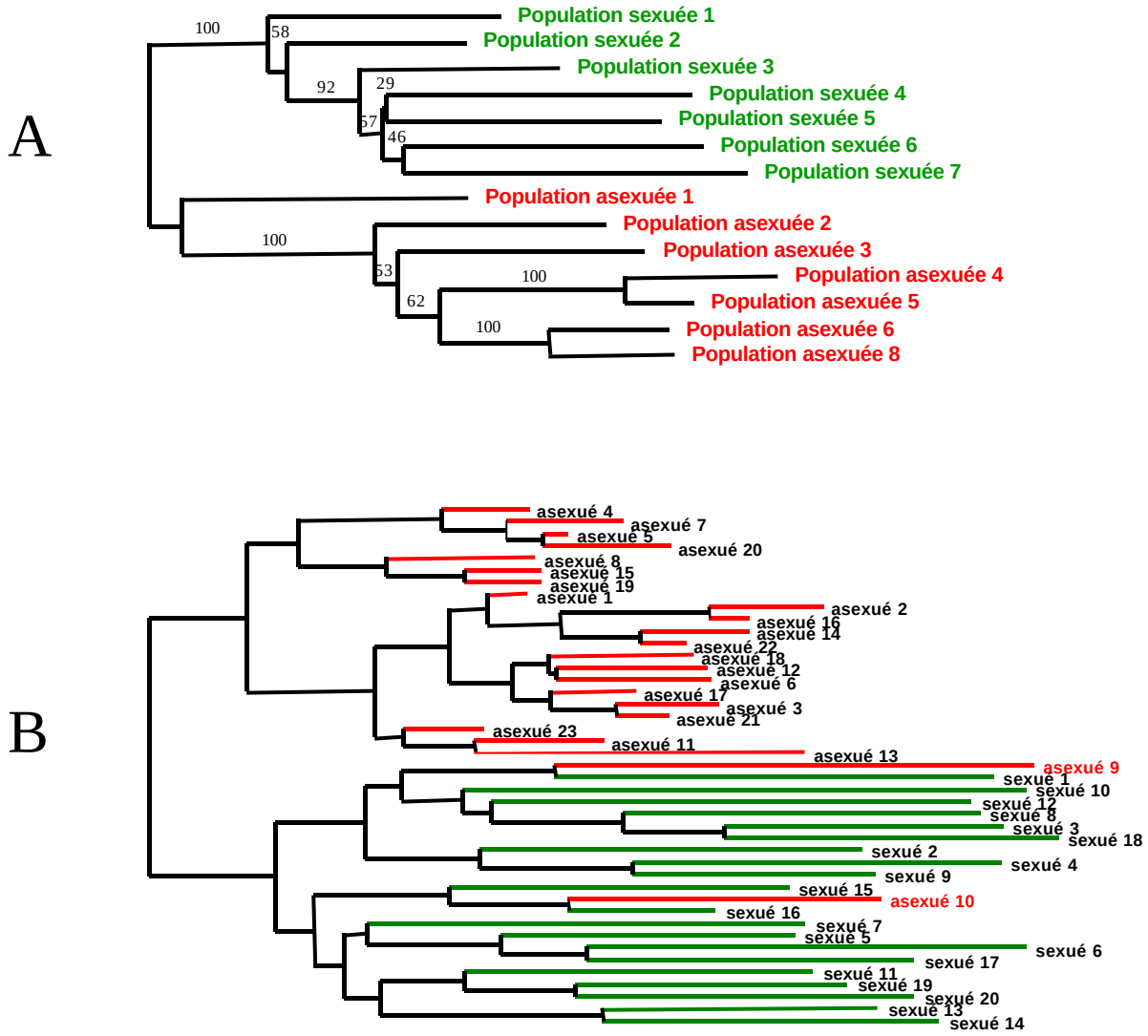

Figure 2: **A**. Arbre des populations sexuées (parthénogenèse cyclique) et asexuées (parthénogenèse obligatoire) du puceron *Rhopalosiphum padi* reconstruit par Neighbour Joining sur les distances de Cavalli-Sforza & Edwards (1967). **B**. Arbre des génotypes (clones) sexués et asexués de *R. padi* reconstruit par Neighbour Joining sur les distance des allèles partagés. Les génotypes asexués 9 et 10 se groupent dans le cluster des génotypes sexués, suggérant une perte plus récente de la sexualité chez ces deux lignées. D'après Delmotte *et al*. (en préparation).

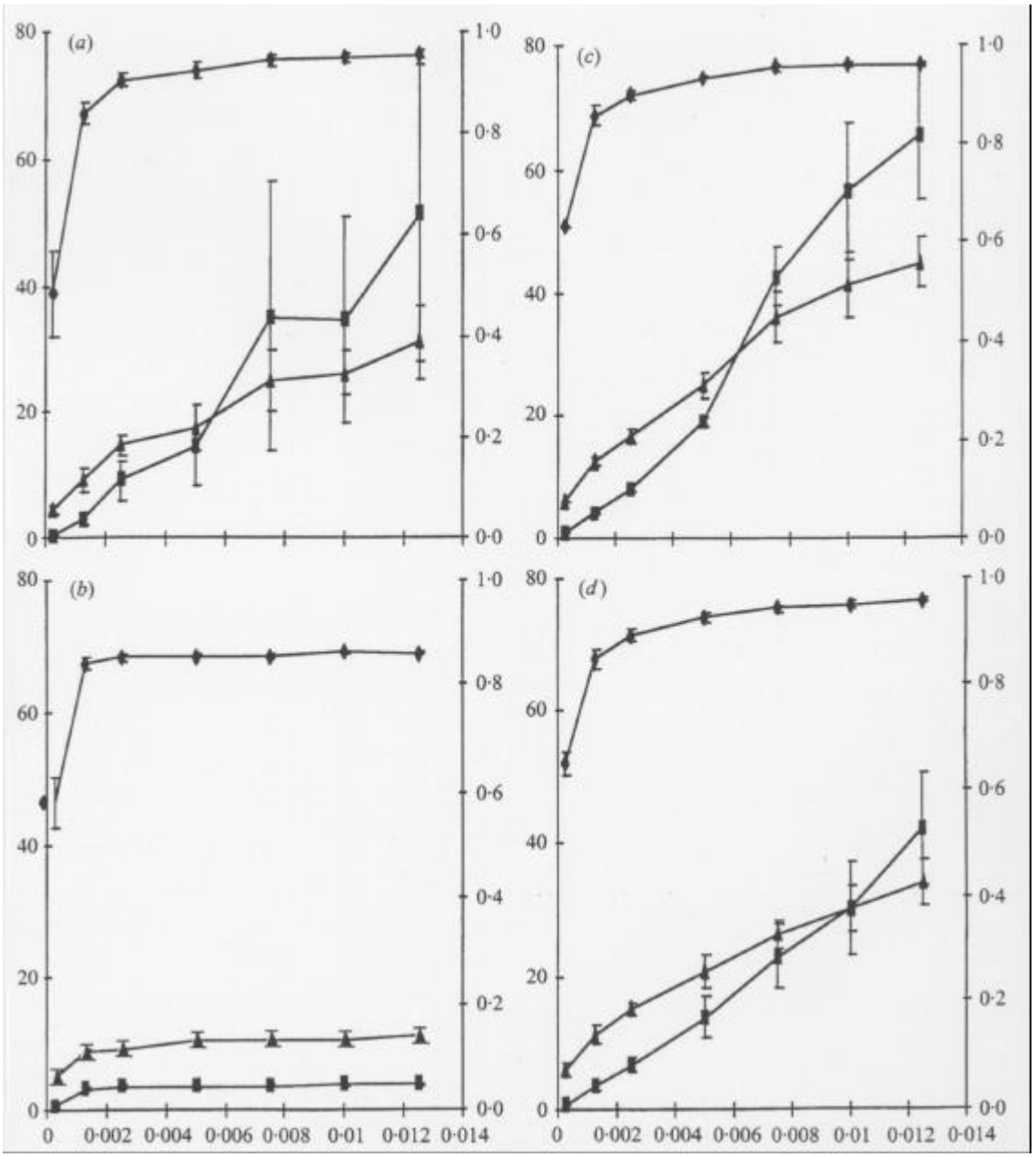

Figure 3: Simulation de l'influence du mode de reproduction avec ou sans sélection sur la diversité génique (ordonnées de droite; ◆), la variance de taille des allèles (ordonnées de gauche; ■) et du nombre d'allèles (ordonnées de droite; ▲) pour des taux de mutation variables (axe des abscisses) et pour des locus microsatellites évoluant selon un mécanisme de glissement de réplication non biaisé. a) Reproduction sexuée panmictique sans sélection. b) Reproduction sexuée panmictique et sélection contre les différences de taille d'allèles. c) Reproduction clonale sans sélection. d) Reproduction clonale et sélection contre les différences de taille d'allèles. D'après Samadi *et al*. (1998a).