

2M11.2706.5

Université de Montréal

**Détermination de l'origine des populations
québécoises d'*Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv.
à l'aide de marqueurs RAPD et de séquences d'ADN.**

par

Sophie Roy

**Département de sciences biologiques
Faculté des arts et sciences**

**Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de
Maître ès sciences (M. Sc.)
en sciences biologiques**

Mai 1999

© Sophie Roy, 1999



2. 001.1111

QH

302

U54

1999

V.007

L'Université de Montréal

Département de l'origine des populations

québécoises d'origine irlandaise (I., H., F., G., E., I., J., K., L., M., N., O., P., Q., R., S., T., U., V., W., X., Y., Z.)

à l'aide de marqueurs HLA et de séquences d'ADN

par

Stéphane Roy

Département de sciences biologiques

Faculté des arts et sciences

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures

en vue de l'obtention du grade de

Maîtrise en sciences (M.Sc.)

en sciences biologiques



1999
Stéphane Roy, 1999

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé:

Détermination de l'origine des populations
québécoises d'*Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv.
à l'aide de marqueurs RAPD et de séquences d'ADN.

présenté par
Sophie Roy

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes:

M. André Bouchard	: président-rapporteur
M. Jean-Pierre Simon	: directeur de recherche
M. François-Joseph Lapointe	: codirecteur de recherche
M. Pierre-Paul Harper	: membre du jury

Mémoire accepté le 18 juin 1999

*À Lise, Claude
et Carolyne*



«In folk usage, the word *weed* is used in a variety of ways, for example, for a useless, obnoxious, or ugly plant. Whether a plant is a weed in this sense depends entirely on who is looking at it.»

Jonathan D. Sauer (1988)

Sommaire



Cette étude tente de déterminer l'origine des populations du pied-de-coq (*Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv.) adaptées aux régions froides de l'Amérique du Nord à l'aide de techniques moléculaires telles que l'amplification aléatoire de fragments polymorphiques (RAPD) et les séquences d'un intron chloroplastique (*trnL* (UAA)) et d'un intron d'ADN ribosomal nucléaire (ITS 1).

L'intrusion d'*Echinochloa crus-galli* dans l'est canadien est relativement récente, compte tenu du retrait tardif des glaciers, il y a 10 000 ans, et par la suite, du défrichage des terres pour l'agriculture par les premiers colons il y a environ 400 ans, créant ainsi un milieu propice à l'implantation du pied-de-coq au Québec. Deux hypothèses sont retenues quant à l'origine d'*Echinochloa crus-galli* dans les régions froides de l'est du continent nord-américain. Selon la première hypothèse, les graines de cette plante auraient été introduites par inadvertance, par les premiers colons européens en étant mélangées à leurs semences de céréales ou encore en transportant les graines dans les ballasts de leurs navires. La seconde hypothèse implique une migration septentrionale de populations natives des régions tempérées chaudes et subtropicales du continent nord-américain après la perturbation des terres associée à l'implantation de cultures agricoles.

Les analyses statistiques ont été réalisées en combinant les matrices de distances génétiques calculées à partir des marqueurs RAPD et des séquences d'ADN. L'analyse en coordonnées principales établit une distinction claire entre les populations des trois régions géographiques (i.e., l'est canadien, la côte est américaine et l'Europe de l'ouest). De plus, l'analyse de variance moléculaire (AMOVA) détecte une structure génétique des populations ($F_{st} = 0.110$, $p < 0.05$). La comparaison des F_{st} appariés indique que les populations de l'Europe sont significativement différentes de toutes les autres, tandis que les populations nord-américaines ne sont pas statistiquement dissociables.

Les séquences combinées des introns révèlent huit haplotypes différents. Six populations sont caractérisées par des haplotypes distincts, tandis qu'un autre haplotype est présent dans trois des douze populations nord-américaines analysées. Un dernier haplotype est recensé dans plusieurs populations des trois aires géographiques. Toutes les analyses confirment la seconde hypothèse impliquant que les populations adaptées aux régions froides de l'est canadien sont reliées à des populations nord-américaines.

Table des matières

Page de titre	i
Identification du jury	ii
Dédicace	iii
Sommaire	v
Table des matières	vii
Liste des tableaux	ix
Liste des figures	x
Liste des sigles et abréviations	xii
Remerciements	xiv
 Introduction	
1.1 Introduction générale	2
1.2 Problématique de l'étude	4
1.2.1-Études sur l'adaptation et l'acclimatation aux basses températures des populations d' <i>Echinichloa crus-</i> <i>galli</i>	4
1.2.2-Études isoenzymatiques préalables	9
1.2.3-La technique RAPD	11
1.2.4-Analyses de séquences	13
1.2.4.1-Séquence nucléaire	14
1.2.4.2-Séquence chloroplastique	14
1.3 Écologie d' <i>Echinochloa crus-galli</i>	15

1.4 Physiologie d' <i>Echinochloa crus-galli</i>	18
1.5 Envoi	23

Determination of the origins of cold-adapted populations of barnyard grass (*Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv.) in North America: evidence from RAPD and DNA sequences

2.1 Introduction	26
2.2 Materials and methods	32
2.2.1-Material collection and DNA extraction	32
2.2.2-Amplification of RAPD markers	33
2.2.3-DNA sequencing	34
2.2.4-Data analysis	35
2.3 Results	38
2.4 Discussion	47
2.5 Conclusion.....	50
Conclusion.....	52
Références	55
Annexes	xvi

Liste des tableaux

Table I Geographic coordinates of the eighteen populations under study. Q: populations of Eastern Canada (Québec), A: populations of the American East coast, E; populations of Western Europe.	32
Table II Summary of RAPD results.	39
Table III Polymorphic positions of the combined ITS 1 and <i>trnL</i> (UAA) sequences, defining eight DNA haplotypes (Hap), and the number of populations sharing each haplotype (Freq)	40
Table IV Total-evidence distance matrix (D_T). Populations of Eastern Canada (Q), Eastern USA (A), and Western Europe (E)	44
Table V Pairwise F_{st} values among regions (upper right) with corresponding probabilities (lower left)	45

Liste des figures

- Figure 1** Port général d'un plant d'*Echinochloa crus-galli*. (Photo de J.-P. Simon)..... 5
- Figure 2** Photographie d'un gel typique d'une amplification RAPD..... 12
- Figure 3** Schéma d'une unité répétitive du gène ribosomal du noyau composée des trois sous unités de l'ADNr (18S, 5.8S et 26S), des introns ITS 1 et ITS 2 situés entre les sous unités et de l'espaceur de gène qui sépare chaque unité répétitive. Les flèches indiquent la position et la direction des amorces utilisées pour amplifier l'intron ITS 1. "ITS2": 5'GCTGCGTTCTTCATCGATGC3' et "ITS5": 5'GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG3' (White et al.1990)..... 14
- Figure 4** Positions et directions des amorces universelles utilisées pour amplifier l'intron *trnL* (UAA) de l'ADN chloroplastique. "c": 5'CGAAATCGGTAGACGCTACG3' et "d": 5'GGGGATAGAG-GGACTTGAAC3' (Taberlet 1991) 15

- Figure 5** Schéma illustrant les réactions enzymatiques du cycle photosynthétique de type C₄ sous-groupe NADP-ME. ① Anhydrase carbonique, ② Phosphoénolpyruvate carboxylase, ③ Déshydrogénase malique NADP⁺-dépendante, ④ Enzyme malique NADP-dépendante, ⑤ Pyruvate orthophosphate dikinase. CO₂: dioxyde de carbone; HCO₃⁻: bicarbonate; OAA oxaloacétate; PEP: phosphoénolpyruvate 21
- Figure 6** Schematic map presenting the location of the different populations along with the competing hypotheses about the origins of the cold-adapted populations of barnyard grass (*Echinochloa crus-galli*) in Québec..... 30
- Figure 7** Distribution of DNA haplotypes among eighteen populations of *Echinochloa crus-galli*..... 42
- Figure 8** Principal coordinate plot resulting from the analysis of the total-evidence distance matrix. The first three eigenvectors respectively represent 38.82%, 10.38% and 9.79% of the total variance. The populations from each region are joined in a convex polygons to illustrate their separation..... 46

Liste des sigles et abréviations

A1-6	Six populations de la côte est des États-Unis d'Amérique
ADN	Acide désoxyribonucléique
AMOVA	Analyse de variance moléculaire
Av. J.-C.	Avant Jésus-Christ
Beauv.	Beauvois (Palisot de)
B.C.	Before Christ
bp (bps)	Base pair
Bld	Boulevard
°C	Degrés Celsius
cm	Centimètre
cpDNA	Chloroplast DNA
CTAB	Hexadecyltrimethylammonium bromide
dNTP	Deoxynucleotide triphosphates
DNA	Desoxyribonucleic acid
EDTA	Acide éthylènediamide trétraacétique
E	Est ou East (géographique)
E1-6	Six populations de l'ouest de l'Europe
F_{st}	Coancestry coefficient
g	Unité de la force gravitationnelle
h	Heure
ITS	Internal Transcribed Spacer
ITS 1	Internal Transcribed Spacer 1
ITS 2	Internal Transcribed Spacer 2
km	Kilomètre
L.	Linné (Carl von)
M	Molaire
mg	Milligramme

min	Minute
μ l	Microlitre
ml	Millilitre
μ M	Micromolaire
N	Nord ou North (géographique)
NADP ⁺	Nicotiamide-adénine dinucléotide phosphate, forme oxydée
NADP-ME	Enzyme malique NADP-dépendante
ng	Nanogramme
nm	Nanomètre
nrDNA	Nuclear Ribosomal DNA
pb	Paires de bases
PCoA	Analyse en coordonnées principales
PCR	Polymerase Chain Reaction
PEPC	Phospho \acute{e} no \acute{e} lpyruvate carboxylase
pH	Potentiel d'hydrogène
Q1-6	Six populations de l'est du Canada (Québec)
RAPD	Random Amplified Polymorphic DNA
S	Sud ou South (géographique)
sec	Seconde
TAE	Tris-acetic acid-EDTA buffer
<i>Taq</i>	<i>Thermus aquaticus</i>
Tris-HCl	Hydroxyméthyl aminométhane
US, USA	United States of America
W	West (géographique)

Remerciements



Un projet de recherche ne s'effectue jamais seul. Sans l'encadrement et l'appui de plusieurs personnes, ce mémoire n'aurait jamais vu le jour. Le temps est maintenant venu de leur témoigner toute ma gratitude.

Je tiens particulièrement à remercier l'instigateur de cette étude, mon directeur de maîtrise, M. Jean-Pierre Simon. Son soutien moral, intellectuel et financier durant toutes ces années m'a été d'une très grande utilité lors de mes premiers pas dans le monde de la recherche. Je lui serai toujours reconnaissante de ne pas avoir hésité à m'accueillir dans son laboratoire et d'avoir conservé sa confiance en moi.

Une seconde personne très importante dans l'aboutissement de ce travail est M. François-Joseph Lapointe, mon codirecteur de recherche. Je le remercie pour sa patience et le temps qu'il a investi à me faire comprendre l'univers permutational! Je lui suis surtout redevable pour tous les petits à côté, comme les quelques verres de whisky et les "trash" partagés en sa présence...

Au fil des ans, ce qui agrmente la vie d'étudiant chercheur, ce sont les liens amicaux qui se créent entre les différents collègues de travail. Merci Jacinthe, pour ta bonne humeur permanente et tes nombreux mots d'encouragement qui, mine de rien, m'ont vraiment touchée. Merci Yves, pour ton répertoire de blagues sans fin et pour

m'avoir fait découvrir le bowling. Merci Louise, entre autre, pour tes paroles élogieuses à l'égard de mes photographies.

Je veux souligner plus personnellement le rôle qu'a tenu Pierre-Alexandre au cours de ces trois dernières années. Sans son aide je n'aurais probablement jamais rédigé ce mémoire. Merci Ax, pour ta constante motivation et pour toutes les discussions sérieuses et stupides que nous avons eues. Merci d'être là.

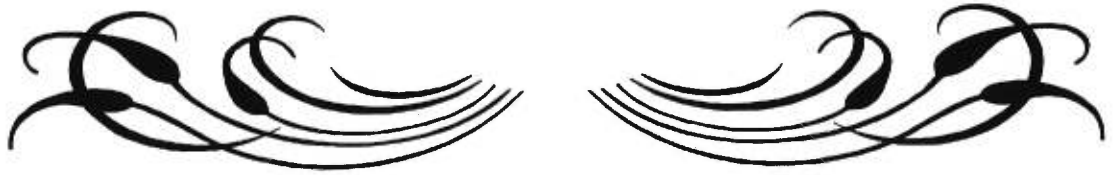
Merci à Madame Anne Bruneau pour ses conseils et la générosité dont elle a fait preuve en me permettant d'utiliser son matériel.

Je remercie mes parents, Lise et Claude, ma sœur, Carolyne, ma marraine, Andrée et mes défunts grand-parents pour leur amour inconditionnel et toute l'assistance qu'ils m'ont prêtée. Benoit, Alexandra, Francis, vous m'avez accompagnée tout au long de ce cheminement, merci de votre présence réconfortante et surtout de votre écoute!

Finalement, je veux rendre hommage à tous mes professeurs, du primaire jusqu'au niveau universitaire.

Cette recherche a été permise grâce aux fonds de recherches attribués par le CRSNG à M. J.-P. Simon et à M. F.-J. Lapointe.

Introduction



1.1 Introduction générale

La domestication des animaux par l'homme ainsi que la découverte de l'agriculture ont représenté un point tournant de la vie sur la terre. Pour la première fois de l'histoire, un produit de l'évolution utilisait les principes mêmes de l'évolution à son propre avantage. En reproduisant des organismes, domestiqués ou cultivés, l'humain a remplacé la sélection naturelle par ses propres critères sélectifs de telle façon qu'il intervint dans les processus évolutifs. En introduisant des espèces dans de nouveaux environnements et en perturbant les milieux naturels, l'humain a également court-circuité le déroulement normal de la sélection naturelle. Il en résulte qu'il y a peu d'endroits dans le monde où la faune et la flore ne portent l'empreinte de l'intervention humaine.

Depuis la préhistoire, l'homme est un agent de dissémination de plus en plus efficace. Il a volontairement étendu l'aire de répartition des plantes et des animaux à des fins agricoles, horticoles, forestières, médicinales ou autres. La sélection de races adaptées à de nouveaux climats a récemment élargi les limites de la distribution naturelle des espèces vivantes. Il arrive que des espèces ainsi introduites dans des régions nouvelles s'établissent et se maintiennent hors des zones réservées à leur culture de façon si naturelle qu'elles ne se distinguent de la flore indigène que par ce qu'on sait de leur histoire: on dit alors qu'elles sont naturalisées (Lemée 1967).

L'homme agit souvent en agent involontaire de dissémination en introduisant accidentellement dans des contrées nouvelles de nombreuses espèces nuisibles ou utiles. Il en est ainsi de mauvaises herbes comme les cuscutes américaines introduites en France vers 1870 avec les semences de luzerne importées d'Amérique, ou le "chardon de Russie", *Salsola pestifer* A. Nelson, qui, introduit dans le Dakota du Sud en 1874, avec des semences de lin, était répandu 25 ans plus tard dans les prairies depuis le golfe du Mexique jusqu'au Canada (Lemée 1967). Des parasites ont aussi été introduits avec des plantes de culture, comme la cochenille *Icerya purchasi* Maskell qui, partie d'Australie, occupe toute l'aire mondiale de culture des agrumes (Lemée 1967).

Depuis leur origine néolithique, les champs agricoles sont des milieux favorables pour la croissance des mauvaises herbes. Ces dernières sont donc souvent disséminées accidentellement avec des graines de légumes, de céréales et de fleurs des jardins (Sauer 1988). La dispersion s'effectuait autrefois sur une grande échelle grâce au lest des bateaux. De nos jours, c'est grâce à de nombreux matériaux d'emballage, de même que par la nourriture des oiseaux, les matériaux de construction ou les algues attachées aux coques de bateaux que la dispersion végétale est facilitée par l'entremise de l'homme (Polunin 1967). En somme, toute forme de trafic commercial est susceptible de transporter des graines, dont quelques-unes ont des chances de germer et de produire des plantes qui s'installeront dans de nouveaux environnements.

Le défrichage et la perturbation des terres par l'homme, soit pour l'agriculture, l'urbanisation, le transport ou autre, sont aussi impliqués dans l'introduction de nouvelles espèces. En effet, certaines plantes, dont plusieurs mauvaises herbes qui poussent dans des zones ouvertes, ont ainsi la possibilité de coloniser de nouveaux territoires autrefois inhospitaliers.

1.2 Problématique de l'étude

Les populations du pied-de-coq (*Echinochloa crus-galli* [L.] Beauv.), une mauvaise herbe agricole (Figure 1) qui fait l'objet de cette étude et que l'on retrouve partout dans l'est canadien et plus particulièrement au Québec, ne sont pas indigènes à ce territoire. Elles n'ont pu être introduites sur ces terres qu'à la suite de l'intervention humaine. En effet, comme *E. crus-galli* est une espèce de milieu ouvert, le sol forestier de l'est de l'Amérique du Nord ne lui était pas favorable avant le défrichage des terres par l'homme pour ses différentes activités. L'introduction de cette espèce d'origine tropicale et subtropicale dans la région tempérée froide du Québec est considérée comme relativement récente *i.e.* un peu moins de 400 ans.

1.2.1-Études sur l'adaptation et l'acclimatation aux basses températures des populations d'*Echinochloa crus-galli*

Comme *Echinochloa crus-galli* est une des rares espèces possédant un système photosynthétique de type C₄ à se reproduire à une latitude si élevée, des

travaux sur l'adaptation et l'acclimatation de ce système photosynthétique aux basses températures ont été réalisées aux cours des derniers dix-huit ans au laboratoire du professeur Jean-Pierre Simon.



Figure 1 Port général d'un plant d'*Echinochloa crus-galli*. (Photo de J.-P. Simon).

Des études portant sur le taux de croissance des plantes maintenues à de basses températures et sur l'allocation des ressources à la reproduction ont permis de

travaux sur l'adaptation et l'acclimatation de ce système photosynthétique aux basses températures ont été réalisées aux cours des derniers dix-huit ans au laboratoire du professeur Jean-Pierre Simon.



Figure 1 Port général d'un plant d'*Echinochloa crus-galli*. Photo reproduite de Lamoureux et al. (1975).

Des études portant sur le taux de croissance des plantes maintenues à de basses températures et sur l'allocation des ressources à la reproduction ont permis de

comparer des populations provenant de climat subtropical (*i.e.*, Mississippi) et tempéré froid (*i.e.*, Québec) et ont démontré que les plantes des deux régions climatiques sont bien adaptées à leur milieu respectif. Lorsqu'elles sont exposées au froid, les plantes des régions tempérées froides sont moins affectées que celles des régions subtropicales; de plus, elles présentent un ajustement phénologique en accord avec leur courte saison de croissance. Les plantes d'origine subtropicale soumises à de basses températures montrent un taux de croissance réduit et n'arrivent pas à se reproduire dans les conditions naturelles de l'est du Canada (Potvin et Strain 1985*a, b*; Potvin 1986).

Des études comparatives réalisées sur les taux d'activité ainsi que sur les propriétés thermiques, cinétiques et électrophorétiques des enzymes du cycle photosynthétique de type C_4 d'*Echinochloa crus-galli* démontrent aussi des différences entre les populations de pied-de-coq du Québec et du Mississippi (Robert et al. 1983; Simon et al. 1984*a, b*; Potvin et al. 1985; Potvin et al. 1986; Simon 1987; Dubuc et al. 1988; Lapointe et al. 1989; Simon et al. 1989*a, b*; Potvin et Simon 1990; Vairinhos et Simon 1990; Simon et Vairinhos 1991; Simon et Hatch 1994; Simon 1996).

Ainsi, quatre enzymes du cycle C_4 de cette plante, soit le phosphoénolpyruvate, la déshydrogénase malique NADP⁺-dépendante, la pyruvate orthophosphate dikinase et l'enzyme malique NADP-dépendante ont été affectés différemment, chez les populations du Québec et du Mississippi, par un traitement au

froid, à la lumière intense (Potvin et al. 1986) et également, mais de façon plus atténuée, par un traitement à l'obscurité (Simon 1987).

Cette série de travaux a donc démontré qu'il existe des différences écotypiques claires entre les populations des deux régions climatiques en fonction de leur réponse à un traitement aux basses températures. Les plantes qui croissent dans les régions tempérées froides, comme l'est canadien, sont plus tolérantes au froid que celles des régions tropicales (Potvin et Simon 1990; Simon et Hatch 1994).

Un des aspects significatifs du syndrome de photoinhibition au froid se fait sentir lorsque les plantes sont soumises pendant 14h à 7°C: les plants des régions subtropicales développent une bande chlorotique au niveau des feuilles alors que les populations des régions tempérées froides ne montrent pas les mêmes symptômes (Potvin 1985). Hakam et Simon (1996, 1997) ont d'ailleurs démontré que les populations du Québec présentaient une adaptation et une acclimatation des enzymes impliquées dans l'élimination des formes toxiques de l'oxygène (O_2^- , OH, H_2O_2).

La détermination de l'origine des populations tempérées froides d'*Echinochloa crus-galli* est donc cruciale dans la compréhension des mécanismes d'adaptation du système photosynthétique de type C_4 aux basses températures puisque différents scénarios impliquent des variations dans les périodes d'acclimatation et d'adaptation.

Deux explications peuvent être retenues quant à l'origine du pied-de-coq dans l'est canadien. La première stipule que ces populations seraient originaires de l'Europe Occidentale. Selon Marie-Victorin (1935) les premiers colons européens auraient introduit par inadvertance des graines d'*Echinochloa crus-galli* mélangées à leurs semences de céréales ou dans les ballasts de leurs navires. La seconde implique une migration septentrionale des populations américaines des régions tropicales et subtropicales: les populations québécoises seraient alors issues de plantes natives de l'Amérique Centrale et du sud de l'Amérique du Nord qui auraient migré vers le Canada suite à la perturbation des sols et des communautés végétales associées à l'implantation de grandes cultures agricoles (Robert et al. 1983; Simon et al. 1984b).

Ces hypothèses impliquent différents temps d'adaptation aux basses températures des régions tempérées de l'est canadien. Par conséquent, selon la première hypothèse, les populations québécoises auraient été pré-adaptées aux conditions de basses températures de l'Europe pendant plus de 5500 à 6500 ans avant d'être introduites par l'homme en Amérique du Nord, c'est-à-dire depuis l'étalement progressif de l'agriculture dans ces régions à partir du Moyen Orient, il y a 4500 à 3500 ans av. J.-C. Cependant, si l'hypothèse de l'origine américaine s'avère vraie, l'adaptation aux basses températures des populations septentrionales d'*Echinochloa crus-galli* impliquerait une période beaucoup plus restreinte, *i.e.* inférieure à 400 ans.

1.2.2-Études isoenzymatiques préalables

Afin de déterminer l'origine des populations d'*Echinochloa crus-galli* des régions tempérées, une analyse de marqueurs isoenzymatiques a précédemment été réalisée par Sylvie Lamy en 1993-1994 (données non publiées). Cette étude portait sur huit systèmes enzymatiques.

Les différents systèmes enzymatiques ont été analysés chez 480 individus provenant de 32 populations nord-américaines échantillonnées le long d'un gradient latitudinal de la Floride au Québec et 31 populations de la France et de l'Angleterre récoltées dans les régions proches des lieux d'embarquement pour la Nouvelle-France du 17^{ème} au 19^{ème} siècles. De ces huit systèmes, quatre ont été retenus pour des analyses statistiques, soit les enzymes glutamate-oxaloacétate transférase (GOT; E.C. 2.6.1.1), isocitrate déshydrogénase (IDH; E.C.1.1.1.42), malate déshydrogénase (NAD-MDH; E.C. 1.1.1.37) et phosphoglucomutase (PGM; E.C. 2.7.5.1).

Une analyse discriminante, une ordination en espace réduit (analyse des correspondances) et une analyse canonique des correspondances ont été produites à partir de ces données. L'analyse discriminante a révélé que parmi les populations de l'est du Canada, cinq étaient d'origine européenne tandis que six étaient originaires de l'Amérique du Nord. Malgré une bonne répartition des populations dans l'espace, l'analyse des correspondances n'a pas permis d'établir de groupements entre les populations des différentes régions. L'analyse canonique des correspondances

effectuée entre la matrice des patrons de bande des cinq systèmes enzymatiques et une matrice de variables environnementales (température moyenne, précipitation moyenne et coordonnées géographiques) a réussi à expliquer une très faible fraction de la variance (11.3%) des systèmes enzymatiques à l'aide des variables du milieu. Contrairement à la température, la latitude semblait représenter la variable la plus importante. Ces analyses statistiques semblaient donc suggérer que les populations de l'est canadien étaient issues d'un assemblage de populations européennes et américaines.

Ces résultats non significatifs pourraient être expliqués, en partie, par le choix de la technique utilisée pour détecter les différences génétiques entre populations. De nombreuses études portant sur la génétique des populations ont été réalisées à l'aide de marqueurs enzymatiques (Ellstrand et Roose 1987; Hamrick et Godt 1990). Cependant, selon plusieurs chercheurs, ces marqueurs sous-estiment la diversité génétique des populations et des espèces. En effet, des études qui ont employé conjointement des marqueurs enzymatiques et différentes techniques moléculaires (RAPD, ISSR, séquence de région d'ADN) ont démontré qu'une plus grande variabilité génétique était détectée par les autres marqueurs moléculaires (Hickey et al. 1991; Hickey et Vincent 1992; Crawford et al. 1998; Brauner et al. 1992; Crawford et al. 1994; Wolfe et Elisens 1993; Wolfe et al. 1998*a, b*).

Un marqueur moléculaire efficace pour étudier la variabilité génotypique à l'intérieur des populations devrait être relativement économique, non ambigu et facile

d'utilisation. Plusieurs marqueurs d'ADN basés sur le principe de la réaction de polymérase en chaîne (PCR: Polymerase Chain Reaction) remplissent ces critères (Wolfe et Linston 1998). Depuis le début des années '90, la technique la plus utilisée pour l'obtention de tels marqueurs est sans contredit l'amplification aléatoire de fragments polymorphiques d'ADN (RAPD: Random Amplified Polymorphic DNA) (Welsh et McClellan 1990; Williams et al. 1990).

1.2.3-La technique RAPD

Ces marqueurs moléculaires sont avantageux car on peut les amplifier sans qu'aucune connaissance du génome ne soit nécessaire. En effet, la technique RAPD est caractérisée par l'utilisation de courtes amorces universelles (10 pb) qui se fixent aléatoirement sur tout le génome (*i.e.*, nucléaire, chloroplastique et mitochondrial), amplifiant des fragments d'ADN de différentes longueurs. La migration sur gel d'agarose permet de différencier ces fragments amplifiés (Figure 2). Les distances génétiques sont ensuite calculées en comparant les patrons de bandes de chaque individu (présence ou absence des bandes). Les marqueurs RAPD permettent de détecter les substitutions, les inversions, les délétions ou les insertions (Bowditch 1993). De plus, ils sont très polymorphes et permettent de dissocier des individus apparentés. Cette technique est donc très utile pour des études au niveau infraspécifique et de génétique des populations (Haig et al. 1994, 1996; Lynch et Milligan 1994; Gabrielsen et al. 1997; Huff et al. 1998; De Greef et Triest 1999; Esselman et al. 1999; Gugerli et al 1999).

On se doit d'effectuer des analyses de marqueurs RAPD entre des individus relativement apparentés puisque van de Zande et Bijlsma (1995) ont démontré que les distances génétiques les plus grandes sont rapidement saturées, c'est-à-dire qu'une augmentation de la différence entre les individus au delà d'un certain seuil n'entraînera pas une augmentation de la distance génétique estimée. D'autre part, les marqueurs RAPD amplifiés sont majoritairement dominants, cependant on ne peut distinguer entre les dominants homozygotes (AA) ou les dominants hétérozygotes (Aa) (Isabel et al. 1999).

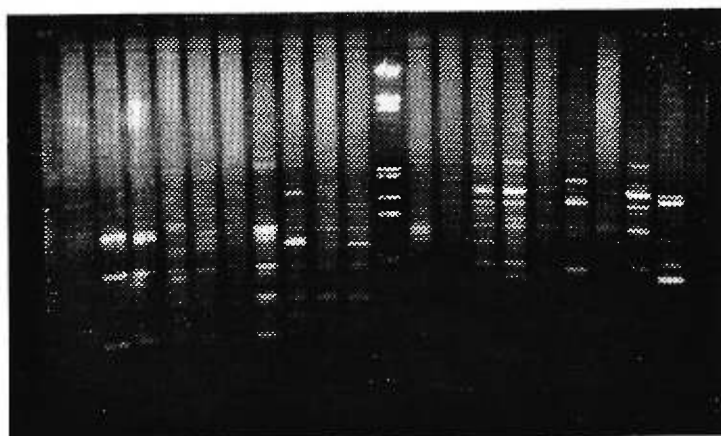


Figure 2 Photographie d'un gel d'électrophorèse typique résultant d'une amplification par RAPD. Les différentes bandes représentent les marqueurs moléculaires utilisés pour le calcul des distances génétiques. Une échelle moléculaire est également visible pour aider à la détermination de la taille des bandes amplifiées.

Une correction doit donc être effectuée si l'on désire interpréter ces marqueurs en génétique mendélienne classique (Stewart et Excoffier 1996). Lors de l'analyse des bandes RAPD, les fragments de même taille sont traités comme homologues. Cependant, Rieseberg (1996) a montré que dans le cadre de comparaisons interspécifiques, 10% des bandes RAPD homologues n'étaient pas de même taille,

mais cette valeur devrait théoriquement diminuer pour des comparaisons intraspécifiques (Bowditch 1993).

1.2.4-Analyses de séquences

L'analyse de séquences d'ADN est une autre technique très utile pour analyser la variabilité intraspécifique. Il existe des régions de l'ADN qui sont plus variables que d'autres. En général, la partie transcrite des gènes reste très conservée, offrant peu de place à la variabilité entre les individus d'une population. Par contre, les sections non-codantes des gènes, comme les introns, ont un taux de mutation plus élevé que les sections codantes des gènes, augmentant ainsi la variabilité génétique intra-population.

Contrairement aux nombreuses études de génétique des populations effectuées à partir du génome mitochondrial extrêmement variable des animaux, les gènes mitochondriaux des plantes ont un taux de substitution de nucléotides insuffisant pour des analyses intraspécifiques (Schaal et al. 1998). De plus, chez les plantes, le génome mitochondrial est enclin à des recombinaisons intramoléculaires assez importantes, entraînant de l'hétéroplasmie et limitant ainsi les études du génome complet (Palmer 1992). Les analyses de séquences d'ADN doivent donc porter sur d'autres parties du génome telles que le génome nucléaire et le génome chloroplastique.

1.2.4.1-Séquence nucléaire

Le génome nucléaire est une grande source de variabilité intraspécifique. Plusieurs études ont démontré que la région ITS des gènes ribosomiaux nucléaires 18-26S (Figure 4) détient un potentiel de variabilité génétique important (Baldwin 1992, 1993; Soltis et Kuzoff 1993); cependant l'ITS 1 évolue plus rapidement que l'ITS 2 (Baldwin 1993). De tout le génome nucléaire, l'intron situé entre les gènes 18S et 5S de l'ADN ribosomal nucléaire est intéressant pour des études de populations à cause de son taux d'évolution élevé (Zimmer et al. 1980; Arnheim 1983).

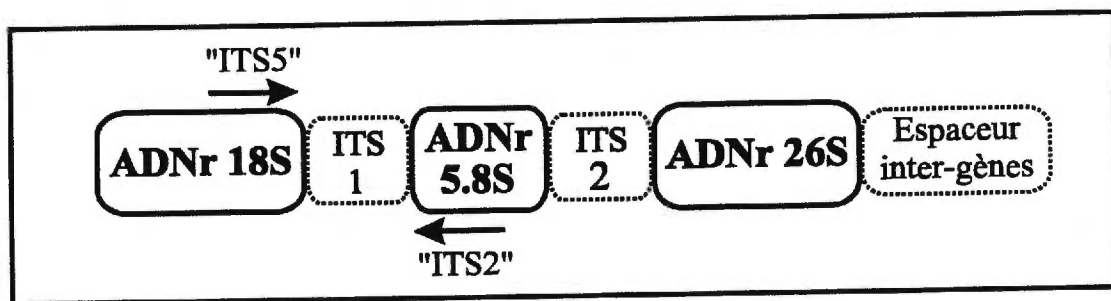


Figure 3 Schéma d'une unité répétitive du gène ribosomal du noyau composée des trois sous unités de l'ADNr (18S, 5.8S et 26S), des introns ITS 1 et ITS 2 situés entre les sous unités et de l'espaceur de gène qui sépare chaque unité répétitive. Les flèches indiquent la position et la direction des amorces utilisées pour amplifier l'intron ITS 1. "ITS2": 5'GCTGCGTTCTTCATCGATGTC3' et "ITS5": 5'GGAAGTAAAAGTCGT-AACAAGG3' (White et al. 1990).

1.2.4.2-Séquence chloroplastique

Malgré le fait que la variation génétique dans le chloroplaste des plantes soit plus faible que dans les mitochondries des animaux, on y détecte de la variation au niveau intraspécifique chez un nombre croissant d'espèces (Soltis et al. 1992; Levy et al. 1996).

Tout comme les mitochondries, le génome chloroplastique est formé d'une copie unique sans processus de recombinaison. Plusieurs petites régions du génome chloroplastique, comme les espaceurs de gènes, contiennent assez de variabilité pour réaliser des comparaisons intra et interpopulations (Taberlet et al. 1991, Demesure et al. 1995; Dumolin-Lapegue et al. 1997). Pour notre étude, nous avons choisi de séquencer l'intron situé entre les deux exons du gène *trnL* (UAA) (Figure 5). Des études effectuées avec cet intron ont révélé qu'il contenait assez de variabilité pour être utilisé au niveau infraspécifique (Ferris et al. 1993; Gielly et Taberlet 1994a, b).

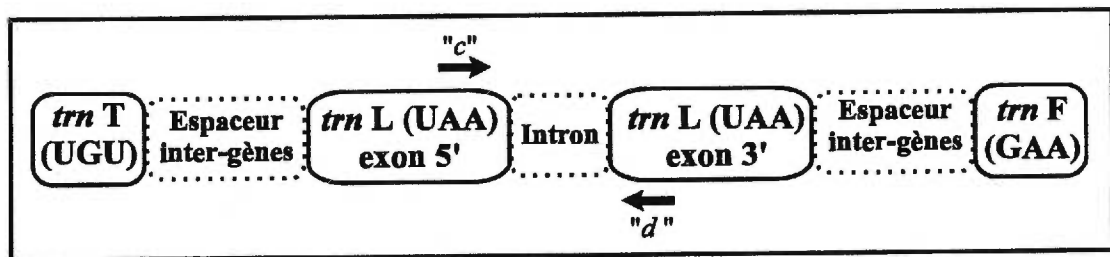


Figure 4 Positions et directions des amorces utilisées pour amplifier l'intron *trnL* (UAA) de l'ADN chloroplastique. "c": 5'CGAAATCGGTAGACGCTACG3' et "d": 5'GGGGATAGAGGGACTTGAAC3' (Taberlet 1991).

1.3 Écologie d'*Echinochloa crus-galli*

Echinochloa crus-galli (L.) Beauv. var *crus-galli* est une graminée annuelle autogame de la tribu des Panicées (Famille des Poacées) que l'on retrouve en milieux ouverts et perturbés. Étymologiquement, le nom du genre originerait d'*echinos* (hérisson ou oursin de mer) et de *chloê* (herbe) signifiant herbe épineuse, allusion faite aux fleurs munies d'appendices piquants. L'espèce *crus-galli* serait un ancien nom

venant de *crus* (patte) et de *gallus* (coq), d'où les noms vernaculaires Échinochloa pied-de-coq, patte de poule ou "Barnyard grass" en anglais (Lamoureux et al. 1975).

Malgré le fait que les caractéristiques morphologiques d'*Echinochloa crus-galli* soient très variables en raison de sa grande amplitude écologique (Barrett et Wilson 1981), on peut facilement identifier cette plante par ses longues tiges robustes (30-100 cm) souvent couchées sur le sol, puis se redressant; ses feuilles larges en forme de ruban, souvent ondulées sur les bords et son inflorescence paniculée de couleur verte ou rouge vin (Figure 1). *Echinochloa crus-galli* var. *crus-galli* peut se différencier des autres variétés et espèces du genre *Echinochloa* par les poils de ses épillets qui sont peu ou pas muriqués ainsi que par ses caractéristiques écologiques (Marie-Victorin 1935; Gould et al. 1972; Lamoureux et al. 1975).

En Amérique du Nord, on retrouve sept espèces d'*Echinochloa*; *E. crus-galli* et *E. colonum* (L.) Link sont les deux seules espèces introduites en Amérique du Nord. Contrairement aux cinq espèces indigènes du genre *Echinochloa* (i.e., *E. polystachya* [H.B.K.] Hitchc., *E. muricata* [Beauv.] Fern., *E. paludigena* Wiegand, *E. walteri* [Pursh] Heller et *E. crus-pavoni* [H.B.K.] Schult.) qui possèdent un génome tétraploïde ($2n = 36$), les espèces introduites sont hexaploïdes ($2n = 54$) (Gould et al. 1972). Selon Yabuno (1966), l'hexaploïdie d'*Echinochloa crus-galli* résulterait de l'hybridation d'*Echinochloa oryzicola* Vasing. et d'une espèce diploïde inconnue d'*Echinochloa*, ou d'un genre apparenté, suivie d'un dédoublement chromosomique.

La répartition géographique du pied-de-coq est très étendue. On peut aussi bien la retrouver dans des milieux tropicaux et subtropicaux qu'en zone tempérée froide (Holm et al. 1977). Cette espèce est d'ailleurs l'une des rares plantes possédant un système photosynthétique en C_4 qui puisse croître à des latitudes supérieures à $45^{\circ}N$ (Teeri et Stowe 1976). La distribution cosmopolite du pied-de-coq s'étale de $40^{\circ}S$ au $50^{\circ}N$ de latitude (Holm et al. 1977). *Echinochloa crus-galli* est présente dans l'est du continent nord-américain depuis le sud de la Floride jusqu'à la péninsule gaspésienne et l'île de Terre-Neuve (*i.e.*, $49^{\circ}N$) (Rouleau et Lamoureux 1992). On la retrouve aussi en Abitibi, entre le Lac Duparquet et le Lac Abitibi, sur les terrains perturbés, en bordure des routes (Jean-Pierre Simon, communication personnelle).

En tant que pionnières, les populations d'*Echinochloa crus-galli* occupent des milieux ouverts ayant subi de récentes perturbations d'origine anthropique ou naturelle. On la retrouve, par exemple, dans divers milieux cultivés, sur le bord des routes, sur le talus des fossés ainsi que les rives des lacs ou des rivières (Marie-Victorin 1935; Gould et al. 1972; Holm et al. 1977; Barrett et Wilson 1981). L'espèce est adaptée à une grande variété de conditions édaphiques et climatiques. Cette graminée possède un potentiel reproductif élevé qui lui confère un pouvoir colonisateur très efficace. Dans des conditions favorables, un seul plant peut produire entre 5000 et 40 000 graines (Holm et al. 1977).

Les diverses variétés d'*Echinochloa crus-galli* (*sensu lato*) comptent parmi les mauvaises herbes les plus nuisibles pour plusieurs récoltes (*i.e.*, coton, sucre,

betteraves, patates, riz, maïs, blé et autres céréales, etc.) des régions tropicales aux régions tempérées, à l'exception de l'Afrique (Yabuno 1966; Holm et al. 1977; Barrett et Seaman 1980). Malgré le fait que dans certains pays tropicaux ainsi qu'au Japon, elle soit cultivée comme céréale d'appoint, on considère que le rendement de plus de 36 cultures dans une soixantaine de pays est affecté par la compétition qu'occasionne *Echinochloa crus-galli* dans les champs de culture (Holm et al. 1977; Barrett et Wilson 1981). Les populations du pied-de-coq de l'est de l'Amérique du Nord sont considérées comme des plus dommageables aux grandes cultures d'intérêt économique, en particulier pour le maïs dont elles représentent l'une des trois principales mauvaises herbes (Gould et al. 1972; Maun et Barrett 1986).

1.4 Physiologie du système photosynthétique

d'Echinochloa crus-galli

Les plantes peuvent être classifiées selon trois groupes photosynthétiques: le système de type C₃ (cycle de Calvin), le système de type C₄ (cycle Hatch-Slack) ou le métabolisme acide des Crassulacées (CAM) qui se retrouve principalement chez les espèces succulentes et semi-succulentes et qui semble être privilégié dans les milieux arides et salins (Nelson et Langdale 1992; Ehleringer et Monson 1993).

Bien qu'elles soient en général mieux adaptées aux basses températures (<30°C), les plantes C₃ se retrouvent dans toutes les régions du globe puisque la majorité (≅ 95%) des espèces utilise cette voie de photosynthèse (Doliner et Jolliffe

1979; Tieszen et al. 1979). Ce système photosynthétique se caractérise par la fixation du CO₂ atmosphérique par la ribulose biphosphate carboxylase/oxygénase (Rubisco) en deux molécules stables d'un acide à trois carbones, l'acide 3-phosphoglycérique. Cependant, la fixation du dioxyde de carbone est inhibée par la fonction oxygénase de la Rubisco. En effet, il se produit parallèlement à la photosynthèse une fixation de l'oxygène atmosphérique entraînant un rejet du carbone déjà fixé; on nomme ce phénomène la photorespiration. Cette compétition entre l'oxygène et le dioxyde de carbone atmosphérique tend à augmenter avec la température et l'intensité lumineuse. À une température de 10°C et une concentration d'O₂ atmosphérique normale, la photorespiration peut réduire de 12 à 20% la fixation du CO₂ tandis qu'à 40°C cette réduction peut atteindre 60%(Long 1983).

Au cours de l'évolution, les plantes ont développé, à partir du cycle C₃, une voie de photosynthèse qui utilise plus efficacement le CO₂ atmosphérique, c'est le système photosynthétique de type C₄. Ce système photosynthétique serait apparu il y a environ 6 à 8 millions d'années, lors du déclin du niveau de CO₂ au début du Paléocène (Ehleringer et al. 1991; Ehleringer et al. 1997).

Ce cycle photosynthétique est recensé dans plus de 19 familles d'Angiospermes (Salisbury et Ross, 1992) et des études ont démontré que plus d'une centaine d'espèces Dicotylédones et près de la moitié des 10 000 espèces de Poacées et de Cypéracées sont de type C₄, dont le maïs (*Zea mays* L.), la canne à sucre (*Saccharum officinarum* L.) et le sorgho (*Sorghum bicolor* [L.] Moench) (Stowe et Teeri 1978; Teeri 1979;

Teeri et al. 1980; Ehleringer et Monson 1993; Ehleringer et al. 1997). Grâce à une utilisation plus efficace du gaz carbonique atmosphérique, ces espèces se distinguent par un rendement photosynthétique très élevé. Bien que moins de 1% des Angiospermes utilisent la voie en C_4 , elles fournissent à elles seules 18% de la productivité totale, principalement en raison de la grande productivité des Monocotylédones C_4 et à un nombre élevé de plantes cultivées d'importance qui possèdent ce cycle photosynthétique (Ehleringer et al. 1997).

La raison d'une si bonne gestion du CO_2 atmosphérique chez les espèces de type C_4 est la compartimentation cellulaire qui empêche les contacts entre la Rubisco et l'oxygène atmosphérique. Les cellules du mésophylle qui sont disposées en couronne autour des faisceaux vasculaires, se composent de deux couches distinctes. La couche externe, en contact avec le CO_2 atmosphérique, est constituée de cellules mésophylliennes (M) tandis que les cellules de la couche interne, où est isolée la Rubisco, forment la gaine périvasculaire (GP). Une voie de biosynthèse particulière permet de concentrer le CO_2 atmosphérique à l'intérieur des cellules de la GP par un facteur de 10 (Figure 2). Le CO_2 est alors transféré du mésophylle vers la gaine périvasculaire alors que l' O_2 demeure à l'extérieur (Hatch et Slack 1970; Rathnam et Edwards 1975; Campbell et Black 1982; Nelson et Langdale 1992).

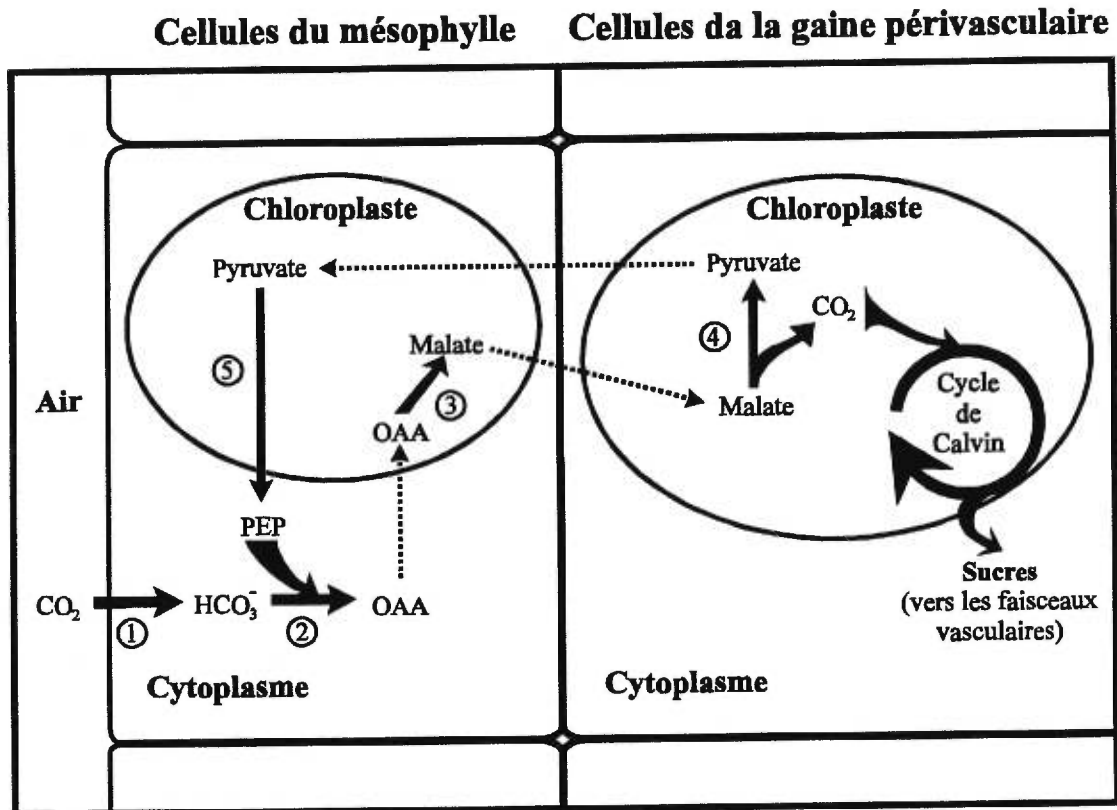


Figure 5 Schéma illustrant les réactions enzymatiques du cycle photosynthétique de type C_4 , sous-groupe NADP-ME. ① Anhydrase carbonique, ② Phosphoenolpyruvate carboxylase, ③ Déshydrogénase malique NADP⁺-dépendante, ④ Enzyme malique NADP-dépendante, ⑤ Pyruvate orthophosphate dikinase. CO_2 : dioxyde de carbone; HCO_3^- : bicarbonate; OAA oxaloacétate; PEP: phosphoenolpyruvate.

Probablement dû à l'origine polyphylétique de la voie en C_4 , ce système photosynthétique peut être subdivisé en trois sous-groupes selon l'enzyme de décarboxylation que les espèces utilisent dans les cellules de leur gaine périvasculaire (Nelson et Langdale 1992; Richter 1993). L'espèce analysée dans cette étude, *Echinochloa crus-galli*, appartient au sous-groupe dont l'enzyme de décarboxylation est l'enzyme malique dépendante de la NAPD (NADP-ME).

Le cycle de la photosynthèse en C₄ du sous-groupe NADP-ME (illustré à la figure 2) débute dans le cytoplasme des cellules du mésophylle, où l'anhydrase carbonique catalyse l'hydratation du CO₂ atmosphérique en bicarbonate (HCO₃⁻) (Hatch et Burnell 1990). Le gaz carbonique, sous forme de HCO₃⁻, est ensuite fixé sur le phosphoénolpyruvate (PEP) au moyen de la phosphoénolpyruvate carboxylase. L'oxaloacétate (OAA) qui résulte de cette réaction est transporté dans les chloroplastes du mésophylle où il est réduit en malate au moyen d'une déshydrogénase malique NADP⁺-dépendante. Ce malate est ensuite transféré du cytoplasme des cellules mésophylliennes aux chloroplastes des cellules de la gaine périvasculaire pour être décarboxylé par l'enzyme malique NADP dépendante (NADP-ME) afin de pourvoir le cycle de Calvin en CO₂. Le pyruvate résultant de cette décarboxylation retourne dans le chloroplaste du mésophylle où une pyruvate orthophosphate dikinase ATP-dépendante le transforme en phosphoénolpyruvate (PEP).

Notons que de tous les systèmes photosynthétiques, ce sous-groupe est celui qui s'avère le plus sensible aux basses températures (Long 1983; Öquist 1983). Cette susceptibilité serait en partie occasionnée par la présence supplémentaire de sites d'inhibition. En effet, les deux types de cellules chloroplastiques (cellules mésophylliennes et gaine périvasculaire) ainsi que l'extension du cycle augmentent le nombre de sites potentiels d'inhibition (Long 1983).

La température optimale pour la photosynthèse chez les plantes de type C₄ étant d'environ 30°C à 40°C (soit approximativement 10°C supérieur à la température

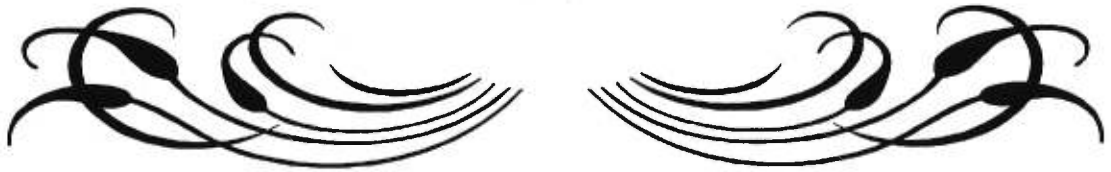
optimale de photosynthèse des plantes de type C₃), on retrouve principalement ces plantes dans les régions tropicales et subtropicales. Cette répartition géographique peut être en partie expliquée par l'efficacité de la PEPC à fixer le CO₂ atmosphérique à des concentrations très faibles (5-10 ppm). En effet, des échanges gazeux qui sont plus fructueux permettent une réduction de l'ouverture des stomates entraînant ainsi une réduction de leur besoin en eau tout en conférant aux plantes C₄ un avantage considérable dans les habitats chauds et secs. Cependant, il a aussi été démontré par Teeri et Stowe (1976), Collins et Jones (1985) et Hattersley (1983) que la distribution et l'abondance des espèces de type C₄ en Amérique du Nord, en Europe et en Australie est corrélée à une température minimale élevée lors de la saison de croissance. Une température nocturne de 8°C, lors de la saison estivale, est considérée critique pour ces espèces (Long 1983), quoique certaines plantes plus tolérantes au froid se retrouvent dans des climats tempérés frais, et que d'autres sont acclimatées au froid comme *Atriplex confertifolia* (Torr. et Frem.) Wats. (Caldwell et al. 1977), *Spartina townsendii* H. et J. Grove (Long et Woolhouse 1978; Thomas et Long 1978) ainsi qu'*Echinochloa crus-galli* (Potvin et Simon 1990), espèce sur laquelle porte cette étude.

1.5 Envoi

Plusieurs travaux ont établi l'efficacité des marqueurs moléculaires en génétique des populations (Ferris et al. 1993; Gielly et Taberlet 1994a, b; Haig et al. 1994, 1996; Schaal et al. 1998; De Greef et Triest 1999; Esselman et al. 1999; Gugerli

et al 1999). Cependant, peu d'études ont été réalisées en combinant différents marqueurs au niveau infraspécifique. Dans le cadre de ce projet, nous tenterons de déterminer l'origine des populations de pied-de-coq adaptées aux régions froides de l'Amérique du Nord à l'aide de deux techniques complémentaires (RAPD et séquences des introns ITS 1 et *trnL* (UAA)). Pour ce faire, nous avons échantillonné 18 populations dans trois régions (Québec, côte est américaine et Europe occidentale) et comparé deux scénarios: (1) les populations québécoises viennent d'Europe ou (2) les populations québécoises viennent du sud de l'Amérique. Si les populations québécoises d'*Echinochloa crus-galli* étaient dérivées de souches européennes (Hypothèse 1), les plantes échantillonnées au Québec et en Europe devraient être génétiquement similaires. Cependant, si les populations du Québec étaient davantage apparentées aux populations américaines qu'aux populations européennes, la seconde hypothèse serait corroborée. Nos analyses tenteront d'élucider cette question en comparant les deux hypothèses d'un point de vue génétique et géographique.

**Determination of the origins of the
cold-adapted populations of barnyard grass
(*Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv.)
in North America: evidence from
RAPD and DNA sequences**



2.1 Introduction

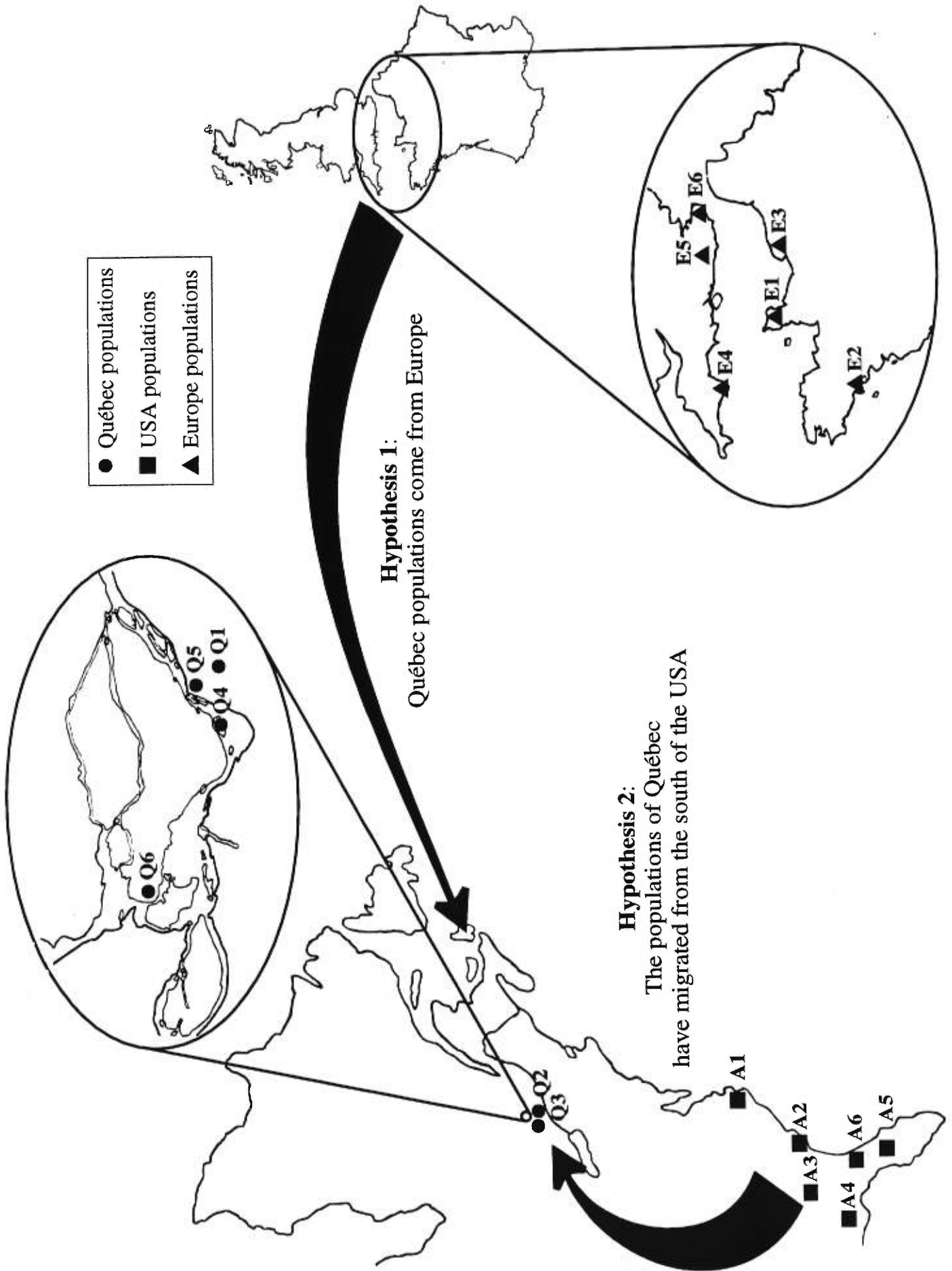
Barnyard grass (*Echinochloa crus-galli* L. Beauv.) is ranked among the three most obnoxious weeds for major world crops (i.e., cotton, sugar, beets, potatoes, rice, corn, wheat and other cereals, etc.) in both tropical and temperate regions of all continents, with the exception of Africa (Yabuno 1966; Holm et al. 1977; Barrett and Seaman 1980). In the eastern part of North America, this species is found in horticultural plantations, agricultural regions, and on most land disturbed by human activities (Barrett and Wilson 1981, 1983; Holm et al. 1977). This self-pollinated hexaploid annual C_4 grass species of the tribe *Paniceae* is native to Eurasia, but is now worldwide in distribution, principally in a latitudinal zone from 50°N to 40°S.

Most C_4 plants are confined to tropical and warm temperate parts of the world, although a few species occur in regions of temperate climate. Among those, *E. crus-galli* is particularly well adapted to the cooler climates of North America (Teeri and Stowe 1976; Long 1983; Potvin and Simon 1990). It remains difficult to establish the origins of these northern populations, however. Barnyard grass is likely to have reached North America a long time ago (Hartley 1958), but its introduction to the Eastern Canadian regions is assumed to be a rather recent event which may have been conditioned by changes in the climatic conditions and vegetation following the retreat of the glaciers on the aftermath of the Wisconsin glaciation (ca. 10,000 years ago). Furthermore, and considering the habitat preferences of the species, the conditions for colonization occurred only with the opening of agricultural lands and the introduction of intensive crop practices in the last 400 years (Robert et al. 1983).

Echinochloa crus-galli has been used as a model species to understand physiological and metabolic processes involved in cold-temperature adaptation and acclimation of the C₄ photosynthetic system (Potvin and Simon 1990). Previous works have demonstrated a clear ecotypic differentiation of Eastern North American populations along a latitudinal gradient with regard to their response to cold-temperature treatments (Robert et al. 1983; Simon et al. 1984b; Potvin and Simon 1990; Hakam and Simon 1997). Adaptation of the barnyard grass has been accomplished in part by an avoidance strategy (Potvin and Simon 1990) resulting in a shorter annual life cycle and a substantial phenological readjustment of cold-adapted ecotypes (Potvin 1986), in tune with a more restrictive growing season. However, the same studies also show that selective pressures brought about by increasingly limiting thermal environments have improved the efficiency of the C₄ pathway itself by modifying the physiology of a number of its key metabolic components, such as chloroplasts and C₄ enzymes (Potvin and Simon 1990). According to Hakam and Simon (1996), there is also an acclimatory mechanism within the oxygen-scavenging system that can regulate and compensate, to some extent, for limitations in the production of antioxidant products. These enhanced modifications of the oxygen-scavenging enzyme system in coldest populations, coupled with the relatively higher chlorophyll content, are likely to have contributed to the observed cold-adapted ecotype when subjected to cold temperature conditions. Several studies also suggest that adaptive correlated kinetic shifts in several enzymes of the C₄ cycle have occurred in response to selective thermal pressures of the plant environment (Potvin and Simon 1990).

Determination of the barnyard grass origins in northern latitudes is important to understand its adaptation mechanism as different hypotheses imply different periods of acclimation and adaptation to cold temperate regions. At least two opposite hypotheses can be formulated with respect to the introduction of *Echinochloa crus-galli* in colder regions of North America (Figure 6). The first of these hypotheses was proposed by Marie-Victorin (1935); it states that the northern North American populations were originally introduced from Western Europe by early settlers who would have inadvertently brought the weed with their cereal seeds or in the ballast of their ships. The second hypothesis postulate that cold-adapted populations of barnyard grass could be derived from sub-tropical populations of Central and North America which migrated into northern latitudes following the opening of forested areas for agriculture (Robert et al. 1983; Simon et al. 1984b). According to the first hypothesis, North American populations of *Echinochloa crus-galli* are likely to have been pre-adapted to the low temperatures of Northern Europe for more than 5500-6500 years, i.e., since agriculture spread from the Middle East between 4500 to 3500 BC. The second hypothesis implies that the adaptation to the low temperatures of North America may have been carried, in a short period of less than 400 years.

Figure 6 Schematic map presenting the location of the different populations along with the competing hypotheses about the origins of the cold-adapted populations of barnyard grass (*Echinochloa crus-galli*) in Eastern Canada.



In this paper, we address the origins of the cold-adapted populations of barnyard grass in North America using different molecular data sets to detect a genetic structure among plants sampled in different regions (Eastern Canada, American East Coast, and Western Europe). We assessed the significance of the two competing hypotheses by using RAPD markers (Welsh and McClelland 1990; Williams et al. 1990) and DNA sequences of ITS 1 (White et al. 1990) and *trnL* (UAA) (Taberlet et al. 1991) and have compared and evaluated their congruence in separate and combined analyses. Populations sampled from Canada and Europe should be genetically related if the first hypothesis applies. The second hypothesis would be supported if Canadian populations would be more closely related to other North American populations than they are to European populations.

2.2 Materials and methods

2.2.1-Material collection and DNA extraction

For the purpose of this study, seeds from eighteen populations of *Echinochloa crus-galli* were collected in three different regions (Table 1).

Table I Geographic coordinates of the eighteen populations under study. Q: populations of Eastern Canada (Québec), A: populations of the American East coast, E: populations of Western Europe.

Populations	Latitude	Longitude	Populations	Latitude	Longitude
Q1	45°27' N	73°17' W	A4	30°27' N	84°17' W
Q2	45°19' N	72°39' W	A5	29°11' N	82°08' W
Q3	45°25' N	73°00' W	A6	30°20' N	82°45' W
Q4	45°28' N	73°33' W	E1	49°31' N	01°28' W
Q5	45°32' N	73°21' W	E2	47°40' N	02°44' W
Q6	45°25' N	73°56' W	E3	49°32' N	00°11' E
A1	35°27' N	77°40' W	E4	50°29' N	03°46' W
A2	32°46' N	80°27' W	E5	51°05' N	01°05' E
A3	32°51' N	83°38' W	E6	50°47' N	00°41' W

These seeds were germinated in vermiculite and placed in controlled growth chamber (Convion, Model 20D0018, Winnipeg, Manitoba) set at 24°C day/19°C night, and a constant 16h photoperiod. The seedlings were watered every other day until they reached at least 5 cm in height. Total DNA was isolated from the leaves according to the extraction protocol modified from Hillis et al. (1996). Approximately 300 mg of dry leaves were ground in liquid nitrogen and incubated for 45 min at 65°C in 700 µl of 2 x CTAB isolation buffer: 2% hexadecyltrimethyl ammonium bromide (CTAB), 1.4 M NaCl, 20 mM EDTA, 100 mM Tris-HCL pH 9.0 and 0.2% β-mercaptoethanol.

2.2 Materials and methods

2.2.1-Material collection and DNA extraction

For the purpose of this study, seeds from eighteen populations of *Echinochloa crus-galli* were collected in three different regions (Table 1).

Table I Geographic coordinates of the eighteen populations under study. Q: populations of Eastern Canada (Québec), A: populations of the American East coast, E: populations of Western Europe.

Populations	Latitude	Longitude	Populations	Latitude	Longitude
Q1	45°27' N	73°17' W	A4	30°27' N	84°17' W
Q2	45°19' N	72°39' W	A5	29°11' N	82°08' W
Q3	45°25' N	73°00' W	A6	30°20' N	82°45' W
Q4	45°28' N	73°33' W	E1	49°31' N	01°28' W
Q5	45°32' N	73°21' W	E2	47°40' N	02°44' W
Q6	45°25' N	73°56' W	E3	49°32' N	00°11' E
A1	35°27' N	77°40' W	E4	50°29' N	03°46' W
A2	32°46' N	80°27' W	E5	51°05' N	01°05' E
A3	32°51' N	83°38' W	E6	50°47' N	00°41' W

These seeds were germinated in vermiculite and placed in controlled growth chamber (Convicon, Model 20D0018, Winnipeg, Manitoba) set at 24°C day/19°C night, and a constant 16h photoperiod. The seedling were watered every other day until they reached at least 5 cm in height. Total DNA was isolated from the leaves according to the extraction protocol modified from Hillis et al. (1996). Approximately 300 mg of dry leaves were ground in liquid nitrogen and incubated for 45 min at 65°C in 700 µl of 2 x CTAB isolation buffer: 2% hexadecyltrimethyl ammonium bromide (CTAB), 1.4 M NaCl, 20 mM EDTA, 100 mM Tris-HCL pH 9.0 and 0.2% β-mercaptoethanol.

DNA was then extracted with the same volume of chloroform-isoamyl alcohol (24:1) and centrifuged for 15 min at 7000 g. The aqueous phase was transferred to a new tube and the DNA was precipitated with 1/10 vol. of 3 M Na acetate (pH 5.4) and 1 vol. of isopropanol (-20°C). The tubes were gently mixed and stored at -20°C for 20 min, after which DNA pellets were recovered by centrifugation (5 min at 7000 g), washed twice with 70% ethanol, air dried at room temperature and resuspended in storing solution (1 mM Tris-HCl pH 7.5; 10 mM EDTA). The DNA concentration was determined spectrophotometrically (at 260 and 280 nm) using a Spectronic 1001 PLUS (Milton Roy).

2.2.2-Amplification of RAPD markers

RAPD reactions were performed in 25 µl volumes consisting of 1 X reaction buffer (50 mM KCl; 1.5 mM MgCl₂; 10 mM Tris-HCl, pH 9; Pharmacia), 0.1 mM of each dNTP, 0.2 µM of a 10-mer primer, 0.625 units of *Taq* polymerase (Pharmacia), and 25 ng of template DNA, overlaid with a thin layer of mineral oil to prevent evaporation. All reactions were performed in a Perkin-Elmer Cetus DNA-Thermocycler (model 480), programmed for 45 cycles; *i.e.* 30 sec at 94°C, 30 sec at 36°C, and 2 min at 72°C. The amplification products were separated by electrophoresis on 1.5% agarose gels in a TAE electrophoresis buffer (400 mM Tris; 5 mM sodium acetate; 1 mM EDTA, pH 8.2). Fragment sizes were then determined by comparison with Lambda-EcoRI-Hind III DNA ladder (Promega), and permanent records were obtained by photographing the ethidium bromide-stained gels under UV light using Polaroid 51 high contrast films.

A total of 87 decamer primers (University of British Columbia, Biotechnology Laboratory, N.A.P.S., kit #3) were screened for this study. Seven of these primers (208, 218, 232, 243, 245, 253 and 293) were further selected for analysis on the basis of the banding pattern quality and the number of polymorphic markers obtained.

2.2.3-DNA sequencing

The ITS 1 and *trnL* (UAA) regions were amplified in 1 ml volume consisting of 10X reaction buffer (500 mM KCl; 15 mM MgCl₂; 100 mM Tris-HCl, pH 9.0; Pharmacia), an additional 1.5 mM MgCl₂, 0.2 mM dNTP, 0.2 µM of each primers, 2.5 units of *Taq* polymerase (Pharmacia), and 40 ng of template DNA. All reaction mixtures were sealed with a droplet of mineral oil to prevent evaporation during thermal cycling. The amplification were performed in a Perkin-Elmer Cetus DNA-Thermocycler (model 480) programmed for an initial denaturation of 1 min at 97°C, followed by 30 cycles. Each cycle consisted of a denaturation step at 97°C for 1 min, a primer annealing step at 48°C for 1 min, and a primer extension step at 72°C for 3 min. To allow completion of unfinished DNA strands, a 7 min final extension at 72°C followed the last cycle 30. Amplified fragments were resolved on a 1.5% agarose gel in TAE electrophoresis buffer (400 mM Tris; 5 mM sodium acetate; 1 mM EDTA, pH 8.2). The ITS 1 region was amplified using the "ITS 2" (5' to 3': GCTGCGTTCTTCATCGATGC) and "ITS 5" (5' to 3': GGAAGTAAAAGTCGTA-ACAAGG) primers from White et al. (1990). The *trnL* (UAA) intron was amplified with primers "c" (5' to 3': CGAAATCGGTAGACGCTACG) and "d" (5' to 3':

GGGGATAGAGGGACTTGAAC) from Taberlet et al. (1991). Excess primers and dNTPs were removed from samples by filtration; 100 µl of Direct Purification Buffer (50 mM KCl, 1.5 mM MgCl₂, 10 mM Tris-HCl pH 8.8, 0.1% of triton X-100) and 1 ml of DNA Purification Resin (Promega) were first added to PCR products and filtered through a Wizard Minicolumn (Promega); filters were then washed twice with isopropanol 80%. Purified DNA products were resuspended in pure water and sequenced at the University Core DNA Services (University of Calgary). All sequences have been submitted to GenBank (accession numbers for ITS 1: AF127061-AF127078; *trnL* (UAA): AF127043-AF127060).

2.2.4-Data analysis

RAPD markers were only scored for presence or absence and thus coded as 0-1 variables in a binary matrix. A pairwise distance matrix (D_R) among individuals was then computed using the Nei and Li (1979) coefficient:

$$[1] \quad D_R = 1 - (2 n_{yz} / (n_y + n_z)),$$

where n_{yz} represents the number of bands present in both specimens, n_y is the number of bands only obtained in specimen y , and n_z is the number of bands only obtained in specimen z . This coefficient is appropriate for RAPD data because only the shared presence of bands are accounted for and thus provide consistent estimates of genetic distances (see Landry and Lapointe 1996).

The two sequences were initially checked and corrected using Sequencher 3.0.1 (Gene Codes Corporation). For both introns, the sequence alignment was unambiguous, but was conveniently performed using CLUSTAL W 1.6, and manually corrected to optimize the homology of the nucleotide sites at some specific positions. These alignments were then combined and used to calculate a Jukes-Cantor (1969) corrected distance matrix (D_s) among every pairs of populations:

$$[2] \quad D_s = -3/4 \ln (1 - 4/3 H),$$

where H represents the Hamming distances (number of base differences divided by the length of the sequence).

To evaluate the congruence between RAPD and sequence data, a Mantel (1967) test was computed between the corresponding distance matrices (computations made with the "R" package; Legendre and Vaudor, 1991). A total-evidence matrix was also constructed by combining the two distance matrices. This matrix was obtained from standardized distance matrices (i.e., scaled between zero and one) weighted according to the number of informative sites in each data set (Lapointe et al. 1999). The resulting distances (D_T) are thus computed with a weighted average, where:

$$[3] \quad D_T = (a D_r + b D_s) / (a + b),$$

where a and b represent the number of informative bands and sites respectively observed in RAPD and sequence data, and D_r and D_s represent the corresponding distance matrices.

To depict the relationships among the different populations a Principal Coordinate Analysis (PCoA) was carried out from the combined distances (D_T) using PCoord (version 3.01; Legendre and Vaudor, 1991). Similarly, an analysis of molecular variance (AMOVA; Excoffier et al. 1992) was also performed in Arlequin (version 1.1: Schneider et al. 1997) to test whether the three regions could be discriminated from one another. AMOVA was used to partition the total genetic variance into that occurring within and among regions. It is important to realize, however, that AMOVA will only be valid when Euclidean distances are used. This condition is not satisfied when the Nei-Li coefficient is computed (Gower and Legendre 1986). To overcome this problem, the total-evidence matrix (D_T) was transformed into a corrected matrix (D'_T) to satisfy the Euclidean property (see Legendre and Legendre 1998):

$$[4] \quad D'_T = \sqrt{(D_T^2 + 2c)},$$

where c is the absolute value of the largest negative eigenvalue of a Principal Coordinate Analysis (computations made in DistPCoA). F_{st} values and pairwise F_{st} among the three regions were also computed from these corrected distances to assess the population genetic structure.

2.3 Results

The amplification of genomic DNA from eighteen populations of barnyard grass generated 126 markers ranging in size from 300 to 2500 bp. The number of RAPD fragments obtained for each of the seven primers varied from fourteen to twenty-nine (Table 2). Of these 126 fragments, 115 were polymorphic and provided informative markers for further analyses. All selected primers produced polymorphic banding patterns among and within regions, as only 8.7% of the bands were monomorphic for the three regions.

A nucleotide sequence of 249bps was amplified for the ITS 1 region. The aligned sequences produced twelve variable sites representing ten transitions and two transversions. Similarly, a nucleotide sequence of 443 bps was amplified for the *trnL* (UAA) region and included six variable sites, all representing transversions. The combined sequence of 692 bps revealed eighteen polymorphic sites, which were used to define eight different haplotypes (Table 3). Six of these haplotypes were uniquely represented by single populations, whereas one haplotype was shared by three North American populations (Figure 7). The last and most common haplotype (◆) was observed in nine populations distributed in all three regions

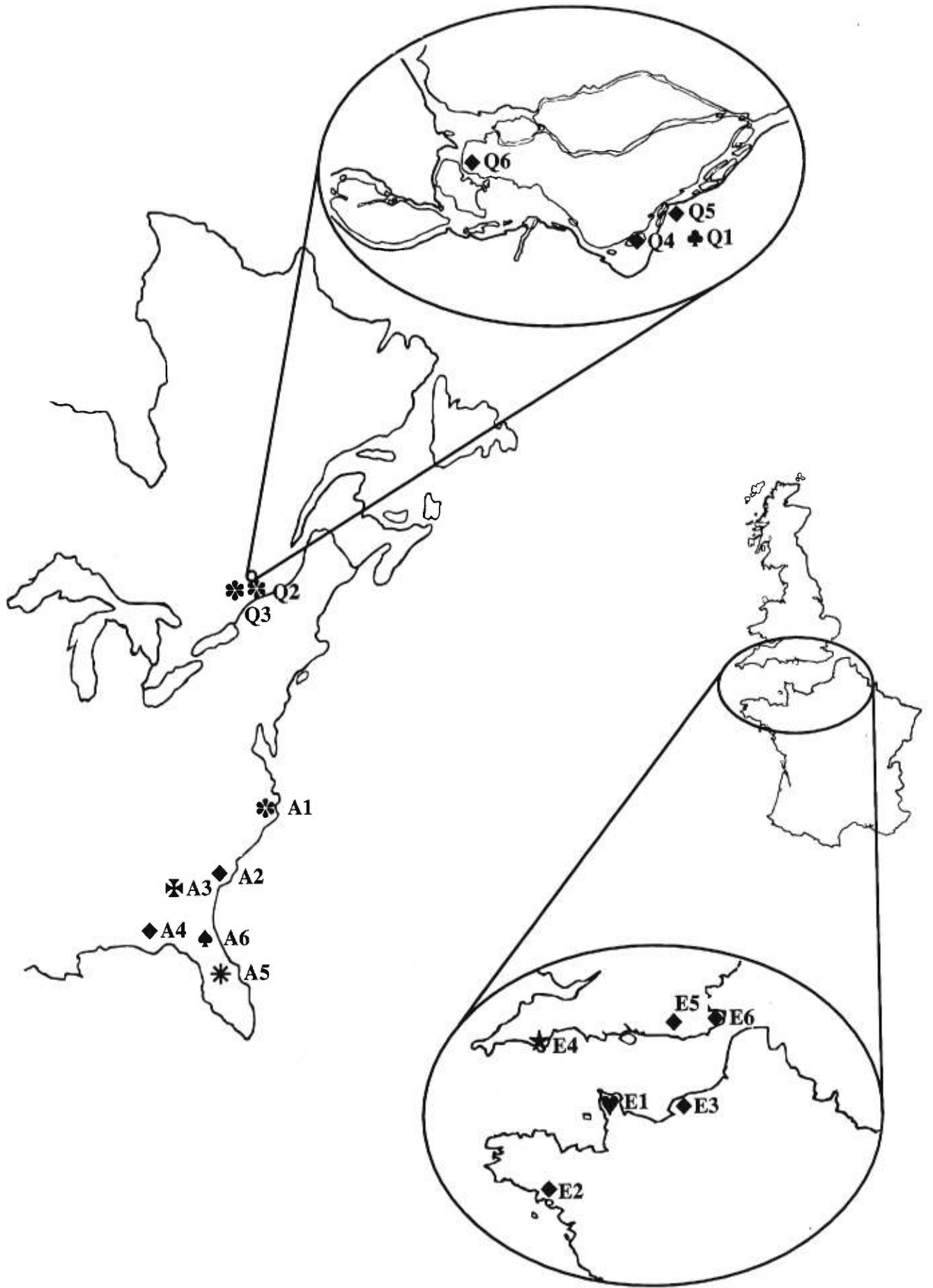
Table II Summary of RAPD results.

Primers	Sequences (5' → 3')	Québec		USA		Europe	
		T [†]	P [‡]	T [†]	P [‡]	T [†]	P [‡]
208	ACGGCCGACC	14	10	14	10	12	5
218	CTCAGCCCAG	19	18	24	23	24	22
232	CGGTGACATC	16	6	15	8	13	4
243	GGTGAACCG	19	11	21	17	16	9
245	CGCGTGCCAG	15	12	15	13	13	9
253	CCGTGCAGTA	14	9	15	11	11	3
293	TCGTGTGCT	14	9	14	11	14	11
	Σ	111	75	118	93	103	63

† Total numbers of markers.

‡ Numbers of polymorphic markers.

Figure 7 Distribution of DNA haplotypes among eighteen populations of *Echinochloa crus-galli*.



To evaluate the congruence of RAPD with sequence data, a Mantel test (1967) was computed by comparing the respective distance matrices (D_r and D_s) computed from each molecular data set. That test proved to be very highly significant ($r = 0.73$, $p < 0.001$, 999 permutations) and allowed us to combine the two data sets in a total-evidence matrix (Table 4). Thereafter, all analyses were computed from the combined data.

An AMOVA was performed to assess the genetic structure of the populations under study. This analysis indicated that most of the variation resided among populations within regions (89.02%), although a significant proportion of the total variance (10.98%) could be attributed to differences among regions. Furthermore, pairwise comparisons indicated that the European populations were significantly different from the populations of North America. On the other hand, the cold-adapted populations of Québec proved to be not statistically different from other populations sampled in other parts of North America (Table 5).

In order to visualize the relationships of populations among and within regions, and to confirm the results of the statistical analyses, a Principal Coordinate Analysis was performed on the total-evidence matrix. The representation of the first three eigenvectors of this ordination accounted for 58.99% of the total variance and clearly discriminated among the populations from the three different regions (Figure 8). Moreover, this analysis supported the conclusion of previous tests indicating that North American populations are more closely-related to each other than they are to European populations.

Table IV Total-evidence distance matrix (D_T). Populations of Eastern Canada (Q), Eastern USA (A), and Western Europe (E).

	Q1	Q2	Q3	Q4	Q5	Q6	A1	A2	A3	A4	A5	A6	E1	E2	E3	E4	E5	E6	
Q1	0.00000																		
Q2	0.35283	0.00000																	
Q3	0.41226	0.11845	0.00000																
Q4	0.22875	0.37018	0.36544	0.00000															
Q5	0.24420	0.32768	0.36968	0.09199	0.00000														
Q6	0.23742	0.35492	0.38621	0.14614	0.11489	0.00000													
A1	0.40297	0.19871	0.20042	0.37797	0.39295	0.40773	0.00000												
A2	0.21759	0.33055	0.37018	0.13835	0.14316	0.10239	0.36029	0.00000											
A3	0.17796	0.40157	0.43312	0.18558	0.16698	0.14863	0.38727	0.13140	0.00000										
A4	0.22176	0.35622	0.39732	0.17751	0.18203	0.16389	0.34283	0.16649	0.13621	0.00000									
A5	0.42087	0.34762	0.35549	0.37722	0.39430	0.41113	0.34410	0.38004	0.40767	0.38391	0.00000								
A6	0.28946	0.40422	0.36472	0.22664	0.21891	0.23582	0.38789	0.21203	0.24888	0.27408	0.40325	0.00000							
E1	0.20107	0.44414	0.44222	0.18273	0.17590	0.16915	0.42880	0.16235	0.10998	0.19986	0.45377	0.22233	0.00000						
E2	0.23681	0.39657	0.42966	0.19411	0.17527	0.16829	0.39239	0.15971	0.17274	0.20796	0.44224	0.24581	0.15920	0.00000					
E3	0.21324	0.38556	0.40639	0.12009	0.11330	0.11845	0.40368	0.12352	0.12411	0.15062	0.44404	0.22055	0.13303	0.17751	0.00000				
E4	0.25985	0.43914	0.42683	0.19126	0.19587	0.16560	0.44472	0.15762	0.18628	0.21688	0.45128	0.24289	0.18397	0.22228	0.10627	0.00000			
E5	0.28156	0.40700	0.43160	0.21782	0.18341	0.21454	0.46204	0.25143	0.25232	0.21921	0.44821	0.28827	0.27378	0.26316	0.18574	0.23448	0.00000		
E6	0.26507	0.37403	0.42036	0.22556	0.18040	0.22234	0.45051	0.22201	0.24740	0.19150	0.40829	0.28031	0.25632	0.19678	0.20703	0.25341	0.10054	0.00000	

Table V Pairwise F_{st} values among regions (upper right) with corresponding probabilities (lower left).

	Québec	USA	Europe
Québec	-	-0.010	0.177
USA	0.444	-	0.168
Europe	0.005	0.003	-

Note: Results based on the corrected total-evidence matrix (Table 4). All tests based on 999 permutations.

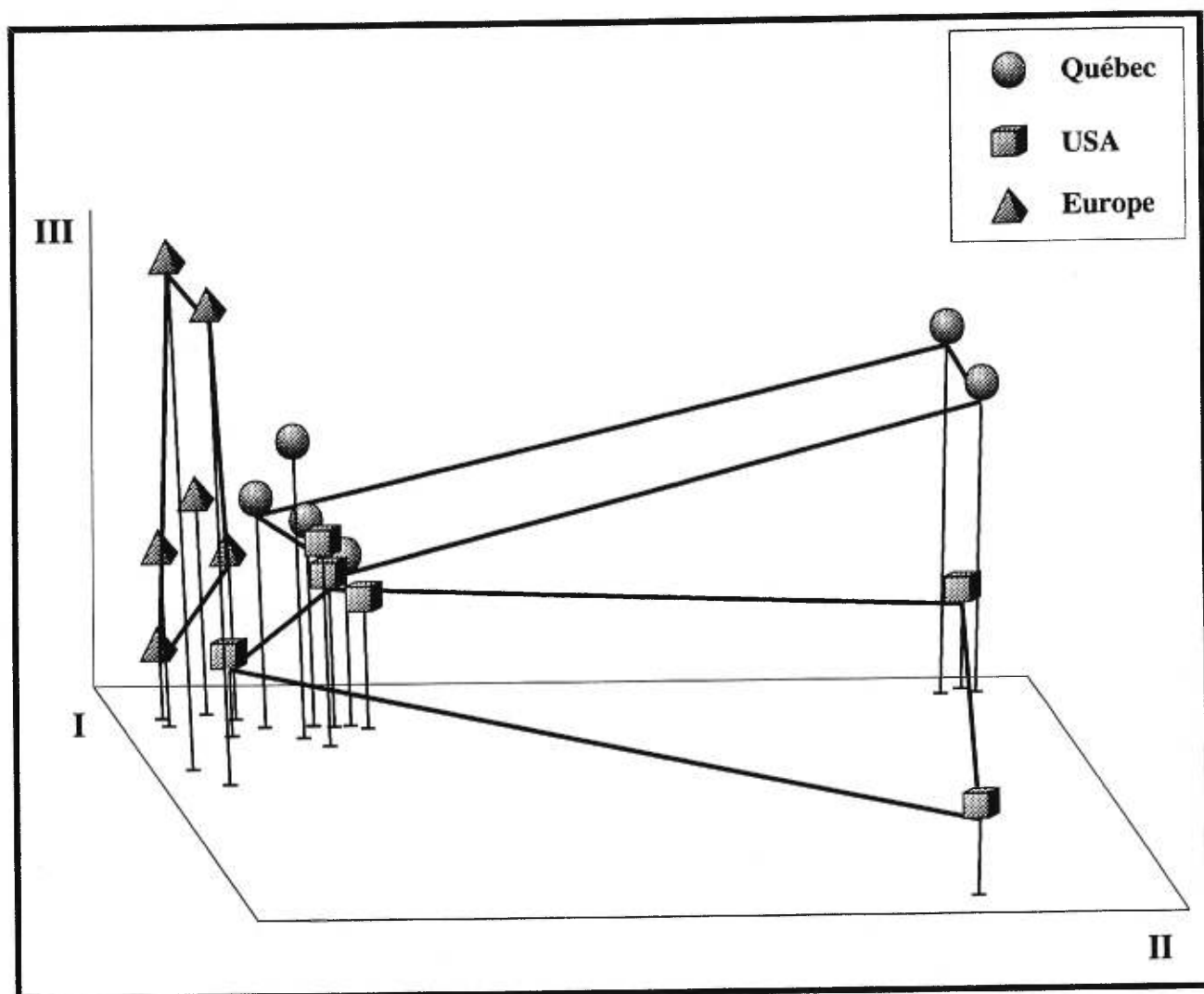


Figure 8 Principal coordinate plot resulting from the analysis of the total-evidence distance matrix. The first three eigenvectors respectively represent 38.82%, 10.38% and 9.79% of the total variance. The populations from each regions are joined in convex polygons to illustrate their separation.

2.4 Discussion

In this survey, we have investigated the origin of cold-adapted populations of *Echinochloa crus-galli* in Eastern Canada. To do so, eighteen populations have been sampled from three regions (Québec, Eastern USA and Western Europe), and compared with respect to their genetic relatedness. We relied on RAPD markers and DNA sequences of ITS 1 and *trnL* (UAA) introns to address two specific hypotheses concerning the introduction of the barnyard grass in the colder climates of North America. On the basis of these molecular data, the first hypothesis of Marie-Victorin (1935) was rejected by our analyses. This implies that the cold-adapted populations of North America are probably not directly derived from European populations. On the other hand, all of our results support the second hypothesis stating that the populations of Eastern Canada are related to other southern North American populations (Simon et al. 1984b; Potvin and Simon 1990).

Our analyses clearly established that all three regions could be discriminated using genetic distances. When a total-evidence matrix was submitted to a Principal Coordinate Analysis, we obtained a clear separation of populations along three dimensions. Surprisingly, this representation also demonstrated that European populations of *Echinochloa crus-galli* were less variable than North American populations. We also observed a reduced polymorphism within Europe for RAPD markers (Europe = 50% of polymorphic markers; Québec = 60%; US = 74%) as well as for nucleotide sequences (Europe = 0.6% of variable sites; Québec = 2.3%; US = 2.2%). These combined sequences provided eight different haplotypes which their

distribution among the three regions revealed that a widespread haplotype may represent the ancestral type. One haplotype shared by three populations of North America further indicated that the northern populations of barnyard grass could well be derived from warm-adapted populations which may have migrated from the southern region of North America or even from subtropical areas of Central America.

Genetic variation of plant species is determined by a number of different factors, including reproductive mode (sexual vs. clonal), breeding system (outcrossing vs. selfing), life-history traits, population history, distribution range, and selective constraints (Loveless and Hamrick 1984; Gugerli et al. 1999). These factors are also mainly responsible for how the genetic variation is partitioned among and within populations. The high degree of genetic variation detected among populations of *Echinochloa crus-galli* (89.02%) was thus expected given the breeding system of the barnyard grass, i.e., self pollinated, small-seeded, highly fecund generalist, and capable of colonizing a broad spectrum of wet disturbed land, both agricultural and ruderal (Barrett and Wilson 1981). These results are also in agreement with other studies that showed that a significantly larger fraction of the variance is partitioned among populations in annual selfing species compared to outcrossing species (Hamrick and Godt 1990; Hamrick 1991).

For the populations under study, genetic and geographic distances among populations were not significantly correlated ($r = 0.03$, $p < 0.269$, 999 permutations). Similar results have also been reported in *Oenothera biennis* (Levin 1975) and *Impatiens capensis* (Knight and Waller 1987). These species, like *Echinochloa crus-*

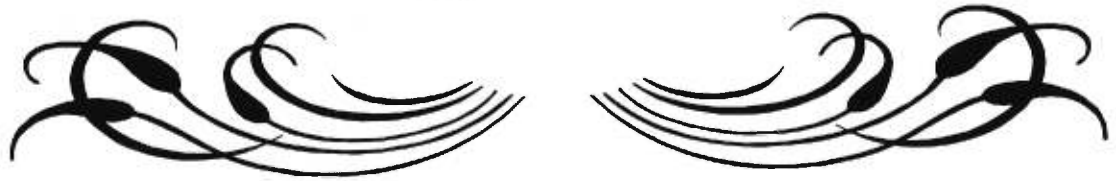
galli, are annual self-fertilized plants which occur in ephemeral habitats. This suggests that disturbed habitats experiencing frequent extinction and colonization may support populations that differentiate more rapidly. In such cases, a clear source-derivative relationship within a local area may not be maintained (Barrett and Husband 1989).

In the present study, we relied on two different molecular data sets, including two nucleotide sequences, to assess the genetic structure among populations and test specific hypotheses. A distance approach (see Lapointe et al., 1999) was used to combine the data but identical results were obtained by combining the raw data matrices prior to computing distances. Interestingly, separate analyses of these independent data sets also provided identical results (not shown). This implied that RAPD markers and nucleotide sequences convey the same information with respect to the relatedness of European and North American populations, as shown by the Mantel test. As advocated by the proponent of data combination (Kluge, 1989), a total-evidence matrix was thus computed to further test this hypothesis. The same conclusion was upheld by these combined analyses.

2.5 Conclusion

In conclusion, our results support the hypothesis that cold-adapted *Echinochloa crus-galli* populations now distributed in Eastern Canada (Québec) originated from the southern part of the North America rather than from Europe. Our data also indicates that the adaptation to these cold temperatures occurred in less than 400 years. The geomorphological constraints in North Eastern Canada during the more recent quaternary period, combined with the ecological requirements of this weed species, could not have been met before the opening of agricultural lands and the introduction of intensive crop practices during the mid-17th century. It thus appears that barnyard grass reached Québec rather recently, and that Marie-Victorin was wrong in postulating that cold-adapted populations of North America were related to European populations.

Conclusion



Les résultats obtenus lors de cette étude basée sur des marqueurs RAPD et l'analyse de séquences d'ADN nous ont permis d'établir l'origine des populations d'*Echinochloa crus-galli* peuplant les régions tempérées froides de l'est du Canada. Ces populations proviendraient de plantes originaires de l'Amérique Centrale ou du sud de l'Amérique du Nord. Celles-ci auraient effectué une migration septentrionale lors de l'implantation de l'agriculture sur la côte est américaine. De plus, nos données indiquent que l'adaptation thermique des enzymes du système photosynthétique en C₄ du sous-groupe NADP-ME et des enzymes du système de protection contre les formes toxiques de l'oxygène s'est effectuée en moins de 400 ans chez *Echinochloa crus-galli*. Il nous apparaît donc que l'explication postulée par Marie-Victorin quant à l'origine européenne des populations du Québec n'est pas corroborée par nos résultats.

Néanmoins, ces deux hypothèses quant à l'origine des populations de pied-de-coq retrouvées au Québec ne sont pas exhaustives. En effet, ces plantes pourraient provenir de l'Asie orientale. Elles auraient été introduites en Amérique du Nord, il y a très longtemps, par les amérindiens, lorsque mélangées avec les graines de leurs cultures. Une autre éventualité serait que les populations européennes soient issues de populations natives des régions tropicales et subtropicales de l'Amérique, en raison du commerce maritime entre ces deux continents. Ceci pourrait expliquer la si grande homogénéité des populations d'Europe d'*Echinochloa crus-galli*.

Afin de tester ces autres hypothèses, il serait impératif d'augmenter le nombre de populations échantillonnées et d'élargir la zone biogéographique couverte (en incluant des populations d'Asie, par exemple). L'utilisation d'autres techniques moléculaires pourrait également s'avérer utile, comme l'analyse d'ISSR (InterSimple Sequence Repeat), les microsatellites, les RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) ou encore l'étude d'autres séquences d'ADN. Ces voies pourraient élucider le mystère quant à l'origine des populations d'*Echinochloa crus-galli* dans les régions froides de l'Amérique du Nord.

Références



- Arnheim, N.** (1983) Concerted evolution of multigene families. Dans: Nei, M. et Koehn, R., eds. Evolution of genes and proteins. Sinauer Associates Inc., Sunderland, Massachusetts. pp. 38-61.
- Baldwin, B.G.** (1992) Phylogenetic utility of the internal transcribed spacers of nuclear ribosomal DNA in plants: an example from the Compositae. *Mol. Phylogenet. Evol.* **1**: 3-16.
- Baldwin, B.G.** (1993) Molecular phylogenetics of *Calycadenia* (Compositae) based on ITS sequences of nuclear ribosomal DNA: chromosomal and morphological evolution reexamined. *Am. J. Bot.* **80**: 222-238.
- Barrett, S.C.H. et Husband, B.C.** (1989) The genetics of plant migration and colonization. Dans: Brown, A.H.D., Clegg, M.T., Kahler, A.L. et Weir, B.S., eds. Plant population genetics, breeding, and genetic resources. Sinauer Associates Inc., Sunderland, Massachusetts. pp. 254-277.
- Barrett, S.C.H. et Seaman, D.** (1980) The weed flora of Californian rice fields. *Aquat. Bot.* **9**: 351-376.
- Barrett, S.C.H. et Wilson, B.F.** (1981) Colonizing ability in the *Echinochloa crus-galli* complex (barnyard grass). I. Variation in life history. *Can. J. Bot.* **59**: 1844-1860.
- Barrett, S.C.H. et Wilson, B.F.** (1983) Colonizing ability in the *Echinochloa crus-galli* complex (barnyard grass). II. Seed biology. *Can. J. Bot.* **61**: 556-562.
- Bowditch, B.M., Albright, D.G., Williams, J.G.K. et Braun, M.J.** (1993) Use of Randomly Amplified Polymorphic DNA markers in comparative genome studies. *Methods Enzymol.* **224**: 294-308.

- Brauner, S., Crawford, D.J. et Stuessy, T.F.** (1992) Ribosomal DNA and RAPD variation in the rare plant family *Lactoridaceae*. *Am. J. Bot.* **79**: 1436-1439.
- Caldwell, M.M., Osmond, C.B. et Nott, D.** (1977) C₄ pathway photosynthesis at low temperature in cold-tolerant *Atriplex* species. *Plant Physiol.* **60**: 157-164.
- Campbell, W.H. et Black, C.C.** (1982) Cellular aspects of C₄ leaf metabolism. Dans: Creasy, L.L. et Hrazdina, G., eds. Cellular localisation in plant metabolism. Recent advances in phytochemistry. Plenum Press, New York, New York. Vol 16, pp: 223-248.
- Collins, R.P. et Jones, M.B.** (1985) The influence of climatic factors on the distribution of C₄ species in Europe. *Vegetatio*, **64**: 121-129.
- Crawford, D.J., Esselman, E.J., Windus, J.L. et Pabin, C.S.** (1998) Genetic variation in running buffalo clover (*Trifolium stoloniferum*: Fabaceae) using random amplified polymorphic DNA markers (RAPDs). *Annals Missouri Bot. Garden*, **85**: 81-89.
- Crawford, D.J., Stuessy, T.F., Cosner, M.B., Haines, D.W., Wiens, D. et Penaillo, P.** (1994) *Lactoris fernandeziana* (Lactoridaceae) on the Juan Fernandez Islands: allozyme uniformity and field observations. *Conserv. Biol.* **8**: 277-280.
- De Greef, B. et Triest, L.** (1999) The use of random amplified polymorphic DNA (RAPD) for hybrid detection in *Scirpus* from the river Schelde (Belgium). *Mol. Ecol.* **8**: 379-386.

- Demesure, B., Sodzin, N. et Petit, R.J.** (1995) A set of universal primers for amplification of polymorphic non-coding regions of mitochondrial and chloroplast DNA in plants. *Mol Ecol.* **4**: 129-131.
- Doliner, L.H. et Jolliffe, P.A.** (1979) Ecological evidence concerning the adaptive significance of the C₄ dicarboxylic acid pathway of photosynthesis. *Oecologia*, **38**: 23-34.
- Dubuc, M., Lapointe, L. et Simon, J.-P.** (1988) Kinetic properties of NADP-malic enzyme in two populations of the C₄ weeds species *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv. (Poaceae) from sites of contrasting climates. *Funct. Ecol.* **2**: 353-362.
- Dumolin-Lapegue, S., Pemonge, M.-H. et Petit, R.J.** (1997) An enlarged set of consensus primers for the study of organelle DNA in plants. *Mol. Ecol.* **6**: 393-397.
- Ehleringer, J.R., Cerling, T.E. et Helliker, B.R.** (1997) C₄ photosynthesis, atmospheric CO₂ and climate. *Oecologia*, **112**: 285-299.
- Ehleringer, J.R. et Monson, R.K.** (1993) Evolutionary and ecological aspects of photosynthetic pathway variation. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* **24**: 411-439.
- Ehleringer, J.R., Sage, R.F., Flannagan, L.B. et Pearcy, R.W.** (1991) Climate change and evolution of C₄ photosynthesis. *Trends Ecol. Evol.* **6**: 95-99.
- Ellstrand, N.C. et Roose, M.L.** (1987) Patterns of genotypic diversity in clonal plant species. *Am. J. Bot.* **74**: 123-131.

- Esselman, E.J., Jianqiang, L., Crawford, D.J., Windus, J.L. et Wolfe, A.D.** (1999) Clonal diversity in the rare *Calamagrostis proteri* ssp. *insperata* (Poaceae): comparative results for allozymes and random amplified polymorphic DNA (RAPD) and intersimple sequence repeat (ISSR) markers. *Mol. Ecol.* **8**: 443-451.
- Excoffier, L., Smouse, P. E. et Quattro, J. M.** (1992) Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, **131**: 479-491.
- Ferris, C., Oliver, R.P., Davy, A.J. et Hewitt, G.M.** (1993) Native oak chloroplasts reveal an ancient divide across Europe. *Mol. Ecol.* **2**: 337-344.
- Gabrielsen, T.M., Brochmann, K., Jakobsen, K.S. et Brochmann, C.** (1997) Glacial survival does not matter: RAPD phylogeography of Nordic *Saxifraga oppositifolia*. *Mol. Ecol.* **6**: 831-842.
- Gielly, L. et Taberlet, P.** (1994a) Chloroplast DNA polymorphism at the intrageneric level: implications for the establishment of plant phylogenies. *C. R. Acad. Sci. Sér. III*, **317**: 685-692.
- Gielly, L. et Taberlet, P.** (1994b) The use of chloroplast DNA to resolve plant phylogenies: non-coding versus *rbcL* sequences. *Mol. Biol. Evol.* **11**: 769-777.
- Gould, F.W., Ali, M.A. et Fairbrothers, D.E.** (1972) A revision of *Echinochloa* in the United States. *Am. Midl. Nat.* **87**: 36-59.
- Gower, J.C. et Legendre, P.** (1986) Metric and Euclidean properties of dissimilarity coefficients. *J. Classif.* **3**: 5-48.

- Gugerli, F., Eichenberger, K. et Schneller, J.J.** (1999) Promiscuity in populations of the cushion plant *Saxifraga oppositifolia* in the Swiss Alps as inferred from random amplified polymorphic DNA (RAPD). *Mol. Ecol.* **8**: 453-461.
- Haig, S.M., Bowman, R. et Mullins, T.D.** (1996) Population structure of Red-Cockaded Woodpeckers in South Florida - RAPDs revisited. *Mol. Ecol.* **5**: 725-734.
- Haig, S.M., Rhymer, J.M. et Heckel, D.G.** (1994) Population differentiation in randomly amplified polymorphic DNA of Red-Cockaded Woodpeckers *Picoides borealis*. *Mol. Ecol.* **3**: 581-593.
- Hakam, N. et Simon, J.-P.** (1996) Effect of low temperatures on the activity of oxygen-scavenging enzymes in two populations of the C₄ grass *Echinochloa crus-galli*. *Physiol. Plant.* **97**: 209-216.
- Hakam, N. et Simon, J.-P.** (1997) Protective system against photoreduced species of dioxygen in two populations of the C₄ grass *Echinochloa crus-galli* (barnyard grass; Poaceae) originating from contrasting climatic regions. *Can. J. Bot.* **75**: 310-319.
- Hamrick, J.L.** (1991) Isozymes and the analysis of genetic structure in plant populations. Dans: Soltis, D.E. et Soltis, P.S., eds. *Isozymes in plant biology*. Dioscorides Press, Portland, Oregon. pp. 87-105.
- Hamrick, J.L. et Godt, M.J.W.** (1990) Allozyme diversity in plant species. Dans: Brown, A.H.D., Clegg, M.T., Kahler, A.L. et Weir, B.S., eds. *Plant population genetics, breeding, and genetic resources*. Sinauer Associates Inc., Sunderland, Massachusetts. pp. 43-63.

- Harding, J. et Mankinen, C.B.** (1972) Genetics of *Lupinus*. IV. Colonization and genetic variability in *Lupinus succulentus*. Theor. Appl. Genet. **42**: 267-271.
- Hartley, W.** (1958) Studies on the origin, evolution, and distribution of the Gramineae. Aust. J. Bot. **6**: 343-357.
- Hatch, M.D. et Burnell, J.** (1990) Carbonic anhydrase activity in leaves and its role in the first step of C₄ photosynthesis. Plant Physiol. **93**: 825-828.
- Hatch, M.D. et Slack, C.R.** (1970) Photosynthetic CO₂-fixation pathways. Ann. Rev. Plant. Physiol. **21**: 141-162.
- Hattersley, P.W.** (1983) The distribution of C₃ and C₄ grasses in Australia in relation to climate. Oecologia, **57**: 113-128.
- Hickey, R.J. et Vincent, M.A.** (1992) Application of isozyme techniques in native North American *T. stoloniferum* species. Dans: Woffard, D.S. et Quesenberry, K.H., eds. Proceedings of the twelfth *Trifolium stoloniferum* conference, University of Florida, Gainesville. pp. 15-17.
- Hickey, R.J., Vincent, M.A. et Guttman, S.I.** (1991) Genetic variation in running buffalo clover (*T. stoloniferum*, Fabaceae). Conserv. Biol. **5**: 309-316.
- Hillis, D.M., Mable, B.K., Larson, A., Davis, S.K., et Zimmer, E.A.** (1996) Nucleic acids IV: sequencing and cloning. Dans: Hillis, D.M., Moritz, C et Mable, B.K., eds. Molecular systematics, second edition, Sinauer Associates inc., Sunderland, Massachusetts. pp. 321-381.
- Hitchcock, A.S.** (1971) Manual of the Grasses of the United States. Dover, New York, New York.

- Holm, L.G., Plucknett, D.L., Pancho, J.V. et Herberger, J.P.** (1977) The world's worst weeds: distribution and biology. University Press Hawaii, Honolulu.
- Huff, D.R., Quinn, J.A., Higgins, B. et Palazzo, A.J.** (1998) Random amplified polymorphic DNA (RAPD) variation among native little bluestem [*Schizachyrium scoparium* (Michx.) Nash] populations from sites of high and low fertility in forest and grassland biomes. *Mol. Ecol.* **7**: 1591-1597.
- Isabel, N., Beaulieu, J., Thériault, P. et Bousquet, J.** (1999) Direct evidence for biased gene diversity estimates from dominant random amplified polymorphic DNA (RAPD) fingerprints. *Mol. Ecol.* **8**: 477-484.
- Jukes, T.H. et Cantor, C.R.** (1969) Evolution of protein molecules. Dans: Munro, H.N., eds. Mammalian protein metabolism. Academic Press, New York, New York. pp. 21-132.
- Kluge, A.G.** (1989) A concern for evidence and a phylogenetic hypothesis of relationships among *Epicrates* (Boidae, Serpentes). *Syst. Biol.* **38**: 7-25.
- Knight, S.E. et Waller, D.M.** (1987) Genetic consequences of outcrossing in the cleistogamous annual, *Impatiens capensis*. I. Population-Genetic structure. *Evolution*, **41**: 969-978.
- Lamoureux, G., Allard, C., Durand, L., Houle, G., Lacombe, C., Lalonde, N., Morin, A., Provost, C. et Venne, L.** (1975) Plantes sauvages printanières. Ed. Fleurbec, Saint-Henri-de-Lévis, Québec.
- Landry, P.-A. et Lapointe, F.-J.** (1996) RAPD problems in phylogenetics. *Zool. Scr.* **25**: 283-290.

- Lapointe, F.-J., Kirsh, J.A.W. et Hutcheon, J.M.** (1999) Total evidence, consensus, and bat phylogeny: a distance-based approach. *Mol. Phylogenet. Evol.* **11**: 55-66.
- Lapointe, L., Dubuc, M.C., Vairinhos, F. et Simon, J.-P.** (1989) Thermal effects on kinetic properties of NADP⁺-malate dehydrogenase in two ecotypes of the C₄ grass weed *E. crus-galli* (L.) Beauv. from sites of contrasting climates. *Funct. Ecol.* **3**: 709-717.
- Legendre, P. et Legendre, L.** (1998) *Numerical Ecology*, second English edition. Elsevier Science Publishers B.V. Amsterdam, Pays-Bas.
- Legendre, P. et Vaudor., A.** (1991) *The R package: multidimensional analysis, spatial analysis*. Distribué par les auteurs, Université de Montréal, Montréal, Québec. [Http://alize.ere.umontreal.ca/~casgrain/fr/labo/R/v3/index.html](http://alize.ere.umontreal.ca/~casgrain/fr/labo/R/v3/index.html).
- Lemée, G.** (1967) *Précis de biogéographie*. Masson & Cie, Paris, France.
- Levin, D.A.** (1975) Genetic heterozygosity and protein polymorphism among local populations of *Oenothera biennis*. *Genetics*, **79**: 477-491.
- Levy, F., Antonovics, J., Boyton, J.E. et Gilham, N.W.** (1996) A population genetic analysis of chloroplast DNA in *Phacelia*. *Heredity*, **76**: 143-155.
- Long, S.P.** (1983) C₄ photosynthesis at low temperatures. *Plant Cell Environ.* **6**: 345-363.
- Long, S.P. et Woolhouse., H.W.** (1978) The response of net photosynthesis to light and temperature in *Spartina townsendii* (*sensu lato*), a C₄ species from a cool temperate climate. *J. Exp. Bot.* **31**: 813-819.

- Loveless, M.D. et Hamrick, J.L.** (1984) Ecological determinants of genetic structure in plant populations. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* **15**: 65-95.
- Lynch, M. et Milligan, B.G.** (1994) Analysis of population genetic structure with RAPD markers. *Mol. Ecol.* **3**: 91-99.
- Mantel, N.** (1967) The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Res.* **27**: 209-220.
- Marie-Victorin, Frère É.C.** (1935) Flore laurentienne. Imprimerie de La Salle, Montréal, Québec.
- Maun, M.A. et Barrett, S.C.H.** (1986) The biology of Canadian weeds. 77. *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv. *Can. J. Plant Sci.* **66**: 739-759.
- Nei, M et Li, W.H.** (1979) Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **76**: 5269-5273.
- Nelson, T. et Langdale, J.A.** (1992) Developmental genetics of C₄ photosynthesis. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **43**:25-47.
- Öquist, G.** (1983) Effects of low temperature on photosynthesis. *Plant Cell Environ.* **6**: 281-300.
- Palmer, J.D.** (1992) Mitochondrial DNA in plant systematics: applications and limitations. Dans: Soltis, P.S., Soltis, D.E. et Doyle, J.J., eds. *Molecular systematics of plants*. Chapman and Hall, New York, New York. pp. 36-49.

- Polunin, N.** (1967) *Eléments de géographie botanique*. Gauthier-Villars, Paris, France.
- Potvin, C.** (1985) Responses of two grasses to CO₂ enrichment and low temperature: implications for the biogeographical distribution of C₄ plants. Thèse Ph.D., Duke University. Durham, N.C. University Microfilm International, Ann Arbor, Mich. Publication n°: 8523043 (résumé 4611).
- Potvin, C.** (1986) Biomass allocation and phenological differences among southern and northern populations of the C₄ grass *Echinochloa crus-galli*. *J. Ecol.* **74**: 915-923.
- Potvin, C. et Simon, J.-P.** (1990) The evolution of cold temperature adaptation among populations of a widely distributed C₄ weed: barnyard grass. *Evol. Trends Plants*, **4**: 98-105.
- Potvin, C., Simon, J.-P. et Strain BR.** (1986) Effects of low temperature on the photosynthetic metabolism of the C₄ grass *Echinochloa crus-galli*. *Oecologia*, **69**: 499-501.
- Potvin, C. et Strain, B.R.** (1985a) Effects of CO₂ enrichment and temperature on growth in two C₄ weeds, *Echinochloa crus-galli* and *Eleusine indica*. *Can. J. Bot.* **63**: 1495-1499.
- Potvin, C. et Strain, B.R.** (1985b) Photosynthetic response to growth temperature and CO₂ enrichment in two species of C₄ grasses. *Can. J. Bot.* **63**: 483-487.
- Potvin, C., Strain, B.R. et Goeschl, J.D.** (1985) Low night temperature effect on growth in two C₄ grasses. *Oecologia*, **67**: 305-309.

- Rathnam, C.K.M. et Edwards, G.E.** (1975) Intracellular localization of certain photosynthetic enzymes in bundle sheath cells of plants possessing the C₄ pathway of photosynthesis. *Arch. Biochem. Biophys.* **171**: 214-225.
- Richter, G.** (1993) *Métabolisme des végétaux: physiologie et biochimie*. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, Lausanne, Suisse.
- Rieseberg, L.H.** (1996) Homology among RAPD fragments in interspecific comparisons. *Mol. Ecol.* **5**: 99-106.
- Robert, G., Vezeau, M.-C. et Simon, J.-P.** (1983) Adaptation and acclimation of higher plants at the enzyme level: thermostability of phosphoenolpyruvate carboxylase of populations of a weedy C₄ grass species, *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv. *Photosynthetica*, **17**: 557-565.
- Rouleau, E. et Lamoureux, G.** (1992) *Atlas des plantes vasculaires de l'île de Terre-Neuve et des îles de Saint-Pierre et Miquelon*. Ed. Fleurbec, Saint-Henri-de-Lévis, Québec.
- Salisbury, F.B. et Ross, W.C.** (1992) *Plant physiology*, fourth edition. Wadsworth Publishing Company, Belmont, California.
- Sauer, J.D.** (1988) *Plant migration: the dynamics of geographic patterning in seed plant species*. University of California Press, Los Angeles, California.
- Schaal, B.A., Hayworth, D.A., Olsen, K.M., Rauscher, J.T. et Smith, W.A.** (1998) Phylogeographic studies in plants: problems and prospects. *Mol. Ecol.* **7**: 465-474.

- Schneider, S., Kueffer, J.M., Roessli, D. et Excoffier, L.** (1997) Arlequin ver. 1.1: A software for population genetic data analysis. Distribué par les auteurs, Laboratoire de génétique et Biométrie, Université de Genève, Suisse. [Http://anthropologie.inige.ch/arlequin/](http://anthropologie.inige.ch/arlequin/)
- Simon, J.-P.** (1987) Differential effects of chilling on the activity of C₄ enzymes in two ecotypes of *Echinochloa crus-galli* from sites of contrasting climates. *Physiol. Plant.* **69**: 205-210.
- Simon, J.-P.** (1996) Molecular forms and kinetic properties of pyruvate P_i dikinase from two populations of barnyard grass (*Echinochloa crus-galli*) from sites of contrasting climates. *Aust. J. Plant Physiol.* **23**: 191-199.
- Simon, J.-P. et Hatch, M.D.** (1994) Temperature effects on the activation and inactivation of pyruvate P_i dikinase in two populations of the C₄ weed *Echinochloa crus-galli* (barnyard grass) from sites of contrasting climates. *Aust. J. Plant Physiol.* **21**: 463-473.
- Simon, J.-P., Potvin, C. et Strain, B.R.** (1984a) Effects of temperature and CO₂ enrichment on kinetics properties of phosphoenolpyruvate carboxylase in two ecotypes of *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv., a C₄ weed grass species. *Oecologia*, **63**: 145-152.
- Simon, J.-P., Potvin, C. et Strain, B.R.** (1989a) Effects of temperature and CO₂ enrichment on kinetic properties of NADP⁺-malate dehydrogenase in two

ecotypes of barnyard grass (*Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv.) from contrasting climates. *Oecologia*, **81**: 138-144.

Simon, J.-P., Péloquin, M.-J. et Charest, C. (1989b) Molecular forms and kinetic properties of malate dehydrogenase and glutamate oxaloacetate transaminase in Glenlea and Kharkov wheat cultivars. *Env. J. Exp. Bot.* **29**: 445-456.

Simon, J.-P., Robert, G. et Vezeau, M.-C. (1984b) Adaptation and acclimation of higher plants at the enzyme level: kinetic properties of phosphoenolpyruvate carboxylase of populations of a weedy C₄ grass species, *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv. *Photosynthetica*, **18**: 391-401.

Simon, J.-P. et Vairinhos, F. (1991) Thermal stability and kinetic properties of NADP⁺-malate dehydrogenase isomorphs in two populations of the C₄ weed species *Echinochloa crus-galli* (barnyard grass) from sites of contrasting climates. *Physiol. Plant.* **83**: 216-224.

Soltis, P.S. et Kuzoff, R.K. (1993) ITS sequence variation within and among populations of *Lomatium grayi* and *L. laevigatum* (Umbelliferae). *Mol. Phylogenet. Evol.* **2**: 166-170.

Soltis, D.E., Soltis, P.S. et Milligan, B.G. (1992) Intraspecific chloroplast DNA variation: systematic and phylogenetic implications. Dans: Soltis, P.S., Soltis, D.E. et Doyle, J.J., eds. *Molecular systematics of plants*. Chapman and Hall, New York, New York. pp. 117-150.

Stewart, C.N. et Excoffier, L. (1996) Assessing population structure and variability with RAPD data: application to *Vaccinium macrocarpon* (American Cranberry). *J. Evol. Biol.* **9**: 1153-171.

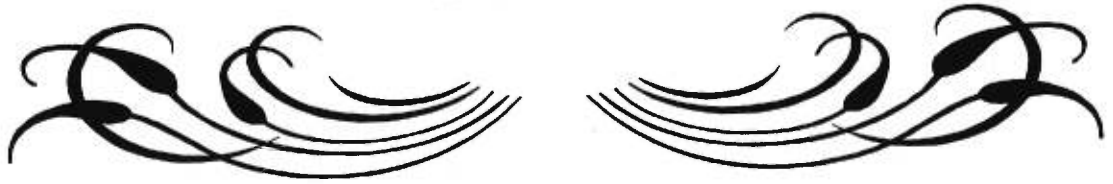
- Stowe, L.G. et Teeri, J.A.** (1978) The geographic distribution of C₄ species of the Dicotyledonae in relation to climate. *Am. Nat.* **112**: 609-623.
- Taberlet, P., Gielly, L., Pautou, G. et Bouvet, J.** (1991) Universal primers for amplification of three non-coding region of chloroplast DNA. *Plant Mol. Biol.* **17**: 1105-1109.
- Teeri, J.A.** (1979) The climatology of the C₄ photosynthetic pathway. Dans: Solbrig, O.T., Jain, S., Johnson, G.B. et Raven, P.H., eds. *Topics in plant population biology*. Columbia University Press, New York, New York. pp. 356-374.
- Teeri, J.A. et Stowe, L.G.** (1976) Climatic patterns and the distribution of C₄ grasses in North America. *Oecologia*, **23**: 1-12.
- Teeri, J.A., Stowe, L.G. et Livingstone, D.A.** (1980) The distribution of C₄ species of the Cyperaceae in North America in relation to climate. *Oecologia*, **47**: 307-310.
- Thomas, S.M. et Long, S.P.** (1983) C₄ photosynthesis in *Spartina townsendii* at low and high temperatures. *Planta*, **142**: 171-174.
- Tieszen, L.L., Senyimba, M.M., Imbamba, S.K. et Troughton, J.H.** (1979) The distribution of C₃ and C₄ grasses and carbon isotope discrimination along an latitudinal and moisture gradient in Kenya. *Oecologia*, **37**: 337-350.
- Vairinhos, F. et Simon, J.-P.** (1990) Purification and molecular forms of NADP⁺-malate dehydrogenase from two populations of C₄ weed *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv. (Poaceae). *Plant Sci.* **71**: 173-177.

- van de Zande, L. et Bijlsma, R.** (1995) Limitations of the RAPD technique in phylogeny reconstruction in *Drosophila*. *J. Evol. Biol.* **8**: 645-656.
- Welsh, J. et McClelland, M.** (1990) Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Res.* **18**: 7213-7218.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S. et Taylor, J.** (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. Dans: Innis, M., Gelfand, D., Sninsky, J. et White, T.J., eds. *PCR protocols: a guide to methods and applications*, Academic Press, San Diego. pp. 315-322.
- Williams, J.G.K., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A. et Tingey, S.V.** (1990) DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful genetic markers. *Nucleic Acids Res.* **18**: 6531-6535.
- Wolfe, A.D. et Elisens W.J.** (1993) Diploid hybrid speciation in *Penstemon* (Scrophulariaceae) revisited. *Am. J. Bot.* **80**: 1082-1094.
- Wolfe, A.D. et Liston, A.** (1998) Contribution of the polymerase chain reaction to plant systematics. Dans: Soltis, D.E., Soltis, P.S. et Doyle, J.J., eds. *Molecular Systematics of plants II: DNA sequencing*, Kluwer, New York, New York. pp. 43-86.
- Wolfe, A.D., Xiang, Q.-Y. et Kephart, S.R.** (1998a) Diploid hybrid speciation in *Penstemon* (Scrophulariaceae). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**: 5112-5115.
- Wolfe, A.D., Xiang, Q.-Y. et Kephart, S.R.** (1998b) Assessing hybridization in natural populations of *Penstemon* (Scrophulariaceae) using hypervariable inter-simple sequence repeat markers. *Mol. Ecol.* **7**: 1107-1125.

Yabuno, T. (1966) Biosystematic study of the genus *Echinochloa*. Jpn. J. Bot. **19**: 277-323.

Zimmer, E.A., Martin, S.L., Beverley, S.M., Kan, Y.W. et Wilson, A.C. (1980) Rapid duplication and loss of genes coding for the alpha chains of hemoglobin. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **77**: 2158-2162.

Annexes



Annexe 1: Sites d'échantillonnage des populations étudiées.**Québec:**

Q1: Blvd Industriel face au 2511 A, Chambly, Québec, Canada.

Q2: Sortie de l'autoroute 10 face au Pizza Hut, Bromont, Québec, Canada.

Q3: Ferme Rosselet, route St-Césaire-Farnham, Québec, Canada.

Q4: Blvd Île des Soeurs, Île des Soeurs, Québec, Canada.

Q5: Champ en friche le long de l'autoroute 20, St-Bruno, Québec, Canada.

Q6: Station expérimentale du campus McDonald, Université McGill, Ste-Anne-de-Bellevue, Québec, Canada.

États-Unis d'Amérique:

A1: Champ en friche sur le chemin vers NewBern, Snowhill, Caroline du Sud, États-Unis d'Amérique.

A2: Sortie sud de la ville de Jacksonboro, Caroline du Sud, États-Unis d'Amérique.

A3: 3 km au sud-est de Macon, Géorgie, États-Unis d'Amérique.

A4: Campus de l'Université de Floride, Tallahassee, Floride, États-Unis d'Amérique.

A5: Champ en friche en bordure de la route à l'entrée d'Ocala, Floride, États-Unis d'Amérique.

A6: White Springs, Floride, États-Unis d'Amérique.

Europe:

E1: Route D-146 vers Planques St-Joseph près de Valognes, Région de Cherbourg, France.

E2: Route D-774 entre St-Nazaire et Vannes, France.

E3: Route de Montivilliers vers Le Havre, 5 km de Montivillers, région du Havre, France.

E4: 6 km de Buckfatleigh vers Plymouth, Angleterre, Grande-Bretagne.

E5: 3,8 km de Hythe vers Romney, région de Dover, Angleterre, Grande-Bretagne.

E6: Entrée d'un champ de maïs, 1,8 km au Nord de Bognor Regis route se dirigeant vers Palborough, région de Chichester-Brighton, Angleterre, Grande-Bretagne.

Annexe 2: Distances géographiques (km) entre les populations du Québec (Q), du sud de l'Amérique du Nord (A) et d'Europe (E).

	Q1	Q2	Q3	Q4	Q5	Q6	A1	A2	A3	A4	A5	A6	E1	E2	E3	E4	E5	E6	
Q1	0.0																		
Q2	107.7	0.0																	
Q3	22.4	129.4	0.0																
Q4	20.9	87.5	43.3	0.0															
Q5	10.6	104.3	30.2	17.3	0.0														
Q6	50.8	57.1	72.8	30.4	47.3	0.0													
A1	1152.8	1174.7	1143.2	1160.7	1163.2	1165.0	0.0												
A2	1527.0	1562.7	1514.4	1537.5	1537.5	1545.9	420.3	0.0											
A3	1626.6	1677.3	1611.3	1639.8	1637.1	1652.5	625.7	263.4	0.0										
A4	1922.3	1972.1	1907.0	1935.4	1932.9	1947.9	884.7	471.1	295.8	0.0									
A5	1978.1	2016.7	1964.8	1989.3	1988.7	1998.5	869.0	455.5	410.4	227.3	0.0								
A6	1837.3	1875.7	1824.1	1848.4	1847.9	1857.6	730.7	314.8	299.1	236.9	141.0	0.0							
E1	5230.8	5148.4	5251.4	5212.2	5221.5	5189.9	6135.9	6555.0	6743.7	7019.4	6988.0	6856.7	0.0						
E2	5296.7	5210.4	5317.8	5277.6	5287.7	5254.2	6161.0	6578.0	6775.7	7045.7	7003.4	6874.8	277.7	0.0					
E3	5277.2	5195.1	5297.8	5258.7	5267.8	5236.4	6185.1	6604.3	6792.4	7068.4	7037.6	6906.2	51.8	294.5	0.0				
E4	5076.7	4995.1	5097.3	5058.3	5067.3	5036.2	5990.7	6410.2	6596.6	6873.5	6845.1	6713.1	162.2	386.4	202.4	0.0			
E5	5265.2	5185.9	5285.4	5247.0	5255.6	5225.7	6198.7	6618.7	6800.6	7079.9	7056.3	6923.4	208.6	478.2	183.8	242.5	0.0		
E6	5252.9	5173.0	5273.2	5234.7	5243.4	5213.1	6180.8	6600.7	6784.0	7062.6	7037.5	6904.8	165.4	437.0	143.5	208.4	43.6	0.0	

Annexe 3: Présence/absence des bandes RAPD générées par sept amorces (208, 232, 243, 245, 253, 293, 218, University of British Columbia, Kit # 3), séparées par le symbole " / ". Q: populations du Québec, A: populations du sud de l'Amérique du Nord, E: populations d'Europe.

	1				10				20														
Q1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1/	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1
Q2	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1/	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Q3	1	1	0	1	0	1	1	0	1	1	0	0	1	0/	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Q4	1	0	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	0/	0	1	1	1	1	1	1	1	1
Q5	1	0	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	0/	0	1	1	1	1	1	1	1	1
Q6	1	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1/	0	1	1	0	1	1	1	1	1	
A1	1	1	0	1	0	1	1	0	1	1	1	0	1	1/	1	0	1	1	1	1	1	1	
A2	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1/	0	1	1	0	1	1	1	1	1	
A3	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1/	1	1	1	0	1	1	1	1	1	
A4	1	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0/	1	1	1	0	1	1	1	1	1	
A5	1	1	0	1	1	1	1	0	0	1	0	0	1/	1	1	1	1	1	1	0	0	1	
A6	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	0	1	0/	1	1	1	0	1	1	1	1	
E1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0/	0	1	1	0	1	1	1	0	
E2	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0/	1	1	1	0	1	1	1	1	
E3	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0/	0	1	1	0	1	1	1	1	
E4	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0/	0	1	1	0	1	1	1	1	
E5	1	0	1	0	1	1	0	1	1	0	1	1	0	0/	0	1	1	0	1	1	1	1	
E6	1	0	1	0	1	1	0	1	1	0	1	1	0	0/	0	1	1	0	1	1	1	1	

	30										40												
Q1	1	1	1	0	1	1/	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1
Q2	0	1	1	1	1	1/	0	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	0	1
Q3	0	1	1	1	1	1/	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1
Q4	0	1	1	0	1	1/	1	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1
Q5	0	1	1	0	1	1/	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1
Q6	0	1	1	0	1	1/	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	1	1
A1	0	1	1	1	1	1/	1	1	1	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1
A2	0	1	1	0	1	1/	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1
A3	0	1	1	0	1	1/	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1
A4	0	1	1	0	1	1/	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	1
A5	0	0	1	0	1	1/	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0
A6	0	1	1	0	1	1/	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1
E1	0	1	1	0	1	1/	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1
E2	0	1	1	0	1	1/	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1
E3	0	1	1	0	1	1/	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1
E4	0	1	1	0	1	1/	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1
E5	0	1	1	0	0	0/	1	0	0	1	1	0	1	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0
E6	0	1	1	0	0	1/	0	0	0	1	1	0	1	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0

	50										60										70									
Q1	0	1	0/	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0/	1	1	1						
Q2	0	1	0/	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1/	1	1	1						
Q3	1	1	0/	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0/	1	1	1						
Q4	1	1	0/	0	0	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	0	0	0/	1	1	0						
Q5	0	1	0/	0	0	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	0	1	0/	1	1	1						
Q6	1	1	0/	0	0	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	0	1/	1	1	1						
A1	1	1	1/	0	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0/	0	1	1						
A2	1	1	0/	0	0	1	1	0	1	1	0	1	0	1	0	1	0	1	1	1	0/	0	1	1						
A3	0	1	0/	0	0	1	1	0	1	1	1	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0/	0	1	1						
A4	0	1	0/	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	0	1	1	1	1/	1	1	0						
A5	1	0	0/	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/	1	1	0						
A6	0	1	0/	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0/	1	1	1							
E1	0	1	0/	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0/	1	1	1							
E2	0	1	0/	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	0	1	0	0	0/	1	1	1							
E3	0	1	0/	0	0	1	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0/	1	1	1						
E4	1	1	0/	0	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/	1	1	1							
E5	0	0	0/	0	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	0	0	0/	1	1	1							
E6	0	0	0/	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	0/	1	1	1	1							

80

90

Q1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0/	0	0	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	
Q2	0	0	1	1	0	1	0	1	1	1	1	0/	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1
Q3	0	0	1	1	0	1	0	1	1	1	1	0/	0	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1
Q4	1	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0/	0	0	0	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1
Q5	0	0	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0/	1	0	1	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1
Q6	1	0	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0/	1	0	1	1	1	0	1	1	0	0	1	1	1
A1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	0/	0	1	1	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1
A2	1	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0/	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1
A3	1	1	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0/	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1
A4	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0/	1	0	0	1	1	0	1	1	0	0	1	1	1
A5	1	0	1	1	0	1	0	0	1	0	0	1/	0	1	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1
A6	1	1	1	0	1	0	1	0	1	1	0	0/	1	0	0	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1
E1	1	0	1	0	1	0	1	1	1	1	0	0/	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	1	1
E2	1	0	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0/	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0
E3	1	1	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0/	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	1	1	1
E4	1	0	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0/	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1
E5	1	1	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0/	1	0	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1
E6	1	0	1	0	1	0	1	1	1	1	0	0/	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1

100

110

Q1	1	1	1/	1	1	1	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	
Q2	0	0	0/	1	1	0	1	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	
Q3	0	0	0/	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	
Q4	0	1	0/	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0	1	1	0	1	0	1	
Q5	0	1	0/	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0	1	1	
Q6	0	1	1/	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
A1	0	0	0/	1	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	
A2	0	1	0/	0	1	0	0	1	0	1	1	1	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	
A3	0	1	0/	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	1	1	0	1	0	1	0	1	0	
A4	0	1	0/	0	1	1	0	0	1	1	0	0	1	1	0	1	0	1	1	0	1	1	0	1	
A5	0	1	0/	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	
A6	0	1	1/	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	
E1	0	1	1/	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	1	0	1	1	1	1	0	0	
E2	0	1	1/	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0	
E3	1	1	0/	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
E4	1	1	0/	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	
E5	1	1	0/	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	
E6	0	1	0/	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1

120

Q1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
Q2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Q3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Q4	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Q5	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
Q6	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
A1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0
A2	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0
A3	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0
A4	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0
A5	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
A6	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
E1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0
E2	1	1	0	1	1	1	0	0	1	0
E3	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0
E4	1	0	1	1	1	0	1	1	0	1
E5	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
E6	1	0	1	1	1	1	0	0	1	0

Annexe 4: Distances génétiques (D_R) calculées avec le coefficient de Nei et Li (1979), d'après la présence/absence des marqueurs

RAPD, entre les populations du Québec (Q), du sud de l'Amérique du Nord (A) et de l'Europe (E).

	Q1	Q2	Q3	Q4	Q5	Q6	A1	A2	A3	A4	A4	A4	A6	E1	E2	E3	E4	E5	E6	
Q1	0.00000																			
Q2	0.25153	0.00000																		
Q3	0.32026	0.13699	0.00000																	
Q4	0.21290	0.32432	0.31884	0.00000																
Q5	0.23077	0.27517	0.32374	0.10638	0.00000															
Q6	0.22293	0.30667	0.34286	0.16901	0.13287	0.00000														
A1	0.30952	0.22981	0.23179	0.33333	0.35065	0.36774	0.00000													
A2	0.20000	0.27848	0.32432	0.16000	0.16556	0.11842	0.31288	0.00000												
A3	0.18519	0.32903	0.36552	0.18367	0.16216	0.14094	0.31250	0.12102	0.00000											
A4	0.20482	0.30818	0.35571	0.20530	0.21053	0.18954	0.29268	0.19255	0.12658	0.00000										
A5	0.35135	0.31915	0.32824	0.35338	0.37313	0.39259	0.31507	0.35664	0.35714	0.36111	0.00000									
A6	0.27273	0.37415	0.32847	0.25180	0.24286	0.26241	0.35526	0.23490	0.24658	0.30667	0.39394	0.00000								
E1	0.22222	0.36774	0.36552	0.17007	0.16216	0.15436	0.35000	0.14650	0.11688	0.18987	0.40000	0.20548	0.00000							
E2	0.22222	0.35484	0.39310	0.22449	0.20270	0.19463	0.35000	0.18471	0.16883	0.24051	0.42857	0.27397	0.14286	0.00000						
E3	0.19497	0.34211	0.36620	0.13889	0.13103	0.13699	0.36306	0.14286	0.11258	0.17419	0.43066	0.24476	0.11258	0.20530	0.00000					
E4	0.25926	0.39355	0.37931	0.21088	0.21622	0.18121	0.40000	0.17198	0.19481	0.24051	0.42857	0.26027	0.18182	0.24675	0.11258	0.00000				
E5	0.27397	0.36691	0.39535	0.25191	0.21212	0.24812	0.43056	0.29078	0.26087	0.25352	0.43548	0.32308	0.27536	0.30435	0.21482	0.26087	0.00000			
E6	0.25490	0.32877	0.38235	0.26087	0.20863	0.25714	0.41722	0.25676	0.25517	0.22148	0.38931	0.31387	0.25517	0.22759	0.23944	0.28276	0.11628	0.00000		

	120	130	140
Q1	A A T T C T A A A A A A A T T C A G A A T T T T C T A T T		
Q2
Q3
Q4
Q5
Q6
A1
A2
A3
A4
A5
A6
E1
E2
E3
E4
E5
E6

	150	160	170
Q1	T C A T A A T C A T T C C A A A T T T C A T T C T A A A A		
Q2
Q3
Q4
Q5
Q6
A1
A2
A3
A4
A5
A6
E1
E2
E3
E4
E5
E6

	180	190	200
Q1	A A A A T C A A A T A A A G A A C C T A T A T T A T G A T		
Q2		
Q3		
Q4		
Q5		
Q6		
A1		
A2		
A3		
A4		
A5		
A6		
E1		
E2		
E3		
E4		
E5		
E6		

	210	220	230
Q1	A T G G G T T C C G T G A T T A A T C G T T T G C T A T G		
Q2		
Q3		
Q4		
Q5		
Q6		
A1		
A2		
A3		
A4		
A5		
A6		
E1		
E2		
E3		
E4		
E5		
E6		

	240	250	260
Q1	T C A G T A T C T A T A C G T G T G T A T T A T A T G T A		
Q2
Q3
Q4
Q5
Q6
A1
A2
A3
A4
A5
A6
E1
E2
E3
E4
E5
E6

	270	280	290
Q1	T A A A G C C C T T C T T T C T C T A A T T T C G A G G G		
Q2
Q3
Q4
Q5
Q6
A1
A2
A3
A4
A5
A6
E1
E2
E3
E4
E5
E6

	300	310
Q1	A G T T C C A C T A C C A A C A C A A C	G T A A T T A C T
Q2
Q3
Q4
Q5
Q6
A1
A2
A3
A4
A5
A6
E1
E2
E3
E4
E5
E6

	320	330	340
Q1	T C G A T T C G T A A G A A C A A C T T C C A T T G A G T		
Q2	T
Q3	T
Q4	T
Q5	T
Q6	T
A1	T
A2	T
A3	T
A4	T
A5	T
A6	T
E1	T
E2	T
E3	T
E4	T
E5	T
E6	T

	350	360	370																											
Q1	C	T	C	T	G	C	A	C	C	T	A	T	C	C	T	T	T	T	C	T	T	T	G	G	G	T	T	A		
Q2	C
Q3	C
Q4	C
Q5	C
Q6	C
Q7	C
Q8	C
A1	C
A2	C
A3	C
A4	C
A5	C
A6	C
E1	C
E2	C
E3	C
E4	C
E5	C
E6	C

	380	390	400																											
Q1	T	A	G	T	T	T	G	A	G	A	A	C	C	A	C	T	T	G	T	T	T	A	T	T	C	A	A	A	A	
Q2	H
Q3	H
Q4	H
Q5	H
Q6	H
A1	H
A2	H
A3	H
A4	H
A5	H
A6	H
E1	H
E2	H
E3	H
E4	H
E5	H
E6	H

	410	420	430
Q1	A A G G G A T T T G G C T C A G G A G	T G C C C A T T G T	
Q2	.	.	.
Q3	.	.	.
Q4	.	.	.
Q5	.	.	.
Q6	.	.	.
A1	.	.	.
A2	.	.	.
A3	.	.	.
A4	.	.	.
A5	.	.	.
A6	.	.	.
E1	.	.	.
E2	.	.	.
E3	.	.	.
E4	.	.	.
E5	.	.	.
E6	.	.	.

	440
Q1	T C A T T C C A
Q2	.
Q3	.
Q4	.
Q5	.
Q6	.
A1	.
A2	.
A3	.
A4	.
A5	.
A6	.
E1	.
E2	.
E3	.
E4	.
E5	.
E6	.

Annexe 7: Distances génétiques (D_s) corrigées (Jukes-Cantor 1969) d'après les séquences ITS 1 et *trnL* (UAA) combinées. Distances calculées entre les populations du Québec (Q), du sud de l'Amérique du Nord (A), et de l'Europe (E).

	Q1	Q2	Q3	Q4	Q5	Q6	A1	A2	A3	A4	A5	A6	E1	E2	E3	E4	E5	E6	
Q1	0.00000																		
Q2	0.02200	0.00000																	
Q3	0.02200	0.00000	0.00000																
Q4	0.00726	0.01459	0.01459	0.00000															
Q5	0.00726	0.01459	0.01459	0.00000	0.00000														
Q6	0.00726	0.01459	0.01459	0.00000	0.00000	0.00000													
A1	0.02200	0.00000	0.00000	0.01459	0.01459	0.01459	0.00000												
A2	0.00726	0.01459	0.01459	0.00000	0.00000	0.00000	0.01459	0.00000											
A3	0.00290	0.01903	0.01903	0.00435	0.00435	0.00435	0.01903	0.00435	0.00000										
A4	0.00726	0.01459	0.01459	0.00000	0.00000	0.00000	0.01459	0.00000	0.00435	0.00000									
A5	0.01903	0.01165	0.01165	0.01165	0.01165	0.01165	0.01165	0.01165	0.01607	0.01165	0.00000								
A6	0.00872	0.01312	0.01312	0.00145	0.00145	0.00145	0.01312	0.00145	0.00580	0.00145	0.01018	0.00000							
E1	0.00145	0.02051	0.02051	0.00580	0.00580	0.00580	0.02051	0.00580	0.00145	0.00580	0.01754	0.00726	0.00000						
E2	0.00726	0.01459	0.01459	0.00000	0.00000	0.00000	0.01459	0.00000	0.00435	0.00000	0.01165	0.00145	0.00580	0.00000					
E3	0.00726	0.01459	0.01459	0.00000	0.00000	0.00000	0.01459	0.00000	0.00435	0.00000	0.01165	0.00145	0.00580	0.00000	0.00000				
E4	0.00580	0.01607	0.01607	0.00145	0.00145	0.00145	0.01607	0.00145	0.00290	0.00145	0.01312	0.00290	0.00435	0.00145	0.00145	0.00000			
E5	0.00726	0.01459	0.01459	0.00000	0.00000	0.00000	0.01459	0.00000	0.00435	0.00000	0.01165	0.00145	0.00580	0.00000	0.00000	0.00145	0.00000		
E6	0.00726	0.01459	0.01459	0.00000	0.00000	0.00000	0.01459	0.00000	0.00435	0.00000	0.01165	0.00145	0.00580	0.00000	0.00000	0.00145	0.00000	0.00000	0.00000

510

520

◆ A T T A T A T G T A T A A A G C C C T T C T T T C
 ♣
 *
 ☒
 ♠
 *
 *
 ★

530

540

550

◆ T C T A A T T T C G A G G G A G T T C C A C T A C
 ♣
 *
 ☒
 ♠
 *
 *
 ★

560

570

◆ C A A C A C A A C G T A A T T A C T T C G A T T C
 ♣
 *
 ☒
 ♠
 *
 *
 ★

580

590

600

◆ G T T A G A A C A A C T T C C A T T G A G T C T C
 ♣ . . A
 *
 ☒
 ♠
 *
 *
 ★

