

*Mémoire de fin d'études présenté pour l'obtention du  
Diplôme d'Etudes Supérieures Spécialisées (D. E. S. S)*

*Productivité végétale, Biotechnologies, Génome*

*Délivré par l'Université Paris 7*

*Denis Diderot*

*Année 2003-2004*

**ETUDE DE LA DIVERSITE GENETIQUE DES MANGUIERS  
ANTILLAIS (*Mangifera indica* L.)  
UTILISATION DE MARQUEURS MICROSATELLITES**



**Carole SITBON**

Responsable de stage : **Marie-France DUVAL**



Cirad-filhor



Programme  
Arboriculture fruitière.

Programme Arboriculture fruitière du CIRAD - FHLOR

Laboratoire BIOTROP

Avenue Agropolis - TA50/PS4 - 34398 Montpellier Cedex 5

Web : <http://www.cirad.fr>

## REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier tout d'abord Monsieur Hubert DE BON, directeur du département FLHOR du CIRAD, Magalie JANNOYER, chef du programme Arboriculture Fruitière et Jean-Christophe GLASZMANN, directeur du laboratoire Biotrop, de m'avoir accueillie dans le cadre de ce stage.

Je remercie également tous ceux qui ont contribué au bon déroulement de ce stage :

- Marie-France DUVAL, ma responsable de stage, pour son encadrement, sa disponibilité et ses conseils tout au long de ces six mois.
  
- Henri VANNIERE, Jean-Yves REY et Christian DIDIER du département FLHOR pour leur aide, leur intérêt et leur participation à cette étude.
  
- Le personnel du Cirad-Flhor Guadeloupe, Fabrice LE BELLEC, Corinne CALABRE et David HERZOG qui ont collecté et identifié les accessions utilisées dans cette étude, puis suivi avec intérêt mon travail.
  
- Toutes les personnes du laboratoire Biotrop pour leur accueil et leurs encouragements et plus particulièrement Jean-Louis NOYER et Ange-Marie RISTERUCCI pour leurs conseils techniques et théoriques très précieux.
  
- Julie PETIT, Cécile LEFRANCOIS, Najoi EL HAZARI, Séverine BORY et Komlan AVIA pour leur aide et leur soutien.

# SOMMAIRE

## I. Introduction bibliographique

### 1.1 Le manguier

- 1.1.1 Taxonomie, origine, distribution du manguier *Mangifera indica*.L p 2
- 1.1.2 Domestication du manguier p 4
- 1.1.3 Botanique, caractéristiques morphologiques p 6
- 1.1.4 Mécanisme de reproduction du manguier p 6
- 1.1.5 Mode de culture du manguier p 8
- 1.1.6 Diversité génétique p 9

### 1.2 Activité ressources génétiques du manguier au Cirad-flhor

- 1.2.1 La collection de manguiers en Guadeloupe p 11
- 1.2.2 Le projet Patrimoine fruitier Antillais p 11

### 1.3 Présentation du projet d'étude de la diversité des manguiers

- 1.3.1 Objectifs p 12
- 1.3.2 Le choix des marqueurs p 12

## II. Matériel et méthodes

### 2.1 Matériel végétal

- 2.1.1 Origine et obtention des échantillons végétaux p 15
- 2.1.2 Extraction, purification et dosage des ADN génomiques p 16

### 2.2 Méthodologie pour l'analyse microsatellite

- 2.2.1 Définition des amorces microsatellites p 17
- 2.2.2 Tests d'amplification par PCR froide p 18
- 2.2.3 Tests de polymorphisme par incorporation de ( $\alpha$ - $^{33}\text{P}$ ) dCTP p 18
- 2.2.4 Analyses microsatellites par phosphorylation des extrémités 5' avec du ( $\gamma$ - $^{33}\text{P}$ ) ATP p 19

### 2.3 Analyse des données

- 2.3.1 Etude de diversité p 19
- 2.3.2 Taux d'hétérozygotie et fréquences alléliques p 20

### **III. Résultats**

#### **3.1 Développement des marqueurs**

- 3.1.1 Définition des amorces microsatellites p 21
- 3.1.2 Tests d'amplification par PCR froide p 21
- 3.1.3 Tests de polymorphisme par incorporation de ( $\alpha$ -<sup>33</sup>P) dCTP p 22

#### **3.2 Analyses de la diversité**

- 3.2.1 Polymorphisme microsatellite p 22
- 3.2.2 Identification des cultivars p 23
- 3.2.3 Structuration de la diversité p 26
- 3.2.4 Taux d'hétérozygotie et fréquences alléliques p 29

### **IV. Discussion**

#### **4.1 Intérêt de cette étude pour aider à l'identification des accessions non déterminées et des doublons en collection** p 30

#### **4.2 Structuration de la diversité globale**

- 4.2.1 Diversité génétique au sein des centres de domestication et de diversification primaires p 34
- 4.2.2 Dispersion à partir des centres de domestication et de diversification primaires p 35
  - Les variétés africaines p 35
  - Les variétés floridiennes p 36

#### **4.3 Diversité des ressources génétiques propres aux Antilles et à la Réunion**

- 4.3.1 Représentation de la diversité locale p 38
- 4.3.2 Hypothèses sur les origines de la diversité antillaise p 39

### **V. Conclusions et perspectives** p 41

### **Références bibliographiques**

### **Annexes**

#### **Liste des Tableaux**

#### **Liste des figures**

**I. INTRODUCTION**

**BIBLIOGRAPHIQUE**

## I. Introduction bibliographique

La mangue (*Mangifera indica* L. ) se classe par ses qualités gustatives comme l'un des fruits les plus appréciés par le consommateur. En Asie, il est même appelé le 'roi des fruits' (Purseglove, 1972).

Avec plus de 23 millions de tonnes produites en 2000, la mangue se classe au cinquième rang mondial des productions fruitières. Les pays asiatiques couvrent près des trois-quarts de la production mondiale de mangue ; les principaux pays producteurs sont l'Inde avec dix millions de tonnes et la Chine avec trois millions de tonnes. Cependant, la majeure partie de la production asiatique est destinée à l'autoconsommation.

Durant les 35 dernières années, l'émergence de nouveaux pays producteurs en Amérique du sud, Amérique Centrale, Afrique, Israël et Australie, l'optimisation des pratiques agronomiques et horticoles, (contrôle de l'irrigation, de la floraison, utilisation d'intrants), et la mise en place de programmes de création et d'amélioration variétale ont permis une augmentation de la production mondiale de mangues de près de 50% (Galan Sauco, 1993 ; Mukherjee, 1997) dont une partie notable est destinée à l'exportation (FAO Production Yearbook, 1971-1993). Le marché international de la mangue continue de progresser à un rythme annuel très soutenu, compris ces dernières années entre 10 et 20 % sur les marchés d'Amérique du Nord et d'Europe (US Department of Trade, 1998). Les exportations mondiales de mangues fraîches ont dépassé les 650000 tonnes en 2000. Seulement 1% de la production totale est destinée à être vendue sous forme transformée (pulpe, fruit sec) (Mukherjee, 1997).

Le Mexique et le Brésil qui exportent principalement vers les USA et l'Europe couvrent à eux deux près de 50% des exportations mondiales. En 2001, les importations de mangues en Europe ont atteint les 135000 tonnes par an. Une des caractéristiques du marché européen est la multiplicité des origines d'approvisionnement.

A partir d'avril jusqu'en décembre, les pays de l'Afrique de l'Ouest (Côte d'ivoire, Burkina Faso, Guinée, Mali, Sénégal), exportateurs traditionnels vers l'Europe se trouvent potentiellement en concurrence avec le Brésil qui n'entend pas limiter son offre au seul marché Nord Américain (Vannière, 2001).

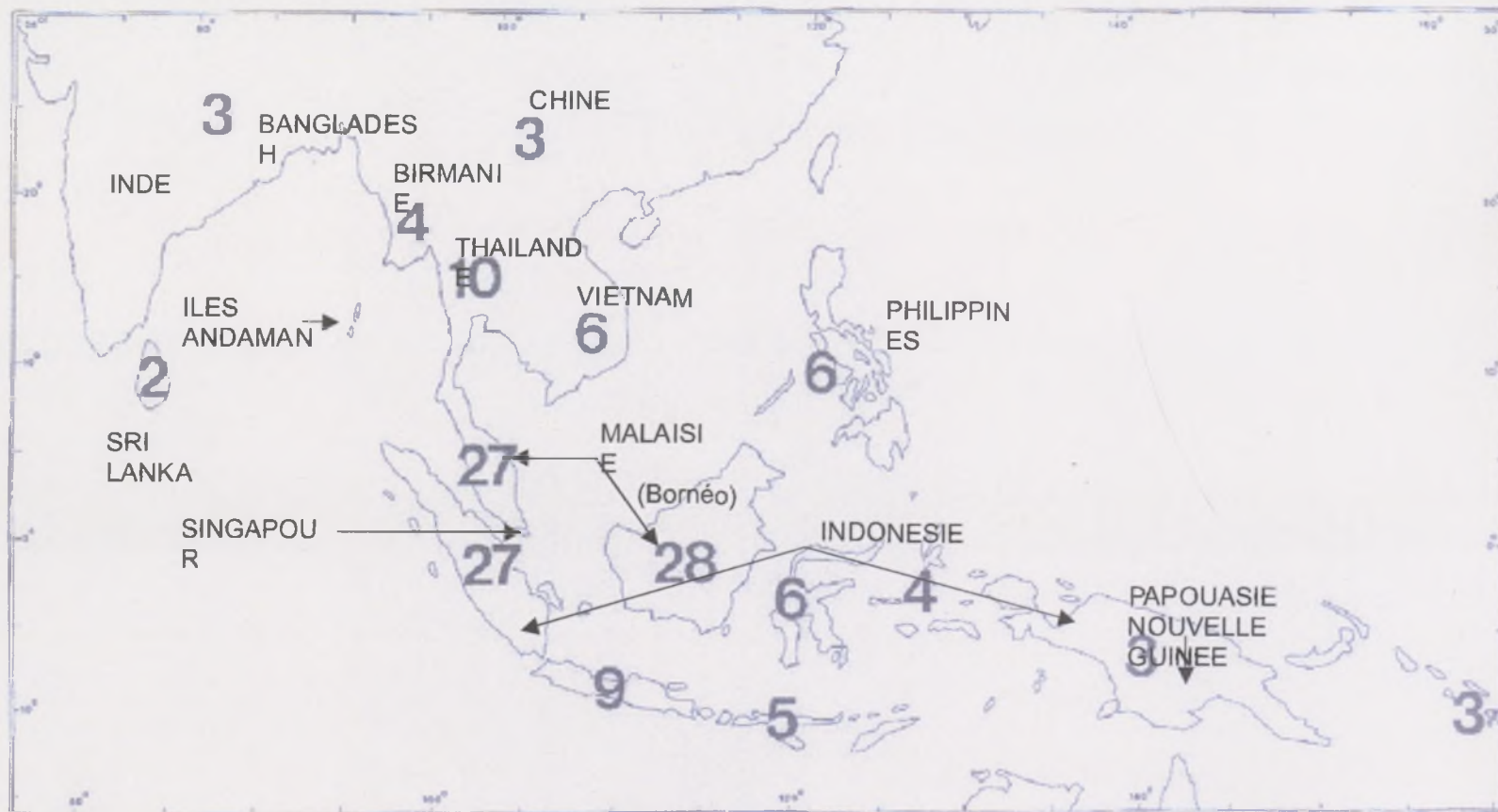


Figure 1 : Distribution des espèces du genre *Mangifera* (Mukherjee, 1997).

Légende : Le nombre d'espèces est indiqué.

En 2003, La France était le second importateur européen de mangue à égalité avec la Grande Bretagne et derrière les Pays Bas qui réexportent une très grande partie des mangues importées vers les autres pays européens. La consommation annuelle française a augmenté de 130 % de 1994 à 2003 (Fruitrop, 2004). La majeure partie de la production de mangues antillaises et réunionnaises est destinée aux marchés locaux et ne s'exporte pas vers la métropole.

Sur les marchés internationaux, les opérateurs de la filière portent leur attention sur deux points : d'une part, ils doivent surveiller sur le court et moyen terme l'équilibre de l'offre et de la demande, et d'autre part, améliorer l'offre en terme de qualité du produit. En effet, d'une façon générale et plus particulièrement pour les mangues destinées à l'exportation, il existe une forte demande à tous les niveaux de la filière pour une meilleure prise en compte de la qualité globale du produit (Vannière, 2001).

## 1.1 Le manguier

L'espèce *Mangifera indica*. L, principale espèce cultivée et commercialisée est allogame et tropicale, originaire de la région indo-birmane.

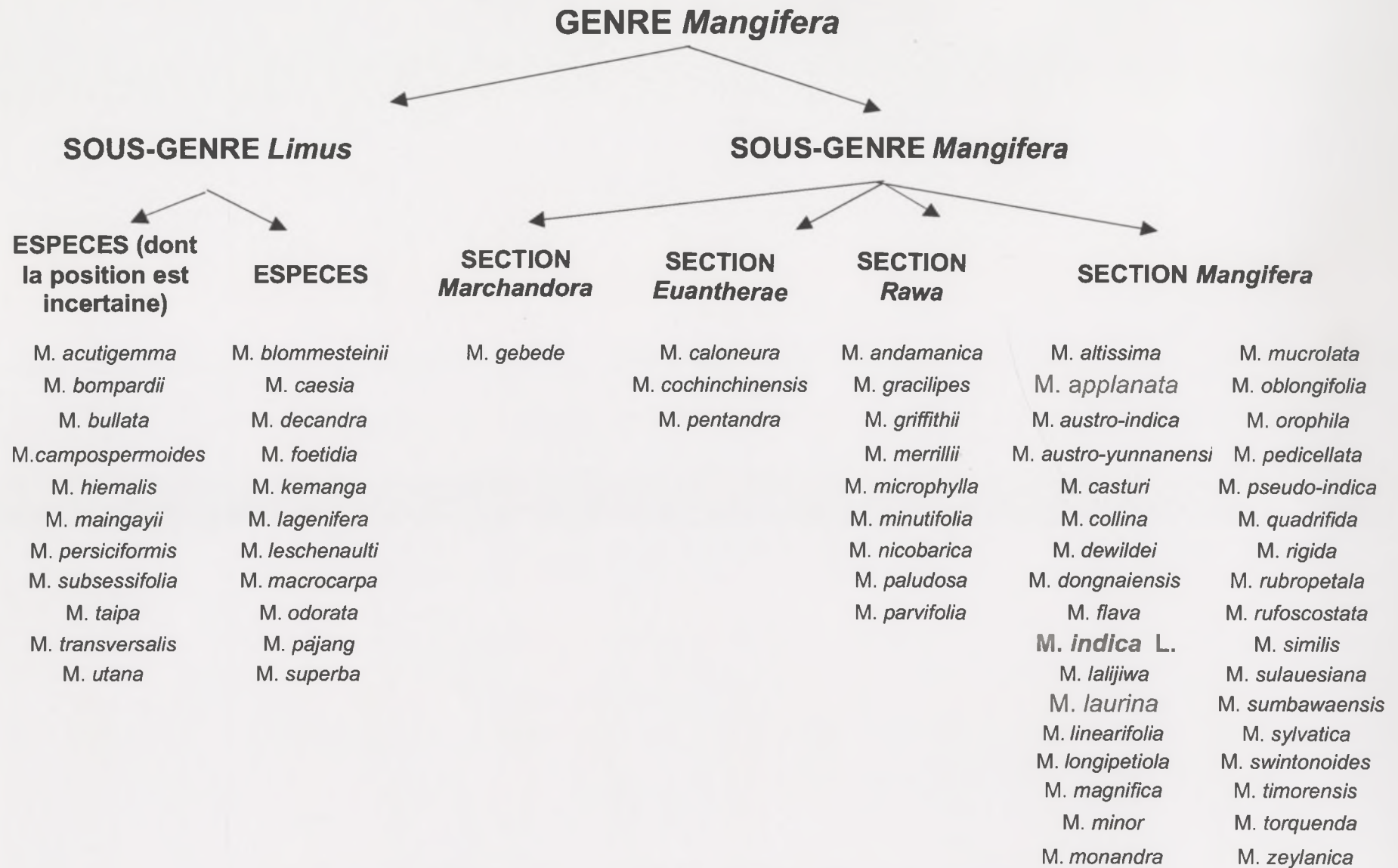
### 1-1-1 Taxonomie, origine, distribution du manguier *Mangifera indica* . L

L'espèce *Mangifera indica*. L est une dicotylédone diploïde ( $2n=2x=40$ ). Le contenu moyen en ADN chez le manguier est de  $0.91 \text{ pg}/2C^{-1}$  et la taille du génome est de 439 Mbp (Arumuganathan & Earle, 1991).

*Mangifera indica* appartient au genre *Mangifera*.L de la famille des Anacardiaceae, de l'ordre des Sapindales. Les Anacardiaceae correspondent à une famille composée majoritairement d'espèces tropicales, comme l'anacarde (*Anacardium occidentale* L.) ou le pistachier (*Pistachia vera* L.) et de quelques espèces des régions tempérées (Bompard & Schnell, 1997).

Le genre *Mangifera* comprend 69 espèces, toutes réparties en Asie tropicale (Kostermans & Bompard, 1993). Les espèces sauvages sont dispersées dans la péninsule indienne (y compris au Sri Lanka et au Bangladesh), au Myanmar, en Asie du Sud Est (Thaïlande, Vietnam, Laos, sud de la Chine), en Indonésie et jusqu'en Nouvelle Guinée et dans les Iles Salomon (figure 1).





**Figure 2 :** Classification du sous-genre *Mangifera* selon Kostermans et Bompard (1993).

La plus forte concentration d'espèces (28) a été trouvée dans la péninsule Malaise, à Java, à Bornéo et à Sumatra, ce qui fait de cette région le centre de diversité et donc d'origine du genre *Mangifera* (Bompard & Schnell, 1997).

La répartition des espèces étant associée à leur adaptation au climat, on distingue deux groupes d'espèces : celles adaptées à un climat de mousson (Inde, Myanmar, Thaïlande, Indochine) et celles adaptées à un climat de forêt tropicale humide (qui s'étend du sud de l'Inde à la Micronésie). *M. gebede* est la seule espèce présente dans toute l'aire de répartition du genre du fait de son adaptation écologique aux zones marécageuses.

Kostermans et Bompard (1993) ont proposé de classer le genre *Mangifera* en deux sous-genres distincts, selon certains caractères morphologiques de la fleur (figure 2): Le sous-genre *Limus* comprend 11 espèces (dont *M. foetidia*, *M. odorata* et *M. caesia*) cultivées principalement dans la péninsule malaise, à Sumatra, Bornéo et Bali. Le sous-genre *Mangifera* qui compte le plus grand nombre d'espèces, est divisé en 4 sections, *Mangifera indica*. L appartient à la section *Mangifera*.

Cependant, aucune relation entre les groupes d'adaptation au climat et les sous-genres proposés par Kostermans et Bompard n'est établie. Par exemple, *M. indica*, espèce adaptée au climat de mousson et *M. laurina*, adaptée au climat de forêt tropicale humide (Java) sont classées dans la section *Mangifera* du sous-genre *Mangifera*.

La mangue « indienne » : *Mangifera indica*. L est la principale espèce cultivée du genre et fait l'objet d'un commerce important. Bien qu'il soit établi que le centre d'origine et de diversité du genre *Mangifera* se trouve dans le Sud-Est asiatique, *Mangifera indica*. L serait apparu durant l'ère quaternaire (Mukherjee, 1997), dans la zone frontalière entre l'Inde (Assam), le Bangladesh et le Myanmar (Kostermans & Bompard, 1993) (figure 3).

En effet, *Mangifera indica* L. serait cultivée en Inde depuis plus de 4000 ans et compterait plus de 1000 variétés différentes (Mukherjee, 1997), dont la plupart seraient issues de pollinisation naturelle. En fait, le nombre de cultivars est encore mal connu et le chiffre plus réaliste ne serait que de quelques centaines à travers le monde. En effet, nombreuses sont les variétés dénommées sous plusieurs noms dans différents pays, voire même dans différentes régions d'un même pays (Kostermans & Bompard, 1993).



**Figure 3 :** Zone d'origine de *Mangifera indica* : région frontalière entre l'Inde (Assam), le Bangladesh et le Myanmar).



**Figure 4 :** Distribution de *Mangifera indica*.

- Légende :**
- Principales zones de culture
  - Zones de culture marginales

Actuellement, l'aire de culture du manguier est restreinte aux zones tropicales et sub-tropicales du globe, situées entre la latitude 30°S et 35-37°N du sud de l'Espagne (figure 4).

Deux groupes distincts de l'espèce *Mangifera indica* L. peuvent être identifiés sur la base de leur mode de reproduction et de leurs centres respectifs de diversité (Mukherjee, 1997) :

- un groupe subtropical comprenant des variétés produisant une graine monoembryonnée, des fruits plus ou moins colorés, parfois tachés de rouge, et de forme régulière (type indien)

- et un groupe tropical comprenant des variétés produisant une graine polyembryonnée, des fruits d'une coloration vert pâle et allongés (type Sud-Est asiatique et Philippines) (figure 5).

Cependant, quelques variétés polyembryonnées du Sud-Est asiatique auraient été introduites par les colonisateurs Portugais ou des commerçants, sur la côte ouest de l'Inde (Goa) depuis leurs colonies à Malacca dans la péninsule Malaise et au Timor dans l'archipel indonésien (Mukherjee, 1997).

### **1-1-2 Domestication du manguier**

La domestication est le processus selon lequel les individus à caractères génétiques intéressants pour l'homme sont sélectionnés et mis en culture (Pickersgill, B., 1986). Dans le genre *Mangifera*, outre *Mangifera indica*, 26 autres espèces trouvées dans le Sud-Est asiatique, telles que *M.caesia* et *M. laurina* (Java) et *M.foetida* (Indonésie) ont été domestiquées et produisent des fruits comestibles (Gruezo, 1992).

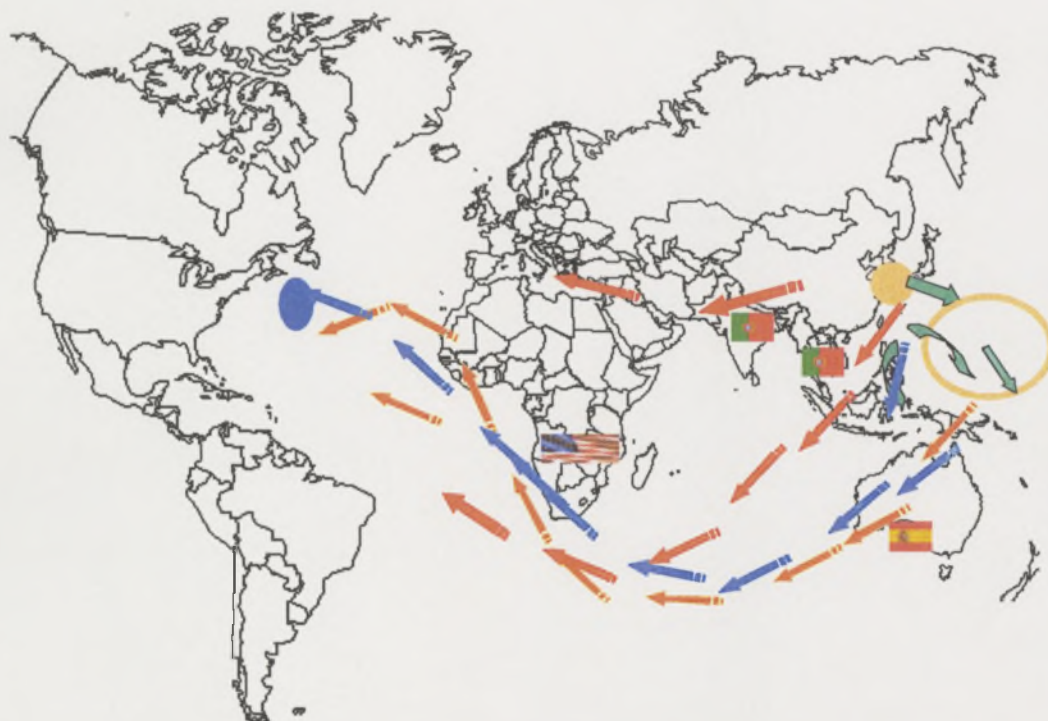
L'espèce la plus cultivée *Mangifera indica* L. , originaire de la zone frontalière entre l'Assam, le Bangladesh et le Myanmar, aurait été diffusée dans deux directions :

- vers la Malaisie et l'Asie du Sud-Est,
- et en direction du Golfe du Bengale et de l'Inde (Mukherjee, 1997).

Dans la période précoce de domestication, les premières variétés de manguiers, localisées dans le nord-est de l'Inde et le Myanmar, produisaient de petits fruits acides avec de gros noyaux. De tels fruits peuvent être trouvés aujourd'hui dans le nord-est de l'Inde et dans les îles Andaman. Les premières sélections dans le nord-est de l'Inde montraient une grande variabilité dans la forme et la taille du fruit.



**Figure 5 :** Diversité des formes des mangues asiatique (variété Carabao, à gauche) et indienne (variété Sandersha, à droite) (photos de la base de données de la collection de Guadeloupe, Cirad).



**Figure 6 :** Historique de la diffusion des manguiers.

**Légende :** En jaune centre d'origine et de diversification (Inde) et centre de diversité plus récent (Sud-Est asiatique).

En bleu centre secondaire de diversité (Floride).

→ XVI<sup>ème</sup> siècle : Expéditions portugaises vers l'Afrique de l'Ouest et Brésil.

→ XVIII<sup>ème</sup> siècle : Expéditions espagnoles vers les Antilles et vers l'Amérique du Sud.

→ XIX<sup>ème</sup> siècle : Importation de variétés indiennes et asiatiques en Floride.

De nombreuses sélections de semences présentant des caractères intéressants ont donné naissance à des fruits plus gros (Mukherjee, 1997).

Les commerçants arabes et phéniciens auraient commencé à diffuser le matériel végétal à partir d'Inde, le long des côtes est africaines via la Perse et l'Arabie (dès le X<sup>ème</sup> siècle) jusqu'en Egypte où il existe une ancienne zone de culture (Ibn Battuta, récit de 1355, Purseglove, 1972). Cependant la dispersion des manguiers et de leur mode de culture en dehors de leurs centres de domestication s'est probablement produite à partir du XV<sup>ème</sup> siècle à la faveur des expéditions de découverte et de colonisation européennes. Des variétés indiennes, essentiellement de type monoembryonné ont été introduites par les Portugais au début du XVI<sup>ème</sup> siècle sous forme de semences et de plants en Afrique de l'Ouest puis au Brésil à Bahia (vers 1700) (Popenoe 1920, Purseglove, 1972, Morton, 1987) (figure 6).

Tout au long du XVIII<sup>ème</sup> siècle, des mangues ont été introduites aux Antilles, d'abord à Porto Rico (1740) puis à La Barbade (1742) et ensuite en Jamaïque (1780) (Popenoe 1920, Kostermans & Bompard, 1993).

Parallèlement, les Espagnols introduisirent les types polyembryonnés depuis les Philippines vers l'Amérique centrale (Mexique vers 1778, Costa Rica en 1796) et l'Amérique du Sud. Les variétés traditionnelles les plus cultivées au Mexique s'appellent « Manila » et « Philipino » reflétant leur origine Philippine. A Madagascar et à la Réunion, les premières introductions de mangue ont commencé vers le XVIII<sup>ème</sup> (Kostermans & Bompard, 1993).

En 1833, des variétés polyembryonnées (« N°11 » et « Peach ») provenant de Cuba et du Mexique et quelques variétés indiennes monoembryonnées ont été introduites en Floride à Miami. Cependant, beaucoup de ces cultivars se sont révélés improductifs sous le climat floridien. A partir de 1889, d'autres variétés de manguiers ont été systématiquement introduites en Floride, à partir d'Inde, du Sud-Est asiatique (Philippines, Cambodge, Thaïlande) et d'autres régions (Australie) (Campbell, 1992). Ces introductions ont permis un brassage génétique important, et de ce fait la création d'un centre secondaire de diversité (centre de diversification) de l'espèce. Des hybrides spontanés ou provoqués ont produit des variétés floridiennes plus adaptées à des zones écologiquement différentes et présentant une production annuelle plus régulière. Ces variétés « américaines » sont à l'origine de la plupart des variétés commerciales



**Figure 7 :** Arbre adulte de l'espèce *Mangifera indica*.



disque  
floral

pétale

ovaire

sépale

**Figure 8 :** Les deux types de fleurs du manguiers : fleur mâle à gauche sur la photo (variété Irwin) et fleur hermaphrodite à droite.



**Figure 9 :** Panicules floraux de *Mangifera indica*.



**Figure 10 :** Détail des fruits de différentes variétés : Kent à gauche, Julie au centre et Philippino à droite (photos de la base de données de la collection de Guadeloupe, Cirad).

actuelles (« Kent », « Haden », « Keitt ») et sont cultivées dans beaucoup d'autres pays : au Mexique, en Amérique du Sud (Equateur, Pérou, Venezuela), en Israël et en Afrique du Sud (Campbell, 1992).

### **1-1-3 Botanique, caractéristiques morphologiques**

L'espèce *Mangifera indica*. L est décrite selon les caractéristiques suivantes: un arbre grand, à canopée plus ou moins retombante à feuilles persistantes lancéolées, de forme ovale à allongée, mesurant de 10 à 32 cm de long (Morton, 1987). Le manguier sauvage peut atteindre 30m de hauteur au stade adulte et vivre plus de 100 ans (figure7) (Mukherjee, 1997).

Le système racinaire est composé d'une longue et vigoureuse racine pivotante et d'un réseau superficiel très ramifié, lui permettant d'absorber l'eau et les nutriments. Les inflorescences érigées et ramifiées, portent des centaines de petites fleurs hermaphrodites ou mâles (le ratio du nombre de fleurs mâles sur le nombre de fleurs hermaphrodites est dépendant du cultivar (Schnell et al., 1995) et/ou influencé par des facteurs environnementaux, (Mukherjee, 1997) (figure 8). Les fleurs portées par des panicules floraux souples mesurent entre 5 et 10 mm de diamètre (figure 9) et sont formées de 4 à 5 pétales, 4 à 5 sépales, d'un disque floral composé de 4 à 5 lobes situé en dessous de la base des pétales, 4 à 5 étamines centrales dont une ou deux seulement sont fertiles et d'un ovaire contenant un seul ovule (fleurs hermaphrodites) (figure 8).

Les fruits, des drupes, sont larges avec un épiderme jaune, vert ou rouge à maturité selon la variété. Ils contiennent un mésocarpe comestible, charnu, de couleur jaune-orangé, parfois fibreux dont la forme et la taille sont très variables selon la variété (figure 10). Le fruit contient de la chlorophylle, des caroténoïdes, des anthocyanes et de la xanthophylle. La teneur en chlorophylle diminue lors de la maturation, alors que la concentration en pigment caroténoïdes, anthocyanes et xanthophylle augmente. Le noyau dur et fibreux renferme une graine large et aplatie, de forme ovale à allongée entourée par un endocarpe fibreux à maturité et contenant un embryon (type monoembryonné) ou plusieurs embryons (type polyembryonné).

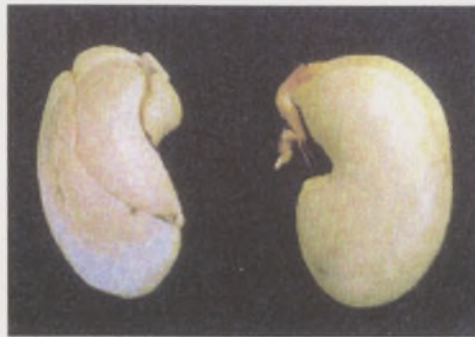
### **1-1-4 Mécanisme de reproduction du manguier**

Le mécanisme de pollinisation est considéré comme un facteur limitant majeur à la reproduction des manguiers, en effet, très peu de fleurs pollinisées donnent naissance

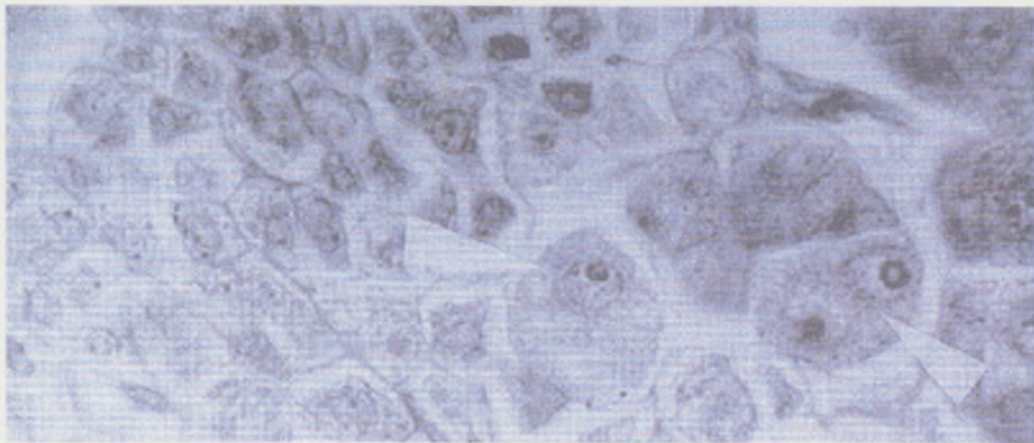




**Figure 11** : Pollinisation des fleurs de manguiers par des mouches.



**Figure 12** : Graine polyembryonnée à gauche (variété Kensington) et monoembryonnée à droite (variété Sensation) (Campbell, 1992).



**Figure 13** : Coupe longitudinale d'un ovule de mangue de type polyembryonné (Mukherjee, 1997).

**Légende** : Les flèches indiquent les embryons nucellaires.

à des fruits (Mukherjee, 1997). La pollinisation est indispensable chez les variétés monoembryonnées (Robbertse et *al.*, 1994) et s'effectue dans les conditions naturelles, par les insectes (diptères, lépidoptères et coléoptères) (Jiron & Hedstrom, 1985) et le vent (Hartless, 1914, Mallik, 1957), favorisant ainsi l'allogamie (figure 11). Les mangues peuvent être classées en deux groupes selon leur mode de reproduction. Les graines des variétés monoembryonnées contiennent un seul embryon d'origine zygotique, issu d'une fécondation et donneront naissance à un seul plant (hybride résultant du croisement entre les deux parents ou plant issu d'autofécondation). Les graines des variétés polyembryonnées contiennent un ou plusieurs embryons (figure 12). Généralement, l'un est d'origine zygotique (Crane et *al.*, 1997 ; Iyer & Degani, 1997) et les embryons adventices proviennent de cellules somatiques diploïdes, le plus souvent originaires du nucelle de l'ovule, tissu maternel entourant le sac embryonnaire, d'où leur dénomination « d'embryons nucellaires » (phénomène d'apomixie) (Lopez-Valenzuela et *al.*, 1997) (figure 13). Certaines variétés polyembryonnées peuvent produire des graines avec seulement des embryons nucellaires (« Carabao », « Cambodiana ») (Juliano & Cuevas, 1932).

Les embryons adventices sont développés à partir du nucelle mais peuvent aussi dériver directement du bourgeonnement de cotylédons et d'hypocotyles d'autres embryons nucellaires.

Etant issus de la multiplication de cellule somatique n'ayant subi aucun processus de méiose ni de fécondation, ces embryons ont le même potentiel génétique que la plante-mère (Juliano, 1934).

La polyembryonie est un trait polygénique (Sturrock, 1968) et ségrège comme un caractère récessif chez les descendants issus d'une hybridation entre une variété monoembryonnée et une variété polyembryonnée (Iyer & Degani, 1997).

En Inde, la forte diversité génétique des variétés cultivées est probablement due au fait que le type monoembryonné soit très dominant dans cette région : chaque plant issu de semis est donc produit par reproduction sexuée. En outre, la culture des variétés sous des conditions agroclimatiques très différentes a favorisé la diversité génétique parmi les cultivars indiens (Ravishankar et *al.*, 2000). A l'opposé, la multiplication végétative domine chez les variétés polyembryonnées qui, en l'absence de recombinaisons, ont tendance à fixer un type donné, y compris ceux issus d'une mutation ponctuelle.



**Figure 14 : Taches d'anthracnose sur la variété Ruby.**

Aujourd'hui, la multiplication du manguier par greffons est utilisée pour reproduire fidèlement le type variétal. De plus, les arbres greffés sont moins fragiles et requièrent seulement 3 à 4 ans pour produire leur première fructification importante. En effet, les jeunes plants issus de semis passent par une longue période juvénile de 5 ans et ne commencent à produire qu'au bout de 6 à 10 ans (Campbell, 1992). Seule la production de porte-greffe se fait généralement à partir de semis de variétés de type polyembryonné : comme « Turpentine » en Floride, « Sabre » en Afrique du Sud, « 13-1 » en Israël, « Kensington » en Australie et dans le Sud-Est asiatique, « Améliorée du Cameroun » au Sénégal (Furon, 1966).

#### **1-1-5 Mode de culture du manguier**

Le manguier est un arbre très résistant qui peut être cultivé sous des conditions environnementales très variables. Il croît bien dans des régions au climat chaud et où les saisons humides et sèches sont bien marquées, dans des sols sableux très bien drainés, de pH neutre et de fertilité moyenne. Une bonne fructification nécessite une température moyenne de 25-30°C durant la période de floraison et de développement des fruits. Des températures supérieures à 35°C sont néfastes à la survie de l'arbre surtout si elles sont accompagnées de vents forts et d'une faible humidité atmosphérique. Les manguiers adultes peuvent survivre à de légères gelées mais pas à des températures inférieures à -2°C. Les températures inférieures ou égales à 14 °C ne permettent pas une bonne fécondation des fleurs et induisent donc une mauvaise fructification. Le manguier doit être cultivé dans des régions où la pluviométrie annuelle est comprise entre 500 et 2000 mm. Cependant, lorsqu'elle dépasse 1000 mm, l'antracnose et d'autres maladies fongiques causent d'importants dommages aux fleurs et aux fruits (figure 14). Le besoin en eau est très important surtout les deux premières années après la plantation. De plus, durant la période de développement des fruits, un stress hydrique provoque la chute prématurée des fruits et peut entraîner une réduction significative de la taille des fruits.

Une floraison abondante et uniforme nécessite une période de dormance de 2 à 3 mois induite par des températures plus basses (8-10°C) et/ou des conditions de sécheresse. En outre, un climat ensoleillé est nécessaire à une bonne fructification et pour le mûrissement des fruits (Campbell, 1992).

### 1-1-6 Diversité génétique

L'étude de la diversité génétique à l'aide de marqueurs moléculaires permet d'établir des liens de parenté, de déterminer l'origine des espèces cultivées et de retracer l'évolution du génome (Becker et al., 1995, Hill et al., 1996).

L'utilisation de marqueurs dominants de type RAPD (Random Amplification of Polymorphic DNA), a permis d'établir des relations phylogénétiques entre 9 espèces du genre *Mangifera* et de montrer que l'espèce spontanée et domestiquée *M. laurina*, présente dans les régions chaudes et humides de Malaisie, est la plus proche génétiquement de l'espèce cultivée *M. indica*. (Knight & Schnell, 1993). Cependant, cette étude ne corrobore pas la classification taxonomique basée sur des caractères morphologiques établie par Bompard et Kostermans en 1992 (figure 2). En effet, elle ne permet pas de distinguer les deux sous-genres *Mangifera* et *Limus*. Une étude phylogénétique sur 13 espèces du genre *Mangifera* collectées en Thaïlande a été réalisée par restriction de fragments amplifiés d'origine chloroplastique et a permis de montrer des liens de parenté entre *M. sylvatica* et l'espèce cultivée *M. indica*, indiquant que *M. sylvatica* pourrait être un ancêtre direct de *M. indica* ou bien que ces deux espèces ont un ancêtre en commun (Eiadthong et al. (1999).

D'autre part, l'utilisation de marqueurs AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) a confirmé que les espèces *M. laurina*, *M. indica* et *M. sylvatica*, toutes cultivées dans le Sud-Est asiatique, et qui appartiennent à la section *Mangifera* du sous-genre *Mangifera* de la classification de Bompard et Kostermans, sont relativement proches génétiquement (Eiadthong et al., 2000). Les auteurs suggèrent alors que *M. laurina*, qui est résistante à l'antracnose et *M. sylvatica* qui a est plus sucrée et juteuse que la mangue commune *M. indica*, pourraient être utilisées dans des programmes d'amélioration et de sélection de *M. indica* par croisement, du fait de leur proximité génétique. En effet, l'hybridation interspécifique est possible et a été observée entre *M. indica*, *M. odorata* et *M. zeylanica*, espèces plus éloignées génétiquement (Mukherjee, 1953).

Des études de diversité ont été réalisées sur l'espèce la plus cultivée *M. indica* à l'aide de marqueurs RAPD, AFLP, SSR.

Des relations de filiation entre des variétés floridiennes ont été testées par l'utilisation de marqueurs RAPD (Schnell et al., 1995, Adato et al., 1995). Le calcul des distances génétiques entre les descendants et leurs parents putatifs a permis de valider ou d'infirmer les hypothèses émises par Campbell sur l'origine et l'histoire des cultivars

floridiens (Campbell, 1992). Selon Adato et *al.*, Keitt et Haden ne seraient probablement pas les descendants directs de Turpentine, cultivar introduit en Floride à partir des Antilles au XIX<sup>ème</sup> siècle. Fascell et Parwin seraient issus d'un croisement entre Haden et Brooks. Lippens, descendant de Haden et Keitt, descendant de Mulgoba, auraient le même parent pollinisateur (Turpentine ou Lily).

Les RAPD ont également été utilisés pour des études de diversité génétique de l'espèce *M. indica* et ont permis de montrer l'existence de deux groupes de cultivars indiens représentant deux écotypes différents de *M. indica*, le premier groupe comprend des variétés cultivées dans les régions du nord, de l'est et de l'ouest de l'Inde, et le deuxième groupe rassemble des variétés provenant principalement du sud de l'Inde (Hemanth Kumar et *al.*, 2001). Cette étude a montré un haut niveau de diversité dans les populations de *M. indica* L. cultivées dans le sud de l'Inde, faisant de cette région un pool génétique de l'espèce *M. indica*. Il apparaît donc que la majorité des cultivars actuellement cultivés en Inde proviendraient de cette région (Hemanth Kumar et *al.*, 2001). Toutefois, Karihaloo et *al.* (2003) mettent en évidence deux zones de diversité rassemblant les régions du nord et de l'ouest d'une part et les régions du sud et de l'ouest d'autre part.

En 1997, des marqueurs RAPD ont permis de classer des cultivars sud-américains (collectés au Mexique), indonésiens (Carabao, Manila), et floridiens en accord avec leur origine géographique (Lopez-Valenzuela et *al.*, 1997). Un marqueur RAPD spécifique de la polyembryonie a été mis en évidence afin de discriminer les individus monoembryonnés des individus polyembryonnés.

Depuis peu, des marqueurs SSR (Simple Sequence Repeats) ont été utilisés pour étudier la diversité génétique et ont permis de mettre en évidence deux groupes distincts de cultivars thaï : ceux directement apparentés aux cultivars indiens et ceux apparentés à des cultivars provenant de Floride (Brooks, Edward), des Philippines (Carabao) et d'Indonésie (Arumanis) (Eiadthong et *al.*, 1999). Cependant cette étude ne permet pas clairement de distinguer les cultivars de types monoembryonné des cultivars polyembryonnés.

## **1-2 Activité ressources génétiques du manguiers au Cirad-flhor**

### **1-2-1 La collection de manguiers en Guadeloupe**

Une première collection a été rassemblée à la station de Foulaya en Guinée, à partir de la fin des années 1940 et jusqu'à la fin des années 1950 puis dupliquée dans

d'autres pays africains (Cameroun, Congo, Côte d'Ivoire, Mali, Sénégal) dans les années 1960-1975. Chacune de ces collections s'est développée et dans les années 1985-1995, la collection de Korhogo en Côte d'Ivoire a été créée pour rassembler toutes les accessions intéressantes de ces collections.

En 1990, l'ensemble des accessions existant à Korhogo a été dupliqué en Guadeloupe à Vieux-Habitants. La collection antillaise de manguiers est actuellement constituée de 125 accessions du genre *Mangifera* dont 123 appartiennent à l'espèce *indica* et 2 aux espèces *M. laurina* et *M. appianata* (synonyme *pelipisan*) (originaires d'Indonésie) qui constituent la base de référence extérieure. Elle rassemble des variétés floridiennes, indiennes, égyptiennes, des cultivars améliorés ou sélectionnés en Afrique, ainsi que des variétés provenant d'Australie, des Canaries, de Trinidad, de Colombie et d'Indonésie. La liste des accessions de manguiers de la collection de Vieux-Habitants est présentée en annexe 1. Cependant, la documentation de la collection reste incomplète quant à l'origine et l'identification de certains cultivars. Dans certains cas, il s'agit de problèmes de nom (les accessions étant identifiées par leur nom de variété) : des changements d'orthographe, des ajouts et pertes variés avec dans certains cas la création de noms composés sont intervenus. Dans d'autres cas, c'est l'identité de l'accession qui est douteuse.

### **1-2-2 Le projet Patrimoine fruitier Antillais**

Depuis 2000, un projet Patrimoine Fruitier Antillais, qui s'inscrit dans le cadre du programme ARF (arboriculture fruitière) au Cirad est en cours et a pour objectifs la collecte, la conservation et la valorisation en terme d'adaptation et d'amélioration des variétés au niveau local. 148 accessions ont ainsi été collectées dans l'archipel de la Guadeloupe (Basse Terre, Grande Terre, Marie Galante, La Désirade), et en Martinique, et sont en cours d'observation in situ (F. Le Bellec). La liste des accessions de manguiers provenant des prospections est présentée en annexe 2.

## **1- 3 Présentation du projet d'étude de la diversité des manguiers**

### **1.3.1 Objectifs**

Les problèmes d'identification rencontrés au sein de la collection antillaise coûteuse en entretien et en observations, sont gênants pour sa valorisation et son utilisation potentielle comme base d'échanges. Le premier objectif de cette étude est donc de valider ou d'infirmer l'identité de certaines des variétés en collection par

comparaison avec 35 variétés floridiennes bien identifiées et d'origine connue, collectées à l'USDA (the United States Department of Agriculture à Miami, Floride) et au FBG (Fairchild botanical garden), de manière à disposer de références fiables pour l'étude de diversité. L'ensemble des ces 35 accessions de la collection de Floride est présenté en annexe 3.

Le deuxième objectif de cette étude est d'étudier la diversité génétique des ressources propres aux Antilles, de la comparer à la diversité observée en collection ainsi que de déterminer son positionnement dans la variabilité de l'espèce. Pour cela, il a fallu mettre en évidence la présence éventuelle de doublons parmi les cultivars prospectés aux Antilles.

Cette étude nous permettra d'émettre des hypothèses quant à l'origine des manguiers antillais, qui seront confrontées aux données bibliographiques et historiques sur l'origine et la provenance de l'espèce aux Antilles. Nous tenterons également de déterminer des relations de filiation entre accessions en repérant les caractères identiques hérités d'un ancêtre commun.

### **1-3-2 Le choix des marqueurs**

Afin de pouvoir réaliser ces objectifs, un programme de biologie moléculaire utilisant des marqueurs microsatellites a été développé par le Cirad-flhor à Biotrop depuis 2003. En effet, la différenciation des cultivars de mangue sur la base de traits morphologiques comme les caractéristiques des feuilles, des fleurs et des fruits reste limitée, puisque les traits morphologiques peuvent varier selon les conditions environnementales (Campbell, 1992). De plus, elle nécessite d'attendre la fin de la longue période juvénile des arbres (5 ans).

Des marqueurs dits dominants type « empreinte génétique » comme les RAPD (Schnell et *al.*, 1993, 1995 ; Ravishankar et *al.*, 2000) et les AFLP (Eiadthong et *al.*, 2000, Kashkush et *al.*, 2001), peuvent être utilisés pour l'identification variétale mais permettent de révéler uniquement la présence ou l'absence d'un seul allèle pour chaque locus, et les homozygotes ne sont pas discernables des hétérozygotes. De plus, des problèmes de reproductibilité des profils RAPD ont été observés en laboratoire et rapportés par Penner et *al.*, (1993).

Pour l'identification variétale et l'étude de la diversité génétique au sein d'espèces végétales, les marqueurs co-dominants spécifiques (isozymes, RFLP, SSR), sont des outils de choix. Les isozymes sont intéressants pour l'identification variétale car ils ont



montré un certain polymorphisme, et sont faciles à obtenir. Cependant, ces marqueurs ne permettent de révéler qu'un petit nombre de locus (Degani et al., 1990). Les RFLP peuvent être utilisés, cependant ils ont un taux de polymorphisme révélé moyen et la technique est lourde à mettre en œuvre (De Vienne et al., 1999).

Les microsatellites ou SSR (Simple Sequence Repeats) sont des marqueurs particulièrement intéressants pour étudier la diversité génétique et les relations de filiation entre accessions.

Ils sont composés d'une répétition en tandem d'un motif formé en général de 2 ou 3 paires de bases (Charters et al., 1996), sont répartis de façon uniforme dans le génome et marquent essentiellement les régions non codantes. En effet, le taux élevé de mutation des microsatellites, comparé aux autres séquences de l'ADN génomique explique le fait que les microsatellites soient très peu présents dans les séquences codantes, car trop fortement contre-sélectionnés (Santoni et al., 2000).

L'intérêt des marqueurs microsatellites par rapport aux autres marqueurs moléculaires réside :

- dans leur spécificité : la définition d'amorces (15 à 25 nucléotides) dans les séquences flanquantes de part et d'autre de ces répétitions permet d'amplifier un locus à l'exclusion de tout autre,
- dans leur polymorphisme : la variation du nombre de répétitions des microsatellites est extrêmement élevée, et est due vraisemblablement aux crossing-over et aux « erreurs » dues au glissement de la polymérase lors de la réplication des chromosomes (Grivet & Noyer, 1999). Le polymorphisme des locus microsatellites peut être également dû à une variation de séquence entre une des amorces et le site microsatellite,
- dans leur co-dominance : ils révèlent plusieurs allèles pour chaque locus étudié et mettent en évidence la présence d'individus hétérozygotes (Brown et al., 1996).

En outre, les zones flanquantes des marqueurs microsatellites étant suffisamment conservées, cela permet d'utiliser les amorces définies sur une espèce, sur les espèces les plus proches. En effet, des amorces microsatellites définies chez le pêcher (*Prunus persica* L.) (Cipriani et al., 1999) ont été utilisées pour amplifier des séquences microsatellites chez le prunier (*Prunus domestica*), l'abricotier (*Prunus armeniaca*) (Hormaza et al., 2002). De plus, ils sont manipulables par une technique simple : la

PCR (Polymerase Chain Reaction) (Morgante et *al.*, 1993) et leur nature monocus permet une interprétation directe en terme de locus et d'allèles.

## **II. MATERIEL ET METHODES**

**Tableau 1 : Echantillon de diversité constitué de 17 accessions.**

N° actif	Espèce	Variété	Origine	Provenance
GUA-023	<i>indica</i>	Cambodiana	Introduction en Floride de Saïgon (1902)	
GUA-025	<i>indica</i>	Carabao	Introduction en Floride des Philippines	
GUA-027	<i>indica</i>	Chanclito		Colombie
GUA-030	<i>indica</i>	Cyleon		Trinidad
GUA-047	<i>indica</i>	Florigon	Introduction en Floride de Saïgon (1932)	Canaries/cameroun
GUA-064	<i>indica</i>	Julie Antilles		Antilles
GUA-066	<i>indica</i>	Keitt	Graine de Mulgoba	Côte d'ivoire
GUA-072	<i>indica</i>	Mabroka		Cameroun
GUA-074	<i>indica</i>	Maison Rouge		Réunion
GUA-077	<i>indica</i>	Mangotine		Mali
GUA-083	<i>indica</i>	Nam Doc Maï	Introduction en Floride de Thaïlande (1973)	Australie
GUA-084	<i>indica</i>	Nimrod		Mali
GUA-094	<i>indica</i>	Philippino		Canaries
GUA-102	<i>indica</i>	Saber	≠ de Saber de Floride	
GUA-106	<i>indica</i>	Sandersha	Introduction de Bangalore (Inde)	Trinidad
GUA-122	<i>laurina</i>			Indonésie
GUA-123	<i>Pelipisan ou applanata</i>			Indonésie

**Légende :**  
En bleu, les 8 accessions utilisées pour tester les 7 nouveaux marqueurs définis dans

cette étude.



**Figure 15 :** Diversité des formes de fruit observée dans la collection de Vieux-Habitants : à gauche la variété Chanclito (GUA-027) et à droite la variété Mangotine (GUA-077).

## II. Matériel et méthodes

### 2.1 Matériel végétal

#### 2.1.1 Origine et obtention des échantillons végétaux

La stratégie d'échantillonnage a été définie en fonction des objectifs de l'étude.

Premièrement, afin de sélectionner des marqueurs microsatellites mettant en évidence du polymorphisme entre les variétés, le choix de l'échantillon de diversité qui constitue la base de référence pour réaliser les tests d'amplification et de polymorphisme des amorces microsatellites, s'est porté sur des variétés provenant de la collection de Guadeloupe, qui sont très différentes du point de vue de leur origine, de leur mode de reproduction et de leurs caractères morphologiques. A cause des problèmes d'identité des accessions existant au sein de cette collection, seules des variétés conformes aux descriptions de référence et dont l'origine était traçable ont été sélectionnées. Les deux types de *Mangifera indica* sont donc représentés : des variétés de type polyembryonné (Sud-Est asiatique) et des variétés de type monoembryonné (Inde). Leurs origines diverses (Saïgon, Inde, Thaïlande, Philippines, Antilles) reflètent bien l'image de la diversité (figure 15). L'échantillon de diversité est présenté en tableau 1.

Deuxièmement, afin de confirmer l'identité de certaines accessions de la collection de Guadeloupe, il fallait :

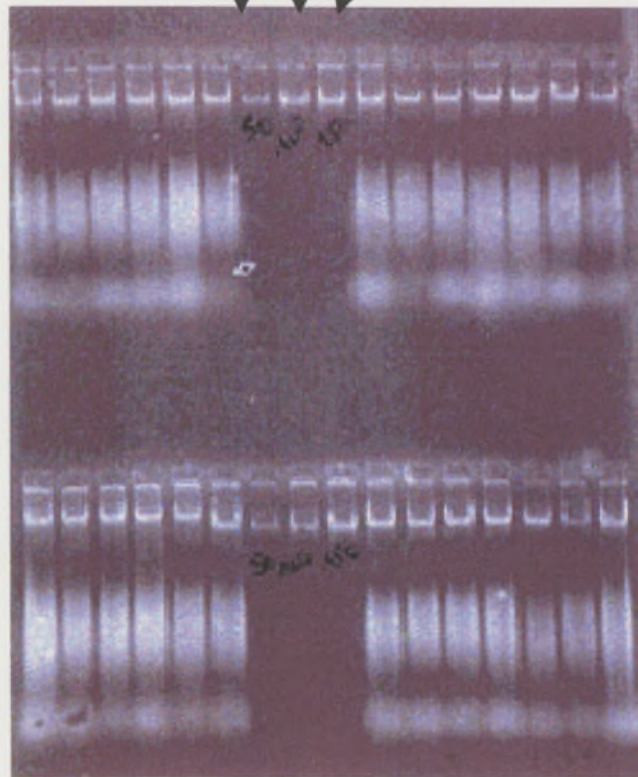
- échantillonner les 123 accessions de l'espèce cultivée *M. indica* provenant de la collection de Vieux-Habitants comprenant des variétés floridiennes, indiennes, égyptiennes, des cultivars sélectionnés en Afrique, ainsi que des variétés provenant d'Australie, de Colombie, des Canaries, de Trinidad et d'Indonésie. Deux accessions appartenant aux espèces *M. laurina* et *M. applanata* (nom vernaculaire Pelipisan) originaires d'Indonésie constituent la base de référence extérieure de cette collection (annexe 1).
- et établir des comparaisons entre les accessions en collection et les 35 variétés de référence collectées en Floride à l'USDA (the United States Department of Agriculture) et au FBG (Fairchild Botanical Garden) (annexe 3).

Deuxièmement, afin de déterminer l'origine des variétés locales antillaises, d'en étudier la diversité génétique et de la comparer à la diversité observée en collection, il a fallu échantillonner les 148 accessions provenant de prospections réalisées dans des

1 individu par piste

Témoins de dosage (ADN cocotier)

50 100 150 ng/ $\mu$ l



**Figure 16 :** Vérification et quantification des ADN extraits sur gel d'agarose à 0.8%.

jardins de particuliers aux Antilles dans l'archipel de la Guadeloupe (94 accessions : dont 74 à Basse Terre, 12 à Marie Galante, 5 à la Désirade et 1 à Grande Terre) et à la Martinique (34 accessions) (annexe 2).

Des variétés réunionnaises, collectées dans le cadre d'une mission ont également été étudiées (20 accessions) (annexe 2).

Toutes les accessions ont été reçues sous forme de feuilles fraîches.

L'échantillon final se compose de 307 accessions dont les désignations, les provenances, les origines et les dates de prospection sont présentées en annexe 1, 2 et 3.

### **2.1.2 Extraction, purification et dosage des ADN génomiques**

L'ADN génomique est extrait à partir de feuilles jeunes et fraîches de mangouier selon le protocole utilisé à Biotrop d'après Risterucci et *al.* (2000). L'ADN dans les feuilles est facilement extrait et en quantité suffisante pour l'amplification par PCR. Nous avons choisi des feuilles non oxydées ni abîmées.

Pour chaque accession, 0.5g de feuilles (à l'exception des nervures centrales) sont pesés et broyés dans l'azote liquide. Le broyat est alors transvasé dans un tube contenant le tampon d'extraction préchauffé à 72°C. Après incubation dans le tampon pour lyser les cellules végétales, purification avec l'ajout de chloroforme et centrifugation, la phase aqueuse contenant l'ADN (la phase solide contient les débris végétaux) est récupérée et l'ADN précipité à l'isopropanol. Une nouvelle centrifugation permet de séparer le culot qui est repris dans du tampon Tris-EDTA. Les tubes contenant l'ADN en solution sont ensuite conservés à 4°C et à l'abri de la lumière.

Le protocole d'extraction de l'ADN est décrit en annexe 4.

Une électrophorèse sur mini-gel d'agarose à 0,8% est ensuite réalisée afin de vérifier la présence et la qualité de l'ADN extrait. Trois concentrations d'ADN de cocotier (50, 100 et 150 ng/μl) permettent d'évaluer la concentration d'ADN extrait pour chaque variété. Après dépôt des aliquots dans les puits et migration à 100V, le gel est plongé dans un bain de BET, puis rincé à l'eau et l'ADN est visualisé en fluorescence UV (figure 16). Le protocole de quantification d'ADN sur gel d'agarose est décrit en annexe 5. Pour chacune des accessions, une solution d'ADN à 5 ng/μl est ensuite préparée avec de l'eau stérile (Mercks).





## 2.2 Méthodologie pour l'analyse microsatellite

### 2.2.1 Définition des amorces microsatellites

Préalablement à cette étude, une banque enrichie en microsatellites a été réalisée au laboratoire selon le protocole de Billote et *al.* (1999) à partir de l'ADN génomique de *Mangifera indica*. Cette première étape vise à sélectionner, à partir de l'ADN extrait et restreint, des fragments contenant un microsatellite.

48 clones positifs issus de la première banque enrichie en di nucléotides ont été séquencés par le laboratoire Génome Express.

Le logiciel Microsat (Cirad-flhor, Perrier et Jacquemoud-Collet), a permis de nettoyer les séquences contenant les microsatellites des primers d'amplification et des sites de restriction de l'enzyme *Rsal*. Une base de données Access a été créée et la recherche des motifs microsatellites a été effectuée.

Le logiciel Sequencher<sup>TM</sup> (version 4.1.4, 1991-2002, Gene Code Corporation) a permis une comparaison et un alignement de toutes les séquences de manière à repérer et à éliminer les éventuels doublons.

Le logiciel Primer3 (Rozen et Skaletsky, 2000) a permis de déterminer des couples d'amorces dans les séquences flanquantes des microsatellites identifiés. Les amorces ont été définies en fonction des critères suivants :

- la taille du produit d'amplification doit être comprise entre 50 et 350 bp,
- la taille des amorces entre 15 et 18 bp,
- la température d'hybridation doit être comprise entre 40 et 65°C avec un optimum de 50°C et 1°C de différence maximum entre les deux amorces,
- le pourcentage de GC doit être compris entre 35 et 80%
- et la self-complémentarité à l'extrémité 3' doit être minimale.

Un exemple de définition d'un couple d'amorce par Primer3 est présenté en figure 17. 29 couples d'amorces avaient déjà été définis lors un travail préliminaire (J. Bunuel) et 7 nouveaux couples d'amorces ont été définis et synthétisés par Eurogentec S.A lors de ce stage.

### 2.2.2 Tests d'amplification par PCR froide

Les tests d'amplification microsatellites ont pour objectif de vérifier si les fragments comprenant le site microsatellite sont bien amplifiés. Les 29 premiers couples d'amorces définis avaient déjà été testés en amplification à froid selon deux types de

protocoles : un programme à température d'hybridation fixe (51°C) et un programme d'hybridation variable (touch-down de 56 à 51°C avec diminution de la température de 0,5°C par cycle) sur 17 individus constituant l'échantillon de diversité.

Les 7 nouveaux couples d'amorces ont été testés avec les mêmes programmes sur 8 individus de l'échantillon de diversité. Les amplifications ont été effectuées dans des thermo-cycler PTC-100™ MJ Research, INC., suivies d'une migration sur gel d'agarose à 1,5% et révélation en fluorescence UV (protocole détaillé en annexe 6). Cette étape permet de détecter des problèmes de dilution et de purification d'ADN et /ou d'hybridation des amorces choisies.

### **2.2.3 Tests de polymorphisme par incorporation de ( $\alpha$ -<sup>33</sup>P) dCTP**

Ce deuxième test qui consiste à incorporer l'élément radioactif ( $\alpha$ -<sup>33</sup>P) dCTP directement dans le fragment produit par PCR a été réalisé afin de sélectionner les couples d'amorces amplifiant des fragments polymorphes. La majorité des couples précédemment définis (21/29) avaient déjà été testés (selon le programme PCR à température d'hybridation fixe (51°C)) sur les 17 accessions de l'échantillon de diversité par incorporation de ( $\alpha$ -<sup>33</sup>P) dCTP, puis une migration sur gel d'acrylamide à 5% en conditions dénaturantes et une révélation par autoradiographie ont été réalisées (annexe 7). Les 7 amorces définies lors de ce stage, ont été testées selon le même protocole sur 8 individus issus de l'échantillon de diversité. La longueur des fragments amplifiés a été déterminée par comparaison avec une échelle d'ADN marqué (ladder 30-330pb : annexe 7). La technique par incorporation est plus simple expérimentalement mais elle ne peut être utilisée que pour des tests de polymorphismes réalisés sur un petit échantillon (ici 8 ou 17 accessions) du fait de son coût élevé. C'est pourquoi la méthode d'analyse microsatellites par phosphorylation des extrémités 5' avec du ( $\gamma$ -<sup>33</sup>P) ATP a été utilisée lors de l'étude de diversité sur l'ensemble de la collection.

### **2.2.4 Analyses microsatellites par phosphorylation des extrémités 5' avec du ( $\gamma$ -<sup>33</sup>P) ATP**

Les analyses microsatellites ont été réalisées selon le protocole de marquage de l'amorce R par phosphorylation de son extrémité 5' avec du ( $\gamma$ -<sup>33</sup>P) ATP. Les produits d'amplification obtenus après PCR (réalisée selon le protocole d'hybridation fixe : 51°C) ont été déposés sur gel de polyacrylamide 5% en conditions dénaturantes. Les

analyses microsatellites pour l'étude de diversité sur l'ensemble des 307 accessions ont été réalisées selon le même protocole : les 20 couples d'amorces les plus polymorphes sélectionnés lors des tests de polymorphisme ont été marqués par phosphorylation des extrémités 5' de l'amorce R, au ( $\gamma$ - $^{33}\text{P}$ ) ATP (annexe 8).

Pour vérifier si les profils étaient cohérents, la variété Keitt (GUA 066) a été placée comme témoin sur les gels, tous les 14 ou 15 individus, soit quatre répétitions par gel.

## 2.3 Analyse des données

### 2.3.1 Etude de diversité

Les microsatellites, marqueurs co-dominants, donnent une information génétique directe et les bandes peuvent être codées en allèles. La mangue étant diploïde, on s'attend à révéler deux allèles maximum par individu. A partir de ce codage, une matrice de dissimilarités a été générée avec toutes les combinaisons de paires d'allèles possibles entre les individus en utilisant un indice dérivé de l'indice de Dice (1945) équivalent à la distance génétique de Nei et Li (1979) :

$$SG = \frac{2n_{1,1}}{(2n_{1,1} + n_{1,0} + n_{0,1})}$$

Où  $n_{1,1}$  est le nombre d'allèles partagés par les individus  $i$  et  $j$ ,  $n_{1,0}$  le nombre d'allèles présents chez  $i$  et absents chez  $j$  et  $n_{0,1}$  le nombre d'allèles présents chez  $j$  et absents chez  $i$ .

Cet indice ne prend pas en compte l'information donnée par les doubles absences, non pertinente puisque n'apportant aucune indication sur la proximité des individus (Perrier et al., 2003).

Les données de dissimilarités ont été représentées sous forme arborée par la méthode de regroupement Neighbor-Joining (NJ) (Saitou et Nei, 1987), à l'aide du logiciel DarWin 4.0 (Dissimilarity analysis and representation) (Perrier et al., 1999) afin de représenter la diversité génétique de l'espèce *Mangifera indica* L.

La robustesse du dendrogramme a été testée par 1000 bootstraps, outil statistique permettant d'estimer la confiance dans l'arbre obtenu.

Le « bootstrap » est une technique de ré-échantillonnage : on suppose que les caractères évoluent de manière indépendante : on crée un nouveau jeu de données en faisant des tirages aléatoires des variables avec remise et on compare l'arbre

obtenu avec l'original. On répète l'opération et on calcule pour chaque nœud le pourcentage où il est trouvé dans la même topologie que dans l'arbre initial.

Le dendrogramme construit nous permettra de mettre en évidence les individus dont les profils sont identiques et de visualiser la diversité au sein de l'échantillon.

### **2.3.2 Taux d'hétérozygotie et fréquences alléliques**

Les analyses statistiques ont été réalisées sur 5 sous-groupes d'individus rassemblés selon leur origine géographique (cas de la majorité des variétés indiennes et asiatiques) et en fonction des regroupements observés sur le dendrogramme (cas des floridiennes, antillaises, réunionnaises et africaines).

Les fréquences alléliques par locus (mesure du pourcentage d'un allèle présent dans chaque sous-groupe), les taux d'hétérozygotie attendus  $H_{exp}$  ( $H_{exp} = 1 - \sum p_i^2$ , où  $p_i$  est la fréquence du  $i^{\text{me}}$  allèle), les taux d'hétérozygotie observés  $H_{obs}$  et les taux d'hétérozygotie attendus corrigés par le biais de l'échantillonnage  $H_{n.b.}$ , ont été calculés à l'aide du logiciel GENETIX v 4.03 (Belhir, laboratoire Génome, population, interaction, Montpellier), d'après l'adaptation du programme GENESTATS (de Black et Krafur, 1985).

### **III. RESULTATS**

### **III. Résultats**

#### **3.1 Développement des marqueurs**

##### **3.1.1 Définition des amorces microsatellites**

Au total 48 inserts obtenus à partir de la banque enrichie en microsatellites avaient été séquencés. Après étude de ces séquences avec le logiciel Microsat, une base de données a été créée comprenant au total 41 séquences de longueur variable (comprise entre 200 et 800 pb) avec un motif microsatellite simple, dinucléotidique de taille supérieure à 11 pb ou composé (formé de plusieurs séquences microsatellites successives ou espacées de une ou plusieurs bases).

Après élimination de cinq doublons par le logiciel « Sequencher », le traitement de la base de données par le logiciel « PRIMER 3 » avait permis de définir dans un premier temps 29 couples d'amorces spécifiques pour l'analyse microsatellite. Lors de ce stage, 7 séquences ont été traitées (tableau 2).

##### **3.1.2 Tests d'amplification par PCR froide**

Les 7 nouveaux couples d'amorces définis ont été testés selon le programme PCR d'hybridation à température fixe (51°C) et variable (touch down de 56 à 51°C avec une diminution de la température de 0.5°C par cycle) sur 8 individus de l'échantillon. Les 29 couples d'amorces préalablement définis avaient déjà été testés en amplification à froid selon les mêmes programmes PCR sur 17 individus constituant l'échantillon de diversité.

Pour les sept nouveaux couples d'amorces (mMiCIR030 à mMiCIR036), les deux programmes PCR ont permis une bonne amplification : 4 amplifications sans voile, 2 amplifications avec un léger voile (quasi inexistant avec le programme PCR touch down) (figure 18). Le couple mMiCIR033 n'a amplifié que pour une seule accession (Florigon, piste 2) et ce pour les deux programmes testés, suggérant qu'il y a eu un problème de manipulation (erreur de distribution du mix PCR).

Tous les couples ayant amplifié des fragments aux locus ciblés ont été sélectionnés pour les tests de polymorphisme en ( $\alpha$ -<sup>33</sup>P) dCTP.

**Tableau 2 :** Description des séquences microsatellites utilisées.

Nom de la séquence microsatellite	Motif	Taille du produit attendu (pb)	Position du microsatellite
mMiCIR001	(TG)6GTTTCT(TG)9	191	113-148
mMiCIR002	(TG)7	253	314-327
mMiCIR003	(TG)10	319	521-540
mMiCIR004	(GT)8	210	39-54
mMiCIR005	(TG)14	181	46-73
mMiCIR006	(GT)9	177	107-124
mMiCIR007	(TG)7	126	48-61
mMiCIR008	(AT)6G(TG)14(TATG)6	163	78-142
mMiCIR009	(AC)10	165	278-297
mMiCIR010	(TG)13	284	196-221
mMiCIR011	(TG)10	191	119-137
mMiCIR012	(TG)8	231	362-377
mMiCIR013	(GT)10	156	147-166
mMiCIR014	(T)14(TG)11	162	75-140
mMiCIR015	(TG)7	219	69-82
mMiCIR016	(AT)6	240	66-77
mMiCIR017	(GT)6	294	165-176
mMiCIR018	(AC)8	234	308-323
mMiCIR019	(AC)7(A)13	201	365-589
mMiCIR020	(AC)14	173	234-261
mMiCIR021	(TG)8	168	148-163
mMiCIR022	(AC)16	168	80-111
mMiCIR023	(TG)10	257	521-540
mMiCIR024	(AC)10	233	297-316
mMiCIR025	(CA)6	211	261-272
mMiCIR026	(TG)6	281	179-190
mMiCIR027	(TTCA)4TTCCCGTATCTGAATAC A(AC)6	150	54-88
mMiCIR028	(CA)7	187	46-59
mMiCIR029	(AC)11	176	180-201
mMiCIR030	(TG)12	193	334-357
mMiCIR031	(TGA)4	181	102-117
mMiCIR032	(TG)4	189	442-457
mMiCIR033	(TA)6(TG)7	232	612-649
mMiCIR034	(AATA)3(AC)8	201	252-277
mMiCIR035	(CA)7	105	141-231
mMiCIR036	(TG)11	264	350-363





**Tableau 3 : Tests de polymorphisme par incorporation d'( $\alpha$ - $^{33}\text{P}$ ) dCTP.**

Couples d'amorces	Longueur du produit attendu d'après la séquence (pb)	Taille obtenue lors des tests en alpha-33P (pb)	Nombre d'allèles estimés par locus	Qualité du polymorphisme
mMiCIR001	191	210	3	P+
mMiCIR002	253	270	2/3	P
mMiCIR003	319	330	3	P+
mMiCIR004	210	220	3/4	P++
mMiCIR005	181	190	2	P
mMiCIR006	177	180	3	P+
mMiCIR007	126	130	1	M
mMiCIR008	163	170	3	P+
mMiCIR009	165	180-190	5	P++
mMiCIR010	284	300-310	4	P+
mMiCIR011	191	210	2/3	P
mMiCIR012	231	250	2	P
mMiCIR013	156	170	3	P+
mMiCIR014	162	160-180	6	P++
mMiCIR015	219	220	1	M
mMiCIR016	240	260	4	P+
mMiCIR017	294	310	1	M
mMiCIR018	234	250-260	6	P++
mMiCIR019	201	220	1	M
mMiCIR020	173	170-190	6	P++
mMiCIR021	168	180	3	P+
mMiCIR022	168	170-190	6	P++
mMiCIR023	257	270	5	P++
mMiCIR024	233	240	3	P+
mMiCIR025	211	230	5	P++
mMiCIR026	281	280	1	M
mMiCIR027	150	170	2	P
mMiCIR028	187	210	3	P+
mMiCIR029	176	200-210	5	P++
mMiCIR030	193	190-200	5	P++
mMiCIR031	181	180	1	M
mMiCIR032	189	170-190	4	P+
mMiCIR033	232	240	2	P
mMiCIR034	201	210	4	P+
mMiCIR035	105	108	1	M
mMiCIR036	264	260-280	4	P+

**Légende :**

P++ : microsatellite polymorphe de premier choix

P+ : microsatellite polymorphe de second choix

P : microsatellite peu polymorphe

**M : microsatellite monomorphe**

**En bleu : les couples d'amorces sélectionnés pour les analyses microsatellites.**

### 3.1.3 Tests de polymorphisme par incorporation d' $(\alpha\text{-}^{33}\text{P})$ dCTP

Le choix des marqueurs microsatellites est basé sur la qualité du polymorphisme révélé, jugée selon deux critères :

- la matérialisation d'un grand nombre d'allèles sur l'échantillon
- la netteté des profils observés

Sur les 29 couples d'amorces qui avaient déjà été testés sur 17 accessions, 19 mettaient en évidence du polymorphisme, 5 étaient peu polymorphes (ne mettant en évidence que 2 ou 3 allèles) et 5 étaient monomorphes et homozygotes (ne révélant qu'un seul allèle par locus) (tableau 3).

Sur les 19 marqueurs polymorphes, 9 couples d'amorces sont de premier choix puisqu'ils révèlent entre 4 et 6 allèles par locus ciblé, les 10 autres couples dits de deuxième choix révèlent pour la plupart 3 allèles par locus. Du fait de la qualité du polymorphisme révélé, ces 19 marqueurs avaient été sélectionnés pour l'étude de diversité. Les 5 marqueurs peu polymorphes, ne révélant que peu d'allèles par locus ciblé sont donc moins intéressants et n'ont pas été utilisés pour l'étude de diversité.

Sur les 7 nouveaux couples d'amorces testés en  $(\alpha\text{-}^{33}\text{P})$  dCTP sur 8 accessions de l'échantillon de diversité, 4 mettaient en évidence du polymorphisme (dont 1 marqueur de 1<sup>er</sup> choix et 3 de 2<sup>ème</sup> choix), un marqueur s'est révélé peu polymorphe et 2 se sont révélés monomorphes (tableau 3).

Ces tests de polymorphisme réalisés sur un échantillon de 17 ou 8 variétés de manguiers ont donc abouti à la sélection de 23 marqueurs au total dont 10 avec une qualité de polymorphisme élevée (marqueurs de premier choix), et les 13 autres avec une qualité de polymorphisme plus faible mais suffisante (marqueurs de second choix).

Ces 23 marqueurs ont donc été utilisés pour réaliser les analyses microsatellites sur les 307 individus.

## 3.2 Analyses de la diversité

### 3.2.1 Polymorphisme microsatellite

Sur les 23 couples d'amorces mettant en évidence du polymorphisme en  $\gamma\text{-}^{33}\text{P}$  sur l'ensemble des 307 individus, 20 couples d'amorces ont donné des profils lisibles et interprétables en allèles (tableau 4 et figure 19). Les bandes observées matérialisent les allèles du locus étudié, chaque allèle correspond à une bande de poids moléculaire spécifique.

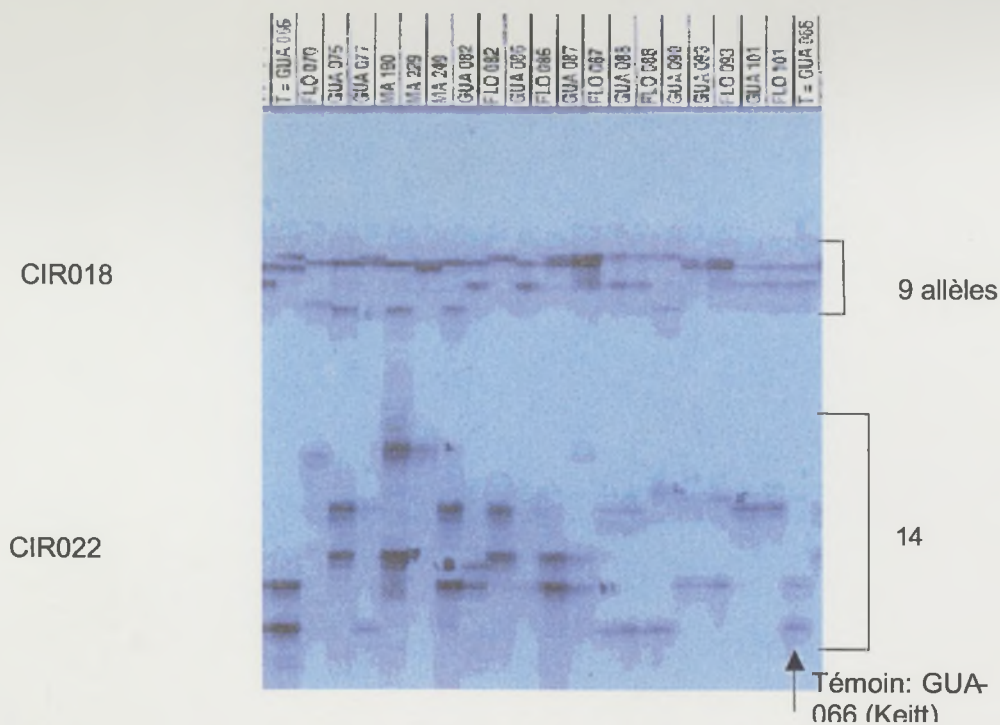


Figure 19 : Exemple de profil d'amplification microsatellite interprétable en allèle : cas des couples mMiCIR018 et mMiCIR022.

Tableau 4 : Liste des 23 marqueurs analysés en  $\gamma$ -<sup>33</sup>P-ATP.

Couples d'amorces	Longueur du produit attendu d'après la séquence (pb)	Taille obtenue lors des analyses en gamma-33P (pb)	Nombre d'allèles par locus estimés en alpha-P33	Nombre d'allèles révélés en gamma-P33 sur les 307 individus
mMiCIR001	191	210	3	5
mMiCIR003	319	330	3	5
mMiCIR004	210	220	3/4	abandonné
mMiCIR006	177	180	3	abandonné
mMiCIR008	163	170	3	8
mMiCIR009	165	180-190	5	5
mMiCIR010	284	300-310	4	6
mMiCIR013	156	170	3	5
mMiCIR014	162	160-180	6	8
mMiCIR016	240	260	4	4
mMiCIR018	234	250-260	6	9
mMiCIR020	173	170-190	6	7
mMiCIR021	168	180	3	7
mMiCIR022	168	170-190	6	14
mMiCIR023	257	270	5	5
mMiCIR024	233	240	3	abandonné
mMiCIR025	211	230	5	5
mMiCIR028	187	210	3	4
mMiCIR029	176	200-210	5	11
mMiCIR030	193	190-200	5	8
mMiCIR032	189	170-190	4	13
mMiCIR034	201	210	4	7
mMiCIR036	264	260-280	4	6

Ces 20 marqueurs ont révélé entre 4 et 14 allèles par locus ciblé pour un nombre total d'allèles de 148, soit une moyenne de 7.4 allèles par locus.

Des problèmes se sont présentés pour les trois autres marqueurs :

- le couple d'amorces mMiCIR004, a permis de révéler 5 allèles, mais le profil a montré un problème de proximité de bandes ; en effet, les différences de taille des fragments amplifiés semblent correspondre à des écarts de 1 base et non pas de 2 et/ou de multiple de 2 comme on s'y attend avec des microsatellites di-nucléotides, les profils observés s'avèrent donc extrêmement difficiles à lire et ce marqueur n'a pas été utilisé.
- pour le couple mMiCIR006, les profils obtenus ont révélé la présence d'un allèle nul et sont difficilement interprétables. Ce marqueur, ne permettant pas de distinguer les individus homozygotes des hétérozygotes possédant l'allèle nul, n'est pas utilisable pour l'étude de diversité.
- Le couple d'amorces mMiCIR024 a permis une amplification des fragments, mais les profils obtenus étaient difficilement lisibles. Nous n'avons donc pas pris en compte ce marqueur pour les analyses de diversité.

Enfin, sur les 307 individus testés, 5 accessions ont été éliminées pour causes de données manquantes.

### **3.2.2 Identification des cultivars**

Les analyses microsatellites réalisées avec ces 20 marqueurs sur 302 individus ont permis de construire un dendrogramme (figure 20 et 21). Après analyse de cet arbre de diversité, nous avons pu valider l'identité de 39 cultivars de la collection de Guadeloupe par comparaison avec les variétés floridiennes de référence. Par convention, l'identité d'un individu n'est confirmée que lorsque les valeurs de dissimilarité trouvées entre les cultivars de la collection et les variétés floridiennes correspondantes sont égales à zéro. Cependant, les analyses génétiques réalisées ne sont pas suffisantes pour l'identification formelle des cultivars, elles doivent corroborer les données historiques et bibliographiques connues sur certaines variétés et confirmer les observations morphologiques et agronomiques réalisées sur le terrain.

L'analyse de ce dendrogramme nous a également permis de confirmer les problèmes d'identité variétale observés.

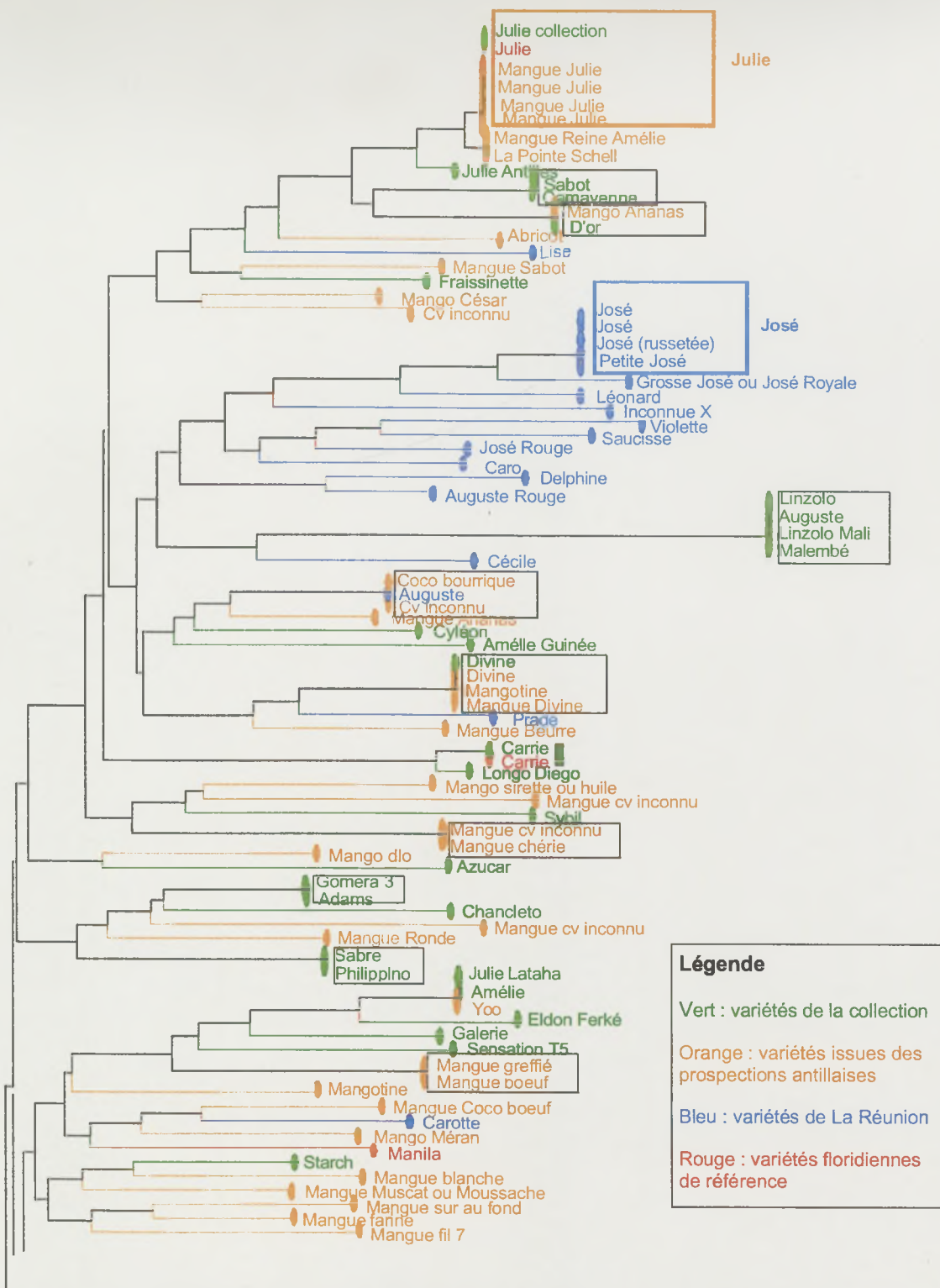


Figure 20 : Représentation arborée partielle des 307 accessions mettant en évidence la présence de doublons au sein de la collection et des prospections.

Ainsi, 37 doublons (cultivars portant un nom différent mais ayant un profil génétique identique) ont été mis en évidence au sein de cette collection.

Par exemple, les variétés Camayenne et Sabot, ont présenté un profil microsatellite identique (figure 20). De même, que les cultivars Linzolo, Auguste et Malembe provenant de Korhogo et Linzolo Mali provenant de la collection de Guadeloupe (figure 20).

Bedami rouge, Bedami vert, Davis Haden, Dixon, Francis, Pêche, Maya et Haden n'ont montré aucune dissimilarité (figure 21). De la même façon, les variétés Paheri, Pirie, Peter Passand, Alphonse Paheri, Sacabi, Djibelor Casamance et Bombay Green ont également révélé des profils SSR identiques (figure 21).

On constate également que les valeurs de dissimilarité entre les deux variétés australiennes Kensington et Bambaroo sont nulles (figure 21).

Cependant, l'identité de certains cultivars reste inconnue, comme par exemple les doublons Edward et Martin, identiques génétiquement mais ne correspondant pas aux variétés officielles (figure 20).

D'autre part, la collection comprend 9 accessions dont l'identité a été infirmée par comparaison avec les variétés de Floride, comme par exemple, la variété nommée Beverly qui montre le même profil que la variété Glazier etc ...(figure 21). La liste représentant ces 9 accessions est présentée en annexe 10.

Toutes les accessions de la collection dont l'identité a été confirmée est présentée en annexe 11.

L'analyse du dendrogramme a également permis de montrer la présence de 61 doublons au sein des prospections réalisées aux Antilles et à la Réunion (voir liste en annexe 12). Par exemple, les accessions José (RE-009 et RE-013), José russetée (RE-004) et Petite José (RE-003) toutes prospectées à la Réunion montrent des profils similaires (figure 20). Cependant, la variété réunionnaise, de même nom : José Rouge présente des dissimilarités avec les 4 accessions précédemment citées. De la même façon, les variétés nommées Mangue Julie prospectées à Basse Terre (MA 189, MA 200 et MA 208) et à la Martinique (MA 307) présentent le même profil SSR que la variété Julie de la collection (GUA-063) (figure 20).

D'autre part, 6 cultivars antillais dont le nom était inconnu ont pu être rapprochés de variétés connues, leur identification doit être confirmée par observation morphologique sur le terrain.

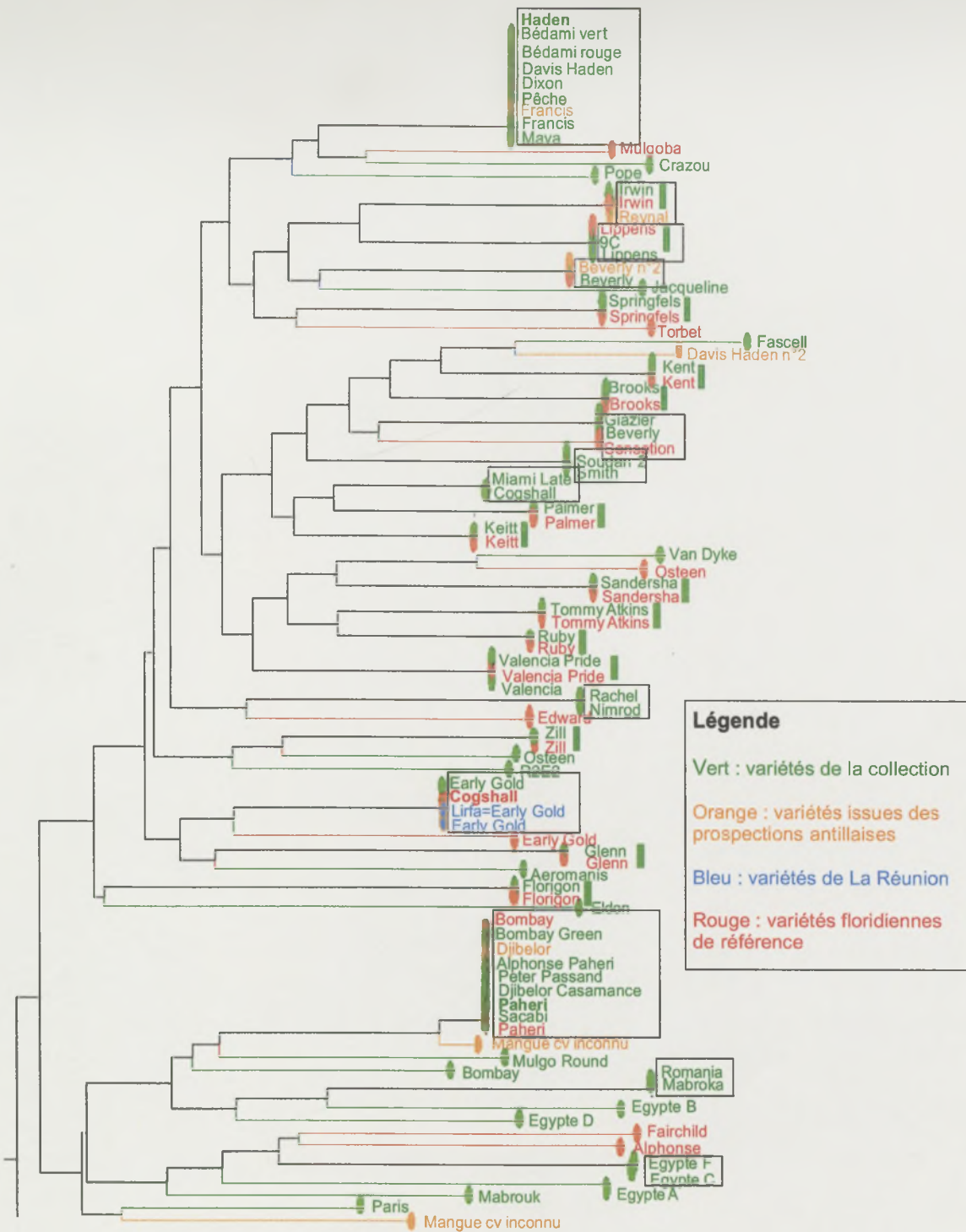


Figure 21 : Représentation arborée partielle des 307 accessions mettant en évidence la présence de doublons au sein de la collection et des prospections

Les analyses génétiques nous laissent penser que de nombreuses variétés cultivées aux Antilles et à la Réunion ont été renommées ; en effet, les accessions Reynal, Mango ananas, Yoo, Djibelor, Coco bourrique trouvées aux Antilles présentent les mêmes profils que les variétés officielles trouvées au sein de la collection respectivement : Irwin, D'or, Amélie, Paheri et Auguste (variété réunionnaise) (figures 20 et 21). Cependant, des observations morphologiques doivent être réalisées afin de confirmer cette hypothèse.

Il est intéressant de constater que le cultivar nommé Beverly n°2 (MA 213) prospecté à Basse Terre correspond à la variété floridienne de référence Beverly, absente de la collection de Guadeloupe (figure 21).

Cependant, des erreurs d'identification ont été relevées : le cultivar Florigon n°2 (MA 217) prospecté à Basse Terre montre des dissimilarités avec la variété floridienne de même nom, en effet, son profil est identique à celui de la variété de la collection nommée Passy Hâtive. De même, les cultivars nommés Early Gold (RE-002), Lirfa Early Gold (RE-016) prospectés à la Réunion et Early Gold (GUA-037) de la collection présentent des profils identiques à celui de la variété de référence Cogshall (figure 21). De la même façon, l'accession Francis (MA 321) prospectée à la Martinique ne montre aucune dissimilarité avec la variété Haden de la collection (figure 21).

La présence de doublons au sein de la collection et parmi les cultivars issus de prospections, introduit un biais pour les calculs statistiques des taux d'hétérozygotie et des fréquences alléliques. Parmi les doublons au sein de la collection, nous n'avons conservé qu'une seule accession par profil SSR identique : soit une variété dont l'identité a été confirmée par comparaison avec la variété floridienne de référence, soit une variété dont l'identité a été confirmée par observations morphologiques sur le terrain. Par convention, lorsque deux cultivars nommés différemment et ne correspondant à aucune variété officielle ont révélé des profils identiques, nous avons conservé pour les analyses le cultivar dont le numéro d'accession était le plus petit (cas des variétés prospectées aux Antilles trouvées identiques).

Ainsi, après élimination des doublons, la matrice de dissimilarité pour la construction d'un deuxième dendrogramme et les calculs des fréquences alléliques ont été réalisés sur 207 accessions. La liste représentant ces accessions est présentée en annexe 13.

### **3.2.3 Structuration de la diversité**

La représentation de la diversité par Neighbor Joining est donnée en figure 22.



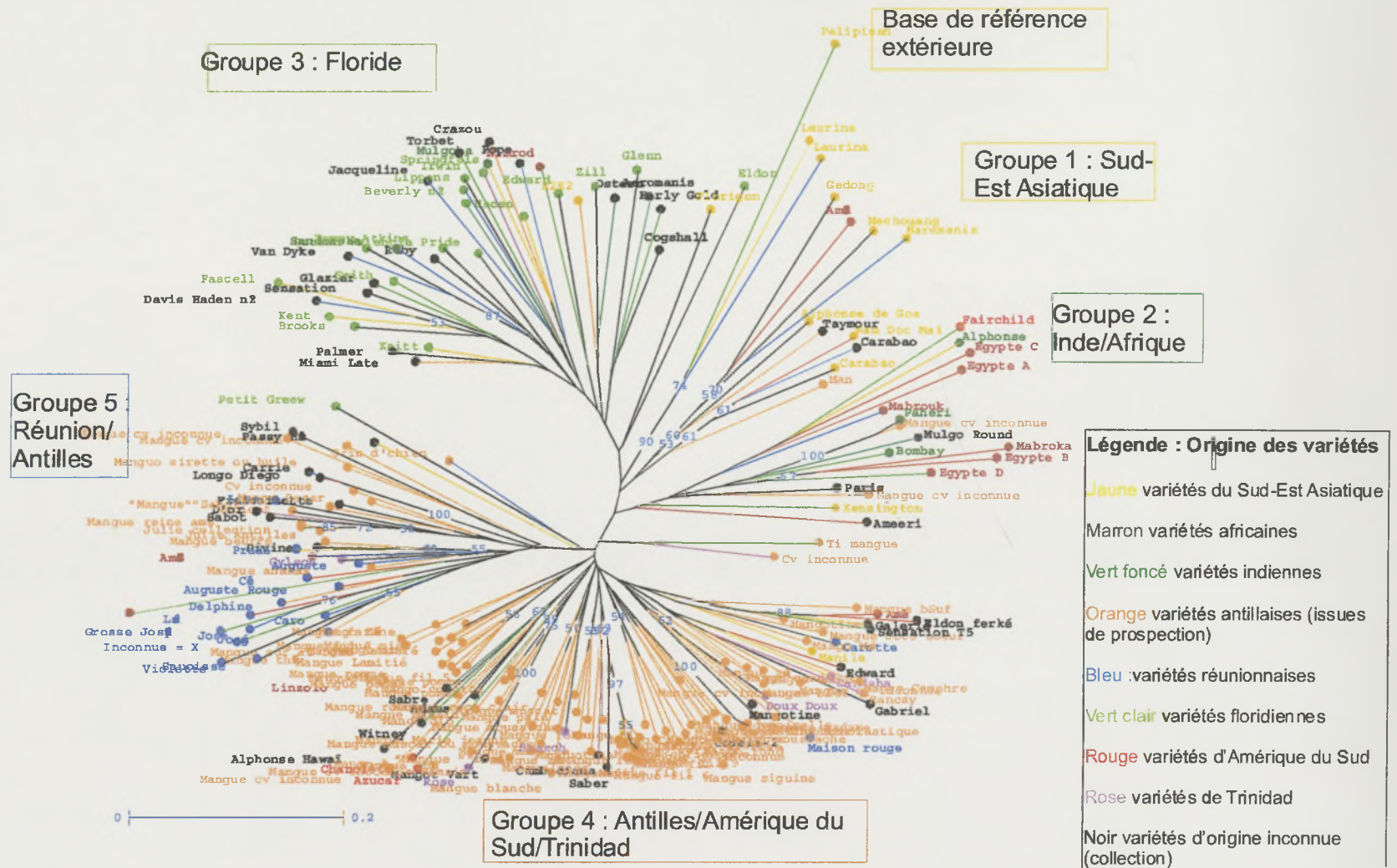


Figure 22 : Représentation de la diversité des manguiers (207 accessions) construite par la méthode du Neighbor Joining

Le dendrogramme ne présente pas une organisation très évidente. La variabilité apparaît importante mais peu structurée. Cependant, nous pouvons distinguer cinq regroupements d'individus ou clusters. Pour chacun de ces regroupements, d'une façon générale, les distances entre les variétés (représentées par la longueur des arêtes de l'arbre) sont relativement grandes, témoignant d'une variabilité intra-groupe importante.

Les espèces *M. laurina* et *M. applanata*, qui constituent la base de référence extérieure de cette collection, apparaissent isolées mais bien regroupées, avec une valeur de bootstrap de 90%, témoignant d'une grande fiabilité dans la formation de ce regroupement.

Le premier cluster (groupe 1) rassemble les variétés asiatiques polyembryonnées Mechouang, Gedong, Harumanis, Nam Doc Mai et Carabao et inclut également les deux accessions d'origine africaine Améliorée du Cameroun et Alphonse de Goa. Il semble que l'accession Carabao de la collection antillaise soit plus proche du cultivar vietnamien Nam Doc Mai (distance entre les nœuds 0.23) que du cultivar du même nom de la collection de Floride (distance entre les nœuds de 0.26). L'accession Man prospectée à Basse Terre est également rattachée à ce premier groupe.

Le deuxième cluster (groupe 2) qui associe les variétés indiennes Bombay, Paheri et Alphonse à des mangues d'origine africaine (Mabrouk, Mabroka, Egypte A, B, C, D), présente une forte variabilité (avec une valeur de bootstrap faible à chaque nœud). On peut observer que l'accession de la collection antillaise Paris et l'accession non identifiée (MA 186) issue de la prospection réalisée à Basse Terre ainsi que la variété Fairchild cultivée en Amérique du Sud sont rattachées à ce groupe. Une accession non identifiée prospectée à Basse Terre (MA 191) se retrouve également dans ce cluster et apparaît proche de la variété Paheri (distance entre les nœuds de 0.028).

Deux accessions, Kensington d'origine australienne et Ameerri d'origine inconnue se retrouvent plus isolées à l'intérieur de ce regroupement.

Le troisième cluster (groupe 3) qui rassemble les variétés indiennes Mulgoba et Sandersha ainsi que les cultivars floridiens hybrides, présente une forte variabilité avec une faible valeur de bootstrap. Nous pouvons observer que 13 variétés floridiennes d'origine inconnue (comme Torbet, Cogshall, Early Gold, Aeromanis, Osteen, Ruby, Van Dyke, Glazier, Sensation, Davis Haden n°2, Palmer et Miami Late) et 2 variétés de la collection de Guadeloupe d'origine inconnue (Crazou, Jacqueline) sont incluses dans ce groupe. Nimrod, mangue d'origine Israélienne ainsi que R2E2, mangue australienne se retrouvent également dans ce cluster.

**Tableau 5 : Taux d'hétérozygotie calculés par le logiciel GENETIX pour les 6 groupes sur les 20 marqueurs.**

	Groupes :	Sud-Est asiatique (gr 1)	Inde (gr 2)	Floride (gr3)	Antilles (gr 4)	Antilles/ Réunion (gr 5)
Marqueur	Nombre d'accession par groupe	12	11	34	110	40
CIR001	H exp	0	0.2355	0.0931	0.34	0.5803
	H n.b.	0	0.2468	0.0947	0.3417	0.5875
CIR003	H exp	0.2188	0.4835	0.4209	0.0703	0.1591
	H n.b.	0.2283	0.5065	0.4278	0.0706	0.1611
CIR008	H exp	0.7847	0.6983	0.49001	0.5224	0.5494
	H n.b.	0.8188	0.7316	0.4981	0.5251	0.5562
CIR009	H exp	0.7465	0.7273	0.6212	0.6836	0.7591
	H n.b.	0.779	0.7619	0.6314	0.6872	0.7684
CIR010	H exp	0.5174	0.3182	0.5395	0.3655	0.5529
	H n.b.	0.5399	0.3333	0.5484	0.3674	0.5598
CIR013	H exp	0.4965	0.3967	0.2284	0.5386	0.4952
	H n.b.	0.5181	0.4156	0.2322	0.5414	0.5014
CIR014	H exp	0.4167	0.5455	0.5884	0.1761	0.2234
	H n.b.	0.4348	0.5714	0.5981	0.177	0.2261
CIR016	H exp	0.4028	0.3512	0.1207	0.6313	0.1797
	H n.b.	0.4203	0.368	0.1227	0.6347	0.1819
CIR018	H exp	0.7396	0.7727	0.7081	0.653	0.7829
	H n.b.	0.7717	0.8095	0.7197	0.6565	0.7925
CIR020	H exp	0.7222	0.5868	0.7726	0.5253	0.1603
	H n.b.	0.7536	0.6147	0.7853	0.5281	0.1623
CIR021	H exp	0.3437	0.4628	0.0921	0.0808	0.1356
	H n.b.	0.3587	0.4848	0.0936	0.0812	0.1373
CIR022	H exp	0.7778	0.7273	0.6764	0.7311	0.7513
	H n.b.	0.8116	0.7619	0.6875	0.7349	0.7606
CIR023	H exp	0.2188	0.4628	0.4121	0.0703	0.1591
	H n.b.	0.2283	0.4848	0.4188	0.0706	0.1611
CIR025	H exp	0.6319	0.7231	0.757	0.6772	0.5559
	H n.b.	0.6594	0.7576	0.7694	0.6808	0.5628
CIR028	H exp	0.5799	0.1694	0.6363	0.4099	0.1145
	H n.b.	0.6051	0.1775	0.6467	0.4121	0.1159
CIR029	H exp	0.7882	0.7975	0.7357	0.7709	0.718
	H n.b.	0.8225	0.8355	0.7478	0.775	0.7269
CIR030	H exp	0.809	0.5165	0.7773	0.6483	0.7267
	H n.b.	0.8442	0.5411	0.7901	0.6517	0.7356
CIR032	H exp	0.7917	0.8058	0.7737	0.7662	0.7998
	H n.b.	0.8261	0.8445	0.7864	0.7702	0.8097
CIR034	H exp	0.5625	0.7107	0.7211	0.7113	0.6365
	H n.b.	0.587	0.7446	0.7329	0.715	0.6444
CIR036	H exp	0.5521	0.5455	0.2601	0.4191	0.6368
	H n.b.	0.5761	0.5714	0.2644	0.4213	0.6447
<b>Hétérozygotie moyenne sur les locus</b>						
	H exp	0.555	0.5519	0.5213	0.4896	0.4838
	H n.b.	0.579	0.578	0.53	0.0492	0.49
	nombre moyen d'allèles/locus	4.4	4	4.4	5.05	4.4

La variété floridienne Eldon et le cultivar asiatique Florigon apparaissent isolées au sein de ce troisième groupe.

Les accessions prospectées aux Antilles sont fortement regroupées en deux groupes distincts (groupe 4 et 5). La majorité d'entre elles forment le quatrième cluster (groupe 4) avec les deux variétés d'origine Sud-américaine (Azucar, Chancléto), quatre variétés provenant de Trinidad (Doux Doux, Cyleon, Candaha et Rose), trois variétés réunionnaises (Prade, Maison rouge et Carotte) et la variété floridienne Manila d'origine asiatique. Ce groupe présente une grande distance entre les cultivars donc une variabilité importante, cependant les deux variétés Mangue fil et Mangue fil 1, 2, 6 et 9 prospectées à Basse Terre sont très proches (distance 0.05), puisque la longueur des arêtes entre chacun de ces cultivars est faible. Des variétés de la collection antillaise Mangotine, Edward, Gabriel, Galerie et Sensation T5 d'origine inconnue ainsi que celles originaires d'Afrique Eldon Ferké et Amélie, sont rattachées à ce quatrième groupe. Il apparaît que les accessions africaines et la variété Galerie soient proches (distance 0.3).

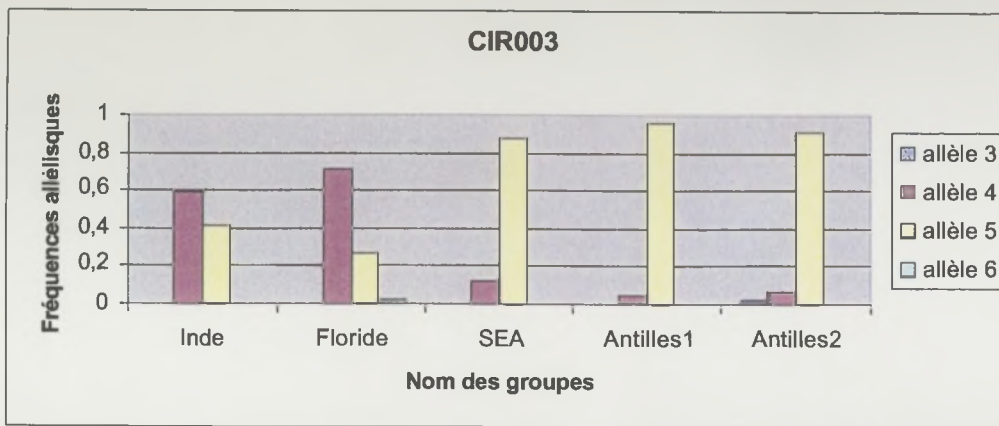
Deux accessions prospectées à la Martinique Ti mangue et une accession non identifiée (MA 333) apparaissent isolées de ce groupe.

Le cinquième regroupement (groupe 5) est composé principalement des variétés réunionnaises et d'accessions prospectées en Martinique et à Basse Terre. Les deux variétés d'origine antillaise de la collection (Julie Antilles GUA-064, Julie Collection GUA-063), qui sont très proches, ainsi que quelques variétés de la collection d'origine inconnue (Sybil, Passy Hâtive, D'or, Sabot, Fraissinette) y sont également rattachées.

### **3.2.4 Taux d'hétérozygotie et fréquences alléliques**

Nous avons formé 5 groupes d'individus rassemblés selon leur origine géographique (cas de la majorité des variétés indiennes et asiatiques représentant respectivement le premier centre de diversification et le centre de diversification secondaire le plus ancien) et en fonction des clusters observés sur le dendrogramme (cas des variétés floridiennes, antillaises, réunionnaises et africaines, représentant les accessions provenant des dispersions « secondaires » réalisées à partir des deux centres de diversification et dont on veut rechercher l'origine). La liste des accessions par groupe est présentée en annexe 13.

Pour chacun de ces groupes et sur les 20 marqueurs microsatellites, les taux d'hétérozygotie attendus (H exp.), observés (H obs.) et non biaisés corrigés en fonction



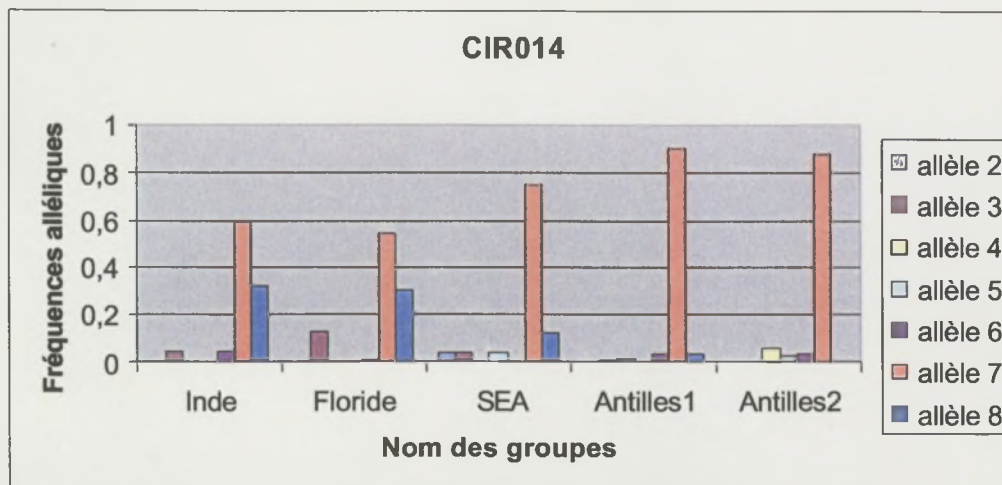
**Figure 23 :** Fréquences alléliques calculées pour le marqueur CIR003. L'allèle 4 est majoritaire chez les variétés indiennes, alors que c'est l'allèle 5 qui prédomine pour les variétés asiatiques et antillaises.

**Légende :**

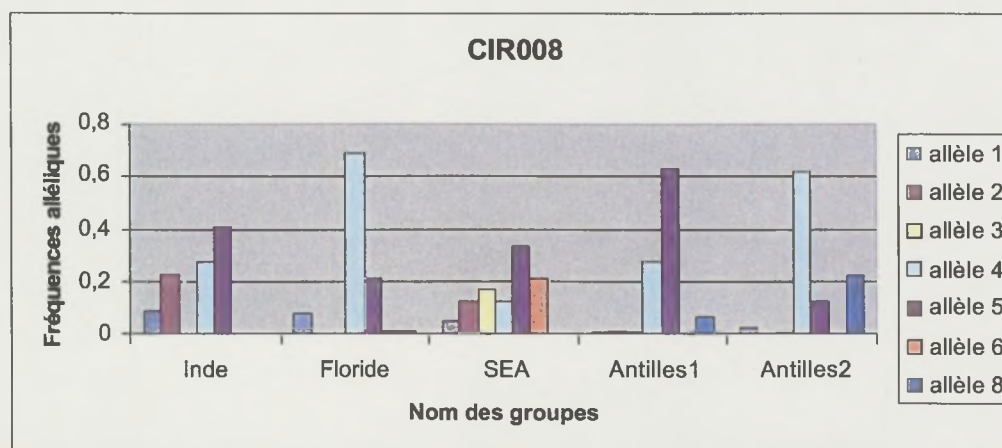
SEA : correspond au groupe1 (mangues du Sud-Est asiatique)

Antilles 1 : correspond au groupe 4 (Antilles, Amérique du Sud, Trinidad)

Antilles 2 : correspond au groupe 5 (Antilles et Réunion)



**Figure 24 :** Fréquences alléliques calculées pour le marqueur CIR014. Les groupes indien et floridien présentent des fréquences alléliques comparables.



**Figure 25 :** Fréquences alléliques calculées pour le marqueur CIR008. Inversion de fréquences pour les allèles 4 et 5 entre les deux groupes antillais.

de la taille de l'échantillon (H n.b.) et ainsi que les fréquences alléliques ont été calculés à l'aide du logiciel GENETIX, afin de déterminer les allèles spécifiques par origine et de mettre en évidence de la diversité régionale propre aux Antilles et à la Réunion.

Les résultats sont présentés dans le tableau 5 où figurent pour chacun des groupes les taux d'hétérozygotie pour chaque marqueur, les taux d'hétérozygotie moyens sur les locus et le nombre moyen d'allèles par locus.

Lors de l'analyse des résultats, les taux d'hétérozygotie observés n'ont pas été pris en compte, n'étant pas significatifs au vue des différences de taille des échantillons constituant les groupes. Nous constatons pour chaque groupe et sur l'ensemble des 20 marqueurs, que les taux d'hétérozygotie attendus et non biaisés calculés sont très proches mais varient beaucoup en fonction des marqueurs ciblés. Les hétérozygoties attendues et non biaisées moyennes sur l'ensemble des locus pour les groupes indiens et asiatiques, représentant les centres primaires de diversité sont les plus élevées et égales (respectivement H n.b. = 0.578 et 0.579). A l'opposé, les groupes 4 et 5 représentant les accessions antillaises et réunionnaises montrent des taux d'hétérozygotie plus faibles (respectivement H n.b. = 0.492 et 0.49). Nous pouvons remarquer que le groupe 3 floridien, présente une hétérozygotie moyenne intermédiaire (H n.b. = 0.53) entre les groupes indiens, asiatiques et antillais.

Le nombre moyen d'allèles révélés par locus est sensiblement identique pour chacun des groupes (il varie de 4 pour le groupe indien à 5.05 pour le groupe 4 antillais).

Sur 10 des 20 marqueurs étudiés, on constate la prédominance d'un même allèle pour tous les groupes. Cependant, les groupes indien et asiatique présentent des profils alléliques nettement différents pour 17 marqueurs. En effet, l'allèle le plus fréquent est différent pour chacun des 2 groupes pour 7 marqueurs. Par exemple, le microsatellite CIR003 révèle 4 allèles, les variétés indiennes sont caractérisées par l'allèle 4 majoritaire (fréquence 60%) alors que l'allèle 5 prédomine pour les variétés asiatiques (fréquence de 70%) (figure 23).

Pour 7 marqueurs, les groupes indien et floridien, présentent des fréquences alléliques comparables (comme le montre les marqueurs CIR003 et CIR014 figure 23 et 24).

Les groupes 4 et 5 représentant les accessions prospectées aux Antilles et à la Réunion, montrent des profils alléliques proches, seuls 5 marqueurs font apparaître des allèles spécifiques pour chacun des deux groupes ou des inversions de fréquences

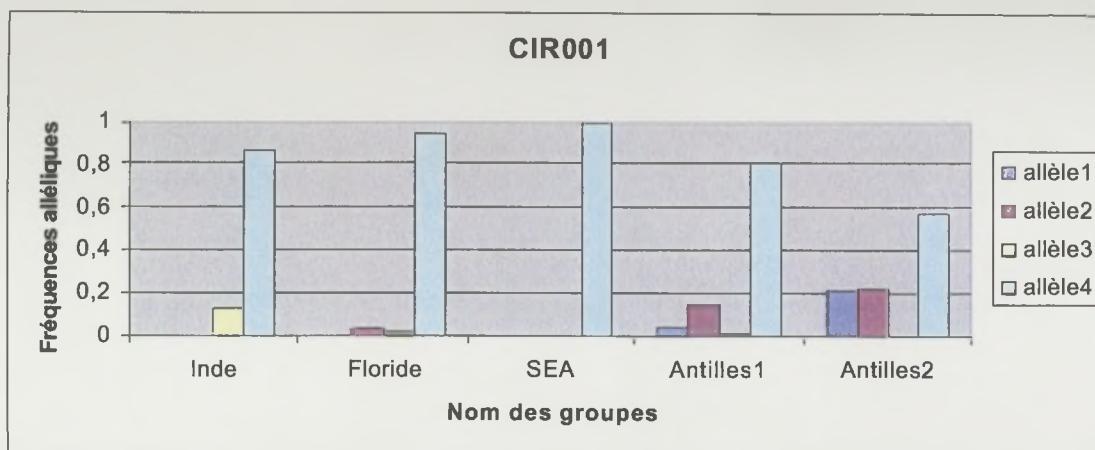


Figure 26 : Fréquences alléliques calculées pour le marqueur CIR001. Apparition de l'allèle 1 pour les groupes 4 et 5, absent chez les cultivars asiatiques et indiens.

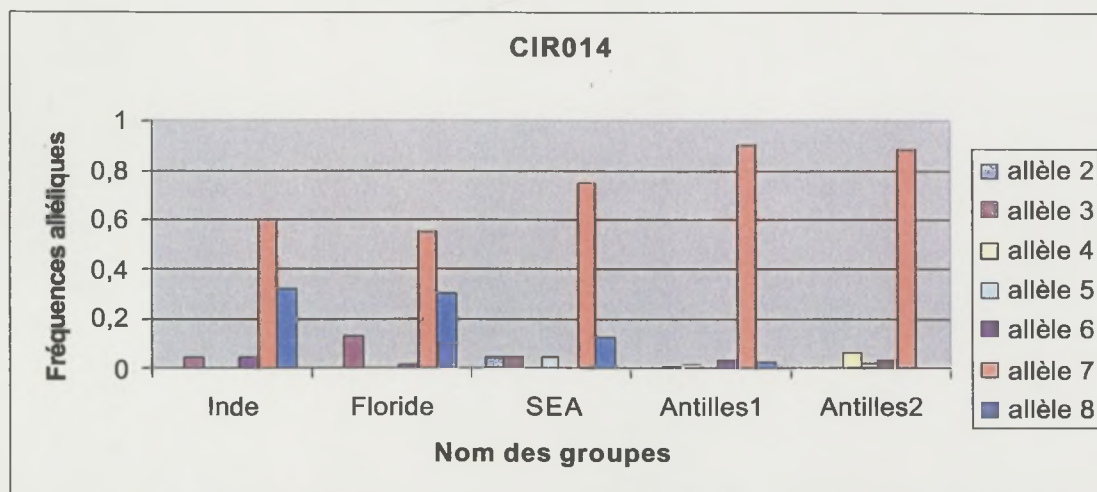


Figure 27 : Fréquences alléliques calculées pour le marqueur CIR014. L'allèle 8 présent chez les cultivars indiens et asiatique est très peu fréquent voire absent chez les mangues antillaises et réunionnaises.

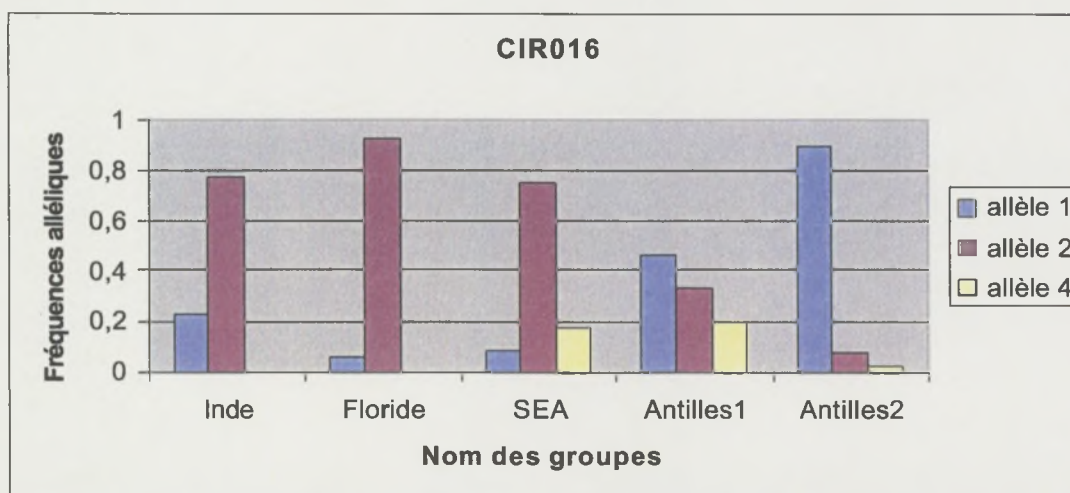


Figure 28 : Fréquences alléliques calculées pour le marqueur CIR016. L'allèle 1 est majoritaire chez les mangues antillaises et réunionnaises mais peu représenté chez les cultivars indiens et asiatiques.

alléliques (comme par exemple les allèles 4 et 5 révélés par le marqueur CIR008 en figure 25).

De plus, les fréquences alléliques caractérisant ces groupes 4 et 5 à prédominance antillaise sont très différentes de celles des groupes indien et asiatique (pour 12 des 20 marqueurs étudiés). En effet, nous constatons l'apparition d'allèles nouveaux chez les variétés antillaises et réunionnaises, absents ou très peu fréquents chez les variétés indiennes et asiatiques (pour 4 marqueurs sur 20, exemple allèle 1 révélé par le marqueur CIR001 sur la figure 26). Les variétés antillaises et réunionnaises sont caractérisées également par la présence d'allèles très minoritaires, pourtant très fréquents chez les 2 autres groupes (pour 4 des 20 marqueurs, exemple l'allèle 8 révélé par le marqueur CIR014 sur la figure 27). A l'inverse, pour 4 marqueurs, des allèles très peu fréquents chez les variétés indiennes et asiatiques apparaissent majoritaires pour les groupes antillais et réunionnais (exemple allèle 1 pour le marqueur CIR016 sur la figure 28).



## **IV. DISCUSSION**

## IV. Discussion

### 4.1 Intérêt de cette étude pour aider à l'identification des accessions non déterminées et des doublons en collection

Les 20 marqueurs SSR utilisés dans cette étude ont permis d'établir des profils d'accessions qui confirment, dans certains cas, les observations morphologiques et agronomiques réalisées sur le terrain par -Y Rey, C. Didier et M-F Duval et les erreurs d'identité variétale relevées sur certaines accessions de la collection. En effet, l'existence de doublons au sein de la collection de Guadeloupe (variétés portant des noms différents trouvées génétiquement et morphologiquement identiques) avec identification de la variété en question, a été confirmée par les analyses microsatellites et visualisée sur l'arbre de diversité.

Ainsi plusieurs cas d'erreur d'identification qui ont été soupçonnés après observations agromorphologiques sur le terrain, ont pu être relevés et dans certains cas la variété en question a pu être identifiée par identité des profils avec la variété floridienne de référence et par comparaison des caractères morphologiques avec la variété officielle. Ainsi, une erreur d'identification au sein de la collection sur la variété Haden a pu être confirmée et expliquée. En effet, J-Y Rey a rapporté que des greffons supposés provenir de différentes variétés auraient tous été prélevés sur la variété Haden, greffés sur une ligne entière de porte-greffe à Korhogo, en Côte d'Ivoire puis transférés en Guadeloupe. Les analyses SSR confirment cette erreur, puisque les variétés Bedami rouge, Bedami vert, Davis Haden, Dixon, Francis, Pêche et Maya situées sur la même ligne de plantation et rapprochés par les observations agromorphologiques, n'ont révélé aucune dissimilarité génétique avec la variété Haden représentée par une accession de la collection de Guadeloupe et une accession de référence floridienne. Ces 9 accessions ont donc été identifiées comme étant la variété Haden.

D'autre part, la collection comprend huit accessions faussement identifiées dont l'identité a pu être retrouvée par comparaison génétique avec les variétés de Floride (annexe 10). Par exemple, des doutes sur l'identité de la variété Early Gold, suite aux observations effectuées dans les collections, ont été confirmés par analyses SSR et par observations morphologiques. Cependant cette erreur d'identification dont nous ne pouvons retracer l'origine que partiellement, n'a pas pu être expliquée. Cette variété provient de la collection de Guadeloupe et a été importée à la Réunion afin de réaliser

des essais d'acclimatation. S'étant révélée performante, elle a été diffusée et cultivée, sous le nom d'Early Gold, puis doutant de son identité, elle a été renommée Lirfa. L'accession de la collection guadeloupéenne et les deux accessions réunionnaises Early Gold (RE-002) et Lirfa (RE-016) soumises aux analyses génétiques, ont révélé des profils identiques à celui de la variété floridienne Cogshall avec laquelle des similitudes morphologiques avaient déjà été repérées. Ces résultats montrent que l'erreur d'identification relevée sur la collection a été dupliquée à la Réunion. Cependant, nous ne pouvons pas expliquer où l'erreur initiale a été commise, peut-être dans une des collections africaines suite à un problème d'étiquetage ou lors de la transmission de greffons en Guadeloupe.

Dans certains cas, des variétés ont montré des profils microsatellites identiques et n'ont pu être identifiées que par comparaisons morphologiques avec des variétés « officielles ». En exemple, l'accession de la collection nommée Cogshall présente des dissimilarités génétiques avec la variété de référence floridienne de même nom mais a pu être identifiée morphologiquement comme étant Miami Late. De la même façon, les variétés Camayenne et Sabot trouvées similaires à Korhogo et à Vieux-Habitants, présentent un profil microsatellite identique. Après comparaison de leurs caractéristiques agromorphologiques avec celles des deux variétés officielles de même nom, ces deux accessions ont été identifiées comme étant la variété Sabot.

Des cas de synonymie soupçonnés ont pu être confirmés. En effet, Les données bibliographiques rapportent que les noms Paheri, Pirie, Peter Passand, Alphonse Paheri, Sacabi, Djibelor Casamance sont des synonymes qui caractérisent la même variété originaire d'Inde (Knight Jr, 1993). Des observations réalisées à Korhogo et à Vieux-Habitants montrent des similarités agromorphologiques entre ces six variétés et les analyses génétiques ont révélé des profils identiques. Ces résultats confirment donc l'hypothèse émise par Knight. Le nom d'origine de la variété la plus ancienne Paheri a été conservé au sein de la collection pour désigner ces six cultivars.

Dans d'autres cas, des doublons ont été mis en évidence, cependant, ils n'ont pas pu être identifiés, car aucune des variétés en question ne correspond aux variétés « officielles » dont elles portent le nom (cas des variétés Martin et Edward).

L'identification de certains cultivars n'a pas pu être prouvée, puisqu'ils n'ont pas pu être comparés aux variétés connues et décrites de même nom. Ainsi, les variétés Linzolo, Auguste et Malembé provenant de Korhogo et Linzolo Mali de la collection de Guadeloupe, trouvées identiques lors des observations, ont également le même profil

SSR.. Le nom de Linzolo a toutefois été conservé au sein de la collection pour désigner ces quatre cultivars. En outre, il faut noter qu'Auguste (GUA-012) de la collection est différente de la variété du même nom typique de la Réunion.

L'identité douteuse de certaines accessions (Longo Diego, Cambodiana, Eldon Ferké) n'a également pas pu être vérifiée, car elles n'ont pas pu être génétiquement comparées aux variétés officielles.

D'autres types d'erreurs d'identification soupçonnés après observations ont pu être confirmés ; certaines variétés ne correspondant ni génétiquement ni morphologiquement aux variétés floridiennes de référence de même nom, restent non identifiables, comme par exemple les variétés de la collection nommées à tort Carabao, Osteen, Sensation, Edward.

D'autre part, les variétés Julie de la collection (dont le profil est identique à la variété floridienne Julie et aux 4 accessions de même nom, MA 189, MA 200, MA 208, MA 307 prospectées aux Antilles) et Julie Antilles qui proviennent des Antilles et qui portent le même nom, possèdent des caractéristiques morphologiques légèrement différentes. Les analyses génétiques ont corroboré ces observations, ces deux variétés partagent 38 allèles sur 40 révélés et les dissimilarités calculées entre ces deux accessions sont plus faibles que celles observées entre variétés apparentées mère/descendant connues comme Mulgoba et Haden (qui possèdent 28 allèles sur 40 en commun) ou entre les hybrides floridiens demi-frères descendants d'Haden comme par exemple Beverly, Lippens, Irwin. Nous pouvons émettre l'hypothèse que ces deux variétés de la collection Julie Antilles et Julie, étant plus proches que des variétés de même mère, sont probablement apparentées et issues d'autofécondation.

D'une façon générale, 20 marqueurs microsatellites sont assez discriminants pour identifier des variétés et mettre en évidence des liens de parenté. Cependant, les analyses génétiques doivent toujours être confirmées par des observations agromorphologiques. En effet, les analyses effectuées avec ces 20 marqueurs ne permettent pas de révéler des mutations ponctuelles donnant des caractères morphologiques ou agronomiques différents. Par exemple, aucun de ces marqueurs n'a pu mettre en évidence de différences entre la variété Valencia et Valencia Pride qui est une mutation morphologique du cultivar Valencia.

## 4.2 Structuration de la diversité globale

A partir de l'arbre de diversité, il a été possible de déterminer cinq clusters regroupant des variétés le plus souvent en accord avec leur origine géographique (figure 22). Puis, nous avons calculé les taux d'hétérozygotie attendus ( $H_{exp.}$ ), observés ( $H_{obs.}$ ) et non biaisés corrigés en fonction de la taille de l'échantillon ( $H_{n.b.}$ ), ainsi que les fréquences alléliques pour chaque cluster représenté sur le dendrogramme, afin de déterminer des allèles spécifiques par origine.

Les hétérozygoties calculées pour chacun des groupes semblent assez élevées, ce qui est cohérent avec le fait que la reproduction est sexuée et allogame chez l'espèce *Mangifera indica*.

Le dendrogramme réalisé par la méthode du Neighbor Joining à partir des distances de Dice obtenues sur les données microsatellites montre des dissimilarités intra-groupes importantes en comparaison avec les dissimilarités inter-groupes.

Les espèces *M. laurina* et *M. applanata*, qui constituent la base de référence extérieure de cette collection, apparaissent isolées mais bien regroupées, avec une valeur de bootstrap de 90%, témoignant d'une grande fiabilité dans la formation de ce regroupement. Le fait que les distances génétiques séparant *M. indica* et *M. laurina* ne sont pas plus importantes que celles existant entre certaines variétés de *M. indica* et que ces deux espèces ont 121 allèles sur 148 en commun indiquent qu'elles sont relativement proches génétiquement (distance de 0.74) et qu'une hybridation interspécifique est possible. Deux études phylogénétiques réalisées à l'aide de marqueurs RAPD (Knight & Schnell, 1993) et AFLP (Eiadthong *et al.*, 2000) avaient déjà permis de montrer que les distances séparant ces deux espèces étaient faibles. L'espèce *M. applanata* apparaît plus éloignée de *M. indica* que *M. laurina* (distance de 0.81) au sein de ce regroupement. De plus, il semble cohérent que ces deux espèces polyembryonnées originaires du Sud-Est asiatique (Mukherjee, 1997) et qui appartiennent à la même section *Mangifera* du sous-genre *Mangifera* dans la classification de Kostermans et Bompard (figure 2), ne soient pas très éloignées du premier cluster (groupe 1 sur la figure 22) formé par les variétés asiatiques polyembryonnées de l'espèce *M. indica*.

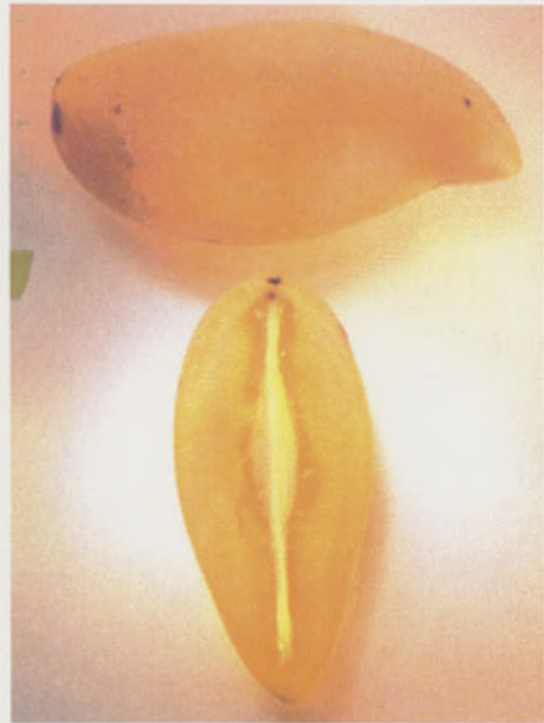
#### 4.2.1 Diversité génétique au sein des centres de domestication et de diversification primaires.

Bien que les variétés indiennes et asiatiques soient représentées par un faible nombre d'accession, la majorité d'entre elles se retrouvent bien regroupées et réparties en deux clusters distincts en accord avec leur origine géographique (groupe 1 et 2 sur l'arbre de diversité). Or, les variétés indiennes Mulgoba et Sandersha trouvées dans le groupe des hybrides floridiens ainsi que la variété asiatique Manila rattachée au groupe 4 des cultivars antillais, ne sont pas associées à leurs clusters respectifs et nous pouvons émettre l'hypothèse que ces 3 variétés peuvent être à l'origine de la diversification secondaire observée en Floride et aux Antilles.

Les groupes 1 et 2 montrent les plus forts taux d'hétérozygotie témoignant d'une diversité intra-groupe importante (tableau 5). Ces résultats semblent cohérents puisque les variétés indiennes représentent le centre d'origine et de diversification et que les variétés asiatiques proviennent d'un centre de diversité ancien. D'après Mukherjee (1997), l'espèce *Mangifera indica* serait cultivée en Inde depuis plus de 4000 ans et compterait plus de 1000 variétés différentes, dont la plupart sont monoembryonnées et issues de pollinisation naturelle. De plus, ces variétés indiennes sont cultivées dans des conditions agroclimatiques très différentes, favorisant ainsi la diversité au sein de ce groupe (Ravishankar et al., 2000).

En outre, nous pouvons émettre l'hypothèse que la variabilité trouvée entre ces deux groupes est assez importante puisqu'ils présentent des fréquences alléliques très différentes pour 17 des 20 marqueurs. En effet, l'allèle le plus fréquent est différent pour chacun des 2 groupes pour 7 marqueurs. Par exemple, le microsatellite CIR003 révèle une inversion de fréquence allélique, les variétés indiennes sont caractérisées par l'allèle 4 majoritaire (fréquence 60%) alors que l'allèle 5 prédomine pour les variétés asiatiques (fréquence de 70%) (figure 23). Le marqueur CIR008, fait apparaître deux allèles spécifiques des variétés asiatiques (allèle 3 et 6 sur la figure 25) absents chez les cultivars indiens.

Cependant, sur 13 marqueurs des 20 étudiés, l'allèle prédominant est partagé par ces cultivars indiens et asiatiques, nous laissant supposer que ces populations aient la même origine. Cette hypothèse est cohérente puisque l'espèce *Mangifera indica*, originaire d'une région frontalière entre l'Assam, le Bangladesh et le Myanmar aurait été diffusée vers l'Asie du Sud-Est et en direction du Golfe du Bengale et de l'Inde (Mukherjee, 1997).



**Figure 29** : A gauche la variété africaine Améliorée du Cameroun d'origine asiatique et à droite la variété asiatique Nam Doc Mai (photo provenant de la base de données de la collection de Guadeloupe, Cirad).

Cependant, même si le nombre moyen d'allèles révélés par locus est sensiblement identique pour chacun des groupes observés sur le dendrogramme (il varie de 4 pour le groupe indien à 5.05 pour le groupe 4 antillais), le faible nombre d'accessions représentant les groupes indiens et asiatiques (respectivement 11 et 12), ne permet pas d'obtenir une représentation allélique complète de ces deux groupes.

#### **4.2.2 Dispersion à partir des centres de domestication et de diversification primaires.**

- **Les variétés africaines**

Sur le dendrogramme, les variétés Ouest africaines polyembryonnées Améliorée du Cameroun, Alphonse de Goa et Taymour sont regroupées avec les variétés originaires du Sud-Est asiatique qui associe Mechouang, Gedong, Harumanis, Nam Doc Maï et Carabao. Ainsi, ces résultats confirment l'origine asiatique des variétés africaines locales polyembryonnées Améliorée du Cameroun et Alphonse de Goa (Rey et *al.*, 2004). En effet, les caractéristiques morphologiques de la variété Améliorée du Cameroun ont été décrites et indiquent que la forme de l'arbre et du fruit rappelle certaines variétés du Sud-Est asiatique (fruit à peau verte, fragilité de la pulpe, petit format...) (Rey et *al.*, 2004) (figure 29). En effet, il semble que plus les conditions du milieu sont difficiles pendant la période de floraison comme c'est le cas dans les savanes sèches de l'Afrique de l'Ouest, plus les variétés polyembryonnées sont avantagées par rapport aux variétés monoembryonnées, car la basse hygrométrie ne favorise pas toujours une bonne pollinisation. Ce qui expliquerait le fait que ces variétés locales africaines d'origine asiatique (Améliorée du Cameroun et Alphonse de Goa) plus productives ont été diffusées en Afrique de l'Ouest (Rey et *al.*, 2004).

Les mangues d'origine Est africaines Egypte A, B, C et D, Mabrouk, Mabroka, sont regroupées aux variétés indiennes Mulgo Round, Bombay, Paheri et Alphonse au sein du même cluster. Cette association corrobore l'hypothèse que ces variétés égyptiennes sont apparentées à des variétés indiennes, probablement introduites au X<sup>ème</sup> siècle par les commerçants Arabes et Phéniciens le long des côtes Est africaines, via la Perse et l'Arabie, jusqu'en Egypte où il existe une très ancienne zone de culture (Purseglove, 1972). En effet, les distances génétiques sur le dendrogramme entre les cultivars Alphonse, Mabrouk, Egypte A et C sont relativement faibles. Nous pouvons émettre l'hypothèse d'un lien de parenté entre ces trois cultivars africains et la variété indienne, puisqu'ils partagent plus de 50% d'allèles (25 allèles pour Mabrouk, 27 pour



Egypte A et 26 allèles pour Egypte C sur 40 allèles révélés). De même, les cultivars Mabroka, Egypte B et D apparaissent relativement proches des variétés indiennes Mulgo round, Bombay et Paheri.

- **Les variétés floridiennes**

Le groupe des hybrides floridiens qui représente le centre de diversité secondaire le plus récent et le plus documenté montre une hétérozygotie plus faible, de plus les profils alléliques sont comparables à ceux des mangues indiennes pour 7 des 20 marqueurs, indiquant une faible intervention des variétés asiatiques lors des croisements. Malgré sa représentation plus importante, la variabilité au sein du groupe d'hybrides floridiens semble moins importante qu'au sein des groupes indien et asiatique. Ce résultat corrobore le fait que la plupart des variétés floridiennes descendent de cultivars indiens de type monoembryonné, comme Mulgoba et Sandersha introduites respectivement en 1889 et 1901 par l'USDA et utilisées comme géniteurs en Floride au cours du XIX<sup>ème</sup> siècle (Campbell, 1992), et qui sont les deux variétés indiennes rattachées à ce groupe dans l'arbre de diversité.

L'analyse des dissimilarités nous a permis de confirmer, les données bibliographiques rapportées par Campbell (1992) portant sur l'origine et les relations de filiation de certaines variétés de Floride. En effet, nous pouvons observer que les variétés Mulgoba et Sandersha forment deux sous-groupes, dans lesquels sont rattachés un certain nombre de cultivars floridiens descendants de ces deux variétés indiennes monoembryonnées.

Campbell (1992) a rapporté que Mulgoba serait le parent maternel d'Haden, hypothèse confirmée par les travaux de Schnell et *al.*, (1995) réalisés par marqueurs RAPD. Les analyses microsatellites ont permis de montrer que les variétés Mulgoba et Haden possèdent 28 allèles en commun sur 40 allèles révélés et sont distantes de 0.25 sur le dendrogramme ; confirmant ainsi la filiation entre ces deux variétés. Selon Campbell (1992), Lippens, Irwin (fils de Lippens), Beverly, Springfels, Edward, Zill, Glenn, Osteen, Valencia Pride et Pope (graine de Irwin) seraient des descendants de la variété Haden. Le dendrogramme montre que les distances génétiques entre Mulgoba, Haden et ses descendants supposés Lippens, Beverly, Springfels, Irwin et Pope sont relativement faibles (de l'ordre de 0.3 sur le dendrogramme). De plus, ils partagent respectivement 21, 26, 27, 29, et 28 allèles sur 40 révélés avec la variété Haden. Possédant plus de 50% d'allèles en commun, tous ces cultivars pourraient donc être

des descendants de la variété Haden. Les 5 demi-frères partagent 16 allèles en commun et sont distants de l'ordre de 0.35.

Les cultivars Edward, Zill, Glenn, Osteen et Valencia Pride apparaissent plus éloignés dans ce groupe, cependant les analyses SSR montrent qu'ils possèdent respectivement 27, 27, 26, 28 et 29 allèles sur 40 en commun avec le parent putatif Haden confirmant l'existence d'un lien de parenté.

Campbell (1992) a émis l'hypothèse que la variété indienne Mulgoba soit le parent maternel du cultivar Keitt. Cependant, l'utilisation des marqueurs isoenzymatiques IDH (Degani et al., 1990) n'a pas permis de valider cette hypothèse. Sur l'arbre de diversité, les variétés Mulgoba et Keitt apparaissent relativement distantes au sein de ce groupe, cependant, ces deux cultivars partagent 23 allèles sur 40 et pourraient donc être apparentées.

La variété Nimrod, cultivée en Israël, se retrouve au sein du regroupement formé par les hybrides floridiens (groupe 3), relativement proche de la variété Haden (distance de 0.41) avec laquelle elle partage 28 allèles. Cette association est en accord avec les données bibliographiques qui rapportent un lien de filiation entre ces deux variétés (Haden serait le grand parent maternel de Nimrod selon Campbell, 1992).

La variété floridienne Torbet, ainsi que les variétés antillaises de la collection Jacqueline et Crazou, dont l'origine est inconnue sont également rattachés à ce groupe. Mulgoba pourrait également être le parent de ces trois cultivars, puisque les distances génétiques entre la variété indienne et ces trois cultivars sont relativement faibles sur le dendrogramme et qu'ils partagent plus de 50% des allèles avec Mulgoba (respectivement 22, 27 et 22 allèles sur 40 en commun).

Le deuxième sous-groupe inclut la variété indienne Sandersha et un certain nombre de variétés hybrides sélectionnées en Floride, entre autres Brooks Sandersha et Kent. D'après Campbell (1992), Brooks serait issu de Sandersha et Kent serait une graine de Brooks. Schnell et al., (1995), ont trouvé Kent relativement distant des descendants de la variété Haden et ont supposé qu'ils n'avaient aucun de lien de parenté. Les analyses SSR réalisées confirmeraient la relation de filiation entre Brooks, Sandersha et Kent. Les distances génétiques séparant Brooks et Kent sont faibles (de l'ordre de 0.28) et ils possèdent 30 allèles sur 40 en commun. De plus, nous pouvons établir que ces deux hybrides floridiens partagent respectivement 24 et 22 allèles avec Sandersha.

## 4.3 Diversité des ressources génétiques propres aux Antilles

### 4.3.1 Représentation de la diversité locale

Sur l'arbre de diversité, les accessions prospectées aux Antilles et à la Réunion sont bien regroupées et réparties entre deux clusters (groupes 4 et 5 sur la figure 22). Les taux d'hétérozygotie attendus ( $H_{exp}$ ), observés ( $H_{obs}$ ) et non biaisés corrigés en fonction de la taille de l'échantillon ( $H_{n.b.}$ ), ainsi que les fréquences alléliques ont été calculés pour ces deux groupes afin de mettre en évidence de la diversité régionale propre aux Antilles et à la Réunion et de la comparer à la diversité génétique globale de l'espèce *M. indica*.

Nous ne pouvons pas distinguer de sous-groupe en fonction de la provenance des prospections (Guadeloupe : Basse Terre, Grande Terre, la Désirade, Marie Galante et Martinique) au sein de ces deux regroupements. Cependant, ces deux groupes montrent des profils alléliques proches et partagent un grand nombre d'allèles, indiquant une origine commune pour la plupart de ces cultivars.

Nous pensons que le risque de collecter des doublons parmi ces accessions était assez élevé, puisque les 148 accessions ont toutes été prospectées aux Antilles dans des jardins de particuliers et parfois hors culture, à des stades de développement différents. Cependant 103 accessions génétiquement distinctes ont été identifiées, indiquant une diversité régionale importante.

De plus, au sein des deux clusters, les distances génétiques entre toutes ces accessions (représentées par la longueur des arêtes du dendrogramme) sont relativement grandes, témoignant également d'une variabilité intra-groupe importante. Seules les variétés mangue fil et mangue fil 1, 2, 6 et 9 prospectées à Basse Terre sont très proches génétiquement (distance 0.05) et présentent une hétérozygotie très faible ( $H_{exp} = 0.22$  et  $H_{n.b} = 0.25$ ), plus faible que celle existant entre variétés apparentées comme Mulgoba et ses descendants ( $H_{exp} = 0.51$  et  $H_{n.b} = 0.52$ ). Nous pouvons émettre l'hypothèse que ces accessions antillaises sont issues d'autofécondation ou de mutations.

La diversité antillaise semble spécifique, puisque les fréquences alléliques caractérisant les cultivars antillais et réunionnais sont très différentes de celles des groupes indien et asiatique (pour 12 des 20 marqueurs étudiés), avec dans certains cas, l'apparition d'allèles nouveaux ou au contraire une diminution de la fréquence de certains allèles très majoritaires chez les variétés indiennes et asiatiques.

De plus, si la diversité représentée est importante, les hétérozygoties calculées pour ces deux groupes sont plus faibles que celles représentant les groupes indiens et asiatiques. Nous pouvons émettre l'hypothèse d'un effet fondateur : l'introduction d'un petit nombre de variétés aurait été suivi d'un brassage génétique permettant la création d'une diversité importante et spécifique à partir d'une base génétique plus étroite. Cependant, même si la représentation allélique antillaise est complète, ces observations restent hypothétiques, puisque les accessions représentant les groupes indien et asiatique, sur lesquels les analyses statistiques ont été effectuées sont peu nombreuses.

#### **4.3.2 Hypothèses sur les origines de la diversité antillaise**

La majorité de ces accessions sont associées aux trois variétés réunionnaises (Prade, Maison rouge et Carotte), aux quatre variétés provenant de Trinidad (Doux Doux, Cyleon, Candaha et Rose), aux deux variétés d'origine Sud-américaine (Azucar, Chancleto) et à la variété polyembryonnée Sud-américaine Manila d'origine asiatique au sein d'un même cluster (groupe 4). En faisant abstraction des cultivars réunionnais, ce regroupement paraît cohérent, puisqu'il rassemble des variétés provenant de la même région de culture : les Antilles, proche géographiquement de l'Amérique du Sud. Nous pouvons émettre l'hypothèse que ces accessions antillaises aient la même origine et seraient issues d'un petit nombre de variétés introduites en Amérique du Sud et Amérique centrale par les Espagnols vers la fin du XVIII<sup>ème</sup> siècle à partir du Sud-Est asiatique. En exemple, Manila, variété la plus cultivée au Mexique a été introduite par les Espagnols en provenance des Philippines.

Ce regroupement comprend également le cultivar africain monoembryonné Amélie. D'après Rey et al (2004), cette variété aurait été introduite des Antilles à la mission catholique de Kita au Mali, expliquant ainsi le fait qu'Amélie cultivée en Afrique de l'Ouest soit associée au groupe des mangues antillaises. Eldon Ferké, cultivar africain étant très proche génétiquement d'Amélie (ces deux variétés possèdent 34 allèles en commun sur 40 allèles révélés), pourrait être également d'origine antillaise directement ou par filiation avec Amélie.

La majorité des variétés prospectées à la Réunion sont associées à plusieurs accessions provenant de Martinique et de Basse Terre (groupe 5). Nous pouvons émettre l'hypothèse que ces accessions réunionnaises et antillaises ont la même

origine et ont probablement été introduites par les français au XVIII<sup>ème</sup> siècle à la suite d'échanges commerciaux entre l'île Bourbon (l'actuelle île de la Réunion), l'île de France (l'actuelle île Maurice) et les Antilles. L'anecdote historique de l'introduction des manguiers en Jamaïque conforte cette hypothèse. En 1780, les anglais ont récupéré des plants de manguiers à bord d'un navire français voyageant entre l'île Maurice et Haïti, et les ont introduit en Jamaïque (Kostermans & Bompard, 1993).

Ce groupe comprend également la variété floridienne Carrie produite par Lawrence Zill, qui serait issue de la variété antillaise Julie (Morton, 1987). Le fait que ces deux variétés soient relativement proches dans ce cluster et qu'elles partagent 27 allèles sur 40 révélés, confirmerait cette hypothèse.

**V. CONCLUSIONS**

**ET**

**PERSPECTIVES**

## V. Conclusions et perspectives

Les 20 marqueurs microsatellites utilisés lors de cette étude de diversité se sont révélés être des outils performants pour l'identification variétale. En effet, les indicateurs moléculaires et agro-morphologiques ont permis de valider ou d'infirmer l'identité de certaines variétés de la collection de Guadeloupe. Cette étude contribuera donc à la gestion de cette collection et à son utilisation potentielle en terme d'échanges. En effet, l'identification de doublons va permettre d'alléger la maintenance de la collection après élimination des clones mis en évidence. De plus, l'identification variétale donne la possibilité de corriger les données erronées et de valoriser cette collection.

Cette étude a également permis de confirmer des relations de filiation entre plusieurs variétés floridiennes en accord avec les données historiques et bibliographiques. Ces marqueurs co-dominants se sont avérés également pertinents pour l'analyse de la diversité génétique de l'espèce *Mangifera indica* ; en effet, ils ont permis de montrer une variabilité importante chez les cultivars indiens qui représentent le centre d'origine et de diversification de l'espèce et chez les variétés asiatiques qui proviennent d'un centre de diversité ancien. Cependant, le faible nombre d'accessions indiennes et asiatiques ne permet pas une représentation suffisante de la diversité au sein de ces deux populations. Il serait donc intéressant de reprendre cette étude en élargissant la représentation de la diversité génétique des centres de domestication et de diversité les plus anciens.

Il apparaît que la diversité antillaise locale soit moins importante que la diversité globale mais spécifique à cette région. Des hypothèses quant à l'origine des manguiers antillais ont été émises. Il semblerait que les variétés antillaises aient deux origines différentes et forment deux clusters distincts mais relativement proches génétiquement.

Cette étude facilitera la conservation du patrimoine génétique antillais et la valorisation en terme d'adaptation et d'amélioration des variétés au niveau local. En effet, les résultats obtenus donnent des indications utiles sur l'intérêt de l'introduction des diverses accessions dans une collection ex situ et la conservation de cette diversité génétique antillaise. Par exemple, les doublons trouvés au sein des prospections ne seront pas introduits dans de la collection à moins de caractéristiques agronomiques remarquables, ce qui facilitera la gestion et la maintenance de cette collection.

**REFERENCES**

**BIBLIOGRAPHIQUES**



Adato, A., D. Sharon, U. Lavi, J. Hillel & S. Gazit, 1995. Application of DNA fingerprints for identification and genetic analyses of mango (*Mangifera indica*) genotypes. *J Amer Soc Hort Sci* 120: 259-264.

Arumuganathan, K. & E.D; Earle, 1991. Nuclear DNA content of some important plant species. *Plant Mol Bio Rep* 9: 208-218.

Becker, J., P. Vos, M. Kuiper, F. Salamini, and m. Heun, 1995. Combined mapping of AFLP and RFLP markers in barley. *Mol. Gen. Genet.* 249: 65-73.

Belhir K, Borsa P, Goudet J, Chikhi L, Bonhomme F, 1998. Genetix, logiciel sous Windows<sup>TM</sup> pour la génétique des populations. Laboratoire Génome et Population, CNRS UPR 9060, Montpellier.

Black W. C, Krafur E. S, 1985a. A FORTRAN program for analysis of genotypic frequencies and description of the breeding structure of populations. *Theor. appl. Genet.* 70: 484-490.

Billote, N., Lagoda, P.J.L., Risterucci, A.M., Baurens, F.C., 1999. Microsatellite-enriched libraries : applied methodology for the development of SSR markers in tropical crops. *Fruits*, 54(4) : 277-288.

Bompard, J. M., and R. J. Schnell, 1997. Taxonomy and systematics, pp. 21-47 in *The Mango : Botany, production and uses*, edited by R. E. Litz. University Press, London.

Brown, S. M. , Hopkins, M.S., Mitchell, S.E., Senior, M. L., Wang, T. Y., Duncan, R. R., Gonzalez-Candelas, F., Kresovitch, S., 1996. Multiple method for the identification of polymorphic simple sequence repeats (SSRs) in sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). *Theor. Appl. Genet.* 93: 190-198.

Campbell, R.J. (ed), 1992. A guide to mangoes in Florida. Fairchild Tropical Garden, Miami.

Charters, Y. M., Robertson, A., Wilkinson, M.J, Ramsay, G., 1996. PCR analysis of oilseed rape cultivars (*Brassica napus* l. ssp. *Oleifera*) using 5'-anchored simple sequence repeat (SSR) primer. *Theor. Appl. Genet.*, 92: 442-447.

Cipriani G., G. Lot, W.-G. Huang, M. T. Marrazzo, E. Peterlunger, R. Testolin, 1999. AC/GT and AG/CT microsatellites repeats in peach (*Prunus persica* L. Batsch): isolation, characterisation and cross-species amplification in *Prunus*. *Theor. Appl. Genet.* 99 : 65-67.

Crane, J. H., Bally, I. E., Mosqueda-Vasquez, R. V., Tomer, E., 1997. Crop production. In Litz, R. E. (ed), *the Mango: Botany, Production and Uses*. CAB International, Wallingford, UK, pp. 203-256.

Degani, C., El Batsri, R. and Gazit, S. 1990. Enzyme polymorphism in mango. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 115: 844-847.

De Vienne, D., 1998. Les marqueurs moléculaires en génétique et biotechnologies végétales. INRA éditions, Paris, 200 p.

Eiadthong, W., K. Yonemori, A. Sugiura, N. Utsunomiya, and S. Subhadrabandhu, 1999b. Analysis of phylogenetic relationships in *Mangifera* by restriction site analysis of an amplified region of cpDNA. *Scientia Hort.* 80 : 145-155.

Eiadthong, W., K. Yonemori, S. Kanzaki and A. Sugiura, 2000. Amplified fragment length polymorphism genetic relationships among *Mangifera* species in Thailand. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 125 : 160-164.

FAOSTAT DATABASE RESULTS, 1997. <http://www.fao.org/WAICENT/Agricul.html>.

Fruitrop, n°114. Juillet/ Août 2004.

Furon, V. , 1966. La multiplication du manguier au Sénégal. *Fruits* 21: 189-193.

Galan Saucó, V. , 1993. The situation of mango culture in the world. *Acta Horticulturae* 341 : 31-38.

Grivet, L., and J. L. Noyer, 1999. Les méthodes de marquage biochimiques et moléculaires, pp. 13-37 in *Diversité génétique des plantes cultivées*, edited by M. S. P. Harmon, X. Perrier et J.C. Glaszmann. Cirad, Montpellier.

Gruezo, W.S., 1992. *Mangifera* L. In : Verheij, E.W. M. and Coronel, R.E. (eds). Plant resources of South-east Asia No. 2: *Edible Fruits and Nuts*. Prudoc-DLO, Wageningen, pp. 203-206.

Hartless, A.C, 1914. Mango crops and some factors influencing them. *Agricultural Journal of India* 9, 141-159.

Hemanth Kumar, N. V. , Narayanaswamy, P., Theertha Prasad, D., Mukunda, G. K. and Sondhur, S. N., 2001. Estimation of genetic diversity of commercial mango (*Mangifera indica* L.) cultivars using RAPD markers. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 76 : 529-533.

Hill, M., H., Witsenboer, M. Zabeau, P. Vos, R. Kesseli, and R. Michelmore, 1996. PCR-based fingerprinting using AFLPs as a tool for studying genetic relationships in *Lactuca* spp. *Theor Appl. Genet.* 93 : 1202-1210.

Hormaza, J.I., 2002. Molecular characterization and similarity relationships among apricot (*Prunus armeniaca* L.) genotypes using simple sequence repeats. *Theor Appl. Genet.* 104: 321-328.

Ibn Battuta, Voyages. Tome II : de la Mecque aux steppes russes (1325-1353), récit de 1355, réédition : FM / La Découverte, François Maspero, Paris, France, 474 p., 1982, p. 87.

Iyer, C. P. A., and C. Degani, 1997. *Classified Breeding eng Genetics in The Mango: botany, production and uses*, edited by R. E. Litz. University Press Cambridge.

Jiron, L.F. and Hedstrom, I., 1985. Pollination ecology of mango (*Mangifera indica* L.) (Anacardiaceae) in the neotropic region. *Turrialba* 35, 269-277.

Juliano, J. B. and Cuevas, N.L., 1932. Floral morphology of mango (*Mangifera indica* L. ) with special reference to pico variety from the Philippines. *The Philippine Agriculturist* 21: 449-472.

Juliano, J. B., 1934. Origin of embryos in the strawberry mango. *Philippine Journal of Science* 54: 553-563.

Karihaloo, J. L., Dwivedi, Y. K., Sunil Archad and Ambika Baldev Gaikwad, 2003. Analysis of genetic diversity of Indian mango cultivars using RAPD markers. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology* 78(3) : 285-289.

Kashkush, K., F. Jinggui, E. Tomer, J. Hillel & U. Lavi, 2001. Cultivar identification and genetic map of mango (*Mangifera indica*). *Euphytica* 122 : 129-136.

Knight, R.J., Jr and Schnell, R.J., 1993. Mango (*Mangifera indica* L. ) introduction and evaluation in Florida and its impact on the world industry. *Acta Horticulturae* 341: 125-135.

Knight, R. J., Jr, 1993. Evaluating important fruit characters in mango germplasm. *Fruits Varieties Journal* 47 : 25-30.

Kostermans, A. J.G. H., and J. M. Bompard, 1993. The mangoes. Their botany, Horticulture and Utilization. Academic Press Harcourt Brace & Compagny, London.

Lopez-Valenzuela, J. A., Martinez, O. and Paredes-Lopez, O., 1997. Geographic differentiation and embryo type identification in *Mangifera indica* L. cultivars using RAPD markers. *HortScience*, 32: 1105-1108.

Mallik, P.C, 1957. Morphology and biology of the mango flower. *Indian Journal of Horticulture* 8, 1-10.

Morgante M, Olivieri A, 1993. PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics. *Plant Jour* 3 : 175-182.

Morton. J, 1987. Mango p 221-239. In : Fruits of warm climates.

Mukherjee, S. K., 1953. Origin, distribution and phylogenetic affinities of the species of *Mangifera indica* L. *Journal of the Linnean Society, Botany* 55: 65-83.

Mukherjee, S. K., 1972. Origin of mango. *Economic Botany*, 26: 260-264.

Mukherjee, S. K., 1997. The mango : Introduction : Botany and Importance, pp. 1-19 in *The Mango: botany, production and uses*, edited by R. E. Litz. University Press, Cambridge.

Nei, M., Li, W.H., 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 76 : 5269-5273.

Penner GA, Bush A, Wise R, Kim W, Domier L, Kasha K, Laroche A, Scoles G, Molnar SJ, Fedak G, 1993. Reproducibility of random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis among laboratories. *PCR Methods Applic 2*: 341-345.

Perrier, X., Flori, A., Bonnot, F., 2003. Methods of data analysis. In : Hamon, P., Seguin, M., Perrier, X., Glaszmann, J-C, (eds), Genetic Diversity of Cultivated Tropical Plants, pp. 43-76, CIRAD, Montpellier, France.

Popenoe, W., 1920. Manual of Tropical and sub-tropical Fruits excluding the bananas, coconut, pineapple, citrus fruits, olive and fig, Hafner Press, Div. Macmillan Publ. Co., New York, USA.

Pickersgill, B., 1986. Domestication and its taxonomic consequences. *Acta Horticulturae* 182: 319-327.

Purseglove, J. W., 1972. Mangoes wesr of India. *Acta Horticulturae* 24: 107-174.

Ravishankar, K., V., Anand, L. and Dinesh, M. R., 2000. assessment of genetic relatedness among mango cultivars of India using RAPD markers. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 75: 198-201.

Rey J-Y, Diallo T. M., Vannière H., Didier C., Kéita S., Sangaré M., 2004. La mangue en Afrique de l'Ouest francophone : variétés et composition variétale des vergers. *Fruits*, 59: 191-208.

Risterucci, A.M., Grivet, L., N'Goran, J.A.K., Pieretti, I., Flament, M.H., and Lanaud, C., 2000. A high density linkage map of *Theobroma cacao* L. *Theor. Appl. Genet.*, 101 : 948-955.

Robbertse, P.J., Coetzer, L.A., Tomer, E. and Smith, M.F., 1994. Sexual compatibility between differant mango cultivars. *South African Mango Growers' Association Yearbook* 14, 18-20.

Rozen, S., Skaletsky, H.J., 2000. Primer3 on the WWW for general users and for biologist programmers. In : Krawetz, S., Misener, S. (eds), Bioinformatics Methods and Protocols : *Methods in Molecular Biology*. Humana Press, Totowa, NJ, pp. 365-386.

Santoni, S., Faivre-Rampart, P., Prado, E., Prat, D., 2000. Marqueurs moléculaires pour l'analyse des ressources génétiques et l'amélioration des plantes. *Cahier d'études et de recherches francophones / Agricultures*, 9(4) : 311-327.

Saitou, N., Nei, M., 1987. The neighbor-joining method : a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.*, 4(4) : 406-425.

Schnell RJ, Knight RJ, 1993. Genetic relationship among *Mangifera* spp. Based on RAPD markers. *Acta Horticulturae* 341: 86-92.

Schnell, R.J., C.M. Ronning & R.J. Knight, Jr, 1995. Identification of cultivars and validation of genetic relationships in *Mangifera indica* L. using RAPD markers. *Theor Appl. Genet* 90 : 269-274.

Sturrock, T. T., 1968. Genetics of mango polyembryony. *Proceeding of the Florida State Horticultural Society* 81: 311-314.

Vannière, H., 2001. Activités de recherche sur la mangue au Cirad-flhor, pp. in Journée Manguier, edited by H. Vannière. Cirad-flhor, Montpellier.

Yadav, I., S. and Singh, H. P., 1985. Evaluation of different ecological groups of mango cultivars for flavouring and fruiting under subtropics. *Progressive Horticulture*, 17 : 165-175.

# ANNEXES

ANNEXE 1 : Liste des accessions de manguiers de la collection de Vieux-Habitants (Guadeloupe).

ANNEXE 2 : Liste des accessions prospectées aux Antilles (Marie-Galante, La Désirade, Grande Terre, Basse Terre, Martinique) et à la Réunion.

ANNEXE 3 : Liste des 35 accessions de manguiers de la collection de Floride.

ANNEXE 4 : Protocole d'extraction d'ADN génomique (D'après Risterucci et al., 2000).

ANNEXE 5 : Protocole de vérification et de quantification approximative de l'ADN après extraction.

ANNEXE 6 : Protocole d'amplification par PCR froide.

ANNEXE 7 : Test de polymorphisme par incorporation de ( $\alpha$ - $^{33}\text{P}$ ) dCTP.

ANNEXE 8 : Analyses microsatellites par phosphorylation des extrémités 5' avec du ( $\gamma$ - $^{33}\text{P}$ ) ATP.

ANNEXE 9 : Composition des tampons et des solutions.

ANNEXE 10 : Variétés de la collection de Guadeloupe dont l'identité n'a pas été confirmée par comparaison avec des variétés floridiennes de référence.

ANNEXE 11 : Identification des cultivars de la collection de Guadeloupe par comparaison avec les 35 variétés floridiennes de référence et mise en évidence de doublons.

ANNEXE 12 : Liste des doublons au sein des variétés prospectées aux Antilles et à la réunion.

ANNEXE 13 : Liste finale des 207 accessions réparties par groupes pour les analyses de diversité et pour le calcul des fréquences alléliques.

**ANNEXE 1 : Liste des accessions de manguiers de la collection de  
Vieux-Habitants (Guadeloupe).**

Variété	N°actif	Synonyme ou doute/Origine	Origine supposée	Provenance	Graine
9-C	GUA-001		?	Mali	?
Adams	GUA-002		?	Canaries/Cameroun	M
Aeromanis	GUA-003		?	Mali	?
Alphonse	GUA-004		Inde	Mali	M
Alphonse de Goa	GUA-005		Sud est asiatique	Mali	?
Alphonse Hawaï	GUA-006		?	Cameroun	?
Alphonse Paheri	GUA-007	= Paheri = Pirie=Peter Passand= Sacabi	Inde	Mali	M
Ameeri	GUA-008		?	Guinée	?
Améliorée du Cameroun	GUA-009		Afrique	Côte d'Ivoire	P
Amélie	GUA-010		Afrique	Côte d'Ivoire	?
Amélie Guinée	GUA-011	N'est pas une Amélie	Afrique	Mali	?
Auguste	GUA-012	Ressemble à Linzolo et malembe	Réunion	Réunion	?
Azucar	GUA-013		Amérique du sud	Colombie	?
Bombaroo	GUA-014		Sud est asiatique	Australie	P
Bedami Rouge	GUA-015	Ressemble à Haden	?	Mali	?
Bedami Vert	GUA-016	Ressemble à Haden	?	Mali	?
Beverly	GUA-017		?	Côte d'Ivoire	?
Black	GUA-018		?	Guinée	?
Bombay	GUA-019	# de la variété décrite par Singh	Inde	Mali	M
Bombay Green	GUA-020	= Paheri ?	Inde	Canaries	M
Brooks	GUA-021		Descendant Inde	Côte d'Ivoire	M
Camayenne	GUA-022	Ressemble à Sabot	?	Cameroun	?
Cambodiana	GUA-023	Introduction récente	?	?	?
Candaha	GUA-024		Trinidad	Trinidad	?
Carabao	GUA-025	Ancienne Haden Carabao	?	Mali	P
Carrie	GUA-026	Graine de Julie ?	?	Cameroun	M
Chanleto	GUA-027		Amérique du sud	Colombie	?
Cogshall	GUA-028	Ancienne orthographe Coq's Hall (=Miami Late)	?	Mali	M
Crazou	GUA-029		?	Mali	?
Cyleon	GUA-030		Trinidad	Trinidad	?
D'or	GUA-031	= Mangot d'or, mangot	?	Mali	?
Davis Haden	GUA-032	Ressemble à Haden	?	Mali	M
Divine	GUA-033		?	Côte d'Ivoire	?
Dixon	GUA-034	Ressemble à Haden	?	Mali	?
Djibelor Casamance	GUA-035	Ressemble à Paheri, Alphonse Paheri, Peter Passand, Pirie, Sacabi	Inde	Mauritanie/Cameroun	M
Doux Doux	GUA-036		Trinidad	Trinidad	?
Early Gold	GUA-037	Problème d'identité	?	Côte d'Ivoire	?
Edward	GUA-038		Descendant Inde	Guinée	M
Egypte A	GUA-039		Afrique	Côte d'Ivoire	?
Egypte B	GUA-040		Afrique	Côte d'Ivoire	?
Egypte C	GUA-041		Afrique	Côte d'Ivoire	?
Egypte D	GUA-042		Afrique	Côte d'Ivoire	?
Egypte F	GUA-043		Afrique	Côte d'Ivoire	?

Eldon	GUA-044	Graine de Haden	Descendant Inde	Côte d'Ivoire	M
Eldon Ferké	GUA-045	En fait Ferké	?	Côte d'Ivoire	?
Fascell	GUA-046	Haden X Brooks ?	Descendant Inde	Mali	M
Florigon	GUA-047		Sud est asiatique	Canaries/Cameroun	P
Fraissinette	GUA-048		?	Côte d'Ivoire	?
Francis	GUA-049		?	Mali	?
Gabriel	GUA-050		?	Guinée	?
Galerie	GUA-051		?	Côte d'Ivoire	?
Gedong	GUA-052		Sud est asiatique	Mali	P
Glazier	GUA-053	Problème d'identité	?	Mali	?
Glenn	GUA-054	Graine de Haden ?	Descendant Inde	Canaries	M
Gomera-2	GUA-055	Ressemble à Gomera-A	Afrique	Canaries/Cameroun	?
Gomera-3	GUA-056		Afrique	Canaries/Cameroun	?
Gomera-A	GUA-057	Ressemble à Gomera-2	Afrique	Canaries/Cameroun	?
Grosse rouge	GUA-058		?	Mauritanie/Cameroun	?
Haden	GUA-059	Ressemble à Dixon, Bedami, Davis Haden, graine de Mulgoba ?	Descendant Inde	Côte d'Ivoire	M
Ifac 1	GUA-060	= Hindibi= Améliorée du Cameroun	Afrique	Cameroun	P
Irwin	GUA-061	Graine de Lippens ?	Descendant Inde	Côte d'Ivoire	M
Jacqueline	GUA-062		?	Mali	M
Julie collection	GUA-063	# de Julie Antilles	Antilles		?
Julie Antilles	GUA-064		Antilles		M
Julie Lataha	GUA-065	N'est pas une Julie	Afrique	Côte d'Ivoire	?
Keitt	GUA-066	Graine de Mulgoba ?	Descendant Inde	Côte d'Ivoire	M
Kensington	GUA-067		Sud est asiatique	Mali	P
Kent	GUA-068	Problème de coloration, graine de Sandersha ?	Descendant Inde	Côte d'Ivoire	M
Linzolo	GUA-069	Ressemble à Auguste, Linzolo Mali et Malembe	Afrique	Mali	?
Linzolo Mali	LIN-M	Ressemble à Linzolo Auguste et Malembe	Afrique	Mali	?
Lippens	GUA-070	Problème de coloration, Graine de Haden ?	Descendant Inde	Côte d'Ivoire	M
Longo Diego	GUA-071	Ressemble à Diego	Réunion	Mali	?
Mabroka	GUA-072		Afrique	Cameroun	M
Mabrouk	GUA-073		Afrique	Côte d'Ivoire	?
Maison rouge	GUA-074		Réunion	Réunion	?
Malembe	GUA-075	Ressemble à Linzolo et Auguste	Afrique	Mali	?
Mangot Vert	GUA-076		?	Mali	?
Mangotine	GUA-077		?	Mali	?
Martin	GUA-078	# de Martin de Floride	?	Guinée	?
Maya	GUA-079	Ressemble à Haden	?	Guinée	?
Mechouang	GUA-080		Sud est asiatique	Guinée	P
Miami Late	GUA-081	Ressemble à Haden	?	Côte d'Ivoire	?
Mulgo Round	GUA-082	= Mulgoba ?	?	Guinée	?
Nam Doc Mai	GUA-083		Sud est asiatique	Australie	P
Nimrod	GUA-084	Graine de Maya fils de Haden ?	Afrique (Israël)	Mali	?
Odette	GUA-085	Ressemble à Saber	?	Mali	?
Osteen	GUA-086	Graine de Haden ?	Descendant Inde	Canaries/Cameroun	?
Paheri	GUA-087	Ressemble à Alphonse Paheri, Peter Passand,	Inde	Guinée	M



		Pirie, Sacabi, Djibelor Casamance			
Palmer	GUA-088		?	Côte d'Ivoire	M
Paris	GUA-089		?	Mali	?
Passy Hâtive	GUA-090		?	Mauritanie/Cameroun	?
Pêche	GUA-091	Ressemble à Haden		Côte d'Ivoire	?
Peter Passand	GUA-092	Ressemble à Alphonse Paheri, Paheri, Pirie, Sacabi, Djibelor Casamance	Inde	Mali	M
Petit Greew	GUA-093		Descendant Inde	Guinée	?
Philippino	GUA-094	= Philippine ?	Sud est asiatique	Canaries	?
Pirie	GUA-095	Ressemble à Alphonse Paheri, Paheri, Sacabi, Djibelor Casamance	Inde	Canaries	M
Pope	GUA-096	Graine de Irwin ?	Descendant Inde	Canaries	?
R2E2	GUA-097		Sud est asiatique	Australie	?
Rachel	GUA-098		Afrique (Israël)	Mali	?
Romania	GUA-099		Afrique	Mali	?
Rose	GUA-100	= Rosa ?	Trinidad	Trinidad	?
Ruby	GUA-101		?	Côte d'Ivoire	M
Saber	GUA-102	Ressemble à Odette	?		?
Sabot	GUA-103	= Camayenne	?	Mali	?
Sabre	GUA-104	Mangot local de Korogho	?	Côte d'Ivoire	P
Sacabi	GUA-105	Ressemble à Alphonse Paheri, Paheri, Pirie, Djibelor Casamance	Inde	Mali	M
Sandersha	GUA-106	Ancienne orthographe Sandeshi	Inde	Trinidad	M
Sensation T5	GUA-107	Problème de coloration	?	Côte d'Ivoire	?
Smith	GUA-108	Graine de Haden ?	Descendant Inde	Côte d'Ivoire	M
Soudan 2	GUA-109		?	Cameroun	?
Springfels	GUA-110	Graine de Haden ?	Descendant Inde	Côte d'Ivoire	M
Starch	GUA-111		Trinidad	Trinidad	?
Sybil	GUA-112		?	Mali	?
Taymour	GUA-113		?	Canaries	?
Tolbert	GUA-114	Synonyme Torbet ?	?	Canaries/Cameroun	?
Tommy Atkins	GUA-115	Origine inconnue	Descendant Inde	Mali	M
Valencia	GUA-116	Graine de Haden ?	Descendant Inde	Côte d'Ivoire	M
Valencia Pride	GUA-117	Graine de Haden ?	Descendant Inde	Canaries	M
Van Dyke	GUA-118		?	Canaries/Cameroun	M
Whitney	GUA-119		?	Cameroun	?
Wooten	GUA-120		?	Guinée	?
Zill	GUA-121	Graine de Haden ?	Descendant Inde	Côte d'Ivoire	M
<i>M. laurina</i>	GUA-122		Sud est asiatique	Indonésie	P
<i>M. applanata (syn pelipisan)</i>	GUA-123		Sud est asiatique	Indonésie	P

**Légende :**

Graine { M : monoembryonnée  
P : polyembryonnée

**ANNEXE 2 : Liste des accessions prospectées aux Antilles et à la Réunion.**

**Liste des accessions de manguiers provenant des prospections dans l'archipel de la Guadeloupe**

Variété	identification	Lieu de prospection	Provenance	Date de prospection
Coco bourrique	MA 008			13/07/2002
Mango ananas	MA 009			15/07/2002
Mangue Lamitié	MA 159	Basse Terre	Balin Bazin cousine corinne	14/04/2004
Manguotine	MA 160	Basse Terre	Bazin près du petit pont	
Mangue cv inconnue	MA 161	Basse Terre	Bazin FILOMIN	
Mangue Fal rose	MA 162	Basse Terre		
Mangue coco clair	MA 163	Basse Terre		
Mangue sur au fond	MA 164	Basse Terre		
Mangue mamelle	MA 165	Basse Terre	Belin anc moulin	
Mangue fil	MA 166	Basse Terre		
Mangue zécodinde	MA 167	Basse Terre		
Mangue rose	MA 168	Basse Terre	Salette Morne-à- l'eau	
Mangue fil 1	MA 169	Basse Terre	Chazeau Morne-à- l'eau	
Mangue fil 2	MA 170	Basse Terre		
Mangue fil 3	MA 171	Basse Terre		
Mangue fil 4	MA 172	Basse Terre		
Mangue fil 5	MA 173	Basse Terre		
Mangue fil 6	MA 174	Basse Terre		
Mangue fil 7	MA 175	Basse Terre		
Mangue fil 8	MA 176	Basse Terre		
Mango cocotte	MA 177	Basse Terre	Doubs AbymesVoisine de MAYOUTE	
Mangue bœuf	MA 178	Basse Terre		
Mangue zécodinde	MA 179	Basse Terre	Basse Terre Dr LUBIN	
Mangue mamin	MA 180	Basse Terre		
Mango rond	MA 181	Basse Terre		
Mangue divine	MA 182	Basse Terre		
Mango d'O	MA 183	Basse Terre		
Mangue reine amélie	MA 184	Basse Terre		
Mangue fil 9	MA 185	Basse Terre		
Mangue cv inconnue	MA 186	Basse Terre		
Mangue pomme	MA 187	Basse Terre		
Mangue "Sabot"	MA 188	Basse Terre		Basse Terre Madame CROSS
Mangue "julie"	MA 189	Basse Terre	St Claude chez Fabrice	
Mangotine	MA 190	Basse Terre		

Mangue cv inconnue	MA 191	Basse Terre	DAF Basse Terre	15/04/2004
Mangue cv inconnue	MA 192	Basse Terre	DAF Basse Terre origine Guyane	
Mangue cv inconnue	MA 193	Basse Terre	DAF Basse Terre	
Mangue cv inconnue	MA 194	Basse Terre	Annexe Région cellule europe	
Mangue cv inconnue (Mamain ?)	MA 195	Basse Terre		
Mangue cv inconnue	MA 196	Basse Terre	Parking CCI Basse Terre	
Mangue pain	MA 197	Basse Terre	Basse Terre	
Mangue ananas	MA 198	Basse Terre	Baillif Route de Campry	
Mangue demoiselle	MA 199	Basse Terre	La jaille Baie mahault	14/04/2004
Mangue julie	MA 200	Basse Terre		
Mangue Lamitié	MA 201	Basse Terre	Bonne terre Morne-à-l'eau	
Mangue bœuf	MA 202	Basse Terre		
Mangue pomme	MA 203	Basse Terre		
Mangue "pomme" jaune	MA 204	Basse Terre	Pavillon Petit Canal	
Mangue zécodinde	MA 205	Basse Terre		
Mangue mamain	MA 206	Basse Terre	Bazin Petit Canal	
Mangue farine	MA 207	Basse Terre	Balin Bazin cousine corinne	
Mangue julie	MA 208	Basse Terre	Vieux verger CIRAD VxH	
Mangue pomme	MA 209	Basse Terre		
Mangue cv inconnue	MA 210	Basse Terre	CIRAD VxH	
Mangue fil	MA 211	Basse Terre	Vieux verger CIRAD VxH	
Davis Haden n°2	MA-212	Basse Terre	CIRAD VxH	
Beverly n°2	MA 213	Basse Terre		
Harumanis	MA 214	Basse Terre		
Djibelor	MA 215	Basse Terre		
Man	MA 216	Basse Terre		
Florigon n°2	MA 217	Basse Terre		
Mangue chérie	MA 218	Basse Terre	Pointe Noire chez Mario SABINE	
Mangue cœur	MA 219	Basse Terre		
Mangue bœuf	MA 220	Basse Terre		
Mangue beurre	MA 221	Basse Terre		
Mangue siguine	MA 222	Basse Terre		
Mangue reine amélie	MA 223	Basse Terre	Pointe Noire chez MABO	
Mangue Marie jeanne	MA 224	Basse Terre	Pointe Noire Ecole de Baille Argent	
Mangue muscat ou moussache	MA 225	Basse Terre		
Mangue moussache	MA 226	Basse Terre		
Mangue blanche	MA 227	Basse Terre		

Mangue thérébenthine	MA 228	Basse Terre		
Mangotine	MA 229	Basse Terre		
Mangue muscat	MA 230	Basse Terre		
Mangue rose	MA 231	Basse Terre	source de Morphy Pointe Noire	
Mangue "rosé"	MA 232	Basse Terre	Morphy Pointe Noire	16/04/2004
Mangue fil	MA 233	Désirade	source de l'arbre à pain	
Mangue coco clair	MA 234	Désirade	sous fleur	
Mangue cv inconnue	MA 235	Désirade		
Mangue pomme	MA 236	Désirade	bourg	20/04/2004
Mangue pomme	MA 237	Désirade	plateau	
Mangue brévin	MA 238	Grande Terre	Les abymes - Papain Benoit	
Mangue christophe	MA 239	Marie Galante		
Mangue fil	MA 240	Marie Galante		
Mangue gréffié	MA 241	Marie Galante	Rte des petites ba nanes	
Mangue ronde	MA 242	Marie Galante		
Mangue thérébenthine	MA 243	Marie Galante		
Mangue cv inconnue	MA 244	Marie Galante	Rte de St Louis	21/04/2004
Mangue miel	MA 245	Marie Galante	St Louis Menard	
Mangue pomme	MA 246	Marie Galante	section Pelisson	
Mangue cv inconnue	MA 247	Marie Galante		
Mangue madame	MA 248	Marie Galante	Chez Nomède	
Mangotine	MA 249	Marie Galante		
Mangue cv inconnue	MA 250	Marie Galante	section Bon Temps	

**Liste des accessions de manguiers provenant des prospections  
réalisées à la Martinique.**

Variété	Identification	Provenance	Date de prospection
Mango Bassignac	MA 300	Zabeth (ROBERT)	20/04/2004
Mango à la rose	MA 301		
Ti mangue	MA 302		
Cv inconnue	MA 303		
Mango Carotte	MA 304		
Mango Sezar	MA 305		
Mango Bassignac	MA 306		
Mangue julie	MA 307	Route de bois désir (ROBERT)	
Mango vert	MA 308	Augrain (ROBERT)	
Mango tin	MA 309		
Mango moussache	MA 310		
Mango Camphre	MA 311		
Mango rond	MA 312		
Mango Zéfirine	MA 313		
Mangue coco boeuf	MA 314		
Mango dio	MA 315	Rivière Lézarde	
Dican	MA 316		
Yoo	MA 317		
Abricot	MA 318		
Rancay	MA 319		
Reynal	MA 320		
Francis	MA 321		
Moussache Scholastique	MA 322		
Moussache Modeste	MA 323		
La pointe shell	MA 324		
Cv inconnue	MA 325	Soudon (Rivière Lézarde)	
Divin	MA 326		
Cv inconnue	MA 327	St Laurent (LE FRANCOIS)	
Mango Gery	MA 328	Morne Acajou (LE FRANCOIS)	
Mango Zo	MA 329	LE FRANCOIS	
Mango Méran	MA 330	Mascarasse (LE FRANCOIS)	
Manguo sirette ou huile	MA 331	Dunoyer Himbert (LE FRANCOIS)	
Grin d'chien	MA 332	Cadette	
Cv inconnue	MA 333		

**Liste des accessions de manguiers provenant des prospections  
réalisées à la Réunion.**

Variété	Identification	Provenance	Date de prospection
Carotte	RE-001		Avril 2004
Early Gold	RE-002		
Petite José	RE-003		
José (russetée)	RE-004		
Lise	RE-005		
Léonard	RE-006		
Auguste	RE-007		
Prade	RE-008		
José	RE-009		
José rouge	RE-010		
Grosse Josée ou Josée Royale	RE-011		
Inconnue = X	RE-012		
José	RE-013		
Auguste Rouge	RE-014		
Caro	RE-015		
Lirfa=Early Gold	RE-016		
Delphine	RE-017		
Cécile	RE-018		
Saucisse	RE-019		
Violette	RE-020		

### ANNEXE 3 : Liste des accessions de manguiers de la collection de Floride.

Variété	N°actif	Origine	Provenance supposée	Lieu de collecte	Graine
Alphonse	FLO-004	Introduction d'Inde originale (1902)	Inde	FBG	M
Ameeri	FLO-008	Origine inconnue	?	USDA	?
Beverly	FLO-017	Descendant de Zill, fils de Haden	Descendant Inde	FBG	M
Bombay	FLO-019	Introduction originale d'Inde	Inde	FBG	M
Brooks	FLO-021	Graine de Sandersha (origine Bangalor, India)	Descendant Inde	FBG	M
Carabao	FLO-025	Introduction originale des Philippines	Sud est asiatique	USDA	P
Carrie	FLO-026	Graine de Julie ? (Floride)	Antilles ?	FBG	M
Cogshall	FLO-028	Origine inconnue (Floride)	?	FBG	M
Early Gold	fLO-037	Origine inconnue (Floride)	?	USDA	?
Edward	FLO-038	Haden X Carabao ? (Floride)	Descendant Inde	FBG	M
Florigon	FLO-047	Graine de Saigon (introduction en Floride de Saigon en 1932)	Sud est asiatique	FBG	P
Glenn	FLO-054	Graine de Haden (Floride)	Descendant Inde	FBG	M
Haden	FLO-059	Graine de Mulgoba (Floride)	Descendant Inde	FBG	
Irwin	FLO-061	Graine de Lippens fils de Haden (Floride)	Descendant Inde	USDA	M
Julie	FLO-063	Origine inconnue	Antilles	FBG	
Keitt	FLO-066	Graine de Mulgoba (Floride)	Descendant Inde	FBG	M
Kensington	FLO-067	Introduction d'Australie (Origine inconnue)	Sud est asiatique	USDA	P
Kent	FLO-068	Graine de Brooks (Floride)	Descendant Inde	FBG	M
Lippens	FLO-070	Graine de Haden (Floride)	Descendant Inde	USDA	M
Mulgoba	FLO-082	Porte-greffe de Mulgoba (introduction originale d'Inde en 1889)	Inde	FBG	M
Osteen	FLO-086	Graine de Haden	Descendant Inde	FBG	M
Paheri	FLO-087	Introduction originale d'Inde	Inde	FBG	M
Palmer	FLO-088	Origine inconnue (Floride, 1925)	?	FBG	M
Pettigrew	FLO-093	Origine inconnue (Floride)	Descendant Inde	FBG	?
Ruby	FLO-101	Origine inconnue (Floride)	?	FBG	M
Sandersha	FLO-106	Introduction originale d'Inde en 1901	Inde	FBG	M
Sensation	FLO-107	Origine inconnue	?	FBG	M
Springfels	FLO-110	Graine de Haden (Floride)	Descendant Inde	USDA	M
Torbet	FLO-114	Origine inconnue (Floride)	?	FBG	P
Tommy Atkins	FLO-115	Graine de Haden (Floride)	Descendant Inde	FBG	M
Valencia Pride	FLO-117	Graine de Haden (Floride)	Descendant Inde	FBG	M
Zill	FLO-121	Graine de Haden (Floride)	Descendant Inde	FBG	M
<i>M. laurina</i>	FLO-122	Introduction originale de Bornéo	Sud est asiatique	FBG	P
Manila	FLO-man	Introduction originale des Philippines	Sud est asiatique	USDA	P
Fairchild	FLO-fair	Introduction originale de Panama	Amérique du sud	FBG	?

**ANNEXE 4 : Protocole d'extraction d'ADN génomique**  
(D'après Risterucci et al., 2000).

1. Préparer du tampon d'extraction MATAB<sup>®</sup> et préchauffer au bain-marie à 74 °C.
2. **Peser environ 500 mg de feuilles fraîches (ou 150 mg si les feuilles sont sèches), les découper, les emballer dans du papier aluminium et les congeler dans de l'azote liquide.**
3. Broyer au mortier dans l'azote liquide avec une pincée de sable de mer et transférer le broyat obtenu dans un tube de 15 ml contenant 5 ml de tampon d'extraction MATAB préchauffé.
4. Ajouter 15 µl de Rnase T1 : 25ng/ml à 20 U/mg (facultatif)
5. Vortexer 10 secondes.
6. Incuber 20 min au bain-marie à 74°C sous légère agitation pour lyser les cellules.
7. Refroidir à température ambiante.
8. Ajouter 5 ml de CIAA<sup>®</sup> (chloroforme isoamyle alcool) et agiter par retournement (~ 100 x soit environ 5 min) sur agitateur.
9. Centrifuger 15 min à 10000 g à 15°C dans des tubes légèrement dévissés pour éviter qu'ils explosent.
10. Transférer la phase aqueuse dans de nouveaux tubes de 15 ml.
11. Ajouter doucement et en inclinant le tube, 5 ml d'isopropanol (propane-2-ol).
12. Agiter légèrement jusqu'à la précipitation de l'ADN.
13. Centrifuger à 10000 g à 4°C pendant 20 min.
14. Vider le surnageant et laisser sécher les culots au moins 2 h sur du papier absorbant.
15. Resuspendre les culots d'ADN dans 400 µl de TE<sup>®</sup>.
16. Laisser reprendre à température ambiante la nuit avant vérification sur gel d'agarose.



\* *Composition du tampon d'extraction MATAB :*

	<b>Quantités pour 500 ml</b>	<b>Concentration finale</b>
Tris-HCl 1M, pH 8.0	50 ml	100 mM
NaCl 5M	140 ml	1,4 M
EDTA 500 mM	20 ml	20 mM
MATAB ('Mixed' alkyl triméthylammonium bromide)	10 gr	2 %
PEG 6000	5 gr	1 %
Sulfite de sodium	2,5 gr	0,5 %

} dissoudre sous agitation

\* *Composition du CIAA : Chloroforme-Isoamyl-Alcool*

Alcool isolamylique 1 vol.

Chloroforme 24 vol.

\* **TE : Tampon Tris-EDTA**

**Tris HCl pH 8,0**                      **10 mM**

EDTA                                      0,1 mM

## **ANNEXE 5 : Protocole de vérification et de quantification approximative de l'ADN après extraction.**

**\* Sur mini-gels à 0,8% à 1% d'agarose (ou sur grands gels)**

### **Préparation des minigels d'agarose**

1. Peser 0,5 g (2,5 g) d'agarose standard.
2. Dans un erlen, dissoudre l'agarose dans 50 ml (300 ml) de TAE 1X.
3. Chauffer 2 min (5 min) au micro-onde et refroidir sous l'eau froide en agitant.
4. Couler dans une petite (grande cuve).
5. Installer 2 peignes à 16 dents (4 peignes à 30 dents) après coulage.
6. Laisser sécher 30 min.

### **Préparation des aliquots**

1. Déposer dans une plaque plastique pour chaque ADN à tester
  - 7  $\mu\text{l}$  d' $\text{H}_2\text{O}$
  - 1,5  $\mu\text{l}$  de bleu
  - 2  $\mu\text{l}$  solution ADN
2. Préparer 3 témoins de concentration à partir d'ADN de cocotier à 50 ng/ $\mu\text{l}$ .

<b>Concentration</b>	<b>ADN</b>	<b>Bleu</b>	<b>H<sub>2</sub>O</b>
50 ng/ $\mu\text{l}$	1 $\mu\text{l}$	1,5 $\mu\text{l}$	7,5 $\mu\text{l}$
100 ng/ $\mu\text{l}$	2 $\mu\text{l}$	1,5 $\mu\text{l}$	6,5 $\mu\text{l}$
150 ng/ $\mu\text{l}$	3 $\mu\text{l}$	1,5 $\mu\text{l}$	5,5 $\mu\text{l}$

### **Dépôt et migration**

1. Homogénéiser et déposer 10  $\mu\text{l}$  (15  $\mu\text{l}$ ) par puits de chaque extrait préparé et 10  $\mu\text{l}$  de chaque témoin.
2. Remplir la cuve de TAE 1X en recouvrant le gel.

3. Migration entre 45 min et 1h (1h30-2h) à 100 V.

### Révélation

1. Plonger le gel 10 min dans le BET (bromure d'éthydiium).

2. Rincer 10 min dans H<sub>2</sub>O.

3. Photographier sous lumière UV

### \* Composition du TAE 10X :

Tris	1 M
Acide acétique	0,9 M
EDTA	0,01 M

### \* Composition du tampon de charge (Bleu agarose) :

Tris pH 8,0	100 mM
EDTA	100 mM
Glycérol	50%
Bleu de bromophénol	0,25%
Xylène cyanol	0,25%

## ANNEXE 6 : Protocole d'amplification par PCR froide.

1. Dans une plaque PCR à 96 puits, déposer 5  $\mu\text{l}$  d'ADN à 5 ng/ $\mu\text{l}$  par échantillon et par puits.
2. Préparer un mix par amorce en fonction du nombre d'individus à tester (pour 8 individus, colonne Mix/9).  
(En fonction du nombre total d'individus et du nombre d'amorces, il est possible de préparer un mix global, sans les amorces, et de les rajouter par la suite).

Réactifs	C° finale	V $\mu\text{l}/\text{r}$	Mix /9
H <sub>2</sub> O Merck	qsp	6.8	61.2
Tampon 10X	1 X	2	18
dNTP 2,5 mM	2,5 $\mu\text{M}$	1.5	13.5
MgCl <sub>2</sub> 50mM	2 mM	0,2	1.8
Amorce F	2 $\mu\text{M}$	2	18
Amorce R	2 $\mu\text{M}$	2	18
Taq polymérase	2 U/ $\mu\text{l}$	0,5	4.5
<b>TOTAL</b>		<b>15.2</b>	<b>135</b>

2. Homogénéiser doucement puis répartir 20  $\mu\text{l}$  à la pipette automatique dans chaque puits.
3. Déposer 1 goutte d'huile minérale par puits et recouvrir d'un film plastique.
4. Mettre la plaque dans un thermo-cycler (PTC-100<sup>TM</sup> MJ Research, INC) et lancer l'amplification.

Plusieurs programmes PCR ont été testés :

Programme standard (AMSS51)		
Etape	Température (°C)	Temps
1	94	5mn
2	94	30"
3	51	1mn
4	72	1 mn
cycle : 35 fois		
5	72	8mn
6	15	24 h

Programme Touch down (SORTD56-51)		
Etape	Température (°C)	Temps
1	94	4 mn
2	94	30"
3	56	45"
4	72	1 mn
cycle : 9 fois (- 0,5°C / cycle)		
5	94	30"
6	51	45"
7	72	1 mn
cycle : 25 fois		
9	72	5 mn
10	15	24 h

Pour le programme SORTD56-51, la température d'hybridation commence à 56°C et elle diminue de 0,5°C par cycle pour arriver à 51C (étape 6).

5. A la fin du programme, rajouter 2 µl de tampon de charge dans chaque puits.
6. **Vérifier les amplifications sur grands gels d'agarose (voir annexe 5).**

## ANNEXE 7 : Test de polymorphisme par incorporation de ( $\alpha$ - $^{33}\text{P}$ ) dCTP.

1. Dans une plaque PCR à 96 puits, déposer 5  $\mu\text{l}$  d'ADN à 5 ng/ $\mu\text{l}$  par échantillon et par puits.
2. Préparer un mix par amorce en fonction du nombre d'individus à tester (pour 8 individus, colonne Mix/9).

(En fonction du nombre total d'individus et du nombre d'amorces, il est possible de préparer un mix global, sans les amorces, et de les rajouter par la suite).

Réactifs	C° finale	V $\mu\text{l}/\text{r}$	Mix /9
H <sub>2</sub> O Merck	qsp	7.2	64.8
Tampon 10 X	1 X	2	18
MgCl <sub>2</sub> 50 mM	2 mM	0.2	1.8
d NTP 2,5 mM	100 $\mu\text{M}$	0.8	7.2
Amorce F 2 $\mu\text{M}$	0.2 $\mu\text{M}$	2	18
Amorce R 2 $\mu\text{M}$	0.2 $\mu\text{M}$	2	18
$\alpha$ - $^{33}\text{P}$		0.3	2.7
Taq 2 U/ $\mu\text{l}$	1 U	0.5	4.5
<b>TOTAL</b>		<b>15</b>	<b>135</b>

2. Homogénéiser doucement puis répartir 15  $\mu\text{l}$  à la pipette automatique dans chaque puits.
3. Déposer 1 goutte d'huile minérale par puits et recouvrir d'un film plastique.
4. Mettre la plaque dans un thermo-cycler (PTC-100<sup>TM</sup> MJ Research, INC) et lancer l'amplification avec le programme sélectionné (programme PCR d'hybridation fixe à 51°C et programme PCR d'hybridation à température variable : touch-down de 56 à 51°C).

## ANNEXE 8 : Analyses microsatellites par phosphorylation des extrémités 5' avec du ( $\gamma$ - $^{33}\text{P}$ ) ATP.

### A. Marquage des amorces R non diluées selon le protocole suivant :

Réactifs	C° finale	Mix/ 100	Mix/ 400
Amorce R 100 $\mu\text{M}$	0.2 $\mu\text{M}$	2	8
Tampon kinase 10X	1X	2	8
T4 kinase	0.2 U	2	8
$^{33}\text{P}$ ATP	0.04 $\mu\text{l}$	3	12
H2O Merck	qsp 25 $\mu\text{l}$	11	44
<b>TOTAL</b>		<b>20</b>	<b>80</b>

Marquage au bain-marie à 37°C pendant 45 minutes.

### B. Amplification

- Dans une plaque PCR à 96 puits, déposer 3 $\mu\text{l}$  d'ADN à 5 ng/ $\mu\text{l}$  par échantillon et par puits.
- Préparer le mix PCR :

Réactifs	C° finale	V $\mu\text{l}/\text{r}$	Mix/ 70	Mix/400
H2O Merck	qsp 5 $\mu\text{l}$	4,5	315	1800
Tampon 10X	1X	1	70	400
MgCl <sub>2</sub> 50 mM	2 mM	0,1	7	40
dNTP 2.5 mM	200 $\mu\text{M}$	0,8	56	320
Amorce R* 2 $\mu\text{M}$	0.2 $\mu\text{M}$	0,2	20	80
Amorce F 100 $\mu\text{M}$	0.2 $\mu\text{M}$	0,025	2	10
Taq 2 U/ $\mu\text{l}$	0,75 U	0,375	26	150
<b>TOTAL</b>		<b>7</b>	<b>496</b>	<b>2800</b>

3. Répartir 7  $\mu$ l du mix à la pipette automatique dans chaque puits.
4. Déposer 1 goutte d'huile minérale par puits et recouvrir d'un film plastique.
5. Mettre la plaque dans un thermo-cycler (PTC-100<sup>TM</sup> MJ Research, INC) et lancer l'amplification (programme PCR d'hybridation fixe 51°C).

### *C. Migration et révélation des fragments d'ADN amplifiés par PCR*

#### **1. Préparation des plaques de verre**

Nettoyer la face des plaques en contact avec le gel avec de l'acétone, puis avec une solution de repel-silane (annexe 9) et laisser sécher. Le repel-silane empêche le gel d'adhérer aux plaques de verre lors de son démoulage.

#### **2. Montage**

Sur un support, monter les plaques l'une sur l'autre, à l'horizontale, celle à oreilles au-dessus, en insérant entre les deux espaceurs de 0.4 mm d'épaisseur.

Disposer 6 pinces métalliques pour rendre hermétique le montage sur les côtés puis faire le niveau à l'aide d'un niveau à bulle.

Surélever le haut de l'ensemble afin de couler le gel.

#### **3. Coulage du gel**

Travailler avec des lunettes de protection.

Dans un bécher avec agitateur, verser (pour un gel d'acrylamide) :

- 60 ml d'acrylamide à 5 % (annexe 9),
- ajouter sous agitation 249  $\mu$ l APS (persulfate d'ammonium)
- puis 83  $\mu$ l de TEMED (N-tetramethylenediamine).

Ces 2 produits permettent la polymérisation du gel.

Couler la solution de polyacrylamide au niveau de l'encoche du haut des plaques, en maintenant un débit constant et homogène. Eviter les bulles !!!

Quand le polyacrylamide arrive à l'extrémité des plaques de verre, reposer les à plat et insérer le peigne à une dent dans l'encoche (faire attention aux projections).

Ne pas essuyer les gouttes, et laisser polymériser 3 h.

Si les gels sont coulés la veille, colmater l'extrémité libre avec du film alimentaire cellophane SARAN afin d'éviter le dessèchement et la rétractation du gel.



#### **4. Installation du gel dans la cuve à électrophorèse**

(On peut monter 2 plaques dans les cuves à électrophorèse verticales)

Disposer les plaques de telle sorte que le peigne se trouve vers l'intérieur de la cuve, les maintenir grâce à 2 pinces plastique de chaque côté (à même hauteur dans les 2 cuves), et les bloquer dans la partie supérieure avec une barre de serrage.

Remplir les cuves du bas et du haut avec du tampon TBE 1X (500 ml TBE 10X + H<sub>2</sub>O bi-distillée qsp 5 litres).

Enlever le peigne à une dent doucement en faisant levier avec une spatule.

Nettoyer consciencieusement le front du gel à la seringue remplie de TBE pour chasser les bulles et l'urée résiduelle.

Insérer doucement un peigne à 62 dents de façon à ce que les dents rentrent à peine dans le gel (entre 0.5 et 1mm).

#### **5. Pré-run**

Relier les électrodes de la cuve à un générateur.

Régler le voltage à 120 V pour 2 gels (60 pour un gel).

Les gels sont chauffés au minimum 20 minutes.

#### **6. Dénaturation et dépôt des échantillons**

Déposer par puits avec une pipette multicanaux, un volume de bleu formamide (annexe 9) égal au volume réactionnel de la PCR (soit 10 µl) et homogénéiser. Le bleu formamide permet de visualiser le front de migration et de garder l'ADN en conditions dénaturantes.

Les produits PCR sont mis à dénaturer dans le thermo-cycler (PTC-100™ MJ Research, INC) 3 min à 95°C puis à 72°C le temps des dépôts.

Nettoyer les puits à la seringue pour chasser les bulles d'air et l'urée qui gênent la migration de l'ADN.

Déposer 5 µl de produit PCR par puits en calant l'embout contre la plaque de verre.

Déposer 5 µl de ladder\* 30-330 pb aux deux extrémités du gel.

#### **7. Migration**

Mettre en route le générateur comme pour le pré-run (120 V pour 2 gels, 60 V pour un gel).

La durée de migration dépend de la taille du microsatellite (100-330pb), il faut environ 2 h de migration pour un microsatellite de 200pb.

(le bleu formamide permet de visualiser le front de migration des produits PCR : la bande bleu claire se situe à 30 pb et la bande bleu foncée à 130pb).

### **8. Démoulage du gel**

Libérer le jeu de plaques et le mettre à plat sur du papier absorbant.

Oter précautionneusement le peigne, puis les espaceurs.

Démouler doucement les 2 plaques en faisant levier avec une spatule, le gel reste collé à une des plaques de verre.

Apposer sur le gel un papier Wathman (33cm X 42cm) sur lequel est indiqué le nom des amorces, le sens des dépôts et la date.

Une fois le gel collé au papier, le recouvrir de papier Cellophane SARAN.

Faire sécher le gel à 80 °C sous vide pendant 15-20 minutes environ.

Tester à l'aide d'une soude bêta-mou, le niveau de radioactivité et la position du microsatellite sur le gel.

Nettoyer les plaques, les peignes, les espaceurs avec du NaOH 0,4 N à l'aide d'une éponge, rincer abondamment sous le robinet, rincer avec de l'eau déminéralisée et essuyer soigneusement la plaque.

### **9. Mise en cassette et révélation des films autoradiographiques**

En chambre noire, identifier au marqueur indélébile un film autoradiographique LifeRay XDA (30X40cm) avec le nom des amorces, la date et le sens des dépôts.

Une fois sec, le gel est mis en contact avec le film annoté dans une cassette hermétique à l'air et à la lumière.

Laisser le film impressionner durant 48 h minimum.

La révélation en chambre noire est réalisée en trempant le film successivement dans un bain de nitrate d'argent quelques secondes à quelques minutes selon le niveau de radioactivité, dans un premier bain de rinçage (eau), puis dans un bain de fixation quelques minutes et pour finir dans un deuxième bain de rinçage (à l'eau).

Les films sont mis alors à sécher à l'air ambiant.

- Marquage du ladder :

Réactifs	V $\mu$ l/r
Ladder 30-330 bp	4 $\mu$ l
Tampon B 10x	1 $\mu$ l
PEG 600	2 $\mu$ l
$\gamma^{33}$ P-ATP	2 $\mu$ l
T4 Kinase (10U/ $\mu$ l)	2 $\mu$ l
Incuber 10 min à 37°C	
Arrêt de la réaction :	
TE	11 $\mu$ l
Bleu formamide	100 $\mu$ l
Incuber 5 min à 70°C	

Voir l'annexe 9 pour la composition des réactifs.

**IMPORTANT : TOUTES LES MANIPULATIONS AVEC DES PRODUITS OU SOLUTIONS RADIOACTIVES SE FONT DERRIÈRE UN ECRAN DE PLEXIGLAS.**

## ANNEXE 9 : Composition des tampons et des solutions.

### Marquage de l'amorce

#### Tampon kinase A 10X (FERMENTAS)

Tris-HCl pH 7,6	500 mM
MgCl <sub>2</sub>	100 mM
DTT	50 mM
Spermidine	1 mM
EDTA	1 mM

### Marquage du ladder

#### Tampon kinase B 10X (FERMENTAS)

Imidazole-HCl pH 6,4	0.5 mM
MgCl <sub>2</sub>	0.18 mM
DTT	50 mM
Spermidine	1 mM
EDTA	1 mM
ADP	1 mM

### TA polynucléotide kinase

#### (FERMENTAS) 10 U/μl

Tris-HCl pH 7,5	20 mM
KCl	25 mM
EDTA	0.1 mM
DTT	2 mM
Glycérol	50%

### Amplification PCR

#### Tampon PCR 10X

Tris-HCl pH 8,3	100 mM
KCl	500 mM
MgCl <sub>2</sub>	15 mM
Glycérol	0.01%

### Migration des fragments amplifiés

#### TBE 10X

Tris	1M
Acide Borique	0.9 M
EDTA	0.01M

### Repel-Silane

Diméthylchlorosilane	5%
Trichloro 1-1 éthane	95%

### Acrylamide 5 %

Acrylamide EUROBIO 40 %	500 ml
TBE 10X	400 ml
Urée	1812 g
H <sub>2</sub> O bidistillée	q.s.p 4L

### Bleu formamide 1X

Saccharose	125 g
Bleu de xylène cyanol	0.5 g
Bleu de bromophénol	0.5 g
Formamide pure déionisée	q.s.p 1L
NaOH	10 mM

**ANNEXE 10 : Variétés de la collection de Guadeloupe dont l'identité n'a pas été confirmée par comparaison avec des variétés floridiennes de référence.**

N° actif	Espèce	Variété	Synonyme ou doute après observation sur le terrain	Résultats après analyses SSR
GUA-004	<i>M. indica</i>	Alphonse		≠ Alphonse de Floride
GUA-017	<i>M. indica</i>	Beverly		≠ Beverly de Floride
GUA-025	<i>M. indica</i>	Carabao	Anciennement appelé Haden Carabao	≠ Carabao de Floride
GUA-037	<i>M. indica</i>	Early Gold	Problème d'identité	≠ Early Gold de Floride
GUA-038	<i>M. indica</i>	Edward		≠ Edward de Floride
GUA-082	<i>M. indica</i>	Mulgo round	= Mulgoba?	≠ Mulgoba de Floride
GUA-086	<i>M. indica</i>	Osteen	doute	≠ Osteen de Floride
GUA-107	<i>M. indica</i>	Sensation T5	Problème de coloration	≠ Sensation de Floride
GUA-122	<b>M. laurina</b>			≠ <i>M. laurina</i> de Floride

**ANNEXE 11 : Identification des cultivars de la collection de Guadeloupe par comparaison avec les 35 variétés floridiennes de référence et mise en évidence de doublons.**

N° actif	Variété	Synonyme ou doute après observation sur le terrain	Comparaison avec les variétés floridiennes	Nom conservé au sein de la collection
GUA-008	Ameeri		="Ameeri" de Floride	<b>Ameeri</b>
GUA-026	Carrie		="Carrie" de Floride	<b>Carrie</b>
GUA-037	Early Gold	Problème d'identité	="Cogshall" de Floride	<b>Cogshali</b>
GUA-063	Julie collection	# de Julie Antilles	="Julie" de Floride	<b>Julie</b>
GUA-121	Zill		="Zill" de Floride	<b>Zill</b>
GUA-068	Kent	Problème de coloration	="Kent" de Floride	<b>Kent</b>
GUA-021	Brooks		="Brooks" de Floride	<b>Brooks</b>
GUA-066	Keitt		="Keitt" de Floride	<b>Keitt</b>
GUA-088	Palmer		="Palmer" de Floride	<b>Palmer</b>
GUA-047	Florigon		="Florigon" de Floride	<b>Florigon</b>
GUA-093	Petit Greew		="Pettigrew" de Floride	<b>Pettigrew</b>
GUA-114	Tolbert	Synonyme Torbet ?	="Torbet" de Floride	<b>Torbet</b>
GUA-110	Springfels		="Springfels" de Floride	<b>Springfels</b>
GUA-101	Ruby		="Ruby" de Floride	<b>Ruby</b>
GUA-054	Glenn		="Glenn" de Floride	<b>Glenn</b>
GUA-061	Irwin		="Irwin" de Floride	<b>Irwin</b>
GUA-116 GUA-117	Valencia Valencia Pride		="Valencia Pride" de Floride	<b>Valencia Pride</b>
GUA-106	Sandersha	Ancienne orthographe Sandeshi	="Sandersha" de Floride	<b>Sandersha</b>
GUA-115	Tommy Atkins		="Tommy Atkins" de Floride	<b>Tommy Atkins</b>
GUA-001 GUA-070	9-C Lippens	Problème de coloration	="Lippens" de Floride	<b>Lippens</b>
GUA-007 GUA-020 GUA-035 GUA-092 GUA-095 GUA-105 GUA-087	Alphonse Paheri Bombay Green Djibelor Casamance Peter Passand Pirie Sacabi Paheri	= Paheri ? Ressemble à Paheri, Alphonse Paheri, Peter Passand, Pirie, Sacabi Ressemble à Alphonse Paheri, Paheri, Pirie, Sacabi, Djibelor Casamance Ressemble à Alphonse Paheri, Paheri, Sacabi, Djibelor Casamance Ressemble à Alphonse Paheri, Paheri, Pirie, Djibelor Casamance Ressemble à Alphonse Paheri, Peter Passand, Pirie, Sacabi, Djibelor Casamance	= "Bombay" et à "Paheri" de Floride	<b>Paheri</b>

GUA-014 GUA-067	Bombaroo Kensington		= "Kensington" de Floride	<b>Kensington</b>
GUA-015 GUA-016 GUA-032 GUA-034 GUA-049 GUA-091 GUA-059 GUA-079	Bedami Rouge Bedami Vert Davis Haden Dixon Francis Pêche Haden Maya	Ressemble à Haden     Ressemble à Dixon, Bedami, Davis Haden Ressemble à Haden	= "Haden" de Floride	<b>Haden</b>
GUA-002 GUA-056	Adams Gomera-3		x	<b>Adams</b>
GUA-009 GUA-060	Améliorée du Cameroun Ifac 1	= Hindibi=Améliorée du Cameroun	x	<b>Améliorée du Cameroun</b>
GUA-022 GUA-103	Camayenne Sabot	Ressemble à Sabot	x	<b>Sabot</b>
GUA-012 GUA-069 LIN-M GUA-075	Auguste Linzolo Linzolo Mali Malembe	Ressemble à Linzolo et malembe Ressemble à Auguste, Linzolo Mali et Malembe Ressemble à Linzolo Auguste et Malembe Ressemble à Linzolo et Auguste	x	<b>Linzolo</b>
GUA-084 GUA-098	Nimrod Rachel		x	<b>Nimrod</b>
GUA-004 GUA-005	Alphonse Alphonse de Goa		x	<b>Alphonse de Goa</b>
GUA-085 GUA-102	Odette Saber	Ressemble à Saber Ressemble à Odette	x	<b>?</b>
GUA-099 GUA-072	Romania Mabroka		x	<b>Mabroka</b>
GUA-041 GUA-043	Egypte C Egypte F		x	<b>?</b>
GUA-017 GUA-053	Beverly Glazier	Problème d'identité avec Beverly	x	<b>Glazier</b>
GUA-108 GUA-109	Smith Soudan 2		x	<b>Smith</b>
GUA-081 GUA-028	Miami Late Cogshall	Ressemble à Haden Ancienne orthographe Coq's Hall (=Miami Late)	x	<b>Miami Late</b>

GUA-010	Amélie			
GUA-065	Julie Lataha	N'est pas une Julie	x	<b>Amélie</b>
GUA-078	Martin	# de Martin de Floride		
GUA-038	Edward	# de Edward de Floride	x	?
GUA-050	Gabriel			
GUA-018	Black		x	<b>Gabriel</b>
GUA-055	Gomera-2	Ressemble à Gomera-A		
GUA-057	Gomera-A	Ressemble à Gomera-2	x	?
GUA-058	Grosse rouge			
GUA-119	Whitney			
GUA-120	Wooten		x	<b>Whitney</b>
GUA-094	Philippino	= Philippine ?		
GUA-104	Sabre	Mangot local de Korhogo	x	<b>Sabre</b>



**ANNEXE 12 : Liste des doublons au sein des variétés prospectées aux Antilles et à la Réunion**

N° actif	Variété	Provenance	Accession conservée pour les analyses
FLO-061 GUA-061 MA 320	Irwin Irwin Reynal	collection de Floride collection de Guadeloupe Martinique	Irwin GUA-051
FLO-017 MA 213	Beverly Beverly n°2	collection de Floride Basse Terre	Beverly FLO-017
FLO-063 GUA-063 MA 189 MA 200 MA 208 MA 307	Julie Julie collection Mangue Julie Mangue Julie Mangue Julie Mangue Julie	collection de Floride collection de Guadeloupe Basse Terre Martinique	Julie collection GUA-063
GUA-031 MA 009	D'or Mango ananas	collection de Guadeloupe ?	D'or GUA-031
GUA-033 MA 326 MA 190 MA 182	Divine Divin Mangotine Mangue divine	collection de Guadeloupe Martinique Basse Terre	Divine GUA-033
GUA-090 MA 217	Passy Hâtive Florigon n°2	collection de Guadeloupe Basse Terre	Passy Hâtive GUA-090
GUA 037 RE 002 RE 016 FLO 028	Early Gold Early Gold Lirfa=Early Gold Cogshall	collection de Guadeloupe Réunion Réunion collection de Floride	Cogshall FLO-028
GUA-076 MA 244	Mangot vert Mangue cv inconnue	collection de Guadeloupe Marie Galante	Mangot vert GUA076
GUA-010 GUA-065 MA 317	Amélie Julie Lataha Yoo	collection de Guadeloupe Martinique	Amélie GUA-010
FLO-019 GUA-007 GUA-020 MA 215 GUA-035 GUA-092	Bombay Alphonse Paheri Bombay Green Djibelor Djibelor Casamance Peter Passand	collection de Floride collection de Guadeloupe Basse Terre collection de Guadeloupe	Paheri GUA-087

GUA-095	Pirie		
GUA-105	Sacabi		
<b>FLO-087</b>	<b>Paheri</b>	collection de Floride	
GUA-087	Paheri	collection de Guadeloupe	
GUA-015	Bedami rouge		
GUA-016	Bedami vert		
GUA-032	Davis Haden	collection de Guadeloupe	
GUA-034	Dixon		
GUA-049	Francis		
<b>MA 321</b>	<b>Francis</b>	Martinique	<b>Haden GUA-059</b>
GUA-091	Pêche	collection de Guadeloupe	
<b>FLO-059</b>	<b>Haden</b>	collection de Floride	
GUA-059	Haden	collection de Guadeloupe	
GUA-079	Maya		
<b>MA 223</b>	<b>Mangue reine amélie</b>	<b>Basse Terre</b>	<b>Mangue reine amélie MA 223</b>
<b>MA 224</b>	<b>La pointe shell</b>		
<b>RE-009</b>	<b>José</b>		
<b>RE-013</b>	<b>José</b>	<b>Réunion</b>	<b>José RE-009</b>
<b>RE-004</b>	<b>José (russetée)</b>		
<b>RE-003</b>	<b>Petite José</b>		
<b>RE-007</b>	<b>Auguste</b>	<b>Réunion</b>	<b>Auguste RE-007</b>
<b>MA 008</b>	<b>Coco bourrique</b>		
<b>MA 325</b>	<b>Cv inconnue</b>	<b>Martinique</b>	
<b>MA 198</b>	<b>Mangue cv inconnue</b>	<b>Basse Terre</b>	<b>Mangue chérie MA 218</b>
<b>MA 218</b>	<b>Mangue chérie</b>		
<b>MA 166</b>	<b>Mangue fil</b>	<b>Basse Terre</b>	<b>Mangue fil MA 166</b>
<b>MA 185</b>	<b>Mangue fil 9</b>		
<b>MA 240</b>	<b>Mangue fil</b>	<b>Marie Galante</b>	
<b>MA 160</b>	<b>Manguotine</b>	<b>Basse Terre</b>	<b>Manguotine MA 160</b>
<b>MA 172</b>	<b>Mangue fil 4</b>		
<b>MA 169</b>	<b>Mangue fil 1</b>	<b>Basse Terre</b>	<b>Mangue fil 1 MA 169</b>
<b>MA 171</b>	<b>Mangue fil 3</b>		
<b>MA 167</b>	<b>Mangue bœuf</b>	<b>Basse Terre</b>	<b>Mangue zécodinde MA 202</b>
<b>MA 202</b>	<b>Mangue zécodinde</b>		
<b>MA 177</b>	<b>Mangue cocotte</b>	<b>Basse Terre</b>	<b>Mangue cocotte MA 177</b>
<b>MA 233</b>	<b>Mangue fil</b>		
<b>MA 235</b>	<b>Mangue cv inconnue</b>	<b>Désirade</b>	
<b>MA 209</b>	<b>Mangue pomme</b>	<b>Basse Terre</b>	<b>Mangue pomme MA 209</b>
<b>MA 246</b>	<b>Mangue pomme</b>	<b>Marie Galante</b>	
<b>MA 201</b>	<b>Mangue Lamitié</b>	<b>Basse Terre</b>	<b>Mangue Lamitié MA 201</b>
<b>MA 205</b>	<b>Mangue zécodinde</b>		
<b>MA 313</b>	<b>Mangue Zéfirine</b>	<b>Martinique</b>	<b>Mangue Zéfirine MA 313</b>
<b>MA 329</b>	<b>Mangue Zo</b>		

MA 178	Mangue bœuf	Basse Terre	<b>Mangue bœuf MA 178</b>
MA 241	Mangue greffé	Marie Galante	
MA 319	Rancay	Martinique	<b>Rancay MA 319</b>
MA 327	Cv inconnue		
MA 181	Mango rond	Basse Terre	<b>Mango rond MA 181</b>
MA 204	Mangue "pomme" jaune		
MA 237	Mangue pomme		
MA 180	Mangue mamin	Basse Terre	<b>Mangue mamin MA 180</b>
MA 219	Mangue cœur		
MA 194	Mangue cv inconnue		
MA 323	Moussache modeste	Martinique	<b>Moussache modeste MA 323</b>
MA 322	Moussache Scholastique		
MA 300	Mango Bassignac	Martinique	<b>Mango Bassignac MA 300</b>
MA 306	Mango Bassignac		

**ANNEXE 13 : Liste finale des 207 accessions réparties par groupes pour les analyses de diversité et pour le calcul des fréquences alléliques.**

Variété	N°actif	Origine	Graine	Données bibliographiques sur les ascendances et origines		
Alphonse de Goa	GUA-005	Mali	SUD EST ASIATIQUE (groupe 1)			
Améliorée du Cameroun	GUA-009	Côte d'Ivoire				
Carabao	FLO-025	USDA				
Carabao	GUA-025	Mali				
Florigon	GUA-047	Canaries/ Cameroun				
Gedong	GUA-052	Mali				
Harumanis	MA 214	Basse Terre				
Kensington	GUA-067	Mali				
Manila	FLO-man	USDA				
Mechouang	GUA-080	Guinée				
Nam Doc Mai	GUA-083	Australie				
Taymour	GUA-113	Canaries				
<i>M. applanata</i>	GUA-123	Indonésie			Groupe de la base externe de la collection	
<i>M. laurina</i>	FLO-122	Indonésie				
<i>M. laurina</i>	GUA-122	Indonésie				
Alphonse	FLO-004	FBG	INDE-AFRIQUE (groupe 2)			
Bombay	GUA-019	FBG				
Egypte A	GUA-039	Côte d'Ivoire				
Egypte B	GUA-040	Côte d'Ivoire				
Egypte C	GUA-041	Côte d'Ivoire				
Egypte D	GUA-042	Côte d'Ivoire				
Mabroka	GUA-072	Cameroun				
Mabrouk	GUA-073	Côte d'Ivoire				
Mulgoba	FLO-082	FBG				
Paheri	GUA-087	Guinée				
Sandersha	GUA-106	Trinidad				
Aeromanis	GUA-003	Mali			FLORIDE (groupe 3)	origine Zill
Beverly n°2	MA-213	Basse Terre				
Brooks	GUA-021	Côte d'Ivoire	Origine inconnue (Floride)			
Cogshall	FLO-028	FGB				
Crazou	GUA-029	Mali				
Davis Haden n°2	MA 212	Basse Terre				
Early Gold	FLO-037	USDA	Origine inconnue (Floride)			
Edward	FLO-038	FBG	Haden X Carabao? (Floride)			
Eldon	GUA-044	Côte d'Ivoire	Origine inconnue			
Fascell	GUA-046	Mali	Haden X Brooks ? (Floride)			
Glazier	GUA-053	Mali				
Glenn	GUA-054	Canaries	graine de Haden (Floride)			
Haden	GUA-059	Côte d'Ivoire	graine de Mulgoba (variété introduite d'Inde en Floride en 1889)			
Irwin	GUA-061	Côte d'Ivoire	graine de Lippens fils de Haden			
Jacqueline	GUA-062	Mali				
Keitt	GUA-066	FBG	graine de Mulgoba (Floride, 1939)			
Kent	GUA-068	Côte d'Ivoire	graine de Brooks (Floride)			

Lippens	GUA-070	Côte d'Ivoire	FLORIDE (groupe 3)	graine de Haden (Floride)
Miami Late	GUA-081	Côte d'Ivoire		
Nimrod	GUA-084	Mali		Graine de Maya fils de Haden
Osteen	FLO-086	FBG		graine de Haden (Floride)
Osteen	GUA-086	Canaries/ Cameroun		
Palmer	GUA-088	Côte d'Ivoire		origine inconnue (Floride, 1925)
Petit Greew	GUA-093	Guinée		Origine inconnue (Floride)
Pope	GUA-096	Canaries		
Ruby	GUA-101	Côte d'Ivoire		Origine inconnue (Floride)
Sensation	FLO-107	FBG		Origine inconnue (Floride)
Smith	GUA-108	Côte d'Ivoire		Floride
Springfels	GUA-110	Côte d'Ivoire		Graine de Haden (Floride)
Tommy Atkins	GUA-115	Mali		
Torbet	FLO-114	FBG		introduction du Honduras en Floride
Valencia Pride	GUA-117	Canaries	graine de Haden (Floride)	
Van Dyke	GUA-118	Canaries/ Cameroun	Origine inconnue (Floride)	
Zill	GUA-121	Côte d'Ivoire	graine de Haden (Floride)	
Adams	GUA-002	Canaries/ Cameroun	ANTILLES / AMERIQUE du SUD / TRINIDAD (groupe 4)	
Adams	GUA-002	Canaries/ Cameroun		
Alphonse Hawai	GUA-006	Cameroun		
Azucar	GUA-013	Colombie		
Cambodiana	GUA-023			introduction récente
Candaha	GUA-024	Trinidad		
Chancloto	GUA-027	Colombie		
Cv inconnue	MA 303	Martinique		
Dican	MA 316	Martinique		
Doux Doux	GUA-036	Trinidad		
Fairchild	FLO-fair	FBG		introduction originale de Panama en Floride
Gabriel	GUA-050	Côte d'Ivoire		
Gomera-2	GUA-055	Canaries/ Cameroun		
Grin d'chien	MA 332	Martinique		
Dican	MA 316	Martinique		
Doux Doux	GUA-036	Trinidad		
Fairchild	FLO-fair	FBG	introduction originale de Panama en Floride	
Gabriel	GUA-050	Côte d'Ivoire		
Gomera-2	GUA-055	Canaries/ Cameroun		
Grin d'chien	MA 332	Martinique		
Man	MA 216	Basse Terre		
Mango à la rose	MA 301	Martinique		
Mango Bassignac	MA 300	Martinique		
Mango Camphre	MA 311	Martinique		
Mango Carotte	MA 304	Martinique		
Mangue coco boeuf	MA 314	Martinique		
Mango cocotte	MA 177	Basse Terre		
Mango dio	MA 315	Martinique		
Mango d'O	MA 183	Basse Terre		
Mango Gery	MA 328	Martinique		

Mango Méran	MA 330	Martinique
Mango moussache	MA 310	Martinique
Mango rond	MA 181	Basse Terre
Mango rond	MA 312	Martinique
Mango tin	MA 309	Martinique
Mango vert	MA 308	Martinique
Mango Zéfirine	MA 313	Martinique
Mangot Vert	GUA-076	Mali
Mangotine	GUA-077	Mali
Mangotine	MA 229	Basse Terre
Mangotine	MA 249	Marie Galante
Mangue "rosé"	MA 232	Basse Terre
Mangue blanche	MA 227	Basse Terre
Mangue bœuf	MA 178	Basse Terre
Mangue bœuf	MA 220	Basse Terre
Mangue brévin	MA 238	Grande Terre
Mangue christophe	MA 239	Marie Galante
Mangue coco clair	MA 163	Basse Terre
Mangue coco clair	MA 234	Désirade
Mangue cv inconnue	MA 161	Basse Terre
Mangue cv inconnue	MA 186	Basse Terre
Mangue cv inconnue	MA 191	Basse Terre
Mangue cv inconnue	MA 210	Basse Terre
Mangue cv inconnue	MA 247	Marie Galante
Mangue cv inconnue	MA 250	Marie Galante
Mangue cv inconnue	MA 196	Basse Terre
Mangue cv inconnue Mamain?	MA 195	Basse Terre
Mangue demoiselle	MA 199	Basse Terre
Mangue Fal rose	MA 162	Basse Terre
Mangue farine	MA 207	Basse Terre
Mangue fil	MA 166	Basse Terre
Mangue fil	MA 211	Basse Terre
Mangue fil 1	MA 169	Basse Terre
Mangue fil 2	MA 170	Basse Terre
Mangue fil 5	MA 173	Basse Terre
Mangue fil 6	MA 174	Basse Terre
Mangue fil 7	MA 175	Basse Terre
Mangue fil 8	MA 176	Basse Terre
Mangue fil 9	MA 185	Basse Terre
Mangue Lamitié	MA 159	Basse Terre
Mangue Lamitié	MA 201	Basse Terre
Mangue madame	MA 248	Marie Galante
Mangue mamain	MA 206	Basse Terre
Mangue mamelle	MA 165	Basse Terre
Mangue mamin	MA 180	Basse Terre
Mangue Marie Jeanne	MA 224	Basse Terre
Mangue miel	MA 245	Marie Galante
Mangue moussache	MA 226	Basse Terre
Mangue muscat	MA 230	Basse Terre

ANTILLES /  
AMERIQUE du SUD /  
TRINIDAD (groupe 4)

Mangue muscat ou moussache	MA 225	Basse Terre	
Mangue pain	MA 197	Basse Terre	
Mangue pomme	MA 187	Basse Terre	
Mangue pomme	MA 203	Basse Terre	
Mangue pomme	MA 209	Basse Terre	
Mangue pomme	MA 236	Désirade	
Mangue reine amélie	MA 184	Basse Terre	
Mangue ronde	MA 242	Marie Galante	
Mangue rose	MA 168	Basse Terre	
Mangue rose	MA 231	Basse Terre	
Mangue siguine	MA 222	Basse Terre	
Mangue sur au fond	MA 164	Basse Terre	
Mangue thérébenthine	MA 228	Basse Terre	
Mangue thérébenthine	MA 243	Marie Galante	
Mangue zécodinde	MA 167	Basse Terre	
Mangue zécodinde	MA 179	Basse Terre	
Manguotine	MA 160	Basse Terre	
Moussache Scholastique	MA 322	Martinique	
Mulgo Round	GUA-082	Guinée	
Odette	GUA-085	Mali	
Passy Hâtive	GUA-090	Mauritanie/ Cameroun	
Rancay	MA 319	Martinique	
Rose	GUA-100	Trinidad	
Saber	GUA-102		
Sabre	GUA-104	Côte d'Ivoire	
Sensation T5	GUA-107	Côte d'Ivoire	
Starch	GUA-111	Trinidad	
Ti mangue	MA 302	Martinique	
Whitney	GUA-119	Cameroun	
Amélie	GUA-010	Côte d'Ivoire	
Amélie Guinée	GUA-011	Mali	
Auguste	RE-007	Réunion	
Auguste Rouge	RE-014	Réunion	
Caro	RE-015	Réunion	
Carotte	RE-001	Réunion	
Carrie	GUA-026	Cameroun	
Cécile	RE-018	Réunion	
Cv inconnue	MA 303	Martinique	
Cyleon	GUA-030	Trinidad	
Delphine	RE-017	Réunion	
Divine	GUA-033	Côte d'Ivoire	
D'or	GUA-031	Mali	
Eldon ferké	GUA-045	Côte d'Ivoire	
Fraissinette	GUA-048	Côte d'Ivoire	
Galerie	GUA-051	Guinée	
Grosse José ou Josée Royale	RE-011	Réunion	
Inconnue = X	RE-012	Réunion	
José	RE-009	Réunion	
José rouge	RE-010	Réunion	
Julie Antilles	GUA-064	Antilles	
			<b>ANTILLES / AMERIQUE du SUD / TRINIDAD (groupe 4)</b>
			<b>REUNION / ANTILLES (groupe 5)</b>
			graine de Julie (Floride)

Julie collection	GUA-063	Antilles
Léonard	RE-006	Réunion
Linzolo	GUA-069	Mali
Lise	RE-005	Réunion
Longo Diego	GUA-071	Mali
Maison rouge	GUA-074	Réunion
Mango Sezar	MA 305	Martinique
Mangue "Sabot"	MA 188	Basse Terre
Mangue ananas	MA 198	Basse Terre
Mangue beurre	MA 221	Basse Terre
Mangue cv inconnue	MA 192	Basse Terre
Mangue cv inconnue	MA 193	Basse Terre
Mangue reine amélie	MA 223	Basse Terre
Manguo sirette ou huile	MA 331	Martinique
Prade	RE-008	Réunion
Sabot	GUA-103	Mali
Saucisse	RE-019	Réunion
Sybil	GUA-112	Mali
Violette	RE-020	Réunion



## LISTE DES TABLEAUX

**Tableau 1** : Echantillon de diversité constitué de 17 accessions.

**Tableau 2** : Description des séquences microsatellites utilisées.

**Tableau 3** : Tests de polymorphisme par incorporation d'( $\alpha$ - $^{33}\text{P}$ ) dCTP.

**Tableau 4** : Liste des 23 marqueurs analysés en  $\gamma$ - $^{33}\text{P}$  -ATP.

**Tableau 5** : Taux d'hétérozygotie calculés par le logiciel GENETIX pour les 6 groupes sur les 20 marqueurs.

## LISTE DES FIGURES

**Figure 1 :** Distribution des espèces du genre *Mangifera*.

**Figure 2 :** Classification du sous-genre *Mangifera* selon Kostermans et Bompard.

**Figure 3 :** Zone d'origine de *Mangifera indica* : région frontalière entre l'Inde (Assam), le Bangladesh et le Myanmar.

**Figure 4 :** Distribution de *Mangifera indica*.

**Figure 5 :** Diversité des formes des mangues indienne (variété Sandersha) et asiatique (variété Nam Doc Mai).

**Figure 6 :** Historique de la diffusion des manguiers.

**Figure 7 :** Arbre adulte de l'espèce *Mangifera indica*.

**Figure 8 :** Les deux types de fleurs de manguiers : mâle et hermaphrodite.

**Figure 9 :** Panicules floraux de *Mangifera indica*.

**Figure 10 :** Détail des fruits de différentes variétés (Kent, Julie, Philippino).

**Figure 11 :** Pollinisation des fleurs de manguiers par des mouches.

**Figure 12 :** Graine polyembryonnée (variété Kensington) et monoembryonnée (variété Sensation).

**Figure 13 :** Coupe longitudinale d'un ovule de mangue de type polyembryonné.

**Figure 14 :** Taches d'antracnose sur la variété Ruby.

**Figure 15 :** Diversité des formes de fruit observée dans la collection de Vieux-Habitants (variétés Chancléto et Mangotine).

**Figure 16 :** Vérification et quantification des ADN extraits sur gel d'agarose à 0.8%.

**Figure 17 :** Définition du couple d'amorces mMiCIR006R-mMiCIR0006F par le logiciel « PRIMER 3 ».

**Figure 18 :** Amplification par PCR froide sur gel d'agarose à 1.5% avec le programme Touch Down (56 à 51°C) pour les 7 nouveaux couples mMiCIR030 à mMiCIR036.

**Figure 19 :** Exemple de profil d'amplification microsatellite interprétable en allèle : cas de couples mMiCIR018 et mMiCIR022.

**Figure 20 et 21** : Représentation arborée sur les 307 accessions, mettant en évidence la présence de doublons au sein de la collection et au sein des prospections.

**Figure 22** : Représentation de la diversité des manguiers (207 accessions) construite par la méthode du Neighbor Joining.

**Figure 23** : Fréquences alléliques calculées pour le marqueur CIR003.

**Figure 24** : Fréquences alléliques calculées pour le marqueur CIR014.

**Figure 25** : Fréquences alléliques calculées pour le marqueur CIR008.

**Figure 26** : Fréquences alléliques calculées pour le marqueur CIR001.

**Figure 27** : Fréquences alléliques calculées pour le marqueur CIR014.

**Figure 28** : Fréquences alléliques calculées pour le marqueur CIR016.

**Figure 29** : Comparaison de la variété africaine Améliorée du Cameroun avec la variété asiatique Nam Doc Mai.