

Compte rendu de la séance ordinaire de la Société Botanique de France au Muséum d'Histoire Naturelle de Paris, amphithéâtre de Paléontologie du 14 décembre 2007.

La séance est ouverte à 13 h 45 par Mme Élisabeth Dodinet, Secrétaire générale.

Mme Dodinet accueille le Professeur Raffaele Testolin, Directeur du Département Sciences Végétales et président de l'Institut de Génétique Appliquée de l'université d'UDINE (ITALIE), et Mme Anne-Marie Hirsch pour une conférence intitulée :

« Systématique des Actinidiaceae : apports de la systématique, de la biologie moléculaire et des biotechnologies ».

Pour des impératifs des conférenciers, exceptionnellement, les informations sur la Société seront données entre les conférences.

Mme A.-M. Hirsch présente d'abord les recherches conduites en France, notamment sur l'introduction du genre *Actinidia* au Muséum (Herbier et Jardin).

1) Introduction du genre *Actinidia* au Museum

L'herbier de 1740

C'est le père jésuite Pierre Le Chéron d'Incarville (1), ancien étudiant botaniste de Bernard de Jussieu qui l'a introduit dans les années 1740. D'Incarville a passé 17 ans, de 1740 à 1757, à la cour impériale de l'empereur de Chine et a récolté un grand nombre de spécimens botaniques, 140 espèces dans la région de Pékin et 144 dans la région de Canton, dont le *Yangtao*, récolté à Macao, ou groseille chinoise qui est le nom chinois du kiwi.

Mme Anne-Marie Hirsch fait circuler un classeur pour permettre aux membres présents de voir ce qui restait en 1990 du *Yangtao* de d'Incarville à l'herbier du Museum ainsi que l'étiquette manuscrite détaillée qui l'accompagnait. Elle y a ajouté la vingtaine d'espèces du genre *Actinidia* qui se trouvaient éparses dans l'herbier général en 1990. Elle en profite pour exprimer toute sa reconnaissance à M. Jolinon, responsable à l'époque de l'Herbier, ainsi qu'à Gérard Aymonin pour l'aide précieuse qu'ils lui ont apportée dans cette recherche. L'herbier chinois du Père d'Incarville faisait partie des biens propres de Bernard de Jussieu et n'est devenu propriété du Museum que par legs d'Adrien de Jussieu. De fait, les échantillons qu'il contenait, dont *Yangtao*, sont restés oubliés pendant près de 150 ans, et c'est Franchet (2) qui les redécouvrit et les inventoria en 1882. Cela explique pourquoi la plante-type du genre *Actinidia* ne se trouve pas à l'herbier du Museum, mais à celui de Kew Gardens.

Ce n'est en effet qu'après la fin de la guerre de l'opium (1840-1842) que Robert Fortune fut envoyé par la Société d'Horticulture de Londres en Chine et y récolta le *Yangtao* qui fut étudié par Planchon (3) qui décrit en 1847 une nouvelle espèce : *A. chinensis* Planchon.

Domestication du genre *Actinidia* hors de Chine et introduction des plants d'*Actinidia* au Jardin alpin et botanique du Museum

Mme Anne-Marie Hirsch présente un tableau de la domestication, et une planche représentant l'introduction de la plante au Museum.

Les premières boutures envoyées au professeur Guillaumin, au service des cultures du Museum, étaient arrivées mourantes et n'avaient pu être exploitées. Quelques temps après, M. Chenault, pépiniériste à Orléans, envoyait au Museum deux plants vigoureux dénommés *Actinidia chinensis* Planchon qui ont été plantés contre un mur exposé au midi dans le carré des couches du Jardin des Plantes, l'actuel Jardin Alpin. Chevalier (4) donne la date de la première fructification : 1937. Cette première fructification aurait été anormalement tardive du fait d'une taille trop sévère des pieds. Guillaumin et Guinet (5) signalent en 1941 l'exceptionnelle résistance aux gels d'hiver (- 15° à - 20°C) des plants d'*Actinidia*, ce qui permet de confirmer qu'en 1941 ils étaient âgés de près de vingt ans. Des boutures ont été faites à partir de ces plants et données au Jardin du Luxembourg et à Orsay, où elles ont été

plantées au pied du laboratoire de Georges Ducreux.

La conférencière présente ensuite une description de la plante (dioïque) et de ses fleurs, en soulignant la structure radiale du fruit.

2) Historique rapide de la taxonomie traditionnelle du genre *Actinidia*

Le nom d'*Actinidia* a été donné par Lindley en 1836. Il provient du terme grec *Actis* qui signifie rayon. Le genre *Actinidia* a été placé dans l'ordre des Théales, rattaché à la famille des Dilléniacées, puis des Actinidiacées (Van Thiegem 1899,6). L'étude systématique des différentes espèces dont le nombre n'a cessé de grandir avec le temps est rendue extrêmement difficile par les incessants remaniements dont le genre a fait l'objet. La systématique moléculaire qu'exposera le professeur R. Testolin a, dans ce domaine, apporté des éclaircissements très utiles.

Au plan de la nomenclature, il faut retenir que la terminologie première, *A. chinensis* Planchon, ne distinguait pas les kiwis à fruits glabres de ceux à fruits poilus. Aussi Chevalier (4) (1940) avait proposé le nom d'*A. chinensis* Planchon, variété *deliciosa* Chev. pour les kiwis à fruits poilus, réservant celui d'*A. chinensis* Planchon pour les kiwis à fruits glabres. Cette appellation a été simplifiée par Liang et Ferguson en 1986 (7) avec *A. chinensis* pour les kiwis à fruits glabres et *A. deliciosa* pour les kiwis à fruits poilus.

La conférencière présente ensuite une planche sur la chimiotaxonomie du genre. Deux coumarines (la fraxine et l'esculine) sont présentes à la fois dans *A. chinensis* et *A. deliciosa*, mais absentes des dix autres taxons étudiés (8).

3) Recherches conduites en France sur le genre *Actinidia*

La période 1940-1945

Au cours de ces années noires, période pendant laquelle le pays était coupé de sa source d'agrumes, donc de vitamine C, le fruit d'*Actinidia chinensis* a montré tout son intérêt. Mmes L. Randouin et J. Boisselot (9) ont, les premières, déterminé sa richesse en vitamine C (300 mg pour 100 g de poids frais). M. Franquet (10) en fait l'analyse glucidique. Souèges (11) et Crété (12) se sont intéressés à l'étude de l'embryogénèse du genre *Actinidia*. Crété a signalé un phénomène fréquent de polyembryonie.

Cette période s'achève sur les travaux remarquables de M. Georges Rizet (13), membre de notre Société et récemment disparu. M. Rizet rapporta des observations essentielles concernant tout d'abord le dioïsme, qui seront prises en compte dans des recherches ultérieures. M. Rizet a mis en évidence qu'*Actinidia chinensis* est une plante dioïque physiologiquement, mais qu'il s'agit d'un dioïsme très particulier. Chez les fleurs mâles, le développement du pistil s'arrête rapidement, les stigmates restant rudimentaires. Chez les fleurs femelles, on observe de nombreuses étamines, mais le développement des grains de pollen s'arrête après la méiose. Pour M. Rizet, la dioecie du genre *Actinidia* serait un caractère hermaphrodite ancestral et le genre *Actinidia* serait un terme de passage entre androdioïsme et dioïsme. Enfin, il pense que pour avoir une idée exacte de la distribution des sexes dans le genre *Actinidia*, il faudrait étudier de nombreux individus et ne pas se limiter aux deux plants du Museum. Puis il se demande si le genre *Actinidia* n'est pas un genre polyploïde. Il note l'aspect particulier des chromosomes qui sont très nombreux et punctiformes. Il en compte cent soixante par cellule et ne trouve pas d'hétérochromosomes (les chromosomes X et Y). Il suggère de faire une étude caryosystématique du genre.

Effectivement, les études ultérieures ont montré que le genre *Actinidia* était un genre polyploïde. *Actinidia chinensis* Planchon est une espèce hexaploïde où le nombre chromosomique n est égal à 29, et compte donc $6 \times 29 = 174$ chromosomes, chiffre voisin de celui trouvé par Rizet.

La période de 1970 à 2003. Apports des biotechnologies à l'étude de la systématique du genre *Actinidia*

1 Apports de la cytométrie de flux :

L'étude de la polyploidie dans le genre *Actinidia* a été réalisée en collaboration avec le laboratoire de cytométrie de flux de Gif-sur-Yvette dirigé par Spencer Brown. La méthode utilisée permettait de remplacer le comptage chromosomique très laborieux dans le genre *Actinidia* par la mesure de l'ADN 2C des cellules. La correspondance des résultats obtenus en cytométrie de flux et le comptage chromosomique qui avait été réalisé sur des taxons déjà étudiés a été très bonne, ce qui a permis de caractériser une dizaine de taxons dont le niveau de ploïdie n'était pas connu; cette étude a aussi montré qu'une même espèce pouvait présenter plusieurs niveaux de ploïdie comme *A. chinensis* (2n et 4n), et *A. arguta* (2n, 4n et 6n) (14).

2) Apports de la technique de culture *in vitro* et des études de terrains à l'étude de la dioecie :

- Développement *in vitro* des ovaires abortifs des fleurs mâles du plant mâle de l'*Actinidia* du Jardin

Une publication du Pr. Durand d'Orléans et de ses élèves Champault et Kahlem (15) est parue en 1972 et concernait une plante dioïque très commune, la Mercuriale. Les auteurs démontrèrent que l'expression du sexe était sous le contrôle des phytohormones et plus particulièrement du rapport auxines/cytokinines endogènes. Je me suis demandée si en modifiant ce rapport par la culture *in vitro*, on ne pourrait pas déréprimer le programme opposé au programme organogénétique attendu, et cela a très bien fonctionné, mais dans un seul sens seulement. On a pu obtenir le développement des ovaires abortifs du plant mâle, mais on n'a jamais réussi à rendre fonctionnelles les étamines stériles du plant femelle (16).

À l'époque, nous avions de fréquents contacts avec Patrice Blanchet, du lycée Agricole du Tarn et Garonne, qui s'intéressait aux résultats de la recherche fondamentale conduite sur le kiwi. Ralph Ellis, de la Coopérative Fruitière de Labatut, et Patrice Blanchet nous signalent en 1985 un plant mâle producteur autofertile repéré dans un verger du Sud-Ouest. Alan Seal en Nouvelle Zélande en signale également un en 1987. D'autres ont également été trouvés en Italie, notamment à Udine. R. Ellis et P. Blanchet conduisent une étude quantitative de la floraison en verger dans le but d'analyser les différents stades de développement de l'ovaire sur le terrain (17).

En voici les principaux résultats: sur les plants mâles adultes porteurs de plus de trois mille fleurs, le pourcentage de développement de l'ovaire ne dépasse pas 15 %. Par contre, en étudiant cent neuf plants âgés de trois à cinq ans, ce pourcentage est bien plus élevé. Sur ce lot de cent neuf plants, vingt-deux plants n'avaient pas encore fleuri, 54 % sont de pures femelles avec un pollen stérile, 20 % des pieds mâles avec un ovaire abortif, mais on compte 7 % de mâles avec un léger développement de l'ovaire et 16 % avec un large développement de l'ovaire.

Cela veut dire que chez les plants de trois à cinq ans, l'expression du programme femelle dans les plants mâles est importante, alors qu'on n'observe pas d'expression du programme mâle dans les fleurs femelles chez les plants femelles de même âge.

b) Mise au point d'un test peroxydasique de détection précoce du sexe dans les plants de kiwi

Des différences au plan des peroxydases entre plantes mâles et femelles de kiwi avaient été mises en évidence par culture *in vitro* (18) puis dans le cadre d'un contrat de recherches européen sur le kiwi coordonné par René Monet, de l'INRA de Bordeaux, un test non destructif de détection précoce du sexe réalisé *in vitro* a été proposé (19).

3) Apport des techniques de biotechnologie à l'étude de l'hybridation interspécifique dans le

genre *Actinidia*

Le but de l'étude était de tester les compatibilités entre espèces en fonction de la taxonomie traditionnelle qui classe les différentes espèces du genre *Actinidia* en Sections et Séries théoriquement incompatibles. Nous nous sommes proposé de tester la compatibilité ou l'incompatibilité des différentes espèces à notre disposition. Après la mise au point d'un protocole de préparation et de purification de protoplastes de différentes espèces appartenant au genre *Actinidia* (20) suivi de l'obtention de microcals (21), une technique de fusion entre protoplastes issus de différentes espèces du genre a été pratiquée par X.G. Xiao, grâce à la coopération de G. Ducreux, du laboratoire d'Orsay, qui a mis à notre disposition l'appareillage nécessaire. Cette méthode longue et délicate illustrée par deux planches présentée par la conférencière a permis des fusions entre deux espèces théoriquement incompatibles si on se base sur la taxonomie traditionnelle : c'est celle entre *A. kolomikta* (section *Leiocarpae*, Série *Lamellatae*) x *A. polygama* (section *Solidae*) (22).

La deuxième technique utilisée a été le sauvetage *in vitro* d'embryons hybrides (23). Cette méthode est beaucoup plus rapide que la fusion de protoplastes et permet de mettre en essai un grand nombre de croisements. Il est intéressant de lui associer la cytométrie de flux pour vérifier le niveau de ploïdie des espèces parentales et de tester celui de la descendance. Nous avons mis au point des séquences de milieux de culture pour remplacer l'albumen de l'embryon hybride, souvent inhibiteur de son développement, lorsque l'incubation *in vitro* se fait à un stade embryonnaire précoce (stade globulaire ou stade cœur). Nous avons aussi mis au point un milieu de culture très simple, dépourvu de toute hormone de croissance, et qui permet un développement rapide et complet des embryons hybrides interspécifiques ayant atteint le stade "torpille", celui où se mettent en place les ébauches cotylédonaire. Cette méthode a pu servir utilement de préliminaire à la discussion comparative entre taxonomie traditionnelle, et phylogénie moléculaire du genre *Actinidia*, que va nous exposer R. Testolin.

Une bibliographie est proposée en annexe 1.

Mme Anne-Marie Hirsch passe alors la parole, pour la suite de la conférence, à M. le Professeur Raffaele Testolin pour présenter l'apport de la génétique et de la biologie moléculaire à la taxonomie du genre *Actinidia* et à la compréhension de la dioecie. Le conférencier sollicite l'indulgence des membres pour son français.

Le genre *Actinidia* et sa distribution géographique

Le conférencier présente d'abord la distribution du genre. Le genre *Actinidia* comprend soixante-seize espèces et près de cent vingt taxa (Ferguson et Huang 2007) (1). Le genre s'étend entre les 50° et le 4° parallèles nord ou à proximité, avec environ deux tiers des espèces vivant dans les zones tempérées et un tiers de sempervirentes qui vivent dans les régions subtropicales.

La plupart des espèces ont leur lieu d'origine en Chine ; cependant, quelques espèces se retrouvent à l'extérieur de la Chine, dans la péninsule russe de Sakhaline, en Corée et au Japon, et vers l'est, sur le plateau du Tibet et dans les montagnes de l'Himalaya indien vers l'ouest et au Vietnam, dans les îles de Sumatra et dans celles de Java au sud. La distribution verticale est également très large, allant du niveau de la mer jusqu'à 3800 m. (Huang et Ferguson 2007, sous presse) (2).

Le conférencier présente ensuite un ensemble de vues prises en Chine centrale, dans la province du Hubei, près de Xixia, pour illustrer l'environnement et les paysages caractéristiques des milieux des différentes espèces du genre.

La place systématique des *Actinidia* a toujours été une question ouverte depuis que le genre a été décrit et nommé par Lindley en 1836. La position a varié encore récemment entre les Theales (Cronquist 1981), les Actinidiales (Takhtajan 1987), les Ericales (Dahlgren 1989) et

de nouveau les Theales (Thorne 1992). Une discussion complète des positions peut être consultée dans l'article de C.M. Morton *et al.* (1996) (3).

L'intégrité du genre est en revanche plus constante, en raison de la disposition typique rayonnante des styles (*actis* en grec veut dire rayon), qui permet l'identification immédiate des espèces appartenant à ce genre. Un autre caractère typique du genre est la dioecie, avec des plantes mâles et femelles présentes dans toutes les espèces du genre.

La richesse des espèces

Une incertitude règne sur le point de savoir si la richesse des espèces qui caractérise le genre est la conséquence d'une longue évolution et de l'adaptation à un large éventail d'environnements géographiques et climatiques ou l'artefact de ce que l'on appelle les *splitters* de l'école qui a dominé la société botanique chinoise au cours du dernier siècle, ou éventuellement une combinaison des deux. La question n'est pas facile à trancher, car le genre présente deux caractères contrastés. En effet, *Actinidia* semble être un genre ancien ; néanmoins, la plupart des espèces peuvent encore largement se croiser entre elles comme cela a été démontré par un vaste programme de croisements interspécifiques expérimentaux réalisés au cours des dernières années (Hirsch *et al.* 2001) (4).

Clés traditionnelles pour l'identification des espèces et leur regroupement

Le conférencier présente ensuite la clé de classement actuel et les caractères discriminants. Dans l'histoire de la systématique de ce genre, les espèces d'*Actinidia* ont été classées selon plusieurs caractères clés, tels que :

- feuilles (et pousses et fruits) glabres ou poilues ;
- présence ou absence de lenticelles sur la surface des fruits ;
- moelle lamellée ou non lamellée (solide) ;
- poils simples ou étoilés.

D'autres caractères ont parfois été pris en considération, et depuis abandonnés ; c'est le cas du degré de pilosité, des fleurs solitaires ou en cymes, ou de la forme de l'ovaire. On peut remarquer une curiosité: le type de l'inflorescence (solitaire ou composée) aurait conduit à la séparation des mâles et des femelles dans la plupart des espèces, étant donné que la plupart des génotypes femelles portent des fleurs simples, alors que les mâles portent principalement des fleurs en cymes de trois fleurs ou plus.

Actuellement, la subdivision du genre, selon Li (1952)(5), complétée par Liang (1984)(6) est la suivante :

A1			Feuilles glabres	
	B1		Fruit sans lenticelles	Sect. <i>Leiocarpae</i>
		C1	Moelle lamellée	Ser. <i>Lamellatae</i>
		C2	Moelle non lamellée (solide)	Ser. <i>Solidae</i>
	B2		Fruit avec lenticelles	Sect. <i>Maculatae</i>
A2			Feuilles et branches poilées	
	D1		Poils rêches et simples	Sect. <i>Strigosae</i>
	D2		Poils mous et étoilés sous les feuilles	Sect. <i>Stellatae</i>
		E1	Poils persistants	Ser. <i>Perfectae</i>
		E2	Poils (partiellement) décidues	Ser. <i>Imperfectae</i>

Cette subdivision du genre présente des inconvénients sérieux, notamment, pour les principaux :

- a) - La moelle non lamellée a également été trouvée dans plusieurs espèces en dehors de *Solidae* ;
- b) - Les poils rêches et simples sont le seul caractère commun aux espèces de la section *Strigosae*, qui manque d'autres caractéristiques communes et dont les espèces sont géographiquement très dispersées ;

- c) - Les poils étoilés ne sont pas représentatifs de toutes les espèces incluses dans la série *Stellatae*. Par conséquent, les séries *Perfectae* et *Imperfectae* ne sont pas clairement définies.

Ces incohérences ont été confirmées par les premières analyses moléculaires qui ne confirment pas les caractères utilisés pour produire cette clé, à l'exception de l'absence de pilosité qui sépare la section *Leiocarpae* des autres groupes.

L'analyse moléculaire a révélé d'autres éléments intéressants, mais avant d'en détailler les données, le conférencier présente un bref exposé sur la taxonomie moléculaire et sur la reconstruction systématique basée sur les méthodes de parcimonie.

La taxonomie traditionnelle comparée à la taxonomie moléculaire

Une variation phénotypique qui est la variation de caractères que nous utilisons pour classer les individus (par exemple la couleur du pétale), est déterminée par la variation des séquences d'ADN qui contrôlent ce trait. Longtemps, l'analyse de l'ADN a été difficilement accessible, ce qui constituait un frein à son développement et la taxonomie traditionnelle a été privilégiée par les chercheurs. Aujourd'hui, ces techniques sont accessibles à tous les chercheurs.

Un taxonomiste traditionnel travaillant avec des traits phénotypiques rencontre deux graves inconvénients dans sa tentative de classification des espèces et dans la détermination de leur évolution, à savoir :

- l'absence de relation linéaire entre l'ampleur des divergences entre les traits morphologiques ne se traduit pas forcément par une grande différence au niveau de l'ADN,
- ce que nous pouvons voir en observant le phénotype n'est qu'une partie des différences qui distinguent deux individus au niveau de l'ADN. Il y a des différences dans la séquence de l'ADN qui ne se traduisent pas par des différences morphologiques.

Les données moléculaires peuvent aider à comprendre comment les taxa ont évolué, ce qui permet à son tour de mettre en place une taxonomie qui est en quelque sorte le miroir de l'évolution elle-même.

Outils moléculaires pour enquêter sur la taxonomie.

Le conférencier présente, à titre d'exemple pour éclairer l'apport de l'analyse moléculaire, un alignement des séquences, montrant la même séquence d'ADN dans sept taxa différents du genre *Actinidia*. La séquence est partie de la séquence *matK*, une séquence d'un gène chloroplastique, souvent utilisé dans les études taxonomiques.

Il fait observer deux types de différences :

- les substitutions nucléotidiques, où une base est remplacée par une autre ;
- des *indels*, c'est-à-dire les insertions ou délétions de quelques bases.

La différence entre les deux ensembles d'espèces qui ont ou n'ont pas cette séquence signifie soit que la séquence a été acquise par un ensemble de taxa, ou que la même séquence a été perdue par l'autre ensemble de taxa.

Il est évident que l'augmentation du nombre de différences entre deux taxa laisse penser que les deux taxa sont éloignés l'un de l'autre d'un point de vue évolutif, et la taxonomie doit tenir compte de cet état de fait. Par rapport à un progéniteur ancestral, les taxa qui partagent des mutations communes sont plus proches les uns des autres d'un point de vue taxonomique comparé que des taxa qui ne partagent pas ces mutations.

Cependant, les reconstructions moléculaires, présentent encore des points faibles, à savoir que:

- les événements multiples de la même mutation ne peuvent être reconnus ;
- les mutations de retour ne peuvent pas non plus être reconnues ;

- dans la plupart des cas, un ancêtre (ancien ADN) n'est pas disponible pour déterminer la séquence ancestrale qui devrait servir comme séquence de référence.

Les séquences utilisées dans la taxonomie.

Le génome d'une plante est composé d'un certain nombre de séquences codantes et de séquences non codantes, qui évoluent à un rythme différent. Les séquences de gènes codants, qui contrôlent les parcours métaboliques essentiels d'un organisme vivant mutent lentement et sont donc plus utiles dans la reconstruction taxonomique aux niveaux hiérarchiques hauts (familles, ordres ...). D'autres séquences non codantes, n'étant pas essentielles à l'organisme, mutent plus vite et peuvent être utilisées pour les reconstitutions aux niveaux hiérarchiques plus bas dans la taxonomie, c'est-à-dire au niveau du genre, de l'espèce, voire même à des niveaux plus bas.

Les taxonomistes moléculaires ont passé la plupart de leur temps au cours des deux dernières décennies à choisir les séquences les plus appropriées pour les différents niveaux hiérarchiques et à l'heure actuelle nous avons à notre disposition des séquences adaptées à tous les niveaux hiérarchiques que nous avons intérêt à explorer (Soltis et *al.* 1992) (7). Le consortium de code-barres de la vie a sélectionné des séquences d'ADN capables de différencier les espèces individuelles de l'ensemble du règne végétal (8).

Le Génome des plantes.

Les plantes ont trois génomes, le génome nucléaire, le génome chloroplastique et le génome mitochondrial.

La première et la principale différence se situe entre le génome nucléaire et les deux autres. Le génome nucléaire subit une recombinaison au cours de la phase reproductive, ce qui signifie qu'à chaque génération, la moitié du génome est transmise par la mère et l'autre moitié par le père. Par différence, les deux autres génomes, appelés ensemble génomes cytoplasmiques, sont hérités d'un seul parent, généralement de la mère dans les angiospermes (9).

Cela signifie que, lorsque nous souhaitons examiner le degré de mutations qui a eu lieu dans un génome nucléaire au cours de son évolution, l'analyse est biaisée par la recombinaison qui a lieu parmi les chromosomes homologues au cours de la reproduction sexuée. En revanche, si l'on regarde l'un des génomes cytoplasmiques, on voit uniquement les variations causées par des mutations dans la séquence d'ADN qui ont été transmises au cours des générations, et ce en raison de l'absence de recombinaison dans ces génomes. C'est-à-dire que les différences entre deux espèces dans la séquence du génome chloroplastique ou mitochondrial sont dues seulement aux mutations intervenues pendant l'évolution.

Les séquences d'ADN des génomes chloroplastiques et/ou mitochondriaux sont donc les plus intéressantes à regarder. Bien sûr, dans les plants qui héritent les génomes chloroplastiques et mitochondriaux de la mère, en observant les mutations survenues au cours de l'évolution, on observe l'évolution de la lignée maternelle, quel que soit le génome cytoplasmique observé.

Parmi les deux génomes, le génome chloroplastique a reçu beaucoup plus d'attention que le génome mitochondrial pour de nombreuses raisons, mais l'ADN mitochondrial a récemment reçu une nouvelle attention grâce aux travaux menés par un groupe de recherche français (le groupe de Petit à l'INRA de Bordeaux) (10).

Application au genre *Actinidia*. Compte rendu des recherches.

L'hérédité des organites dans les *Actinidia*.

À la différence de la plupart des angiospermes qui héritent à la fois des chloroplastes et des mitochondries du même parent, en l'occurrence la mère, l'*Actinidia* hérite des chloroplastes du père et des mitochondries de la mère (Cipriani *et al.* 1995 (11) ; Testolin et Cipriani 1997(12) ; Chat *et al.* 1999 (10) ; Chat 2003 (13)). Cette particularité a été mise en évidence par l'équipe dirigée par le conférencier et a soulevé de nombreux espoirs pour

comprendre la grande fréquence de croisements interspécifiques observés dans le genre *Actinidia*. En effet, cette particularité héréditaire inhabituelle des organites dans l'*Actinidia* offrait une occasion unique d'identifier les espèces qui ont eu pour origine une hybridation interspécifique et, partant, les espèces primaires.

Cependant, la suite des recherches a mis en évidence des scénarios apparemment plus complexes, illustrés par deux exemples.

Les séquences chloroplastiques et mitochondriales utilisées

- identification des hybrides interspécifiques 1. Deux séquences chloroplastiques et quatre séquences mitochondriales ont été choisies ; *matK* est une séquence codante, tandis que *trnL-trnF* est une séquence intergénique, c'est-à-dire comprise entre deux séquences codantes.

Parmi les séquences mitochondriales, *aptA* est un gène codant pour une *ATPase*, les trois autres sont des introns.

- exemple de séquence *matK* alignée. Celle-ci permet d'observer six mutations, quatre d'entre elles sont informatives et deux ne le sont pas, parce qu'elles sont présentes seulement dans un échantillon.

Les premières reconstructions phylogénétiques ont mis en évidence l'incohérence des sections de la taxonomie traditionnelle. Le seul groupe monophylétique et bien isolé pourrait être la section *Leiocarpae* - série *Lamellae* (en bleu dans cette figure). Les autres clades regroupent des taxa qui appartiennent à différentes sections et séries.

1) Identification des hybrides interspécifiques

Compte tenu de la particularité exposée, un hybride provenant d'un croisement interspécifique naturel dont les deux espèces parentales sont éloignées les unes des autres d'un point de vue taxonomique sera proche de l'un des parents (le père) dans l'arbre chloroplastique et de l'autre parent (la mère) dans l'arbre mitochondrial. Ainsi, par exemple, les travaux menés par l'équipe ont mis en évidence que l'espèce *Actinidia chrysantha* C.F. Liang est proche d'*Actinidia indochinensis* Merr. dans l'arbre chloroplastique ; en revanche, dans l'arbre mitochondrial, cette même espèce est éloignée d'*Actinidia indochinensis* et beaucoup plus proche d'autres espèces.

Les conclusions tirées de la topologie de l'arbre exigent la plus extrême prudence, mais il est clair que, lorsque deux espèces se retrouvent ensemble dans un arbre et pas dans l'autre, une espèce de la paire est un hybride avec la deuxième espèce, ou une autre espèce similaire, en tant que parent.

2) Les hybrides interspécifiques complexes

Occasionnellement, les recherches ont mis en évidence deux taxa avec des phénotypes contrastés placés à proximité l'un de l'autre dans les deux arbres, le chloroplastique et le mitochondrial. C'est le cas par exemple de *A. eriantha* Benth. et *A. latifolia* Merr.

Ces deux espèces sont morphologiquement distinctes (Li (5), Liang (6)) et sont également distinctes en termes de la composition des flavonoïdes (Webby et coll. 1994 (14)) et à l'analyse isoenzymatique (Testolin et Ferguson 1997 (15)), tous caractères dépendant de gènes nucléaires. Cependant, les deux espèces semblent très étroitement liées, tant dans l'arbre chloroplastique que dans l'arbre mitochondrial. Des cas similaires ont été observés pour *A. chinensis* et *A. indochinensis*, ainsi que pour *A. chinensis* et *A. callosa* Lindl. var. *strigillosa* C.F. Liang.

Une explication plausible tient compte du fait que des hybrides peuvent provenir à de nombreuses reprises et dans les deux sens (femelle de l'espèce A x mâle de l'espèce B, mâle de l'espèce A x femelle de l'espèce B). Ces hybrides peuvent se croiser les uns avec les autres, produisant ainsi également des descendance avec chloroplastes et mitochondries

d'une unique espèce originale, qui peut être différents de celle qui paraît plus proche à l'analyse phénotypique.

3) Les polyploïdes.

La polyplôidie dans l'*Actinidia* est également très répandue et de nombreuses espèces montrent des races intraspécifiques avec différents niveaux de ploïdie. Il est probable qu'au moins une partie des polyplôïdes ont eu pour origine des hybridations interspécifiques. Cela est d'autant plus probable lorsque les espèces manquent de races diploïdes. Cela se produit pour les espèces comme *A. arguta* Franch. & Sav. var. *purpurea* (Rehder) C.F. Liang, *A. macrosperma* C.F. Liang, *A. valvata* Dunn., *A. chrysantha*, *A. glaucophylla* f. Chun var. *asymmetrica* (F. Chun) C.F. Liang et éventuellement *A. deliciosa* (A. Chev.) C.F. Liang & A.R. Ferguson (16), toutes espèces qui, d'après ce que nous savons, ne présentent pas de races diploïdes.

Un bel exemple d'hybridation complexe, impliquant différents niveaux de ploïdie, est signalé par Joëlle Chat dans sa thèse de doctorat (Chat 2003 (13)).

Reconstruction phylogénétique des espèces primaires

Pour conclure cette première partie, le conférencier résume les résultats obtenus :

- Parmi quarante-six taxa d'*Actinidia* analysés aujourd'hui, douze (26 %) sont des hybrides.
- Les données moléculaires ne confirment pas la taxonomie traditionnelle.
- Le seul groupe monophylétique pourrait être les Léiocarpae ; les espèces restantes doivent être révisées en fonction des données moléculaires et de la répartition géographique des taxa.
- Le mode d'hérédité des organites, différent de celui de la plupart des angiospermes, peut aider à séparer les espèces primaires des hybrides interspécifiques naturels.
- Une révision du genre devrait prendre beaucoup plus en compte les distances moléculaires et la répartition géographique des taxa.

Une fois que l'arbre phylogénétique moléculaire aura été reconstruit, il pourrait être plus facile de trouver des caractères clés permettant de séparer les principales branches du genre, fournissant ainsi une classification qui pourrait refléter l'évolution.

Le conférencier indique ne pas vouloir entrer dans le débat de savoir si les classifications fondées sur les caractères clés devaient être, ou non, un miroir de l'évolution. Il souligne, cependant, que compte tenu des règles suivies par ceux qui produisent les clés, il semble peu probable que les deux approches taxonomiques puissent être réconciliées, et exprime le souhait qu'une clé de classement, chaque fois que cela est possible, suive les dates de la spéciation.

La dioecie, un conte, ou monoecie *versus* dioecie, laquelle est la première?

La littérature scientifique sur l'origine de la dioecie a donné lieu à de vifs débats (Charlesworth 2002 (17)), qui ne sont pas sans rappeler l'histoire de la poule et de l'œuf. Le conférencier souligne, cependant, que l'histoire peut être éclairée par l'analyse des séquences qui codent le déterminant du sexe.

En l'absence d'une séquence candidate provenant des espèces-modèles, le seul moyen de parvenir à la séquence est de tracer la position du caractère dans une carte génétique à travers les techniques connues comme le *chromosome walking* et *positional cloning*.

Un chercheur qui veut trouver les gènes ou les séquences d'ADN qui contrôlent un caractère phénotypique, comme la dioecie, travaille de la manière suivante :

- croisements contrôlés qui permettent de comprendre le modèle de contrôle génétique de ce caractère en étudiant l'analyse de la ségrégation du caractère dans la descendance ;
- croisement de preuve (*test cross*) et analyse de la ségrégation du caractère ainsi que d'autres traits et marqueurs moléculaires et production d'une carte génétique où la position du caractère est tracée avec celle des autres caractères ou marqueurs ;

- carte physique de la région intéressante ;
- identification de la séquence d'ADN responsable du contrôle du caractère intéressant.

Cette approche a été choisie chez *Actinidia*. Bien que la recherche soit encore loin d'être achevée, elle a permis d'éclaircir de nombreux aspects du contrôle génétique du sexe dans les kiwis. Le sexe est contrôlé par un seul déterminant dans *Actinidia*, parce que le croisement entre une plante mâle et une plante femelle produit toujours une descendance avec un rapport entre les sexes de près de 1:1. Le sexe mâle est le sexe hétérogamétique parce que l'autofécondation de mâles inconstants produit des mâles et des femelles dans le rapport de 3:1. Le même modèle mendélien fonctionne à tous les niveaux de ploïdie, parce que le rapport entre les sexes est toujours 1:1 lorsque les mâles sont croisés avec les femelles. Le déterminant génétique est probablement lié à deux gènes qui déterminent la répression de l'ovaire et la reprise de la microsporogénèse respectivement. De rares événements de recombinaison entre les deux gènes produisent des plants hermaphrodites et des plants stériles dans la descendance.

Le passage d'une femelle à un mâle implique d'une part, la répression du développement de l'ovaire, d'autre part, la reprise de la microsporogénèse, c'est-à-dire la maturation des étamines. Un tel modèle que l'on appelle gène bipartite (suppresseur de la féminité/activateur de la masculinité) implique que la masculinité est contrôlée au moins par deux gènes distincts, mais étroitement liés : le premier, que nous appelons ici Su^F (Suppresseurs de féminité), selon la terminologie adoptée récemment par Deborah Charlesworth (2002 (17)), supprime le développement de l'ovaire et Su^F est dominant sur Su^f , le second, que nous appelons ici M (Masculinité), reprend la maturation des étamines et M est dominant sur m .

Les femelles sont donc $Su^f m / Su^f m$ à la région qui détermine le sexe, et les mâles sont $Su^f m / Su^f M$ avec les allèles dominants Su^f et M étroitement liés sur le chromosome Y. Si tel est le cas, de rares *crossing over* devraient alors se traduire par l'apparition de nouvelles variantes : individus stériles ($Su^f m / Su^f m$) et individus hermaphrodites ($Su^f m / Su^f M$). Ces deux variantes ont été déjà trouvées chez les kiwis.

La mesure à prendre après avoir élucidé le contrôle génétique d'un trait, est de créer une carte de concaténation, c'est-à-dire une carte génétique, où le trait en question est tracé avec un certain nombre de marqueurs. Dans le cadre des travaux, plusieurs cartes génétiques ont été produites et le déterminant du sexe a été placé dans ces cartes. Dans une carte génétique présentée à titre d'exemple et qui a été produite en 2001, le déterminant de la masculinité est placé dans un petit groupe de concaténation, avec le marqueur plus proche qui est éloigné de 14,3 cM.

Les chercheurs de Nouvelle-Zélande ont trouvé des marqueurs qui sont plus proches: l'un d'eux est à 2 cM à partir du déterminant du sexe. Plusieurs tentatives de saturer la région n'ont pas atteint leur but et aucun marqueur plus proche du déterminant du sexe n'a pu être ajouté jusqu'à présent. Par exemple, le docteur Xiao, un doctorant de Mme Anne-Marie Hirsch, qui est venu travailler dans le laboratoire quelques années après avoir obtenu son doctorat en France, a contrôlé près de 25 200 fragments d'ADN, obtenus par AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*). Il a vérifié s'ils étaient en concaténation avec le déterminant du sexe à l'aide d'une analyse appelée *Bulk Segregant Analysis*. Il n'a trouvé aucun marqueur lié au déterminant du sexe plus proche de ceux qui sont déjà disponibles.

Pourquoi est-il si difficile de trouver des marqueurs liés au déterminant du sexe ? Une des théories avancées est que les chromosomes mâles sont des chromosomes dégénérés. L'évolution a permis aux chromosomes sexuels de se différencier tellement des chromosomes homologues que la recombinaison entre eux s'est réduite progressivement avec le temps. L'absence de recombinaison ne permet pas de saturer la région contenant le déterminant du sexe.

En conclusion, la division actuelle des espèces d'*Actinidia* est artificielle et ne reflète pas les relations entre les espèces. *Actinidia* est un genre où la spéciation n'est pas terminée et de

nombreux taxa peuvent encore s'hybrider facilement les uns aux autres. L'analyse contemporaine des séquences de l'ADN mitochondrial et chloroplastique devrait permettre de trouver les espèces hybrides et les espèces primaires. Lorsque toutes les espèces primaires seront identifiées, la reconstruction taxonomique sera plus facile ainsi que l'identification de nouveaux caractères taxonomiques qui peuvent servir de clés et qui reflètent l'évolution du genre.

La dioecie dans *Actinidia* est contrôlée par un déterminant génétique mendélien, qui fonctionne de la même manière à tous les niveaux de ploïdie. La région chromosomique qui porte le déterminant a été identifiée et plusieurs marqueurs ont été placés à la proximité. Nous sommes encore loin de la possibilité de cloner la région chromosomique identifiée, mais nous pouvons toutefois faire la sélection précoce des sexes dans les programmes d'amélioration génétique, grâce à l'analyse de marqueurs associés au déterminant du sexe.

Les références sont présentées en annexe 2.

Mme Élisabeth Dodinet présente ensuite les nouveaux membres et les actualités de la Société.

Nouveaux membres

M. Mehdadi Zoheir, Département des Sciences de l'Environnement, Faculté des Sciences Université Djillali Liabes, Sidi Bel Abès, Algérie.

Parrains : Guy-Georges Guittonneau et Bruno de Foucault.

M. Stanisci Angela, professeur au département S.T.A.T., Université de Molise, Pesche (Isernia), Italie.

Parrains : Elisabeth Dodinet et André Charpin.

M. Gonard André, La Talaudière (Loire)

Parrains : Bernard Belin et Jean-Louis Jalla.

M. ou Mme Guillaumet Jean-Louis, Caen (Calvados)

Parrains : Elisabeth Dodinet et Guy-Georges Guittonneau.

M. Pagès Jean-Philippe, Crolles (Isère), avec un intérêt pour la flore alpine et subalpine, la macrophotographie, l'écologie des milieux de montagne.

Parrains : Elisabeth Dodinet et Pierre Aourousseau.

Mme Didier Jocelyne, Flayosc (Var), retraitée de l'Éducation Nationale (agrégée Sciences de la vie) avec un intérêt pour la biologie, la paléobotanique, la systématique et l'évolution.

Parrains : Anne-Marie Mollet et Jeanne Covillot

Mme Djellouli Yamina, Professeur UMR 6590, Université du Maine, Le MANS (Sarthe)

Parrains : Elisabeth Dodinet et Bruno de Foucault

M. Thévenin Thierry, Mérinchal (Creuse), producteur et récoltant de plantes médicinales, Groupement des Simples, avec un intérêt pour les plantes médicinales, à parfum et alimentaires.

Parrains : Elisabeth Dodinet et Anne-Marie Mollet.

Mme Chèze-Massaloux Martine, Limoges (Haute-Vienne), pharmacien d'officine honoraire.

Parrains : Michel Botineau et Philippe Bouchet.

M. Tassin Jacques, chercheur au CIRAD – UPR 37 – TA 10/D, Montpellier (Hérault).
Parrains : Marc-André Selosse et Christian Dumas.

Monsieur Bardat Jacques, Limours (Essonne), chercheur spécialisé en bryologie, avec des intérêts pour l'écologie forestière et la phytosociologie.
Parrains : Jean-Jacques Lazare et Jean-Marie Roayr.

Membre institutionnel :
Faculté de Pharmacie, Laboratoire de Botanique, Phytochimie, Montpellier (Hérault)
représenté par Melle Rapior Sylvie, professeur
Parrains : Elisabeth Dodinet et Philippe Bouchet.

Membres associés :
Francette Royer, épouse de notre collègue Jean-Marie Royer, licenciée de Sciences Naturelles, avec un intérêt pour les orchidées, la flore cultivée et les jardins médiévaux.

Expositions et colloques

- Colloque Ambroisie 2007 : L'ambroisie en Amérique du Nord, en Europe, en France 19ème colloque pluridisciplinaire de l'AFEDA (Association Française d'Etude Des Ambrosies), le 30 novembre 2007 à Lyon,
- 6^{ème} exposition d'Orchidées (Autour du Brésil) du 18 au 21 janvier 2008 (10 h à 19 h), Faculté de Pharmacie, 4 av. de l'Observatoire, Paris 6^{ème}.

Parutions d'ouvrages

- *Flora mediterranea* 17-2007 (publiée par l' « Herbarium Mediterraneum Panormitanum » pour Optima)
- *Les Ombellifères de France*, de Jean-Pierre Reduron, tomes 1, 2 et 3, publiés par la SBCO ; les tomes 4 et 5 sont prévus en souscription en 2008.
- Pomologie 1) *Fruits de Champagne-Ardennes*
 2) *Les fruits de Picardie*
- *Des plantes utiles aux abeilles*, publié par l'Association de développement de l'apiculture d'Ile-de-France
- *Les insectes et la forêt*, par Roger Dageot (Lavoisier)
- *Catalogue général des publications de la Société des Sciences historiques et naturelles de la Corse* (de 1881 à 2006), par Janine Serafini, conservateur honoraire du Patrimoine, qui peut être commandé à Société des Sciences Historiques et naturelles de la Corse, B.P. 232 – 20 294 Bastia cedex pour 50 euros.

Prochaines séances

18 janvier 2008 : séance ordinaire à 13 h 30 au Muséum d'Histoire Naturelle de Paris, amphithéâtre de Paléontologie, avec deux conférences de :

M. Marc-André Sélosse, Professeur à l'Université Montpellier II, Chercheur au CNRS (Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive à Montpellier) : « Des plantes qui consomment des champignons pour s'adapter aux sous-bois ».

M. Bruno de Foucault, maître de conférences, Faculté de Pharmacie de Lille-2 : "Vues de la flore et de la végétation de la Patagonie chilienne (de Chiloe au détroit de Magellan)".

21 mars 2008 : assemblée générale et séance ordinaire à 13 h 30 au Muséum d'Histoire Naturelle de Paris, amphithéâtre de Paléontologie.

Mme Élisabeth Dodinet donne ensuite la parole à la seconde conférencière, Mme Florence Le Strat-Brousseau, pour une projection illustrée sur « Quelques espèces végétales de la flore d'Égypte de l'époque pharaonique à nos jours »

La connaissance sur la flore de l'Égypte ancienne nous vient pour l'essentiel d'études du début du XX^{ème} siècle. Il s'agissait en premier lieu de dresser des inventaires lexicographiques des termes hiéroglyphiques avec parfois référence à la nomenclature botanique. Des travaux plus récents de reconstitution de la flore antique ont été également réalisés à partir des données iconographiques et archéobotaniques. Un des premiers catalogues des restes botaniques découverts et identifiés en Égypte date de 1997 (Vartavan et Asensi Amorós).

Il est vrai qu'en Égypte les sources iconographiques antiques des représentations des plantes et de leurs milieux naturels sont multiples et variées : peinture murale, objets, bas-reliefs, éléments d'architecture... La végétation y est figurée de façon schématique, soit de façon simple mais réaliste, soit de façon stylisée en répondant à des canons graphiques bien définis. Et de ce fait, il n'est pas toujours aisé d'identifier telle ou telle plante.

Autre source d'informations riche en enseignement : les documents de la conquête d'Égypte. Jusqu'au début du XVII^e siècle, l'Égypte n'est connue de l'Europe que par des relations de voyages, qui n'ont véhiculé l'image que de monuments gigantesques. Mais lorsque Bonaparte quitte la France le 19 mai 1798, il est accompagné d'une importante mission scientifique dont les travaux aboutiront à la *Description de l'Égypte*. Trois botanistes participent à cette expédition : Hyppolyte Nectoux (1759-1836) jardinier expérimenté, Ernest Coquebert de Montbret qui meurt au Caire de la peste en 1801 et Alyre Raffeneau-Delile (1778-1850) médecin et botaniste qui, accompagné du peintre Henri-Joseph Redouté, parcourt la vallée du delta à Assouan.

Et même si *les botanistes sont fort malheureux sous le regard de la science* (Geoffroy Saint-Hilaire), la récolte est fructueuse, Delile rédige la description de mille trente espèces avec le nom scientifique et le nom local.

C'est à partir de ces deux principales sources iconographiques antique et napoléonienne, que l'exposé met l'accent sur quelques espèces végétales symboliques de la flore égyptienne.

Figuier sycomore

Le *Ficus sycomor* L. (nom arabe : *gimmeiz*) est un arbre de 8 à 20 mètres de haut, au tronc noueux, aux feuilles persistantes, pétiolées, entières et glabres. Il appartient à la famille des Moraceae. Probablement introduit depuis le Yémen (Schweinfurth), il occupe une place importante dans le monde mythologique de l'Égypte ancienne : il est considéré comme une manifestation des déesses Nut, Isis et Hathor, qui sont désignées comme la *Dame du sycomore*. Il était souvent planté près des tombes. Plusieurs sources mentionnent la qualité médiocre des fruits et sa consommation surtout en temps de famine. « *On les ouvre encore sur l'arbre par une incision, ... pour faire sortir en mai-juin les sykophages...* » (Sickenberger), et « *...accélérer la maturation de la récolte pendante. L'opération se pratique quelques jours avant la cueillette* » (Reynier, Mémoires sur l'Égypte, an X). Des modèles de figes en faïence portant l'incision caractéristique ont été retrouvées dans les tombes.

Nymphaea et lotus

Deux espèces sont répertoriées dans la flore indigène de l'Égypte: *Nymphaea lotus* L. et *Nymphaea coerulea* L. Delile fut le premier à décrire sans confusion les nénuphars et le lotus (*Nelumbium speciosum* Wild.). Ce dernier a été introduit depuis l'Inde et il est attesté en Égypte à l'époque perse. Ces plantes, et en particulier *N. coerulea*, symbolisent le soleil qui renaît chaque matin à l'issue de son long voyage souterrain dans les ténèbres. Néfertoum, fils de Ptah et Sekhmet, naît chaque matin sur une fleur de lotus. Une formule du Livre des Morts permet au défunt de se transformer en fleur de lotus. Grâce à cette transformation, le défunt pourra acquérir les qualités de régénération

symbolisée par la plante. Les deux espèces de *Nymphaea* sont abondamment utilisées dans les parures funéraires, comme celle formée de guirlandes de Ramsès II, retrouvées dans la cache de Deir-el Bahari. L'herbier du Museum de Paris montre trois fleurs entières de *N. caerulea*, ainsi que les pétales et étamines après dissection.

Papyrus

Le papyrus (*Cyperus papyrus* L.) est la plante la plus populaire d'Égypte, même si elle a presque complètement disparu aujourd'hui de la basse vallée du Nil. Il ne pousse de nos jours spontanément que dans le Wadi Natroum. Son importance économique à l'époque antique se révèle par les utilisations multiples : embarcations légères, supports pour l'écriture, nattes, paniers, etc. Avec les roseaux et autres plantes aquatiques, le papyrus formait des fourrés impénétrables derrière lesquels s'étendait le domaine de la déesse Oudjet, protectrice du jeune Horus.

Palmiers

Deux espèces de palmier sont répandues le long du Nil, le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) et le palmier doum (*Hyphaene thebaica* (L.) Mart.). Ce dernier est facilement reconnaissable à son tronc ramifié. Les fleurs dioïques sont disposées en longue grappe. Delile lui consacra une monographie d'ethnobotanique.

La séance est levée à 16 h 40.

Annexe 1:

- 1- Izembert E. (1893) Le Père d'Incarville- Étude Botanique et Bibliographique-Bulletin de la Société d'études diverses de l'arrondissement de Louviers. Année 1893, 1: 1-8.
- 2- Franchet M (1882) - Les plantes du P. d'Incarville dans l'herbier du Museum d'Histoire Naturelle de Paris- Bull. Soc. Bot. de France 29: 1-13.
- 3- Planchon J.E. (1847) - Sur la nouvelle famille des Cochlospermées - London J. of Botany, 6: 294-311.
- 4- Chevalier A. (1941) - Un Actinidia à fruits comestibles intéressant pour la France, *A. chinensis* Planch. var. *deliciosa* Chev. - Revue de Botanique appliquée et d'agriculture tropicale, 21: 240-244.
- 5- Guillaumin A. et Guinet C. (1940-1941) - *Actinidia chinensis* Planchon - Liane fruitière d'Extrême Orient intéressante pour nos cultures et pour l'hygiène alimentaire - Revue Horticole 27: 315-319.
- 6- Van Thiegem P. (1899) Sur les genres Actinidie et Sauravie considérés comme types d'une famille nouvelle: les Actinidiacées- J. de Botanique 13: 170-173.
- 7- Liang C.F. and Ferguson A.R. (1986)-The botanical nomenclature of the kiwifruit and related taxa-New Zealand J. of Botany 24: 183-184.
- 8- Hirsch A.M., Longeon A., Guyot M. (2002) - Fraxin and esculin: two coumarins specific to *Actinidia chinensis* and *A. deliciosa* (kiwifruit)- Biochemical Systematics and Ecology 30: 55-60.
- 9- Randouin L. et Boisselot J. (1945) Valeur énergétique, minérale et vitaminique du fruit comestible d'*Actinidia chinensis* Planchon -Bull. Soc.Hyg. Aliment.Ration. 33: 144-153.
- 10- Franquet R. (1941) Composition glucidique des fruits d'*Actinidia chinensis* Planchon - Bull. Mus. Nat.Hist. Natur. 2,13: 360-361.
- 11- Souèges R. (1943) Embryogénie des Actinidiacées- Développement de l'embryon chez *Actinidia chinensis* Pl.- C.R. Acad. Sci Paris 217: 430-432.
- 12- Créte P. (1944) Recherches anatomiques sur la séminogénèse de l'*Actinidia chinensis* Pl. -Affinités des Actinidiacées- Bull. Soc. Bot. Fr. 91: 153-160.
- 13- Rizet G. (1945) Contribution à l'étude biologique et cytologique de l'*Actinidia chinensis*- C. R. Séances Soc. Biol. Paris 139: 140-142.
- 14- Blanchet P., Brown S., Hirsch A.M., Marie D., et Watanabe K. (1992)- Détermination des niveaux de ploïdie dans le genre *Actinidia* par cytométrie de flux-Fruits 47,3: 451-460.
- 15- Durand B., Durand R., Kahlem C., Champault A. et Delaigue M. (1972) - Gènes, hormones, protéines et différenciation du sexe chez *Mercurialis annua* L. - Mém. Soc. Bot. Fr. (Colloq. Morphol.), 191-199.
- 16- Hirsch A.M., Fortune D., and Blanchet P. (1990) - Study of dioecism in kiwifruit, *Actinidia deliciosa* Chevalier Acta Hort. 282: 367-376.
- 17- Hirsch A.M., Fortune D., Xiao X.G., Blanchet P. (1991) - Somaclonal variations related to kiwifruit micropropagation study of fruitful male plants and use of peroxidase as early sex marker Acta horticultrae, 297: 123-131.
- 18- Hirsch A.M. and Fortune D. (1984)- Peroxidase activity and isoperoxidase composition in cultured stem tissue, callus and cell suspensions of *Actinidia chinensis*- Z. Pflanzenphysiol. 113: 129-139.
- 19- Hirsch A.M., Fortune D., Chalak L., Legave J.M., Chat J. and Monet R. (1997)- Peroxidase test: a test for sex screening in kiwifruit seedlings, Acta horticultrae, 444, 1: 89-95.
- 20- Derambure A. et Hirsch A.M. (1995)-Obtention de protoplastes à partir de différents clones d'*A. deliciosa* (Kiwi) et d'espèces botaniques du genre *Actinidia*- Acta Botanica Gallica 142, 1: 5-21.
- 21- Xiao X.G. and Hirsch A.M. (1996)-Microcallus formation from leaf mesophyll protoplasts in the genus *Actinidia* - Plant Cell Reports 15: 896-899.
- 22- Xiao X.G. and Hirsch A.M. (1997) -Isolation, culture and fusion of protoplasts in *Actinidia* ssp. -Acta Hort., 444: 119-124.

23- Hirsch A.M., Testolin R., Brown S., Chat J., Fortune D., Bureau J.M. and De Nay D. (2001)
Embryo rescue in the genus *Actinidia* - *Plant Cell Reports*, 20: 508-516.

Annexe 2

- 1- Ferguson A.R. and Huang H.W. (2007)- Genetic resources of kiwifruit: domestication and breeding-*Hort. Review* 33: 1-121.
- 2- Huang H.W. and Ferguson A.R. (2007) sous presse.
- 3- Morton C.M., Chase M.W., Kron K.A., Swensen S.M. (1996)- A molecular evaluation of the monophyly of the order Ebenales based upon rbcL sequence data- *Systematic Botany* 21 (21 (4): 567-586.
- 4- Hirsch A.M., Testolin R., Brown S., Chat J., Fortune D., Bureau J.M. and De Nay D. (2001)- Embryo rescue from interspecific crosses in the genus *Actinidia* (kiwifruit)- *Plant Cell Report* 20: 508-516.
- 5- Li H.L. (1952) A taxonomic review of the genus *Actinidia*-*J. Arnold Arbor.* 33: 1-61.
- 6- Liang F.C. (1984) *Actinidia*, in Feng K.M. ed. *Flora Rep. Pop. Sinica* (Beijing) Science Press 49 (2): 196-268.
- 7- Soltis P.S., Soltis D.E., Doyle J.J. (1992)-*Molecular Systematics of Plants*. Chapman & Hall, New York: 448 pp.
- 8- Kress J.W. and al. (2005)-Use of DNA barcodes to identify flowering plants-PNAS 102 (23): 8369-8374.
- 9- Demesure B., Sodji N. and Petit R.J. (1995) -A set of universal primers for amplification of polymorphic non-coding regions of mitochondrial and chloroplast DNA in plants -*Mol. Ecol.* 4: 129-131.
- 10- Chat J., Chalak L. and Petit R.J. (1999)- Strict paternal inheritance of chloroplast DNA and maternal inheritance of mitochondrial DNA in intraspecific crosses of kiwifruit- *Theor. Appl. Genet.* 99: 314-322.
- 11- Cipriani G., Testolin R., Morgante M., (1995)- Paternal inheritance of plastids in interspecific hybrids of the genus *Actinidia* revealed by PCR-amplified chloroplast DNA fragments. *Mol. Genet.* 247: 693-697.
- 12- Testolin R., Cipriani G. (1997)- Paternal inheritance of chloroplast DNA and maternal inheritance of mitochondrial DNA in the genus *Actinidia* -*Theor. Appl. Genet.* 94: 897-903.
- 13- Chat J. (2003)-Transmission des génomes cytoplasmiques et phylogénie moléculaire chez *Actinidia*. Thèse de doctorat, INAPG Paris-Grignon: 115 pp + annexes.
- 14- Webby R.F., Wilson R.D., Ferguson A.R. (1994)- Leaf flavonoids in *Actinidia*-*Biochem. Syst. Ecol.* 22 (3): 277-286.
- 15- Testolin R. and Ferguson A.R. (1997)- Isozyme polymorphism in the genus *Actinidia* and the origin of the hexaploid genome of kiwifruit (*A. deliciosa*)- *Systematic Botany* 22(4): 685-700.
- 16- Liang C.F. and Ferguson A.R. (1985)- Revision of intraspecific taxa of *Actinidia chinensis* Planch.-*Guihaia* 5: 71-72.
- 17- Charlesworth D. (2002)- Plant sex determination and sex chromosomes- *Heredity* 88: 94-101.