

Table des matières

Liste des abréviations	7
Unité de mesures	7
Liste des annexes.....	8
Liste des illustrations	9
Liste des Tableaux	11
1 Introduction.....	1
1.1 Les bougainvilliers: des plantes exotiques de plus en plus populaires dans les régions tropicales, subtropicales et méditerranéennes mais dont l'identification des cultivars et l'attribution à une espèce ou à un groupe d'hybride restent encore difficiles et confuses	1
1.1.1 Les bougainvilliers : des plantes grimpantes en hommage à Bougainville	1
1.1.2 Une plante exotique de plus en plus populaire pour sa floraison spectaculaire	1
1.1.3 Le genre <i>Bougainvillea</i> et ses espèces	2
1.1.4 Les trois principales espèces et trois principaux groupes d'hybrides de bougainvilliers cultivés dans le monde.....	3
1.1.5 Une diversité de cultivars obtenue mais dont l'identification des cultivars et l'attribution à une espèce ou à un groupe d'hybrides sont difficiles et confuses	5
1.2 Les bougainvilliers : plantes phare du Cannebeth mais qui doivent être caractérisées afin de créer de nouveaux cultivars rustiques et d'obtenir la certification « collection nationale »	6
1.2.1 Les bougainvilliers : plantes phare du Cannebeth	6
1.2.2 Le froid et le gel : les principaux freins à l'achat de ces fleurs de voyage.....	7
1.2.3 Une collection qui doit être caractérisée phénotypiquement et génétiquement.....	7
1.3 Objectifs du stage.....	7
2 Matériels et Méthodes.....	9
2.1 Matériel Végétal.....	9
2.2 Caractérisation phénotypique et génétique de la collection	10
2.2.1 Caractérisation morphologique.....	10
2.2.2 Caractérisation génétique	11
2.3 Paramètres biologiques et méthodologiques, des espèces ornementales de bougainvilliers, essentiels pour initier un programme d'amélioration	12
2.4 Réalisation du dossier de demande de certification « collection nationale » du CCVS.....	13
3 Résultats.....	14
3.1 Caractérisation morphologique de la collection	14
3.1.1 Caractérisation de 90 individus sur 128	14

3.1.2	Vérification de l'identité des individus référencés et non référencés	14
3.1.3	Statistiques descriptives et diversité des caractères morphologiques quantitatifs étudiés	13
3.1.4	Sélection des caractères quantitatifs et qualitatifs les plus discriminants	16
3.2	Caractérisation génétique de la collection.....	17
3.2.1	Amplification des ISSR.....	17
3.2.2	Relations génétiques	17
3.3	Paramètres biologiques et méthodologiques, des espèces ornementales de bougainvilliers, essentiels pour initier un programme d'amélioration	22
3.3.1	Les différentes méthodes d'obtention de nouveaux cultivars.....	22
3.3.2	La polyploïdie	17
3.3.3	<i>B. glabra</i> : l'espèce ornementale la plus tolérante au froid.....	17
3.4	Réalisation du dossier de demande de certification « collection nationale » du CCVS.....	17
4	Discussion.....	19
4.1	Les outils morphologiques et moléculaires.....	19
4.1.1	Les outils morphologiques	19
4.1.2	Les outils moléculaires	21
4.2	Une collection qui semble se structurer en trois principaux groupes	23
4.3	Une collection qui présente de nombreux clones et mutants.....	23
4.3.1	Les 13 groupes de proximité confirmés	23
4.3.2	Les 6 groupes de clones clairement identifiés	29
4.3.3	Les individus proches, les mutants et les clones à confirmer par des études futures..	31
4.4	Les cultivars 'Violet de Mèze' ('VDM') et 'Sanderiana Alexandra' ('SanderianaA') : des parents potentiels pour la création de nouveaux cultivars rustiques.....	33
5	Conclusion	33
6	Bibliographie.....	34
7	Annexes	I

Liste des abréviations

Abréviation	Signification
ABI	Applied Biosystems
ACM	Analyse des Correspondances Multiples
ACP	Analyse des Composantes Principales
ADN	Acide Desoxyribo Nucléique
AFLP	Amplification Fragment Length Polymorphism
BS	Bootstrap
CCVS	Conservatoire des Collections Végétales Spécialisées
COV	certificat d'obtention végétal
CV	Coefficient de variation
ISSR	Inter Simple Sequence Repeat
JB	Jeune Bractée
LM	Largeur Maximale
NJ	Neighbor Joining
PCR	Polymerase Chain Reaction
RAPD	Randomly Amplified Polymorphic DNA
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
SSR	Simple Sequence Repeat

Unité de mesures

Abréviation	Signification
°C	Degré Celsius
cm	centimètre
L	litre
mg	milligramme
ml	millilitre
mM	millimolaire
mm	millimètre
ng	nanogramme
kR	kiloRoentgen

Liste des annexes

Annexe I : Nom, code utilisé et origine des différents cultivars composant la collection (1/3)	I
Annexe II : Nom, code utilisé et origine des différents cultivars composant la collection (2/3)	II
Annexe III : Nom, code utilisé et origine des différents cultivars composant la collection (3/3)	III
Annexe IV : Espèce ou groupe d'hybrides des cultivars, dont le nom est référencé dans les ouvrages, et d'un cultivar, dont le nom n'est pas référencé dans les ouvrages, de la collection de bougainvillea (page 1/ 2).....	IV
Annexe V : Espèce ou groupe d'hybrides des cultivars référencés et d'un cultivar non référencé de la collection de bougainvillea (page2/2).	V
Annexe VI : Ensemble des protocoles utilisés par Végépolys pour génotyper des individus à l'aide de marqueurs ISSR	VI
Annexe VII : Individus absents des analyses phénotypiques et génétiques. Les individus surlignés en rose sont ceux qui sont absents dans les deux analyses.....	VII
Annexe VIII : Coefficients de corrélation de Pearson obtenus entre les 19 caractères morphologiques quantitatifs mesurés sur les 87 cultivars de bougainvilliers. Les valeurs en gras et surlignées en jaune correspondent aux coefficients de corrélation de Pearson les plus élevés.	VIII
Annexe IX : Nom référencé attribué suite à la caractérisation morphologique ou génétique des individus.	IX
Annexe X : Extrait du dossier de demande de certification « collection nationale » du CCVS.	X

Liste des illustrations

Figure 1 : Planche botanique de l'échantillon du bougainvillier (<i>B. spectabilis</i>) prélevé par Commerson en 1767 et conservée dans les collections d'herbier du Muséum National d'Histoire Naturelle à Paris.	12
Figure 2 : Morphologie d'une fleur de bougainvillier (à gauche <i>Bougainvillea</i> 'Louisa' et à droite <i>B. spectabilis</i> , photo issue de Xu <i>et al.</i> , 2009)	12
Figure 3 : Constitution d'une fleur et morphologie d'un fruit de <i>B. spectabilis</i> . Coupe longitudinale d'une fleur de <i>B. spectabilis</i> (extrait de Xu <i>et al.</i> , 2009). P=périanthe, St=stigmate, A=anthère, Pi=pistil, O=ovaire contenant un ovule unique. K=fruit *1 1/2 ; L=graines *1 1/2 (extrait de MacDaniels, 1981).....	2
Figure 4 : Belle de jour (<i>Mirabilis</i>)	2
Figure 5 : Illustration des différences entre les sections <i>Bougainvillea</i> et <i>Tricycla</i> du genre <i>Bougainvillea</i> . En haut, fleur unique entourée par trois bractées et feuilles sessiles de la section <i>Tricycla</i> (<i>Bougainvillea spinosa</i> en début de floraison à gauche, photo Valeria Rodrigues Groves, en cours de floraison à droite, photo Leonardo Fraternali). . En bas, trois fleurs et trois bractées par inflorescence, fleur pétiolées de la section <i>Bougainvillea</i>	2
Figure 6 : Illustration du port de quelques espèces du genre <i>Bougainvillea</i> , de gauche à droite, port arbustif de <i>Bougainvillea berberidifolia</i> (photo Christian Defferrard), port arborescent d'un <i>Bougainvillea argentin</i> (<i>B. infesta</i> ou <i>B. stipitata</i> , photo María del Carmen Hermida).	2
Figure 7 : Comparaison des inflorescences de bougainvilliers non ornementaux. De gauche à droite : <i>Bougainvillea stipitata</i> (image extraite de Nores <i>et al.</i> , 2013) <i>Bougainvillea berberidifolia</i> (photo Christian Defferrard), <i>Bougainvillea praecox</i> (photo Robin Foster) et d'un bougainvillier ornemental (<i>Bougainvillea glabra</i> 'Elisabeth Angus').....	2
Figure 8 : Mutation de bourgeon (bractées rose-rouge) observée sur le cultivar 'San Diego Orange' (bractées jaune-orange).....	3
Figure 9 : Logo de l'entreprise.....	4
Figure 10 : Evolution des ventes du cultivar 'Violet de Mèze' entre 2011 et 2014 (Août)	6
Figure 11 : Les différents bougainvilliers composant la collection du Cannebeth. De gauche à droite et de haut en bas : les 78 cultivars appartenant depuis plus d'un an à la collection, individu provenant d'Italie, individu greffé provenant de Thaïlande, cultivar reçu de l'île Maurice sous forme de bouture en racine nue et repoté et jeunes plants de bougainvilliers en plaque de 51 godets provenant de Porto-Rico.....	7
Figure 12 : Illustration des quatre stades de développement des inflorescences phénotypées. La longueur des barres correspond à 1cm.....	11

Figure 13 : Représentation graphique des variables. A gauche : axe 1 et axe 2. A droite : axe 3 et axe 4.....	13
Figure 14 : ACM: Représentation des variables actives et illustratives	16
Figure 15 : Dendrogramme obtenu à partir des données morphologiques	17
Figure 16 : Dendrogramme réalisé à partir des données génétiques.....	17
Figure 17 : Groupe 1 du dendrogramme réalisé à partir des données génétiques. Les chiffres sur les branches correspondent au bootstrap (BS) et les branches colorées en orange, bleu clair et bleu foncé correspondent aux hybrides <i>B. x buttiana</i> , aux hybrides interspécifiques et aux cultivars appartenant à l'espèce <i>B. spectabilis</i> respectivement.....	20
Figure 18 : Groupe 2 du dendrogramme réalisé à partir des données génétique. Les chiffres sur les branches correspondent au bootstrap (BS). Les branches de couleur bleu, rouge et marron correspondent aux cultivars appartenant aux espèces <i>B. spectabilis</i> , <i>B. glabra</i> et aux hybrides <i>specto-glabra</i> respectivement.....	21
Figure 19 : Groupe 3 du dendrogramme réalisé à partir des données génétique. Les chiffres sur les branches correspondent au bootstrap (BS). Les branches de couleur vert clair, bleu clair, bleu foncé, rose, et orange correspondent respectivement aux semis d'hybrides <i>B. x buttiana</i> , aux hybrides interspécifiques, aux cultivars de l'espèce <i>B. spectabilis</i> , aux cultivars de l'espèce <i>B. peruviana</i> ou des hybrides <i>specto-peruviana</i> et aux hybrides <i>B. x buttiana</i>	22
Figure 20 : Sport et leur cultivar initial (extrait de Zadoo <i>et al.</i> , 1975a).	17
Figure 21 : Origine et stérilité des différents groupes d'hybrides (Ohri et Khoshoo, 1981). Les codes A, A1 et B correspondent aux génomes des espèces <i>B. glabra</i> , <i>B. spectabilis</i> et <i>B. peruviana</i> respectivement. Le nombre de base de chromosomes est de 17 et les hybrides issus de ces espèces présentent soit des chromosomes univalent (Is) ou/et bivalents (IIs).....	24
Figure 22 : Dendrogramme coloré en fonction de la plaque dans laquelle les cultivars ont été génotypés : les branches de couleur bleu correspondent aux individus génotypés et les branches coloré en rouge à ceux génotypés dans la plaque 2.	20
Figure 23 : Lien de parenté entre les cultivars 'Vera' selon les PlantPatent.....	26
Figure 24 : Liens de parenté entre 3 cultivars (selon Iridel (1995))	28
Figure 25: Lien de parenté entre certains hybride <i>specto-peruviana</i> selon 3 auteurs différents (Iridel, 1995 ; Pal et Swarup, 1974 et Shaterje <i>et al.</i> , 2007). Les étoiles indiquent l'obtention des cultivars par mutation de bourgeon.	28

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Comparaison morphologique de 3 espèces de bougainvilliers cultivées (Zadoo <i>et al.</i> , 1974 et Iridel, 1995).	3
Tableau 2 : Caractères quantitatifs utilisés pour caractériser phénotypiquement la collection. Les caractères en italiques correspondent aux descripteurs indirects.	9
Tableau 3 : Caractères qualitatifs utilisés pour caractériser phénotypiquement la collection. Les étoiles indiquent les caractères présentant un nombre important de modalités ou qui sont purement descriptifs (1/2).	9
Tableau 4 : Caractères qualitatifs utilisés pour caractériser phénotypiquement la collection. Les étoiles indiquent les caractères présentant un nombre important de modalités ou qui sont purement descriptifs (2/2).	11
Tableau 5 : Fiche type de notation.....	11
Tableau 6 : Informations sur les amorces ISSR sélectionnées et utilisées dans cette étude	11
Tableau 7 : Cultivars dont le nom est référencé dans les ouvrages et a été vérifié sur la base de données morphologiques.....	13
Tableau 8 : Statistiques descriptives des caractères morphologiques quantitatifs notés sur 86 individus de la collection. Les chiffres en gras correspondent aux coefficients de variation les plus élevés et les chiffres en italique correspondent aux coefficients de variation plus élevés entre les individus que au sein des individus.....	13
Tableau 9 : Valeur propre, variance en pourcentage non cumulé et cumulé des 6 premiers axes de l'ACP.....	13
Tableau 10 : Contribution des 19 caractères quantitatifs à la construction des 4 premiers axes de l'ACP. Les valeurs en gras correspondent aux contributions les plus élevées.	13
Tableau 11 : Valeur propre, variance en pourcentage et cumulée des 11 premiers axes de l'ACP	16
Tableau 12 : Valeurs de corrélations entre les différents caractères qualitatifs et les axes.....	16
Tableau 13 : Nombre de bandes par marqueur ISSR	17
Tableau 14 : Comparaison du nombre de bandes polymorphiques obtenu à l'aide de 3 marqueurs ISSR utilisés dans cette étude. na : information non disponible.....	22



Figure 1 : Planche botanique de l'échantillon du bougainvillier (*B. spectabilis*) prélevé par Commerson en 1767 et conservée dans les collections d'herbier du Muséum National d'Histoire Naturelle à Paris.

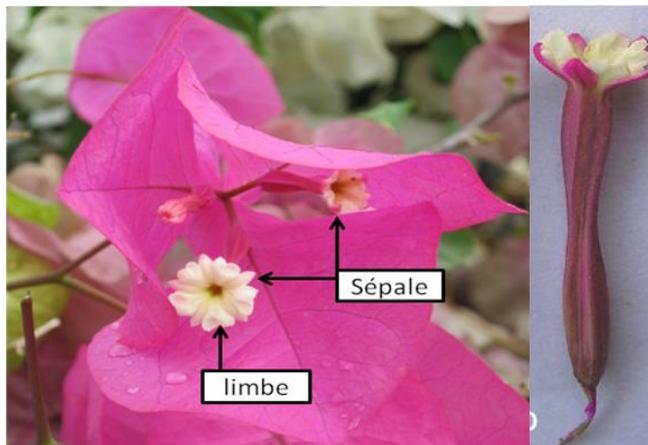


Figure 2 : Morphologie d'une fleur de bougainvillier (à gauche *Bougainvillea* 'Louisa' et à droite *B. spectabilis*, photo issue de Xu *et al.*, 2009)

1 Introduction

1.1 Les bougainvilliers: des plantes exotiques de plus en plus populaires dans les régions tropicales, subtropicales et méditerranéennes mais dont l'identification des cultivars et l'attribution à une espèce ou à un groupe d'hybride restent encore difficiles et confuses

1.1.1 Les bougainvilliers : des plantes grimpantes en hommage à Bougainville

Les bougainvilliers, appelés aussi bougainvillées, sont aujourd'hui des plantes ornementales très utilisées pour la décoration des jardins (Leonardi et Romano, 2003) en région méditerranéenne et pour la production de potées fleuries dans les pays du Nord de l'Europe. Dans le domaine de l'ornement, on rassemble, sous ce nom de bougainvilliers, un ensemble d'espèces et d'hybrides du genre *Bougainvillea* Commerson ex A.L. Jussieu. Le premier échantillon fut collecté et décrit scientifiquement en juillet 1767, à Rio de Janeiro, par Philibert Commerson, botaniste du Roy de France, qui la nomma « Buginvillea » en hommage à son capitaine français de navire : Louis Antoine de Bougainville.

Cependant, cette appellation se perdit dans ses notes et lorsque les planches d'herbier (Figure 1) arrivèrent au Muséum National d'Histoire Naturelle de Paris en 1774, ils furent tout d'abord nommés « Eudendride hydroïde tubulaire » par Bernard de Jussieu, professeur botanique au jardin du Roy (CCVS, 2012). Puis, en 1789, Antoine Laurent de Jussieu, son neveu, rectifia cette appellation et publia le premier le nom du genre sous la dénomination « *Buginvillea* » dans un ouvrage intitulé *Genera Plantarum*. Willdenow utilisa lui aussi cette dénomination et publia, en 1799, le premier nom d'espèce, *Bougainvillea spectabilis*, dans un ouvrage intitulé 'Species plantarum' (Iridel, 1995). Finalement, la correction en *Bougainvillea* a été faite par Spach en 1841 et a été formellement conservée selon diverses étapes qui se sont échelonnées entre 1929 et 1959 (V. Malécot, comm. pers.).

1.1.2 Une plante exotique de plus en plus populaire pour sa floraison spectaculaire

Les bougainvilliers ornementaux sont des plantes grimpantes, originaires des régions tropicales d'Amérique Centrale et d'Amérique du Sud, à croissance rapide (lorsqu'ils se situent dans des conditions optimales : ensoleillement, chaleur, humidité, irrigation faible, fertilisation fréquente et sol drainant). Leurs branches portent des feuilles entières, alternes et de formes très variables selon les espèces et les cultivars. A l'aisselle de certaines feuilles sont dissimulées des épines acérées, plus ou moins courbées, qui leur permettent de s'accrocher à un support (Najib Najah, 1984) ainsi que de limiter, dans leurs pays d'origine, leur consommation par une large gamme d'herbivores (Chew, 2010).

Lorsque la période de floraison débute, certaines épines (situées en position axillaire, terminale ou axillaire et terminale de la branche (Najib Najah, 1984 et Iridel, 1995) évoluent en inflorescence. Ces inflorescences, nombreuses, successives de Mars à Septembre, et souvent de couleurs flamboyantes, en font des plantes ornementales très recherchées et populaires. Elles sont composées en général de trois bractées, souvent appelées à tort « fleur ». Ces bractées, principales parties colorées de l'inflorescence, attirent les insectes pollinisateurs (Aranda *et al.*, 2011). Elles possèdent également une texture papyracée que l'on

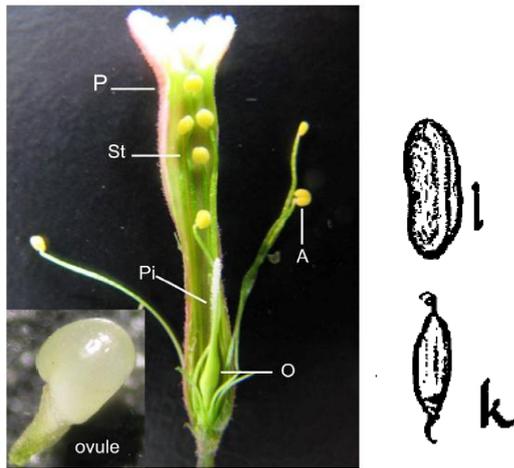


Figure 3 : Constitution d'une fleur et morphologie d'un fruit de *B. spectabilis*. Coupe longitudinale d'une fleur de *B. spectabilis* (extrait de Xu *et al.*, 2009). P=périanthe, St=stigmate, A=anthère, Pi=pistil, O=ovaire contenant un ovule unique. K=fruit ; L=graines (extrait de MacDaniels, 1981).



Figure 4 : Belle de jour (*Mirabilis*)



Figure 5 : Illustration des différences entre les sections *Bougainvillea* et *Tricycla* du genre *Bougainvillea*. En haut, fleur unique entourée par trois bractées et feuilles sessiles de la section *Tricycla* (*Bougainvillea spinosa* en début de floraison à gauche, photo Valeria Rodrigues Groves, en cours de floraison à droite, photo Leonardo Fraternali). En bas, trois fleurs et trois bractées par inflorescence, fleur pétiolées de la section *Bougainvillea*.

retrouve dans l'appellation anglo-saxonne du genre : « paper flower », et portent sur leur tiers inférieur une petite fleur.

Cette fleur tubulaire et apétale est formée de 5 sépales soudés présentant en général la même couleur que la bractée, et son extrémité dessine une étoile à 5 pointes reliées entre elles par un limbe de couleur blanche ou jaune (Figure 2). La fleur comprend 8 à 10 étamines situées bien au dessus du stigmate et comprend un ovaire supère, composé d'un seul carpelle, terminé par un seul style et contenant un ovule unique (Figure 3) (Heimerl, 1900).

Le fruit obtenu est un akène (Najib Najah, 1984 ; Hammad, 2009 ; Gillis, 1976) : il est indéhiscent et ne contient qu'une seule graine (Fakir, 1988) (Figure 3). Les graines n'étant pas libérées et le fruit ne se détachant pas du périanthe ni de la bractée, l'ensemble est dispersé grâce cette dernière dont la texture papyracée permet l'envol (Ridley, 1930 cité par Douglas et Manos, 2007).

1.1.3 Le genre *Bougainvillea* et ses espèces

Le genre *Bougainvillea* appartient à la famille Nyctaginaceae, au même titre que les Belles de Jour (*Mirabilis*) (Figure 4) et une trentaine d'autres genres (Douglas et Manos, 2007 ; Douglas et Spellenberg, 2010). Il est plus particulièrement placé dans la tribu des Bougainvilleae avec les genres *Belemia* (comprenant une seule espèce brésilienne) et *Phaeoptilum* (comprenant une seule espèce d'Afrique du Sud-ouest) (Douglas et Spellenberg, 2010). Selon les auteurs, le genre *Bougainvillea* comprend entre 14 (Zadoo *et al.*, 1974) et 18 (Xu *et al.*, 2009 ; Douglas et Manos, 2007) espèces, toutes originaires des régions tropicales d'Amérique Centrale et d'Amérique du Sud.

Anton Heimerl (1857-1942), botaniste autrichien, a réalisé les publications taxonomiques les plus récentes sur le genre. Il a en particulier réalisé la révision du genre en 1900 (Heimerl, 1900). A cette date, il reconnaissait 10 espèces de *Bougainvillea*, réparties en deux sections :

- la section *Bougainvillea* (sous la rédaction Eubougainvillea) à inflorescences composées de trois bractées et trois fleurs, à feuilles pétiolées et à anatomie bifaciale (Figure 5),
- et la section *Tricycla* à inflorescences composées de trois bractées mais d'une seule fleur, à feuilles sessiles et à anatomie isolatérale (Figure 5).

Cette dernière section ne comprenait, à l'époque, qu'une seule espèce (*Bougainvillea patagonica* dont le nom correct actuel est *Bougainvillea spinosa*) alors que la section *Bougainvillea* comprenait neuf espèces : *Bougainvillea berberidifolia*, *Bougainvillea glabra* (avec trois variétés), *Bougainvillea infesta*, *Bougainvillea malmeana*, *Bougainvillea modesta*, *Bougainvillea praecox*, *Bougainvillea peruviana*, *Bougainvillea spectabilis* et *Bougainvillea stipitata* (avec trois variétés). Entre 1900 et 1932, Heimerl a décrit 5 espèces supplémentaires de la section *Bougainvillea* (*Bougainvillea campanulata*, *Bougainvillea herzogiana*, *Bougainvillea pachyphylla*, *Bougainvillea lehmanniana* et *Bougainvillea trollii*). Ce qui fait un total de 15 espèces (dont 14 dans la section *Bougainvillea* et une dans la section *Tricycla*). Ces espèces présentent divers ports (arbres, arbustes, lianes (Figure 6) et peuvent présenter d'assez grandes différences du point de vue de l'inflorescence (variabilité de forme et de couleur au sein de l'espèce ou entre espèces) (Figure 7).

En complément à ces 15 espèces, Heimerl mentionne, dès 1900 une « *Formae intermediae inter B. spectabilis et B. glabra* » basée sur des échantillons de plantes cultivées en Equateur,



Figure 6 : Illustration du port de quelques espèces du genre *Bougainvillea*, de gauche à droite, port arbustif de *Bougainvillea berberidifolia* (photo Christian Defferrard), port arborescent d'un *Bougainvillea* argentin (*B. infesta* ou *B. stipitata*, photo María del Carmen Hermida).



Figure 7 : Comparaison des inflorescences de bougainvilliers non ornementaux. De gauche à droite : *Bougainvillea stipitata* (image extraite de Nores *et al.*, 2013) *Bougainvillea berberidifolia* (photo Christian Defferrard), *Bougainvillea praecox* (photo Robin Foster) et d'un bougainvillier ornemental (*Bougainvillea glabra* 'Elisabeth Angus').

au Guatemala et au Brésil dont la morphologie est intermédiaire à celle des espèces *B. glabra* et *B. spectabilis*. De plus, un autre hybride, traité à l'origine comme une espèce, a été nommé *Bougainvillea x buttiana*, et publié en 1944 par Holltum et Standley sur la base de matériel cultivé à Singapour mais aussi au Honduras, au Guatemala ou au Pérou (Standley et Steyermark, 1944).

1.1.4 Les trois principales espèces et trois principaux groupes d'hybrides de bougainvilliers cultivés dans le monde

1.1.4.1 Espèces en culture

Parmi ces espèces, seules 3 ont été introduites en culture dans les zones tropicales, subtropicales et méditerranéennes pour leurs caractères ornementaux remarquables (bractées de grandes tailles et de couleurs vives (Fakir, 1988) : *Bougainvillea spectabilis* Willd, *Bougainvillea glabra* Choisy et *Bougainvillea peruviana* Bonp.

B. glabra et *B. spectabilis*, deux espèces originaires du Brésil, possèdent un nombre important de caractères morphologiques identiques (forme de l'apex des feuilles, des épines et des bractées, division de la cyme et type de ramification principale) et se distinguent principalement par leur type de pilosité (*B. spectabilis* possédant des feuilles, des bractées et des tubes floraux velus) (Zadoo *et al.*, 1974), par la forme de leurs feuilles et de leurs bractées (Iridel, 1995) ainsi que par leur période de floraison (Zadoo *et al.*, 1974). *B. peruviana*, espèce originaire du Pérou, diffère des deux autres espèces par la forme de ses feuilles, le type de division de ses cymes florales et la forme du tube floral (Zadoo *et al.*, 1974) (Tableau 1).

1.1.4.2 Introduction des différentes espèces dans le monde

La culture du bougainvillier semble avoir débuté en 1775 dans le jardin botanique de Jamaïque. Puis, dès le début du XIX^e siècle, ces espèces furent introduites en Europe et dans les diverses colonies.

B. spectabilis fut la première espèce introduite en Europe. Elle fut importée du Pérou en 1829 et conservée dans une serre du jardin des Plantes de Paris dans laquelle, à partir de 1835, elle fleurit avec succès chaque année pendant une dizaine d'années (Pal et Swarup, 1974). En 1829, cette espèce fut également introduite à Chatsworth, en Angleterre, mais depuis le Brésil. Cependant, lors de cette première introduction, les bougainvilliers ne fleurirent pas, limitant ainsi l'intérêt pour cette plante ornementale. Puis, cette espèce fut envoyée dans les colonies : en Inde (1860) et aux Philippines (1920 à 1921). En 1896, *B. spectabilis* 'Laterita' fut introduit en Floride par Egbert Reasoner depuis le jardin 'Hope' situé en Jamaïque.

La deuxième espèce introduite en Europe fut *B. glabra*. Originaire de l'Equateur (Zadoo *et al.*, 1976b) ou du Brésil (Pal et Swarup, 1974), *B. glabra* 'Splendens' fut tout d'abord introduit à l'île Maurice en 1858 puis de cette île, en Europe et notamment en Angleterre en 1860-1861. Il fut observé pour la première fois en Inde en 1869 et en Floride en 1885 (cultivar provenant de la Havane, en Jamaïque, et introduit par Pling Reasoner). Cette espèce fut introduite une deuxième fois en Floride en 1875 depuis le Brésil.

Le cultivar 'Ecuador Pink' de l'espèce *B. peruviana* fut cultivé pour la première fois en 1820 à Trinidad par Mme J. B. Rover (Pal et Swarup, 1974). Douze ans plus tard (ou 112 ans selon Zadoo *et al.*, 1976b), il atteignit les Etats-Unis. Par ailleurs, entre 1930 et 1931, selon Pal et Swarup (1974), cette espèce fut introduite à Chatsworth (Angleterre) et des boutures furent envoyées aux colonies situées en Afrique et en Inde.

Tableau 1 : Comparaison morphologique de 3 espèces de bougainvilliers cultivées (Zadoo *et al.*, 1974 et Iridel, 1995).

Caractères	<i>B.spectabilis</i>	<i>B.glabra</i>	<i>B.peruviana</i>
FEUILLE			
Forme générale	ovale large à arrondie	elliptique	ovale à ovale large
Base	arrondie à aigue	arrondie à aigue	sous-tronquée
Apex	aigu à acuminé	aigu à acuminé	aigu ou acuminé
Pilosité (sur la face inférieure)	très velue sur la face inférieure	glabre sauf les jeunes feuilles	glabre
EPINE			
Forme	recourbée	recourbée à l'extrémité	droite (jeune) puis se recourbe
Taille (cm)	1.0 à 4.0	1.0 à 3.0	1.0 à 2.5
BRACTEE			
Forme générale	ovale à ovale large	ovale à ovale large ou triangulaire	ovale ou arrondie
Base	sous-cordiforme	sous-cordiforme	sous-cordiforme
Apex	aigu à acuminé	aigu à acuminé	obtus
Couleur	rose, rouge et mauve	blanc, mauve pâle et violet	magenta pâle à rose
Pilosité	velue	glabre	glabre
TUBE FLORAL			
Forme	moitié inférieure légèrement courbée	moitié inférieure courbée	cylindrique
Couleur	variés	vert	blanc verdâtre
Pilosité	velue	légèrement velue	glabre
FLEUR			
Couleur de la corolle	crème	blanc à crème	jaunâtre
INFLORESCENCE			
Division de l'inflorescence	une, rarement deux fois	une, rarement deux fois	plus de deux fois
Localisation de l'inflorescence	tige principale et latérale	tige principale et latérale	tige principale
Fréquence de floraison	une fois	plusieurs fois	plusieurs fois



Figure 8 : Mutation de bourgeon (bractées rose-rouge) observée sur le cultivar 'San Diego Orange' (bractées jaune-orange)

Deux autres cultivars de l'espèce : 'Princess Margaret Rose' et 'Lady Hudson', présentant une morphologie très similaire, ont été obtenus en Inde (Calcuta) par la Société d'Agrohorticulture en 1935 et en Angleterre par L. R. Russel en 1938.

L'un des événements majeurs de l'histoire de l'introduction des bougainvilliers dans le monde fut la découverte, par Mme R. V. Butt à Trinidad, de l'hybride *B. x buttiana* 'Mrs Butt' présentant notamment une nouvelle couleur de bractées : la couleur rouge cramoisi. Ce cultivar fut initialement collecté à Carthagène (Colombie) avant d'être introduit à Trinidad en 1910. Par ces caractères morphologiques, il fut tout d'abord classé comme appartenant à une nouvelle espèce puis comme un hybride spontané entre les espèces *B. glabra* et *B. peruviana*. Cette hybridation fut prouvée, quelques années plus tard, par le professeur S.C. Harland qui a obtenu le même cultivar en croisant un cultivar de l'espèce *B. glabra* avec un cultivar rose provenant du Pérou (de *B. peruviana*). Suite à sa découverte à Trinidad, le cultivar 'Mrs Butt' fut introduit en 1913 (ou 1915 selon Zadoo *et al.*, 1976b) à Londres, puis envoyé en 1923 depuis Kew Garden dans différents pays : Inde, Australie, Nouvelle-Zélande, Afrique de l'Est, Malaisie et Singapour. En 1920, un cultivar nommé 'Scarlet Queen', se distinguant uniquement du cultivar 'Mrs Butt' par ses bractées plus foncées et ses fleurs imparfaites, fut introduit à Calcutta depuis l'Ouest de l'Inde par Mr Tomlinson (Zadoo *et al.*, 1976b).

1.1.4.3 Sélection des cultivars

A partir du XX^e siècle, de nombreux cultivars issus d'hybridations contrôlées ou spontanées entre ces trois espèces et issus de mutations somatiques induites ou spontanées (Figure 8) sont apparus dans les différents pays dans lesquels ces espèces ont été introduites : Angleterre, Australie, Philippines, Singapour, Thaïlande, Sri Lanka, Inde, Bangladesh, Afrique du Sud, Kenya, les Seychelles, Floride, Cuba, Trinidad, Brésil et Pérou (Iridel, 1995 ; Pal et Swarup, 1974).

Durant cette période, trois principaux programmes d'amélioration par hybridation ont été réalisés. Le premier programme d'amélioration référencé date de 1927 et a été conduit par James Henry dans la pépinière Everglade située en Floride. Il réalisa des croisements entre les cultivars 'Rosa Catalina' (hybride interspécifique impliquant l'espèce *B. spectabilis*) et 'Laterita' (*B. spectabilis*) et il a obtenu de nombreux hybrides dont notamment le cultivar 'Susan Hendry' aux bractées larges et de couleur rouge cramoisi. D'autres croisements impliquant le cultivar 'Mrs Butt' (appelé aussi 'Crimson Lake') permirent d'obtenir le cultivar 'Barbara Karst' qui remplaça rapidement son parent aux Etats-Unis.

Deux ans plus tard, au Queensland en Australie, W. F. Turley entama un programme d'amélioration et sélectionna des hybrides *specto-glabra* présentant une meilleure tolérance au froid.

En 1950, W. Poulton réalisa, à Durban en Afrique du Sud, des croisements entre les trois espèces ornementales et a obtenu plus d'une centaine de graines. De ces semis sont notamment issus les cultivars : 'Killie Campbell', 'Nathalii' et 'Wac Campbell', un cultivar aux bractées doubles ressemblant fortement au cultivar 'Mahara'.

A l'issue de ces hybridations, contrôlées ou spontanées, trois groupes d'hybrides ont été distingués: les hybrides *buttiana* (*B. x buttiana*), *specto-peruviana* et *specto-glabra*.

1.1.5 Une diversité de cultivars obtenue mais dont l'identification des cultivars et l'attribution à une espèce ou à un groupe d'hybrides sont difficiles et confuses

Aujourd'hui, le bougainvillier est une plante ornementale populaire présente dans la plupart des zones géographiques possédant un climat tropical ou tempéré (Inde, Taïwan, Vietnam, Malaisie, Australie, Méditerranée, Afrique du Sud, Etats-Unis, ...) (Chew, 2010; Srivastava *et al.*, 2009). Depuis sa culture en dehors de sa zone d'origine, un très grand nombre de cultivars a été obtenu et est aujourd'hui commercialisé.

Cependant, malgré la grande extension de cette culture et son importance économique croissant aux Etats-Unis et en Europe (le nombre de brevets et de COV déposé étant de plus en plus important), l'identification des cultivars ainsi que leur attribution à une espèce ou à un groupe d'hybride restent aujourd'hui difficiles. Cela est dû à 4 principales raisons:

1.1.5.1 Une variabilité phénotypique importante au sein des espèces ou groupes d'hybrides et au sein même des cultivars de bougainvilliers

Les espèces *B. glabra* et *B. spectabilis* possèdent une morphologie très similaire et se distinguent facilement de l'espèce *B. peruviana* (Figure 7). Cependant, les cultivars issus d'hybridations entre ces trois espèces présentent des caractères plus variables (taille des bractées, degré de pilosité,...) que les caractères parentaux et parfois différents (ex : nouvelle couleur des bractées des hybrides *B. x buttiana*) (Pal et Swarup, 1974 ; MacDaniels, 1981). Il est ainsi difficile de les classer uniquement à partir de leurs caractéristiques morphologiques.

De plus, le bougainvillier est une plante qui présente une plasticité importante par rapport aux conditions environnementales. La couleur des feuilles et des bractées des cultivars varient en fonction de l'intensité lumineuse et récemment des auteurs italiens ont démontré que la taille des bractées et des feuilles d'un cultivar pouvait varier en fonction de son mode de culture (en pyramide, sur tuteur ou en boule, Rea *et al.*, 2011).

1.1.5.2 Le faible nombre d'ouvrages de référence concernant les cultivars obtenus qui soient précis et accessibles

Selon les ouvrages, entre 100 (Anonyme, 1959 ; Pancho et Bardenas, 1959 ; Pal et Swarup, 1974 ; Iridel, 1995) et 300 cultivars (Choudhury et Singh, 1981, d'après Singh *et al.*, 1999) ont été recensés et décrits. Cependant, les descriptions morphologiques fournies dans les principaux ouvrages (Iridel, 1995) sont, en général peu précises (exemple : « large bractée » : information dépourvue de mesure précise) et rendent difficile l'identification des cultivars, notamment ceux qui ne présentent pas de caractères particuliers ou spécifiques.

De plus, certaines études récentes sont difficiles d'accès (étude difficile à obtenir : checklist des cultivars, publiée en Inde), publication en une langue autre que l'anglais (Zhou *et al.*, 2011 a et b, Leonardi et Romano, 2003), complexifiant ainsi l'accès à des informations peut-être plus précises et nouvelles concernant les cultivars.

1.1.5.3 Les mutations de bourgeon : une des principales méthodes d'obtention de nouveaux cultivars favorisant les confusions

L'une des principales méthodes d'obtention des divers cultivars commercialisés de bougainvilliers est la mutation somatique et spontanée des bourgeons (appelé également 'sport' (Figure 8). Ces mutations induisent soit un changement de la couleur des bractées, soit la présence de feuilles panachées. Depuis l'introduction des espèces ornementales dans le



Figure 9 : Logo de l'entreprise

monde, il est fréquent que des mutants possédant un phénotype identique et issus d'un même cultivar soient identifiés sous différents noms en fonction du lieu où ils ont été obtenus. Ainsi, certains cultivars présentent un grand nombre de synonymes. Par exemple, le cultivar 'Mahara' présente une dizaine de synonymes. De plus, contrairement aux hybrides, certains mutants sont difficiles à distinguer car seule la couleur des bractées (d'un ton plus clair ou plus foncé) les sépare. Compte tenu de cette forte ressemblance et de la multiplication du bougainvillier par voie végétative (bouture), il arrive, même lorsque les pieds mères sont bien identifiés, qu'un sport soit multiplié.

1.1.5.4 Une confrontation difficile des noms de cultivars attribués par les producteurs et les particuliers à ceux des ouvrages de référence

Il est très fréquent que les noms des cultivars soient attribués par l'entreprise qui les acquiert (lorsque ces derniers n'étaient pas identifiés chez le fournisseur) ou soit renommés à des fins commerciales (MacDaniels, 1981). Ainsi, on peut être confronté à 3 possibilités :

- avoir un nom de cultivar qui soit connu des références pré-citées et que la morphologie des plantes présentes dans l'entreprise corresponde à celle donnée au cultivar dans ces références,
- avoir un nom de cultivar référencé dans les ouvrages mais dont la morphologie des individus présents en collection ne corresponde pas aux descriptions données pour ce cultivar dans les ouvrages,
- avoir un nom de cultivar non référencé dans les ouvrages, parce que soit les plantes ont été renommées, soit parce que ce cultivar a été obtenu après la publication des ouvrages de référence.

Pour les 2 dernières possibilités, il nous faudra alors engager des recherches destinées soit à retrouver la véritable identité du cultivar (par phénotypage et par génotypage), soit à trouver le maximum d'information sur leur proximité génétique à d'autres cultivars (grâce au génotypage).

Compte tenu de tous ces facteurs (variabilité, pauvreté des références, mutations, problèmes de dénomination), les auteurs sont en désaccord quant à l'attribution de certains cultivars à une espèce ou à un groupe d'hybrides. Ainsi, par exemple, le cultivar 'Pink Pixie' est un hybride interspécifique entre deux espèces inconnues selon Iridel (1995) mais selon Wu (2012) il appartiendrait à l'espèce *B. glabra*.

1.2 Les bougainvilliers : plantes phare du Cannebeth mais qui doivent être caractérisées afin de créer de nouveaux cultivars rustiques et d'obtenir la certification « collection nationale »

1.2.1 Les bougainvilliers : plantes phare du Cannebeth

L'entreprise horticole du Cannebeth, située à Mauguio dans le département de l'Hérault, est spécialisée dans la production et de plantes fleuries et vivaces adaptées à la côte méditerranéenne et de cyclamens. Elle produit notamment des bougainvilliers. Cette entreprise, dont le logo est, depuis 30 ans, une inflorescence de bougainvillier (Figure 9) commercialise une large gamme de bougainvilliers de tailles (pot de 15 cm, 17 cm, 15L et 35L) et de couleurs différentes et est, dans le Languedoc-Roussillon, le principal fournisseur de bougainvilliers (des jardinerie et des grandes surfaces). En 2013, l'entreprise a obtenu le prix « Innovert de bronze » au salon du végétal pour leur nouvelle variété de bougainvillier 'Flame'.

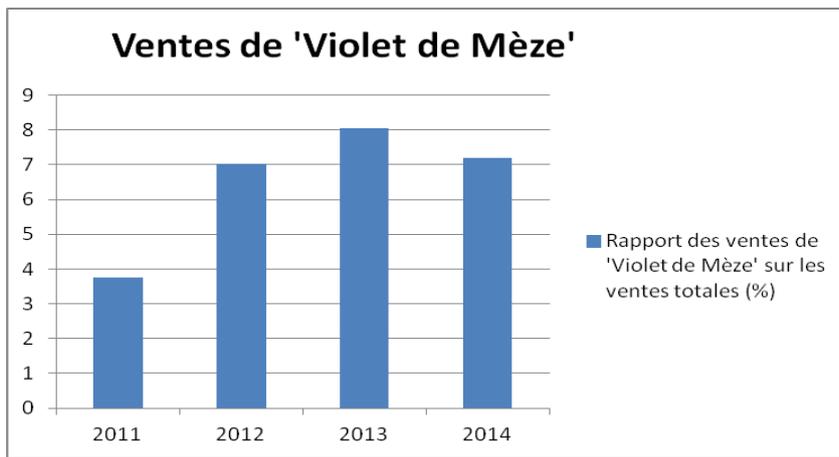


Figure 10 : Evolution des ventes du cultivar 'Violet de Mèze' entre 2011 et 2014 (Août)

1.2.2 Le froid et le gel : les principaux freins à l'achat de ces fleurs de voyage

Les bougainvilliers, par leurs inflorescences nombreuses et éclatantes, évoquent les contrées chaudes et lointaines, faisant rêver plus d'un européen de le retrouver dans son jardin ou sur sa terrasse. Hélas, frileux et gélifs, la plupart des cultivars ne supportent pas une température inférieure à 1 ou 2°C et doivent être cultivés en pot, protégés et maintenus pendant l'hiver dans un espace lumineux et hors gel. Cette plante demande un soin et un entretien qui ne sont pas toujours connus et suivis à la lettre, laissant alors de nombreux acheteurs français déçus voir réticents à tout nouvel essai (expérience personnelle).

Parmi les cultivars de bougainvilliers, deux cultivars présentent une résistance au froid plus importante: 'Sanderiana' (-4 à -6°C), cultivar aux bractées pourpre foncé, et 'Violet de Mèze' (jusqu'à -10°C), cultivar aux bractées mauve pâle et baptisé ainsi par l'entreprise car recueilli à Mèze dans l'Hérault. Ces derniers survivent aisément en pleine terre dans des lieux à l'abri du vent d'Ouest et exposés plein Sud (par exemple un mur de l'île d'Yeu) ou dans la zone de l'oranger. Ils font la fierté de leur propriétaire. Depuis que l'entreprise réalise de nombreuses communications sur le cultivar 'Violet de Mèze', il est de plus en plus demandé (souvent avec une autre couleur de bractée) et le nombre d'achats croît en général d'année en année (Figure 10). Néanmoins, une seule couleur de bractée est disponible et sa plantation est restreinte à la partie Sud de la France.

1.2.3 Une collection qui doit être caractérisée phénotypiquement et génétiquement

Afin de répondre à ces nouvelles demandes de consommateur (bougainvilliers rustiques et faciles d'entretien et présentant une autre couleur que mauve pâle) et d'élargir le marché de l'entreprise à la France entière, l'une des solutions est de réaliser un programme de création variétale. Pour cela, l'entreprise dispose d'une collection de bougainvilliers mais manque d'informations sur le matériel et les protocoles à mettre en œuvre.

Cette collection, réalisée et maintenue depuis la création de l'entreprise (soit environ 30 ans), compte aujourd'hui approximativement 130 variétés ou cultivars, à bractées simples et parfois doubles ou multiple et présentant une large gamme de coloris. Ces cultivars proviennent soit de différents fournisseurs (le mode de sélection des cultivars n'étant souvent pas renseigné ni leur nom) soit de l'entreprise elle-même qui les a obtenus par mutation de bourgeon. En 2012, cette collection a été labellisée « collection agréée », par le « Conservatoire des Collections Végétales Spécialisées » (CCVS), association encourageant et valorisant les collections de plantes horticoles. Ce label est le premier niveau de certification décerné par le CCVS, certains éléments tels que l'origine des cultivars ou leur attribution à une espèce ou à un hybride étant encore insuffisants pour l'obtention du label supérieur : « collection nationale ».

1.3 Objectifs du stage

Les différents souhaits de l'entreprise ont été les suivants : 1) avoir des informations sur les cultivars composant leur collection de bougainvilliers ainsi que sur le genre afin de pouvoir initier un programme de création variétale orienté sur la résistance au froid ; 2) avoir une description morphologique de ces différents cultivars qui soit complète, discriminante et ne nécessitant pas de photographies ; 3) obtenir le label « collection nationale » pour cette collection.

Pour cela, il a été nécessaire tout d'abord de caractériser phénotypiquement et génétiquement la collection de bougainvilliers et de synthétiser les informations concernant les paramètres biologiques et méthodologiques les plus pertinents qui permettront d'initier un programme d'amélioration. La caractérisation phénotypique de la collection a été réalisée de façon à ce que les différents cultivars puissent être distingués sans l'aide de photographie. Puis, ces données phénotypiques ainsi que les données génétiques obtenues lors de ces caractérisations ont permis de réaliser le dossier de demande de labellisation « collection nationale » du CCVS.

Le **premier objectif** de mon stage a été de réaliser un phénotypage complet et discriminant des différents cultivars de la collection. Pour cela, l'ensemble des cultivars de la collection a été étudié. La collection comprend, selon les ouvrages de références:

- des cultivars appartenant aux espèces *B. glabra*, *B. spectabilis* ou *B. peruviana*,
- des cultivars appartenant aux trois groupes d'hybrides (*B. x buttiana*, *B. specto-peruviana* et *B. specto-glabra*),
- des cultivars dont le nom utilisé n'est pas référencé mais dont l'attribution à une espèce ou à un groupe d'hybride est déterminée,
- des cultivars dont le nom utilisé n'est pas référencé et dont l'attribution à une espèce ou à un groupe d'hybride est indéterminée.

Le **second objectif** a consisté à déterminer les relations de parenté entre ces cultivars (les clones, les mutants de bourgeon ainsi que les proximités génétiques). Pour cela, les données orales et bibliographiques ont été associées aux données obtenues grâce au génotypage de l'ensemble des cultivars de la collection.

Traditionnellement, l'identification ainsi que la classification des cultivars de bougainvillier étaient basées uniquement sur des caractères morphologiques et agronomiques (Pancho et Bardenas, 1959; Zadoo *et al.*, 1974; Gillis, 1976; Leonardi et Romano, 2003). Depuis quelques années, différents marqueurs moléculaires (RFLP, AFLP, RAPD, ISSR, SSR, ...) ont été développés afin d'aider à identifier des cultivars et à déterminer leurs relations génétiques. Pour le bougainvillier, trois marqueurs ont été principalement utilisés : les isozymes (Hammad, 2009 ; Chen *et al.*, 2012); le Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD) (Wu, 2012 ; Chatterjee *et al.*, 2007 ; Srivastava *et al.*, 2009) et les Inter-Simple Sequence Repeats (ISSR) (Wu, 2012). Parmi ces trois marqueurs, les ISSR sont des marqueurs qui ne nécessitent pas de connaissances préalables du génome étudié pour être utilisés et qui possèdent un haut niveau de polymorphisme permettant de distinguer des variétés génétiquement très proches (Santoni *et al.*, 2000). Ainsi, dans cette étude, en plus de la description morphologique des cultivars, 4 marqueurs ISSR ont été utilisés.

Le **troisième objectif** a été de synthétiser les principaux paramètres biologiques et méthodologiques les plus pertinents et qui permettront d'initier un programme de création variétale. Pour cela, des données bibliographiques et expérimentales ont été utilisées.

Enfin, le **quatrième objectif** a consisté à réaliser, à partir des données issues du phénotypage et du génotypage de la collection, le dossier de demande de certification « collection nationale » du CCVS.



Figure 11 : Les différents bougainvilliers composant la collection du Cannebeth. De gauche à droite et de haut en bas : les 78 cultivars appartenant depuis plus d'un an à la collection ; individu provenant d'Italie ; individu greffé provenant de Thaïlande ; cultivar reçu de l'île Maurice sous forme de bouture en racine nue et repoté et jeunes plants de bougainvilliers en plaque de 51 godets provenant de Porto-Rico.

2 Matériels et Méthodes

2.1 Matériel Végétal

Au total, 128 cultivars de bougainvilliers, provenant de 7 pays différents (France, Italie, Danemark, Thaïlande, Réunion, île Maurice et Porto-Rico) et appartenant à différentes espèces ou groupes d'hybrides, ont été étudiés (Annexe I à Annexe III).

Parmi ces 128 cultivars, 3 groupes peuvent être distingués en fonction de l'ancienneté de leur entrée dans la collection :

- Un premier groupe est composé de 78 cultivars qui font partie de la collection depuis plus d'un an (avant 2013) et sont cultivés dans la serre en verre de l'entreprise du Cannebeth (Mauguio, Languedoc Roussillon) (Figure 11). Cette serre est orientée Sud-est et Sud-ouest, permettant des températures variant entre 8°C et 15°C l'hiver et entre 25°C et 40°C l'été. Ces cultivars sont maintenus en pot de 12 litres contenant un terreau drainant (Pindstrup) et sont irrigués par goutte à goutte. Ils reçoivent une fois par an une pincée d'engrais à diffusion lente (Osmocote top dress).
- Un deuxième groupe est formé par 6 cultivars greffés sur deux individus porte greffes, provenant de Thaïlande, acquis par l'entreprise en 2013 et qui se développent dans des pots de 60 litres à proximité des 78 premiers cultivars (Figure 11).

Enfin, dans le cadre de cette étude et afin d'agrandir la collection du Cannebeth, 44 cultivars ont été importés aux mois de Mars et Avril 2014 :

- 2 cultivars, âgés de plus de deux ans et cultivés en pots de 2 litres, ont été isolés d'un lot de bougainvilliers provenant de la pépinière Florciceo située en Italie pour leurs caractères morphologiques semblant nouveaux pour l'entreprise (Figure 11),
- 21 cultivars ont été importés, sous forme de bouture en racines nues, de la pépinière Exotica située sur l'île Maurice (Figure 11),
- les 21 derniers cultivars ont été importés, sous forme de jeunes plants racinés en plaque de multiplication de 51 ou 72 godets, de la pépinière Vista Farms située à Porto Rico (Figure 11).

Ce panel d'individus étudiés comprend, selon les ouvrages de référence (Annexe IV et Annexe V):

Des cultivars dont on connaît l'espèce ou le groupe d'hybride

- 5 à 7 cultivars appartenant à l'espèce *B. glabra*,
- 6 à 7 cultivars appartenant à l'espèce *B. spectabilis*,
- 1 à 3 cultivars appartenant à l'espèce *B. peruviana*,
- 6 à 7 cultivars appartenant au groupe d'hybrides *B. x buttiana*,
- 0 à 2 cultivars appartenant au groupe d'hybrides *specto-peruviana*,
- 1 à 2 cultivars appartenant au groupe d'hybrides *specto-glabra*,
- des cultivars appartenant à un groupe d'hybrides dont le nom est inconnu (13 à 16 cultivars),
- 1 cultivar ('Violet de Mèze') dont le nom n'est pas référencé mais qui appartiendrait au groupe d'hybrides *B. specto-glabra*,
- des cultivars dont le nom est référencé mais dont l'attribution à une espèce ou à un groupe d'hybrides est à déterminer (8 à 11 cultivars),
- et des cultivars dont l'identification et l'attribution à une espèce ou à un groupe d'hybrides sont à déterminer (82 cultivars).

Tableau 2 : Caractères quantitatifs utilisés pour caractériser phénotypiquement la collection. Les caractères en italiques correspondent aux descripteurs indirects.

Caractères quantitatifs	Code	Unité
Plante		
1. Longueur moyenne de 10 entre-nœuds	EN_long	mm
Epine		
2. Longueur moyenne de 10 épines	E_long	mm
3. Largeur moyenne (LM) de la base de 10 épines	E_LM	mm
4. <i>Rapport de la longueur sur la LM des épines</i>	E_long_larg	ratio
Feuille		
5. Longueur moyenne des feuilles	F_long	cm
6. Distance moyenne de la base à la largeur maximale des feuilles	F_db_LM	cm
7. Largeur maximale (LM) des feuilles	F_LM	cm
8. <i>Rapport de la longueur sur la LM des feuilles</i>	F_Long_larg	ratio
Cyme		
9. Nombre moyen d'inflorescences	C_NBmoy_cime	nombre
Pédoncule		
10. Longueur moyenne du pédoncule	Ped_long	mm
Bractée		
11. Longueur moyenne de la bractée	B_long	mm
12. Largeur maximale moyenne de la bractée	B_LM	mm
13. <i>Rapport de la longueur sur la LM des bractées</i>	B_long_larg	ratio
Fleurs		
14. Longueur moyenne du tube floral	Fl_long	mm
15. Largeur maximale moyenne du tube floral	Fl_LM	mm
16. Distance moyenne de la base à la restriction du tube floral	Fl_dbaseLM	mm
17. <i>Rapport de la longueur sur la LM du tube floral</i>	Fl_long_larg	ratio
18. Longueur moyenne d'insertion de la fleur sur la bractée	Fl_insertionfl_long	mm
19. Diamètre moyen du limbe	Li_long	mm

Tableau 3 : Caractères qualitatifs utilisés pour caractériser phénotypiquement la collection. Les étoiles indiquent les caractères présentant un nombre important de modalités ou qui sont purement descriptifs (1/2).

Caractères qualitatifs	code	Nombre de classe
Fleurs		
60. Présence de fleur*		2
61. Couleur du tube floral	Fl_coul_tube	2
62. Type de développement floral	Fl_dev	3
63. Couleur de la face interne des sépales*		infini
64. Proéminence des fleurs	Fl_proe	2
65. Couleur du limbe*		infini
66. Proéminence des étamines	Fl_proe_etamine	2
67. Courbure des sépales	Fl_courbure_sepale	2

2.2 Caractérisation phénotypique et génétique de la collection

2.2.1 Caractérisation morphologique

2.2.1.1 Sélection des caractères morphologiques en trois étapes

De nombreuses clés de détermination des différentes espèces et de leurs hybrides ainsi que des descripteurs formels des bougainvilliers ont été proposés successivement (Pancho et Bardenas, 1959 ; Swarup et Singh, 1964 ; Pal et Swarup, 1974 ; Zadoo *et al.*, 1974 ; Gillis, 1976 ; MacDaniels, 1981 ; Iridel, 1995 ; Leonardi et Romano, 2003 ; Srivastava *et al.*, 2009 ; Mohammed, 2007).

Dans cette étude, afin de réaliser une caractérisation morphologique complète des individus, une liste de descripteurs a tout d'abord été établie à partir de 9 ouvrages (Swarup et Singh, 1964 ; Zadoo *et al.*, 1974 ; Pal et Swarup, 1974 ; Iridel, 1995 ; Leonardi et Romano, 2003 ; Srivastava *et al.*, 2009 ; UPOV, 2011 ; entreprise du Cannebeth, 2012 ; Zu *et al.*, 2009) et de l'observation des individus de la collection. Ensuite, seuls les descripteurs qui pouvaient être déterminés à l'aide du matériel disponible dans l'entreprise (règle, mètre, pied à coulisse et loupe binoculaire) et de manière assez objective ont été sélectionnés. Enfin, ces derniers descripteurs sélectionnés ont été testés sur une vingtaine de cultivars, choisis au hasard, afin d'éliminer ceux qui étaient non discriminants (ex : couleur des branches).

2.2.1.2 Caractères morphologiques quantitatifs (19) et qualitatifs (48) sélectionnés

Au final, 19 caractères quantitatifs (Tableau 2) et 48 caractères qualitatifs (Tableau 3 et Tableau 4), décrivant les parties végétatives (plante, branche, épine, pétiole et feuille) et florales (cyme, pédoncule, pédicelle, bractée et fleur), ont été sélectionnés. Parmi les 19 caractères quantitatifs, 4 caractères sont des descripteurs indirects et correspondent à des rapports entre la longueur et la largeur maximale (LM) de différentes parties de la plante.

Afin de faciliter le phénotypage actuel ou ultérieur des cultivars de bougainvilliers, un guide définissant et illustrant l'ensemble des caractères qualitatifs et certains caractères quantitatifs ainsi que des fiches types de notation ont été réalisées (Tableau 5). L'ensemble des données a été stocké dans une base de donnée créée à l'aide du logiciel Microsoft Access 2007.

2.2.1.3 Méthodes et outils de descriptions et de mesures

Pour les individus appartenant depuis plus d'un an à la collection, un individu par cultivar a été phénotypé. Les individus provenant de l'île Maurice et de Porto Rico étant trop petits et donc présentant peu de matériel, les parties de plante phénotypées proviennent de plusieurs individus du même cultivar.

Ce phénotypage a été réalisé selon deux grandes étapes : le phénotypage des parties végétatives, réalisé entre les mois d'Avril et de Juin, et le phénotypage floral réalisé entre les mois de Juin et de Juillet

Pour les parties végétatives, l'ensemble des mesures et des descriptions a été réalisé, lorsque cela était possible, sur les dix premiers entre-nœuds, feuilles et épines situées à la base d'une branche de chaque cultivar. La largeur des épines ainsi que la longueur des entre-nœuds ont été mesurées à l'aide d'un pied à coulisse à lecture digitale (OTMT, 150 mm) permettant une précision de 0.03 mm et facilitant les mesures sur ces organes ou parties de plantes. Les autres caractères quantitatifs ont été mesurés à l'aide d'une règle de 30 cm. Les couleurs des feuilles et des pétioles ont été attribuées en utilisant le descripteur couleur de l'UPOV.

Tableau 4 : Caractères qualitatifs utilisés pour caractériser phénotypiquement la collection. Les étoiles indiquent les caractères présentant un nombre important de modalités ou qui sont purement descriptifs (2/2).

Caractères qualitatifs	code	Nombre de classe
Plante		
20. Port de la plante	Plante_port	3
Epine		
21. Forme générale des épines	E_formegeneral	2
Pétiole		
22. Couleur partie supérieure du pétiole*		11
Feuille		
23. Position de la largeur moyenne des feuilles	F_positionLM	3
24. Couleur principale des jeunes feuilles	F_coul_princ_JF	3
25. Couleur principale des vieilles feuilles	F_coul_princ_VF	7
26. Couleur secondaire des jeunes feuilles	F_coul_sec_JF	9
27. Couleur secondaire des vieilles feuilles	F_coul_sec_VF	9
28. Répartition de la couleur secondaire des feuilles	F_coul_sec_repart	3
29. Couleur tertiaire des feuilles*		9
30. Type d'ondulation des feuilles	F_ondulation	2
31. Proéminence des nervures des feuilles	F_proeminance_veine	2
32. Forme générale des feuilles	F_forme_gene	7
33. Forme de l'apex des feuilles	F_forme_apex	3
34. Forme de la base des feuilles	F_forme_base	11
35. Type de pilosité de la face inférieure du limbe	F_pilosité	3
36. Brillance des vieilles feuilles	F_brillance	2
Inflorescence		
37. Type de branche portant les cymes	I_branche	3
38. Position des cymes sur la branche	I_position	3
Cyme		
39. Division maximale de la cyme	C_divi	2
40. Composition de la cyme	C_composition	2
Pédoncule		
41. Couleur du pédoncule*		6
Pédicelle		
42. Type d'attachement de la bractée au pédicelle	Pedic_attachement	2
43. Couleur du pédicelle*		8
Bractée		
44. Type de bractée*	B_type	2
45. Couleur stade petite jeune bractée (JB) (bractée simple)*		infini
46. Couleur stade JB lobe calice non ouvert (bractée simple)*		infini
47. Couleur stade JB avec 2 fleurs ouvertes (bractée simple)*		infini
48. Couleur stade bractée avec 3 fleurs fanées (bractée simple)*		infini
49. Couleur secondaire JB lobe calice ouvert*		infini
50. Couleur tertiaire JB lobe calice ouvert*		infini
51. Couleur stade jeune bractée externe (bractée double)*		infini
52. Couleur stade jeune bractée interne (bractée double)*		infini
53. Couleur des nervures des bractées (bractée simple ou double)*		3
54. Couleur de l'apex de la bractée*		infini
55. Forme générale des bractées	B_forme_gene	6
56. Forme de l'apex des bractées	B_forme_apex	5
57. Forme de la base des bractées	B_forme_base	3
58. Proéminence des nervures des bractées	B_proe	2
59. Persistance des bractées	B_persis	2

Pour les parties florales, une dizaine de cymes de chaque cultivar a été phénotypée. Sur ces cymes (pour les cultivars à inflorescence simple), 30 inflorescences à quatre stades de développement différents (Figure 12) ont été prélevées au hasard afin de caractériser la couleur des bractées de chaque cultivar. Les autres mesures et descriptions des bractées, pédicelles et fleurs ont été réalisées sur 10 bractées et fleurs au troisième stade de développement (Figure 12). Dans cette deuxième partie du phénotypage, l'ensemble des caractères morphologiques quantitatifs a été mesuré à l'aide d'une règle de 30 cm, les couleurs des bractées ont été attribuées en utilisant la 6^{ème} édition de la charte de couleurs de la « Royal Horticulture Society » éditée en 2007 (comprenant 896 couleurs) et les couleurs des différentes parties des fleurs ont été attribuées en utilisant le descripteur couleur utilisé par Iridel (1995).

2.2.1.4 Analyse des données morphologiques

Identification des cultivars. Une fois les données morphologiques acquises, la première étape a consisté à vérifier l'identité des cultivars dont le nom est référencé et à tenter d'attribuer l'identité correcte aux cultivars dont le nom n'est pas référencé. Pour cela, les données morphologiques phénotypées des cultivars de la collection ont été comparées à celles présentes dans les ouvrages de référence (Iridel, 1995 ; Pal et Swarup, 1974 ; MacDaniels, 1981) ainsi qu'aux données présentes dans les dossiers de PlantPatent et COV.

Variabilité et association des caractères quantitatifs. La variabilité des caractères quantitatifs au sein de chaque cultivar et entre les cultivars a été déterminée en calculant le coefficient de variation (CV%) de chaque caractère. Les valeurs moyennes obtenues pour les 19 caractères de chaque cultivar ont été utilisées pour calculer le CV de chaque caractère entre les cultivars. Ces statistiques descriptives ont été calculées à l'aide de Microsoft Office Excel 2007. Afin d'explorer les associations entre ces caractères quantitatifs, le coefficient de corrélation de Pearson a été calculé. Ce calcul ainsi que les analyses suivantes ont été effectués en utilisant le logiciel R version 3.1.1.

Sélection des caractères quantitatifs et qualitatifs les plus discriminants. Afin de confirmer les relations entre les caractères quantitatifs et de déterminer ceux qui sont les plus discriminants pour la caractérisation morphologique de la collection, une Analyse des Composantes Principales (ACP) a été réalisée. Les caractères quantitatifs sélectionnés ont été transformés en caractères qualitatifs, ces derniers étant majoritaires, en les découpant en classes selon des seuils choisis. Ces seuils ont été fixés de façon à réaliser pour chaque caractère trois classes séparées par un pas égal (correspondant à l'amplitude de chaque caractère divisée en 3). Afin de déterminer les caractères qualitatifs les plus discriminants pour la caractérisation de la collection, une Analyse des Correspondances Multiples (ACM) a été effectuée.

Réalisation du dendrogramme basé sur les données morphologiques. Les caractères quantitatifs transformés ont été associés aux caractères qualitatifs sélectionnés afin de réaliser une ACM. Les composantes principales de cette dernière ont été utilisées pour effectuer une classification ascendante hiérarchique (distance=euclidienne et méthode d'agrégation=Ward).

2.2.2 Caractérisation génétique

Les différentes étapes du génotypage (de l'extraction de l'ADN à l'obtention des chromatogrammes) ont été sous-traitées au laboratoire de Végépolys situé à Angers et

Tableau 5 : Fiche type de notation

	EN_long (mm)	E_long (mm)	E_LM (mm)	E_Long_larg	F_long (cm)	F_LM (cm)	F_long_larg	F_db_LM (cm)
1	5.53	1.5	0.73	2.054794521	6.8	3.5	1.942857143	2.4
2	12.07	2.5	0.74	3.378378378	6.2	3.6	1.722222222	2
3	9.89	3.5	1.12	3.125	7.4	3.5	2.114285714	2.5
4	9.18	6	1.44	4.166666667	5.3	2.9	1.827586207	1.8
5	12.58				4.9	2.9	1.689655172	1.7
6	11.91				6.2	3.1	2	1.9
7	6.52				6.6	3.5	1.885714286	1.8
8	11.37				6.8	3.7	1.837837838	2.1
9	3.33				11.2	4.5	2.488888889	3.2
10	4.55				7.1	3.7	1.918918919	2.4

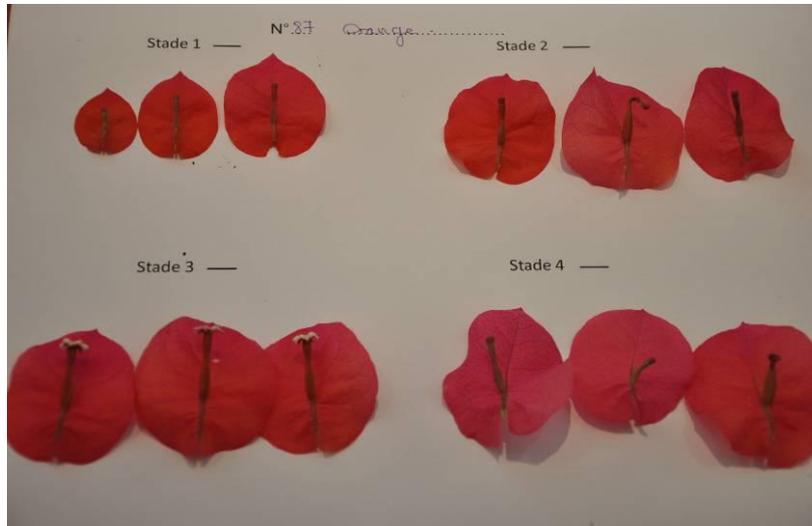


Figure 12 : Illustration des quatre stades de développement des inflorescences phénotypées. La longueur des barres correspond à 1cm.

Tableau 6 : Informations sur les amorces ISSR sélectionnées et utilisées dans cette étude

Amorce	Séquence (3'-5')	Utilisé par
UBC 835	AGA GAG AGA GAG AGA GYC	Li <i>et al.</i> , 2011 et Wu, 2012
UBC 842	GAG AGA GAG AGA GAG AYG	Li <i>et al.</i> , 2011 et Wu, 2012
UBC 844	CTC TCT CTC TCT CTC TRC	Li <i>et al.</i> , 2011
ISSRa	GCT CTC TCT CTC TCT C	Végépolys

réalisées par la chargée de réalisation, Nadège LEPOCREAU. L'analyse des chromatogrammes et donc des données génétiques a été réalisée par l'auteur de ce mémoire.

2.2.2.1 Obtention des chromatogrammes

Une dizaine de jeunes feuilles de chaque cultivar a été prélevée et conservée dans une pochette plastique entre de couches de papiers absorbants humidifiés. L'ensemble de ces échantillons a été envoyé dans un carton par poste à Végépolys. Ensuite, l'ADN total a été extrait de 100 mg de feuilles de chacun des 128 cultivars selon un protocole développé et utilisé par Végépolys (Annexe VI).

La concentration et la qualité de ces ADN extraits ont été évaluées puis ces ADN ont été dilués à une concentration égale à 5ng/μl.

Un total de 4 marqueurs ISSR, 3 ISSR utilisés dans des études précédentes réalisées sur les bougainvilliers et 1 ISSR fréquemment utilisé par Végépolys pour son haut niveau de polymorphisme et sa haute transférabilité (Tableau 6) ont été utilisés pour génotyper la collection. Les Réactions de Polymérisation en Chaîne (PCR) ont été réalisées en utilisant un protocole développé par Végépolys (Annexe VI). Les produits PCR obtenus ont été analysés sur le séquenceur automatique ABI au plateau de génotypage d'ANalyse des Acides Nucléiques (ANAN) du centre d'INRA Angers- Nantes.

2.2.2.2 Analyse des données génétiques

Les chromatogrammes ont été visualisés en utilisant le logiciel Genographer V2.1 (Benham et al., 1999) qui recrée artificiellement la migration des différents produits de PCR de chaque individu. A partir de ces gels, la taille en paire de bases de chaque bande pour chaque locus de l'ensemble des individus étudiés a été déterminée. Cette taille a été estimée par comparaison avec le marqueur de taille GeneScan TM 1200 Liz®.

Les cultivars de bougainvilliers étant polyploïdes (diploïde, triploïde ou tétraploïde) et la ploïdie de nos individus étant encore inconnue, les allèles ont été codés en présence (1) et absence (0). A l'aide du logiciel DARwin V5.0 (Perrier et Jacquemoud-Collet, 2006 ; <http://darwin.cirad.fr/darwin>), une matrice de dissimilarité entre paires d'individus a été calculée avec l'indice de Dice :

$$D_{ij} = (b+c) / 2a + (b+c)$$

où D_{ij} représente la dissimilarité entre l'individu i et l'individu j

a est égal au nombre de bandes communes entre l'individu i et j

b est égal au nombre de bandes présentées par l'individu i et pas par l'individu j

c est égal au nombre de bandes présentées par l'individu j et pas par l'individu i

A partir de cette matrice, un dendrogramme a été construit selon la méthode de Neighbor Joining (NJ).

2.3 Paramètres biologiques et méthodologiques, des espèces ornementales de bougainvilliers, essentiels pour initier un programme d'amélioration

Le maximum d'informations concernant les paramètres biologiques (système de reproduction, auto-incompatibilité, ...) et méthodologiques (différentes méthodes d'obtention de cultivars) essentiels pour débiter un programme d'amélioration, afin d'obtenir des bougainvilliers présentant une meilleure résistance au froid, a été synthétisé à partir de divers travaux scientifiques.

2.4 Réalisation du dossier de demande de certification « collection nationale » du CCVS

Pour les individus qui ne présentaient aucune donnée phénotypique manquante et qui ne n'étaient pas des clones, les caractères morphologiques et génétiques ont été synthétisés dans un tableau excel afin de préparer le dossier de demande de certification. En plus de ces données, d'autres renseignements concernant ces cultivars (précocité de floraison, obtenteur, date d'obtention, méthode d'obtention, type de protection) et la gestion de la collection (date d'entrée dans la collection, numéro d'introduction, fournisseur, pays du fournisseur) ont été compilées à partir de données orales et bibliographiques pour constituer un dossier complet.

Tableau 7 : Cultivars dont le nom est référencé dans les ouvrages et a été vérifié sur la base de données morphologiques

	Nombre de cultivars	Cultivars
Cultivars dont le nom est correctement attribué	20	'After Glow', 'Barbara Karst', 'California Gold', 'Elisabeth Angus', 'Flame', 'James Walker', 'Killie Campbell', 'Louis Wattan', 'Manyla Hybride', 'Pink Pixie', 'Rijplant Rjinstar Lila', 'VF_14Rijplant Rjinstar Lila', 'Rijplant Rjinstar White', 'Ex16_Rosenka', 'Sanderiana Alexandra', 'San Diego Rouge', 'Vera Blackman', 'Vera Deep Purple', 'Vera Lynn', 'EX_20Vera Pink'
Cultivars dont l'identité n'a pas pu être vérifiée	4	'Ada's Joy', 'Amethyst', 'Imperial Delight', 'Miami Pink'
Cultivars dont le nom n'est pas attribué correctement	7	'Asia', 'Formosa', 'Juanita Hatten', 'Rosenka', 'Scarlet'OHara', 'Surprise' et 'Vera Pink'
Cultivars dont l'identité reste incertaine	1	'La Jolla'

3 Résultats

3.1 Caractérisation morphologique de la collection

3.1.1 Caractérisation de 90 individus sur 128

Au final, 19 caractères quantitatifs et 48 caractères qualitatifs ont été utilisés pour caractériser morphologiquement la collection. Sur les 128 cultivars étudiés, 90 ont été phénotypés entièrement et 38 présentent des données manquantes (Annexe VII). En effet, les parties florales de 22 cultivars n'ont pu être phénotypées car ces derniers ne présentaient pas d'inflorescences et ont fleuri ou refleurit trop tardivement (début à mi-Août). Pour les 16 derniers cultivars, les parties végétatives ainsi que les parties florales ont été caractérisées mais certains caractères (des épines et du limbe) présentent des données manquantes car les cultivars étaient trop jeunes et ne présentaient par exemple aucune épine.

3.1.2 Vérification de l'identité des individus référencés et non référencés

3.1.2.1 Vérification de l'identité des cultivars référencés

Sur les 90 individus phénotypés entièrement, 32 cultivars présentent un nom référencé dans les ouvrages. Parmi ces 32 cultivars:

- le nom de 20 cultivars (Tableau 7), est correctement attribué : ils présentent une morphologie similaire à celle donnée pour ces cultivars référencés dans les ouvrages,
- l'identité de 4 cultivars n'a pas pu être vérifiée car leurs noms sont seulement cités dans les ouvrages de référence sans aucune description disponible (Tableau 7),
- le nom de 7 cultivars (Tableau 7) n'est pas correctement attribué : ils présentent une morphologie (couleur des feuilles et couleur ou taille des bractées) qui diffère de celle qui est référencée dans les ouvrages,
- et l'identité de 1 cultivar reste encore incertaine. En effet, il possède une morphologie similaire à celle référencée ('La Jolla'), mais la description référencée ne permet pas de l'identifier (car trop courte et similaire à la description d'autres cultivars).

3.1.2.2 Identification des cultivars dont le nom n'est pas référencé

Cette collection comprend 7 individus dont le nom n'est pas correctement attribué (Tableau 7) et 57 cultivars dont le nom n'est pas référencé dans les ouvrages (Annexe IV à Annexe V), soit au total 64 cultivars dont le nom référencé est à attribuer. En se basant sur la ressemblance entre les caractéristiques morphologiques des cultivars étudiés et les descriptions données dans les ouvrages, un nom référencé a pu être attribué à 21 d'entre eux (Annexe IX).

Parmi ces 21 cultivars figure le cultivar 'VDM', cultivar de la collection présentant la plus grande tolérance au froid et qui serait un hybride *specto-peruviana*. Ce cultivar par sa morphologie très particulière (feuilles elliptiques, vertes foncées, petite bractée mauve pâle, persistante et portant des fleurs dont le tube est très large et rigide) a été identifié comme étant le cultivar *B. glabra* 'Formosa'. Ce cultivar selon Pal et Swarup (1974) est originaire du Brésil puis a été introduit et cultivé à Londres en 1904.

3.1.2.3 Analyse des caractères morphologiques utilisés

Sur les 90 cultivars présentant des données phénotypées complètes, 3 cultivars aux bractées doubles ('Double Rose', 'Double Rouge' et 'Double Orange') ont été exclus des analyses suivantes car ces derniers ne présentent pas de fleurs lesquelles ont été remplacées par des bractées.

Tableau 8 : Statistiques descriptives des caractères morphologiques quantitatifs notés sur 86 individus de la collection. Les chiffres en gras correspondent aux coefficients de variation les plus élevés et les chiffres en italique correspondent aux coefficients de variation plus élevés entre les individus que au sein des individus.

Partie de la plante	Caractères	Entre les individus	Au sein des individus	
		CV (%)	CV Min (%)	CV Max (%)
Entre-nœud	EN_long	49.91	17.96	117.12
Epine	E_long	52.47	5.43	77.78
	E_LM	36.71	3.76	56.73
	E_long_larg	30.34	5.13	57.02
Feuille	F_long	25.13	5.26	52.53
	F_LM	25.07	5.40	52.23
	F_long_larg	16.80	3.47	19.08
	F_db_LM	30.96	8.84	59.59
Pédoncule	Ped_long	34.20	3.70	52.94
Cyme	C_NBmoy	62.36	0.00	104.33
Bractée	B_long	<i>19.14</i>	2.60	<i>15.73</i>
	B_LM	<i>21.21</i>	2.08	<i>18.01</i>
	B_long_larg	13.29	2.29	16.80
Fleur	Fl_long	15.56	2.13	21.13
	Fl_LM	14.76	0.00	22.22
	Fl_dbaseLM	16.50	1.96	21.96
	Fl_long_larg	19.63	2.36	23.68
	Fl_insertionfl_long	23.71	0.00	26.02
	Li_long	14.45	2.09	14.85

Tableau 9 : Valeur propre, variance en pourcentage non cumulé et cumulé des 6 premiers axes de l'ACP

Axe	Valeur propre	Pourcentage de variance	Pourcentage de variance cumulé
1	5.74	30.22	30.22
2	3.58	18.84	49.06
3	2.59	13.65	62.71
4	2.12	11.18	73.89
5	1.03	5.4	79.29
6	0.97	5.13	84.42

3.1.3 Statistiques descriptives et diversité des caractères morphologiques quantitatifs étudiés

3.1.3.1 Statistiques descriptives

Les coefficients de variation (CV) pour les 19 caractères morphologiques quantitatifs notés sur 87 cultivars sont présentés dans le Tableau 8.

Les trois caractères variant le moins entre les individus sont le rapport de la longueur sur la largeur de la bractée (B_long_larg) (CV=13.29%), la longueur du limbe (Li_long) (CV=14.45%) et la largeur maximale du tube floral (Fl_LM) (CV=14.76%).

Les trois caractères les plus variables entre les individus sont la longueur des entre-nœuds (EN_long) (CV=49.9%), la longueur des épines (E_long) (CV=49.9%) et le nombre moyen d'inflorescences par cyme (C_NBmoy) (CV=62.36). De plus, ces trois derniers caractères présentent également une forte variabilité au sein même de certains cultivars. Par exemple, sur les 86 individus décrits, le CV de la longueur des épines varie entre 5.43% (cultivar 'Rosenka') et 77.78% (cultivar 'Silouhette').

La longueur et la largeur maximale des bractées (B_long et B_larg) sont les deux seuls caractères qui montrent une variabilité entre les individus (CV=19.4% et CV=21.21% respectivement) supérieure à celle présente au sein des individus (CV=15.73% et CV=18.01% respectivement).

3.1.3.2 Corrélation entre les caractères morphologiques quantitatifs

L'Annexe VIII présente les coefficients de corrélation de Pearson obtenus entre les 19 caractères quantitatifs mesurés sur les 87 cultivars de la collection. Ces analyses montrent la présence de nombreuses corrélations positives et d'une corrélation négative significative entre les caractères étudiés.

Elles montrent notamment la présence de corrélations positives et négatives très significatives entre les caractères décrivant les inflorescences. Le coefficient de corrélation positif le plus élevé ($r = 0.93$) a été observé entre la longueur (Fl_long) et la largeur maximale (FL_LM) du tube floral. Les trois autres corrélations les plus élevées concernent les bractées et les fleurs : la longueur des bractées (B_long) est fortement et positivement corrélée à la largeur maximale des bractées (B_LM) ($r = 0.86$), à la longueur du tube floral (FL_long) ($r = 0.86$) ainsi qu'à la distance moyenne de la base à la restriction du tube floral (Fl_dbase_LM) ($r = 0.85$). Enfin, le coefficient de corrélation le plus négatif ($r = -0.71$) a été observé entre la largeur maximale des fleurs (Fl_LM) et le rapport de la longueur sur la largeur maximale de ces dernières (Fl_long_larg).

Ces analyses montrent également la présence de corrélations positives entre les caractères concernant les parties végétatives (notamment les feuilles) et ceux concernant les parties florales. Le rapport de la longueur sur la largeur maximale des feuilles (F_long_larg) est positivement et fortement corrélé ($r = 0.86$) au rapport de la longueur sur la largeur maximale des bractées (B_long_larg).

Les corrélations significatives concernant en général différentes parties du bougainvillier, aucun caractère n'a pu être éliminé suite à cette analyse.

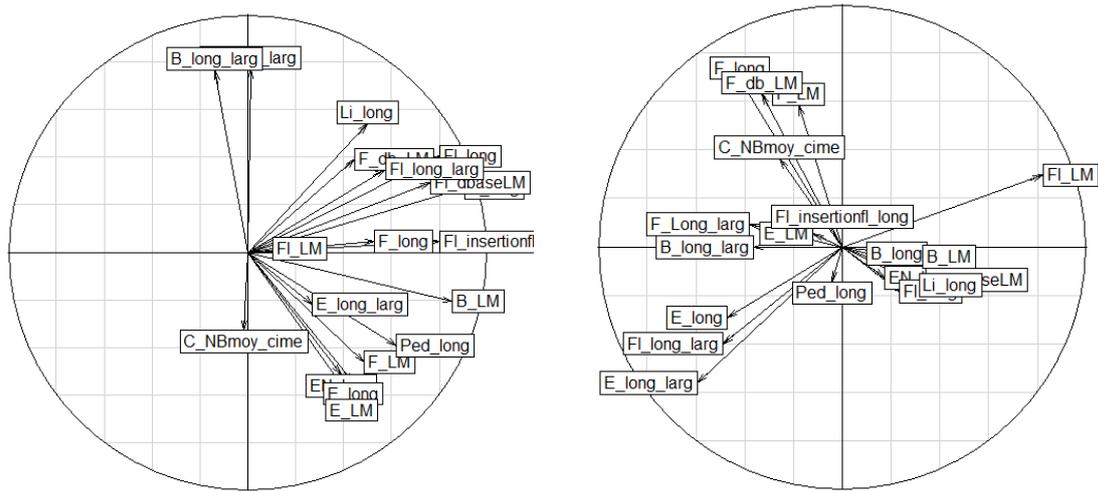


Figure 13 : Représentation graphique des variables. A gauche : axe 1 et axe 2. A droite : axe 3 et axe 4.

Tableau 10 : Contribution des 19 caractères quantitatifs à la construction des 4 premiers axes de l'ACP. Les valeurs en gras correspondent aux contributions les plus élevées.

Caractère	Axe 1	Axe 2	Axe 3	Axe 4
EN_long	2.63	7.36	1.19	0.76
E_long	3.37	8.36	8.57	4.02
E_LM	3.25	10.61	0.55	0.14
E_long_larg	1.27	1.35	13.66	14.84
F_long	4.89	0.06	6.84	22.39
F_LM	4.13	5.95	1.23	15.95
F_long_larg	0	16.58	5.57	0.4
F_db_LM	3.49	4.27	4.21	18.64
Ped_long	6.72	4.31	0.07	0.97
B_long	14.34	2.07	0.39	0.04
B_LM	12.73	1.2	4.17	0.09
B_long_larg	0.33	16.37	5.16	0
C_NBmoy_cime	0.01	2.99	2.55	6.2
FI_long	11.25	4.54	2.15	1.62
FI_LM	0.19	0.01	26.15	4.1
FI_dbaseLM	10.12	2.37	4.52	0.87
FI_long_larg	5.75	3.44	9.21	7.5
FI_insertionfl_long	11.18	0.05	0	0.28
Li_long	4.35	8.13	3.81	1.2

3.1.4 Sélection des caractères quantitatifs et qualitatifs les plus discriminants

3.1.4.1 Sélection des caractères quantitatifs 10 caractères sélectionnés sur 19

Pour confirmer les relations entre les caractères quantitatifs et pour déterminer ceux qui sont les plus discriminants et convenables pour la caractérisation morphologique de la collection ainsi que la classification des cultivars, une analyse des composantes principales (ACP) a été réalisée sur les valeurs moyennes des 19 caractères quantitatifs mesurés sur les 87 cultivars.

Les quatre premiers axes de l'ACP permettent d'expliquer 73.89% de l'inertie totale donc 73.89% des données (Tableau 9). Les graphiques des variables sur les axes 1 à 4 sont présentés en Figure 13. Ces graphiques montrent les mêmes corrélations mises en évidence ci-dessus.

Les valeurs des contributions des différents caractères quantitatifs à la construction des quatre premiers axes sont résumées dans le Tableau 10. Les caractères ayant le plus contribué à la construction des différents axes sont les suivants :

- axe 1 : B_long, B_LM, Fl_long et la longueur moyenne d'insertion de la fleur sur la bractée (Fl_insertionfl_long)
- axe 2 : F_long_larg et Fl_long_larg
- axe 3 : le rapport de la longueur sur la largeur des épines (E_long_larg) et Fl_LM
- axe 4 : la longueur des feuilles (F_long) et la distance moyenne de la base à la largeur maximale des feuilles (F_db_LM).

Les neufs caractères restants présentent une plus faible contribution à la construction des premiers axes et donc ont été exclus des analyses suivantes. Parmi ces caractères figurent EN_long, E_long et C_NBmoy présentant une forte variabilité au sein de certains cultivars (Tableau 10).

10 sur 19 caractères quantitatifs sont donc conservés pour les analyses suivantes et ces derniers comprennent les deux caractères présentant un CV entre les individus supérieur à celui au sein des individus (B_long et B_larg).

3.1.4.2 Sélection des caractères qualitatifs : 30 caractères sélectionnés sur 48

Sur les 48 caractères qualitatifs phénotypés, 18 caractères ont été exclus des analyses suivantes car ils présentaient de nombreuses modalités différentes (couleur principale des bractées aux différents stades, couleur secondaire ou tertiaire des bractées, couleur du pédoncule, couleur des sépales et du limbe) ou étaient purement descriptifs et n'apportaient pas plus d'informations (couleur tertiaire des feuilles, couleur du pédicelle, type de bractée et présence de fleur).

Pour déterminer les caractères qualitatifs qui sont les plus discriminants et convenables pour la caractérisation morphologique de la collection ainsi que la classification des cultivars, une analyse des correspondances multiples (ACM) a été réalisée sur 30 caractères qualitatifs décrits sur les 87 cultivars.

Les quatre premiers axes de l'ACM permettent d'expliquer 27 % de l'inertie totale (Tableau 11). Le graphique des variables sur les axes 1 à 2 est présenté en Figure 14. Cette figure montre le rapport des corrélations entre les dimensions et les variables. La variable qui contribue le plus à la création de l'axe 1 semble être la variable « forme générale des feuilles » (F_forme_gene) et celle qui semble contribuer le plus à la création de l'axe 2

Tableau 11 : Valeur propre, variance en pourcentage et cumulée des 11 premiers axes de l'ACP

Axe	Valeur propre	Pourcentage de variance	Pourcentage de variance cumulé
1	0.19	7.82	7.82
2	0.17	7.11	14.93
3	0.15	6.3	21.23
4	0.14	5.77	27
5	0.12	5.01	32.01
6	0.12	4.75	36.76
7	0.1	3.98	40.74
8	0.09	3.74	44.47
9	0.09	3.58	48.05
10	0.08	3.3	51.35
11	0.07	2.99	54.34

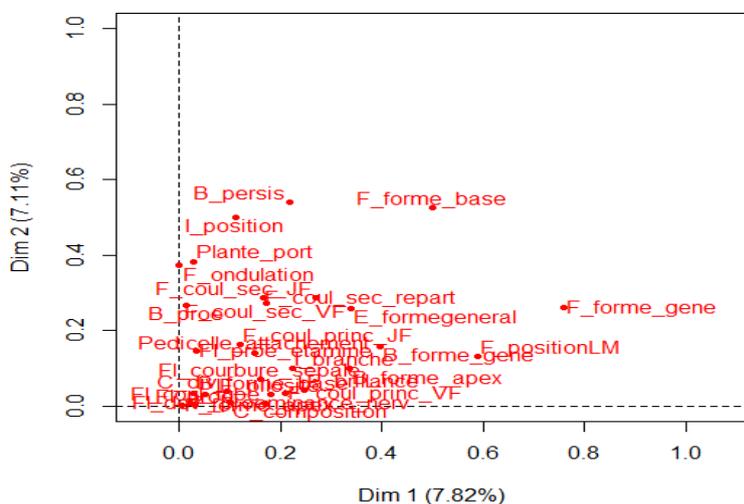


Figure 14 : ACM: Représentation des variables actives et illustratives

Tableau 12 : Valeurs de corrélations entre les différents caractères qualitatifs et les axes.

Axe 1	R2	p.value	Axe 3	R2	p.value
F_forme_gene	0.75550017	1.70E-22	F_coul_sec_VF	0.6183057	1.87E-16
F_positionLM	0.57088029	3.70E-16	F_coul_sec_JF	0.6280074	2.24E-13
B_forme_apex	0.40827086	1.66E-09	Fl_coul_tube	0.482526	9.62E-13
F_forme_base	0.51946548	7.22E-09	F_coul_princ_VF	0.4574792	4.78E-11
E_formegeneral	0.31274023	1.80E-08	F_coul_sec_repart	0.3891244	6.10E-09
B_forme_gene	0.41474078	2.16E-08	C_composition	0.2448016	1.11E-06
Axe 2	R2	p.value	Axe 4	R2	p.value
B_persis	0.51377567	5.84E-15	F_positionLM	0.65734194	2.91E-20
I_position	0.48237589	8.60E-14	F_forme_gene	0.67665236	9.83E-18
F_ondulation	0.37196466	3.61E-10	F_coul_sec_JF	0.62391076	3.35E-13
Plante_port	0.38512035	1.35E-09	F_coul_sec_VF	0.48869909	2.39E-11
F_forme_base	0.51526295	9.75E-09	Fl_proe	0.39573319	6.79E-11
E_formegeneral	0.28199685	1.21E-07	F_coul_sec_repart	0.29419119	2.15E-06

est la variable persistance des bractées (B_persis).

Les valeurs des corrélations entre les différents caractères qualitatifs et les quatre premiers axes sont résumées dans le Tableau 12. Les caractères ayant le plus contribué à la construction des différents axes sont les suivants :

- axe 1 : forme générale des feuilles (F_forme_gene) et position de la largeur maximale des feuilles (F_LM)
- axe 2 : persistance des bractées (B_persis) et position de l'inflorescence (I_position)
- axe 3 : couleur secondaire des jeunes et vieilles feuilles (coul_sec_VF et coul_sec_JF)
- axe 4 : F_forme_gene et F_LM

Parmi les 30 caractères qualitatifs, F_forme_gene, F_LM, B_persis, I_position, coul_sec_VF et coul_sec_JF sont les 6 variables les plus caractérisantes.

3.1.4.3 Analyse des clusters de cultivars basée sur les caractères morphologiques

Le but de cette analyse étant de regrouper les individus en fonction de leur ressemblance morphologique et de regrouper si possible les différents sports (présentant des bractées et des feuilles dont la couleur secondaire et tertiaire sont différentes), 4 caractères qualitatifs sur les 30 ont été exclus de l'analyse. Sur ces 4 caractères, 3 caractères concernent la couleur des feuilles (coul_sec_VF, coul_sec_JF et coul_sec_repart) et 1 caractère concerne la couleur de la cyme (C_composition).

Les 26 caractères qualitatifs ont été associés aux dix caractères quantitatifs (conservés suite à l'ACP et divisés en classes) afin de réaliser un dendrogramme à partir de la matrice de distance euclidienne et la méthode d'agrégation de Ward (Figure 15). Sur cet arbre, les 87 cultivars sont classés en deux principaux groupes.

Groupe 1. Ce groupe se subdivise en 7 sous-groupes (I à VII). Le sous-groupe I est plus proche du sous-groupe II, le sous-groupe III est plus proche des sous-groupes IV et V et enfin, le sous-groupe VI est plus proche du sous-groupe VII.

Sous-groupe I. Il est composé de 10 cultivars. Trois groupes de cultivar proches peuvent être distingués : le groupe des cultivars 'SDR' et 'SDO', le groupe des cultivars 'Roma' et 'Rosenka1' et le groupe des cultivars 'RossoS' et 'Rubiana'.

Sous-groupe II. Il comprend 14 cultivars. Quatre groupes de cultivars proches peuvent être distingués : le groupe des cultivars 'AfterG' et 'Latherita', le groupe des cultivars 'CaliforniaG' et 'Gold', le groupe des cultivars 'MarieJ', 'MarieO' et 'MarieRou' et le groupe des cultivars 'BarbaraK' et 'SOH'.

Sous-groupe III. Ce sous-groupe comprend 6 cultivars. Deux groupes de cultivars proches peuvent être distingués : le groupe des cultivars 'Améthyst' et 'Jamaw' et le groupe des cultivars 'LouisW' et 'Louisa'.

Sous-groupe IV. Il comprend 22 cultivars. Neufs groupes de cultivars proches peuvent être distingués : le groupe des cultivars 'BarbaraR' et 'Bengale', le groupe des cultivars 'VarietO' et 'LaJ', le groupe des cultivars 'SOHF' et 'ManylaH', le groupe des cultivars 'AdasJ' et 'Rosenka2', le groupe des cultivars 'Cardinal' et 'ImperialTD', le groupe des cultivars 'NainO', 'SundownO' et 'Th1_feve_flo', le groupe des cultivars 'PanacheR' et 'YannisD', le groupe des cultivars 'DeltaD' et 'JuanitaH', le groupe des cultivars 'Blush' et 'MiamiP'.

Dendrogramme basé sur les données morphologiques

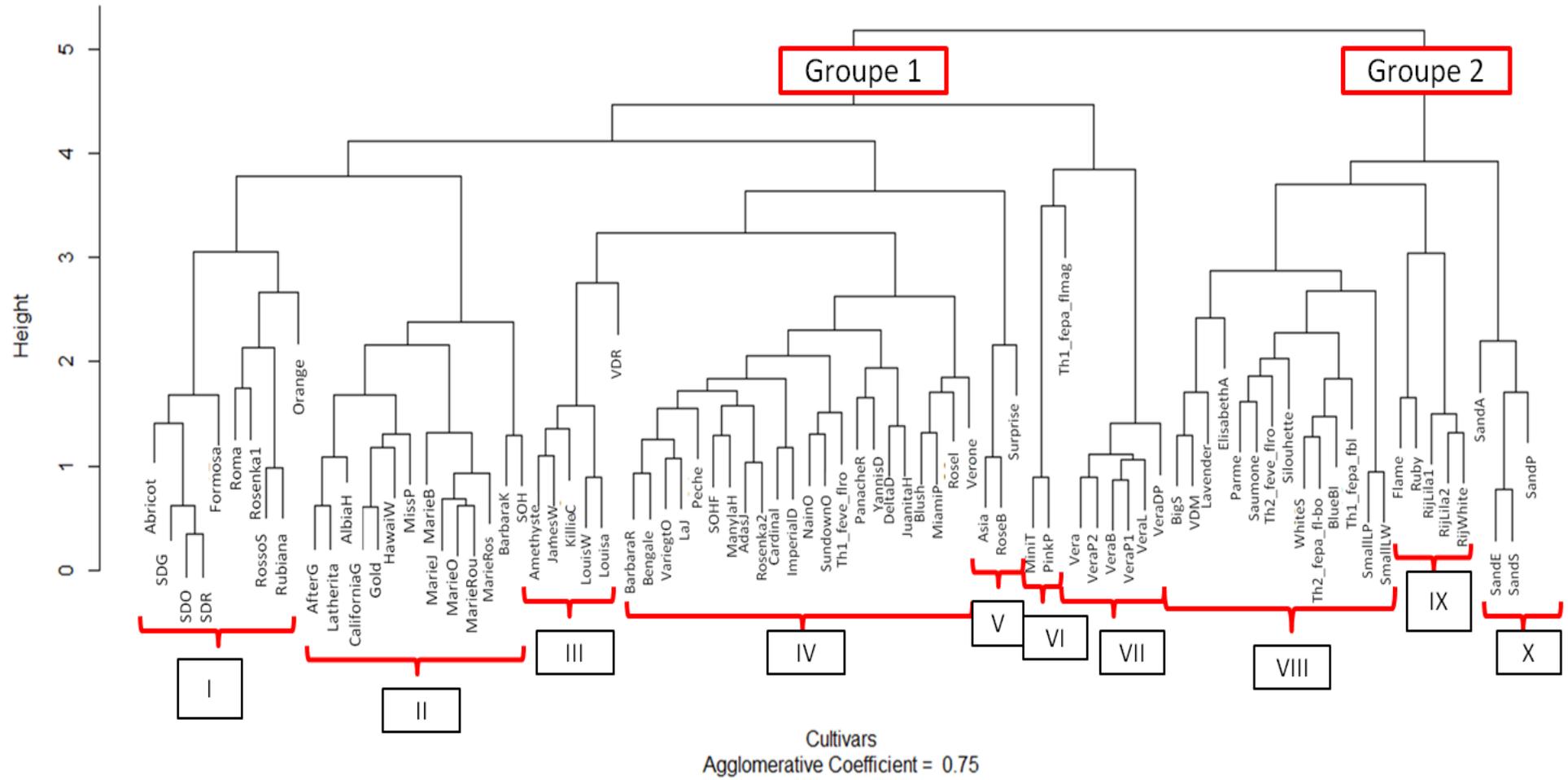


Figure 15 : Dendrogramme obtenu à partir des données morphologiques

Sous-groupe V. Ce sous-groupe comprend 3 cultivars parmi lesquels les cultivars ‘Asia’ et ‘RoseB’ sont plus proches.

Sous-groupe VI. Il est composé de 3 cultivars parmi lesquels les cultivars ‘MiniT’ et ‘PinkP’ sont plus proches.

Sous-groupe VII. Ce sous-groupe comprend 6 cultivars ‘Vera’ dans lequel deux groupes de cultivars proches peuvent être distingués : le groupe des cultivars ‘Vera’ et ‘VeraP2’ et le groupe des cultivars ‘VeraB’, ‘VeraP1’ et ‘VeraL’.

Groupe 2. Ce groupe se subdivise en 3 sous-groupes (VIII à X). Le sous-groupe VIII est plus proche du sous-groupe IX puis du sous-groupe X.

Sous-groupe VIII. Ce sous-groupe comprend 14 cultivars. Quatre groupes de cultivars proches peuvent être distingués : le groupe des cultivars ‘BigS’ et ‘VDM’, le groupe des cultivars ‘Parme’ et ‘Saumone’, le groupe des cultivars ‘WhiteS’, ‘Th2_fepa_flo’ et ‘Bluel’ et le groupe des cultivars ‘SmallLP’ et ‘SmallLW’.

Sous-groupe IX. Il est composé de 5 cultivars. Deux groupes de cultivars proches peuvent être distingués : le groupe des cultivars ‘Flame’ et ‘Ruby’ et le groupe des cultivars ‘RijLLilal’, ‘RijLLila2’, et ‘RijLW’.

Sous-groupe X. Ce dernier sous-groupe comprend les 4 cultivars ‘Sanderiana’ dans lequel les cultivars ‘SandE’ et ‘SandS’ sont plus proches.

3.2 Caractérisation génétique de la collection

3.2.1 Amplification des ISSR

Sur les 128 cultivars étudiés, 19 cultivars (‘Double Rouge’; ‘Don Mario’; ‘Elisabeth Angus’; ‘Flame’; ‘Formosa’; ‘Gold’; ‘Gold Sun’; ‘Sanderiana Panaché’; ‘Small Leaf Pink’; ‘Th1_fepanaché_fblanche’; ‘Jauned’Italie’; ‘Cherry Blossom’; ‘Imperial Delight’; ‘Mahara’; ‘Manyla Hybride’; ‘Mini Thai Pink’; ‘Roseville Delight’; ‘Vera Lynn’ et ‘Vera White’) présentaient trop de données manquantes (Annexe VII) et ont été exclus de l’analyse. Sur les 109 individus restants, un total de 238 bandes ont été amplifiées avec 3 amorces ISSR (UBC835, UBC842 et ISSRa). Sur ces 238 bandes, 198 bandes sont polymorphes. Le nombre de bandes par marqueur varie entre 61 (ISSRa) et 79 (UCB835) (Tableau 13).

3.2.2 Relations génétiques

Une représentation graphique de la similarité génétique entre les 109 cultivars étudiés a été obtenue en générant un dendrogramme à partir de la matrice de dissimilarité basée sur l’indice de Dice et en utilisant la méthode de Neighbor Joining (NJ) (Figure 16). Compte tenu de la méthode principale d’obtention des cultivars dans le groupe, par mutations de bourgeon, on s’attendrait à des branches terminales très courtes pour les mutants de bourgeons connus ou obtenus dans la pépinière (cas de BarbaraR’ obtenu par mutation de bourgeon de ‘BarbaraK’ dans l’entreprise). Les longueurs de branches observées pourraient être liées à un codage d’un trop grand nombre de bandes (artéfacts ou bandes très faibles). En conséquence, dans la suite de ce travail on s’appuiera d’abord sur les valeurs de robustesse (BS) et la morphologie pour établir des hypothèses quant à l’identité des plantes en collection. Si le bootstrap est élevé et que la morphologie ne permet pas de distinguer les deux accessions, on considérera qu’il s’agit

Tableau 13 : Nombre de bandes par marqueur ISSR

Marqueur ISSR	Nombre de bandes amplifiées	Nombre de bandes polymorphes
UBC835	105	79 (75.2 %)
UBC842	71	61 (85.9 %)
ISSRa	62	58 (93.5 %)
Total	238	198 (83,2 %)

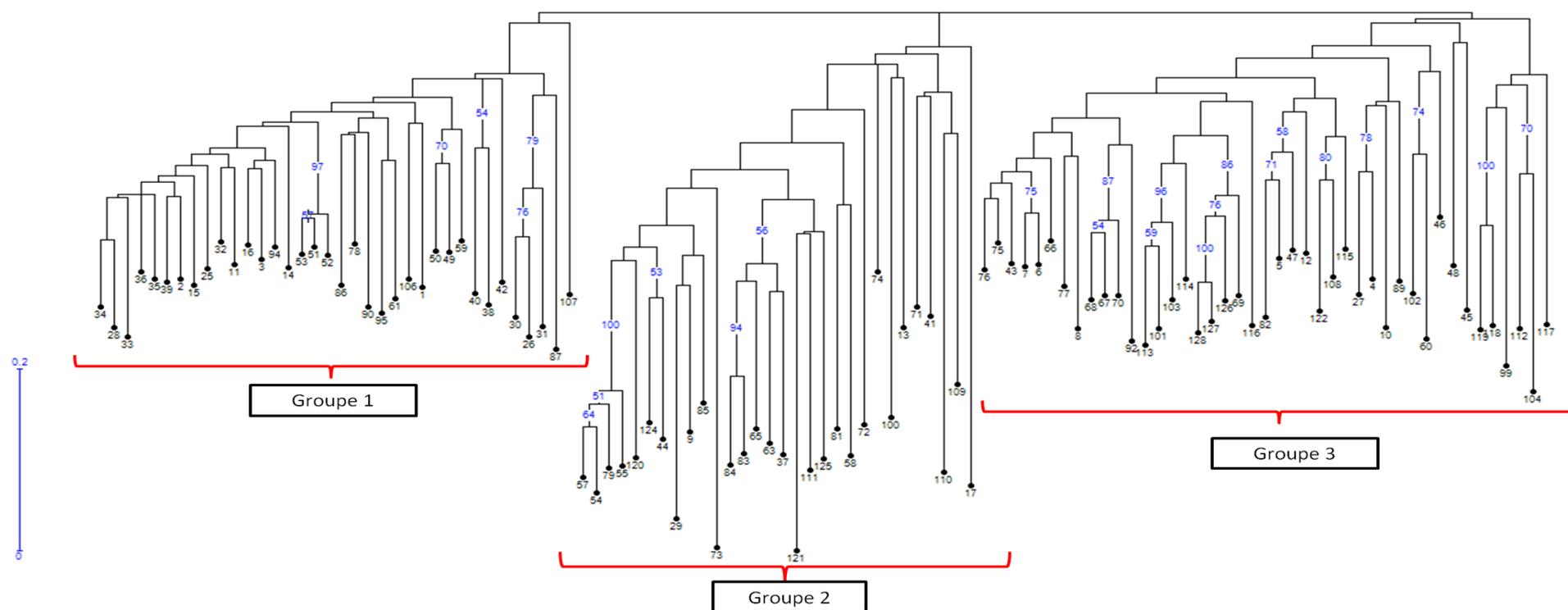


Figure 16 : Dendrogramme réalisé à partir des données génétiques

de deux clones d'un même cultivar. Si des différences morphologiques concernant en particulier la couleur des bractées et des feuilles sont observées, conjointement à un bootstrap moyen ou élevé, on considérera qu'un des deux cultivar est un mutant de bourgeon de l'autre.

Dans cet arbre, trois principaux groupes peuvent être distingués (1, 2 et 3) bien qu'ils ne soient pas supportés par un bootstrap (BS) significatif.

Groupe 1. (Erreur ! Source du renvoi introuvable.) Il comprend 36 cultivars dont 5 hybrides *B. x buttiana* ('AfterG', 'DoubleB', 'DoubleO', 'LouisW' et 'Louisa') et 2 hybrides interspécifiques dont les deux parents sont inconnus ('SDR' et 'JamesW'). Ce groupe correspond en général aux sous-groupes I à III du dendrogramme précédent. Dans ce groupe 1, quatre groupes de cultivars proches, présentant un bootstrap faible à élevé, peuvent être distingués :

- le groupe des cultivars 'SDR', 'SDG' et 'SDO' supporté par un BS élevé (BS=97). Ces résultats indiquent que ces trois cultivars sont proches. Cette proximité génétique conforte celle observée dans les analyses morphologiques (sous-groupe I). Ces trois cultivars présentant une proximité génétique et phénotypique en se distinguant uniquement par la couleur de leurs bractées sont donc des mutants de bourgeon,

- le groupe des cultivars 'Rubiana' et 'RossoS' supporté par un BS moyen (BS=70). Ces résultats indiquent que ces deux cultivars sont proches confortant la proximité phénotypique observée dans les analyses morphologique. Ces deux cultivars présentant des bractées de différentes couleurs, ils sont donc des mutants de bourgeons,

- le groupe des cultivars 'NainO' et 'MiniT' forment un groupe soutenu par un bootstrap faible (BS=54). Cette proximité ne se reflète pas sur l'arbre basé sur les données phénotypiques. Néanmoins, ces deux cultivars présentent quelques caractères communs : faible croissance, feuilles de petite taille et des fleurs presque proéminentes (pour le cultivar 'NainO') ou proéminentes (pour le cultivar 'MiniT'),

- et le groupe des cultivars 'LouisW', 'Louisa' et 'JamesW' supporté par un bootstrap moyen (BS=79). Ces résultats confortant la proximité phénotypique observée entre ces cultivars. Ces trois cultivars se distinguant uniquement par la couleur de leurs bractées, les résultats phénotypiques et génétiques semblent indiquer que ses cultivars sont des mutants de bourgeon. De plus, sur cet arbre, contrairement aux données morphologiques, 'JamesW' semble plus proche de 'LouisW' (BS=76) que de 'Louisa'.

Dans ce groupe, en accord avec le dendrogramme basé sur les données morphologiques, les cultivars 'Marie' ainsi que les cultivars 'Latherita', 'MissP', 'AfterG', 'HawaiW', 'DoubleB', 'CaliforniaG', 'DoubleO', 'Albia' et 'Orange' forment un groupe supporté par un bootstrap non significatif mais dans lequel les cultivars semblent plus ou moins proches.

Groupe 2. (Figure 18) Il est composé de 30 cultivars dont un hybride *B. specto-glabra* ('Sanderiana'), un cultivar de l'espèce *B. glabra* ('MaunaK'), trois cultivars soupçonnés d'appartenir à l'espèce *B. spectabilis* ('VDR', 'CDR' et 'Nathalia') et un cultivar issu de semis d'hybridation impliquant l'espèce *B. spectabilis*. Ce groupe correspond en général aux sous-groupes VIII à X obtenus avec le dendrogramme précédent.

Dans ce groupe 2, trois groupes de cultivars proches, présentant un BS faible à élevé, peuvent être distingués :

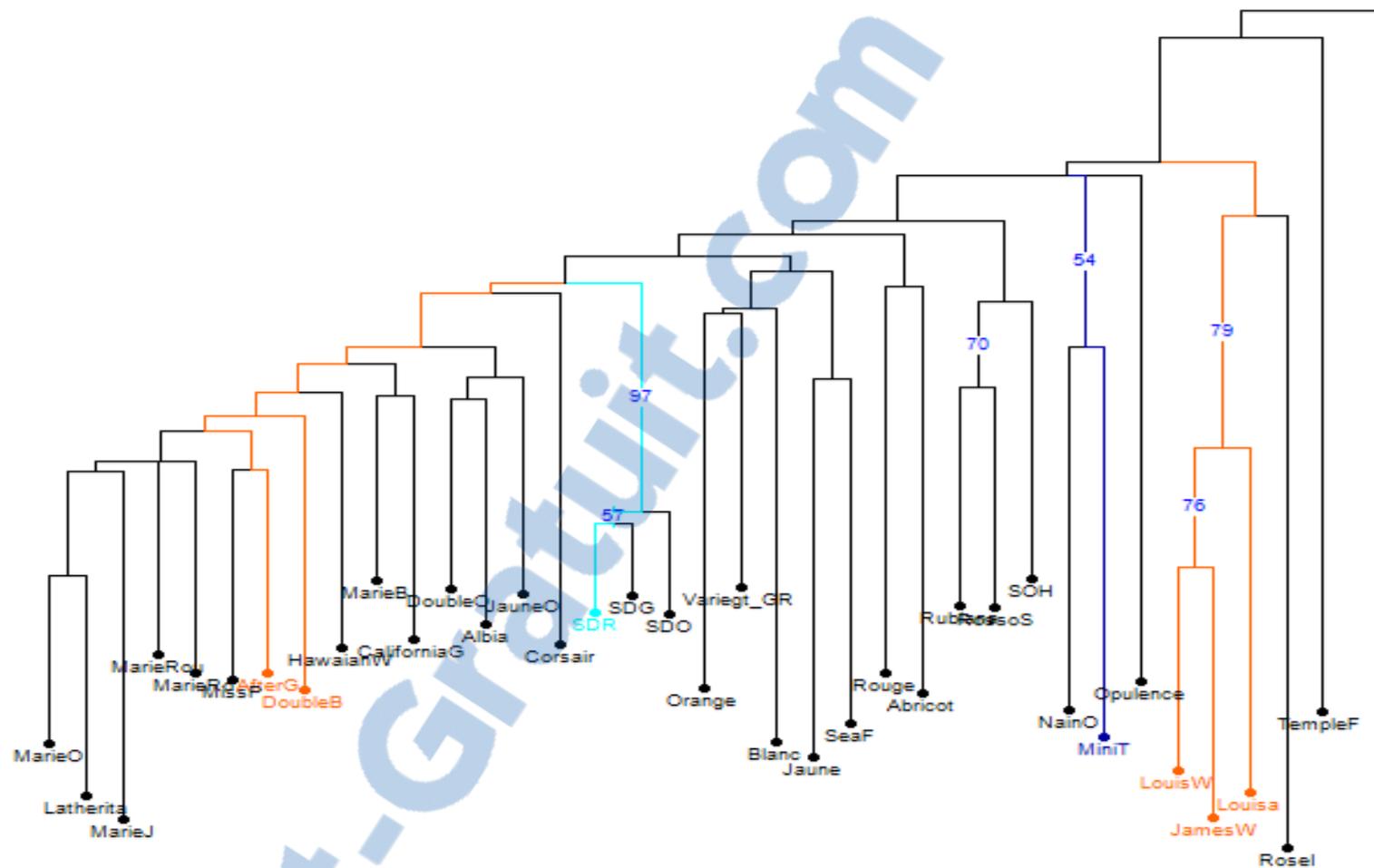


Figure 17 : Groupe 1 du dendrogramme réalisé à partir des données génétiques. Les chiffres sur les branches correspondent au bootstrap (BS) et les branches colorées en orange, bleu clair et bleu foncé correspondent aux hybrides *B. x buttiana*, aux hybrides interspécifiques et aux cultivars appartenant à l'espèce *B. spectabilis* respectivement.

- le groupe des cultivars 'Sanderiana' et 'VarietM' supporté par un bootstrap élevé (BS=100). Ces résultats confortent la proximité phénotypique observée entre les cultivars 'Sanderiana'. En effet, ces cultivars présentent une même morphologie (feuilles elliptiques et petites ; bractées ovale étroite et un apex acuminé ; division de la cyme : inférieure à deux) et se distinguent principalement par la couleur de leurs feuilles ('SE' et 'SS' présentant des jeunes feuilles vert-violet), leur brillance (très brillante, brillante, brillante pour 'SanderianaA', 'SanderianaS', 'SanderianaE' respectivement) et par la couleur de leur bractées (différents tons de mauve). Compte tenu de cette proximité génétique et de ces faibles différences phénotypiques, ces cultivars semblent être des sports. La proximité génétique du cultivar 'VarietM' aux autres cultivars 'Sanderiana' ainsi que sa morphologie similaire à celle du cultivar 'Sanderiana Panaché' semblent indiquer qu'il est un clone de ce dernier cultivar. Les données génétiques, contrairement au dendrogramme précédent, indiquent que le cultivar 'SanderianaA' est plus proche de 'SanderianaS' (BS=64) puis de 'VarietM' (BS=51) et enfin de 'SanderianaE'.

- le groupe des cultivars 'Parme' et 'Rijplant Rjinstar Pink' supporté par un BS faible (BS=53). Ces résultats ne concordent pas avec les analyses phénotypiques. Néanmoins, ces cultivars présentent visuellement une morphologie très similaire (feuilles : elliptiques, vert moyen et légèrement velue, bractées : elliptiques et rose). Ces résultats indiquent que ces deux cultivars sont probablement des clones.

- le groupe formé par les cultivars, 'SmallLW', 'RijLila1' et 'MaunaK' (*B. glabra*) supporté par un faible BS (BS=56). Deux sous-groupes peuvent être distingués : le premier comprend les cultivars 'Th2_fepa_flobl', 'Th2_fepa_fbl' et 'SmallLW' et le deuxième est composé de 'RijLila1' et 'MaunaK'. Dans le premier sous-groupe, les cultivars 'Th2_fepa_flobl' et 'Th2_fepa_fbl' forment un groupe supporté par un fort BS (BS=94). Les deux cultivars du sous-groupe 2, 'RijLila1' et 'MaunaK' présentent des bractées de différentes couleurs et semblent donc d'après les résultats génétiques être des mutants de bourgeons. Ces résultats diffèrent de ceux obtenus avec le dendrogramme phénotypique. Ces résultats semblent suggérer que 'SmallLW' et 'MaunaK' sont proches génétiquement respectivement des cultivars 'Th2_fepa_flobl' ou 'Th2_fepa_fbl' et de 'RijLila1'. 'MaunaK' et 'RijLila1' se distinguant uniquement par la couleur de leurs bractées, ces résultats semblent indiquer que ces deux cultivars sont des sports.

D'après les données génétiques, le cultivar 'VDM' (identifié comme *B. glabra* 'Formosa') semble proche des deux premiers groupes évoqués auparavant et également très proche des cultivars 'Lavender', 'BigS' et 'Th2_feve_flo' (BS= non significatif). Cette proximité entre 'VDM' et les cultivars 'Lavender', 'BigS' et 'Th2_feve_flo' concorde partiellement avec les données phénotypiques : sur le dendrogramme précédent les deux premiers cultivars 'Lavender' et 'BigS' sont plus similaires phénotypiquement de 'VDM' alors que le cultivar 'Th2_feve_flo' présente une morphologie plus différente.

Les cultivars 'VDR', 'Nathalia' et 'CDR' sont proches génétiquement. Parmi ces trois cultivars, 'VDR' a pu être phénotypé entièrement et il présente une morphologie similaire et caractéristique de l'espèce *B. spectabilis* (feuilles vertes claires, elliptiques à ovales larges, avec un apex aigu, et surtout velues, et possédant de longues bractées, ovales larges et dont l'apex est obtu).

Dans ce groupe 2, trois cultivars présentent une morphologie différente des autres cultivars (feuilles non elliptiques, bractées dont l'apex n'est ni obtu ni apiculé) et leur présence paraît

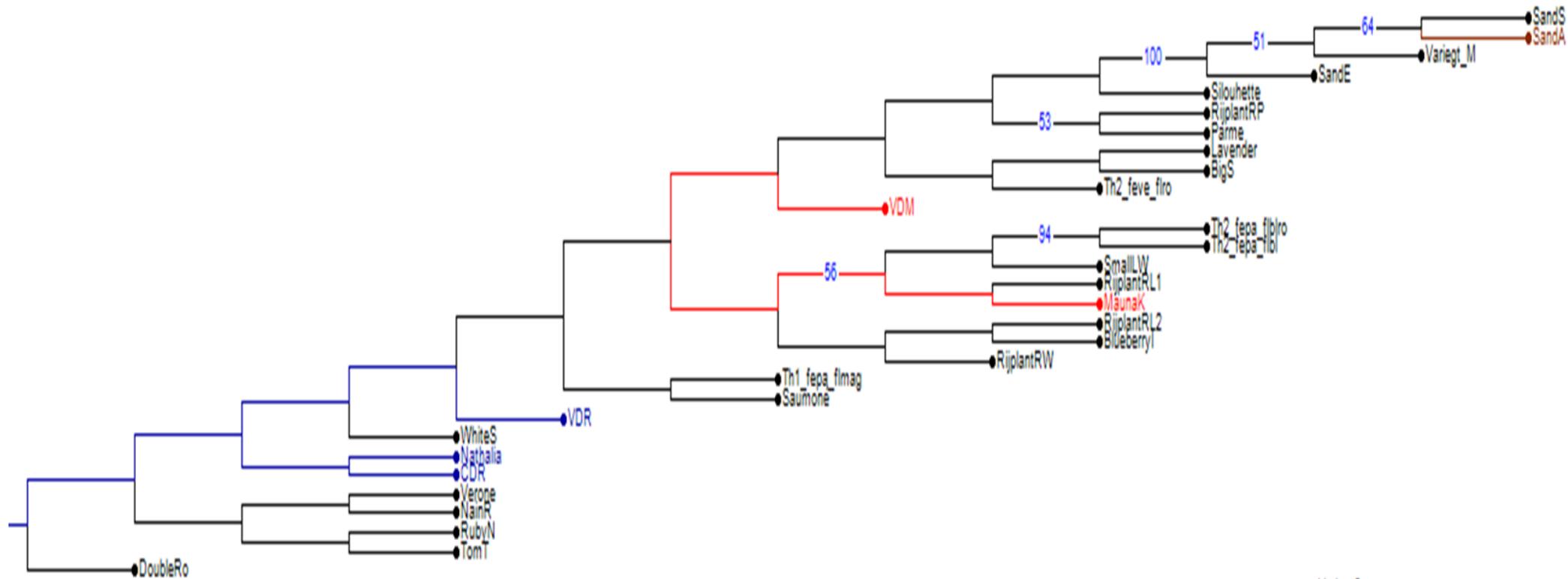


Figure 18 : Groupe 2 du dendrogramme réalisé à partir des données génétiques. Les chiffres sur les branches correspondent au bootstrap (BS). Les branches de couleur bleu, rouge et marron correspondent aux cultivars appartenant à l'espèce *B. spectabilis*, *B. glabra* et aux hybrides specto-glabra respectivement.

aberrante si l'on ne tient compte que des données morphologiques : 'NainR', 'DoubleO', un hybride *B. x buttiana* selon Iridel (1995), et 'TomT'.

Groupe 3. (Figure 19) Il comprend 43 cultivars dont au moins 4 hybrides interspécifiques ('VeraB', 'JuanitaH', 'LaJ' et 'MissM'), 3 cultivars issus d'hybridation entre *B. x buttiana* et une autre espèce ou un autre groupe d'hybrides inconnu ('BarbaraK', 'Poultoni' et 'KillieC'), un hybride *B. x buttiana* ('Rosenka'), 7 cultivars qui appartiendraient à l'espèce *B. spectabilis* (les autres cultivars 'Vera' et 'PinkP') et au moins 2 hybrides specto-peruviana ('Thimma' et 'Surprise'). Ce groupe correspond en général aux sous-groupes IV à VII distingués dans l'arbre précédent. Dans ce groupe 3, dix groupes de cultivars proches, présentant un bootstrap faible à élevé, peuvent être distingués :

- le groupe des cultivars 'BarbaraK' (semis d'hybride *B. x buttiana*) et 'BarbaraR' supporté par un BS modéré (BS=75). Sur cet arbre, contrairement au dendrogramme précédent, les cultivars 'BarbaraR' et 'BarbaraK' sont très proches génétiquement. Ces cultivars se distinguant visuellement par la couleur de leur bractée, cette proximité génétique semble indiquer qu'ils sont des 'sports'.

- le groupe des cultivars 'RaspberryI', 'OrangeI' et 'ITD', supporté par un BS élevé (BS=96). Visuellement, les cultivars 'RaspberryI' et 'OrangeI' ne sont pas distinguables. Ces résultats semblent indiquer soit qu'ils sont clones soit des sports. De plus, ces trois cultivars semblent également proches génétiquement (BS non significatif) du cultivar 'JuanitaH'.

- le groupe composé d'une partie des cultivars 'Vera' (*B. spectabilis*) : 'VeraB', 'Vera' et 'VeraV' : ce groupe est supporté par un BS élevé (BS=87). Sur cet arbre, le cultivar 'VeraB' semble plus proche du cultivar 'Vera'.

- le groupe composé de la deuxième partie des cultivars 'Vera' (*B. spectabilis*) : 'VF20_VeraP', 'VeraLP', 'VeraDP' et 'VeraP'. Ce groupe est supporté par un BS élevé (86). Dans ce groupe, le cultivar 'VeraP' est plus proche de 'VeraLP'.

- le groupe des cultivars 'Th1_feve_flo', 'Asia', 'RoseB' supporté par un BS faible (BS=58). Dans ce groupe 'Asia' (dont le nom référencé correspond à 'Thimma') est plus proche de 'Th1_feve_flo' que de 'RoseB' (dont le nom référencé correspond à 'H.C.Buck'). Ces résultats concordent partiellement avec les données phénotypiques, ces derniers indiquant que 'Asia' est plus proche de 'RoseB'.

- le groupe des cultivars 'Thimma' (hybride specto-peruviana) et 'Surprise' (dont le nom référencé correspond à 'H.C.Buck' et qui est un hybride specto-peruviana) supporté par un BS modéré (BS=70). Ces résultats indiquent que 'Thimma' est plus proche de 'Surprise'.

- le groupe des cultivars 'KillieC' (semis de *B. x buttiana*) et 'Amethyst', supporté par un BS élevé (BS=78). Ces résultats confortent partiellement les résultats phénotypiques dans lesquels ces deux cultivars appartiennent à un même groupe. Ces résultats génétiques associés à une distinction des cultivars uniquement sur la couleur de leurs bractées, semblent indiquer que ces cultivars sont des sports. Ils sont également proches du groupe comprenant le cultivar 'Thimma' classé parmi les hybrides *B. specto-peruviana*.

- le groupe des cultivars 'Poultoni' (hybride de *B. x buttiana*) et 'SOHF', supporté par un BS moyen (BS=74). Ces deux cultivars présentent visuellement une morphologie identique. Ces résultats semblent indiquer que ces deux cultivars sont des clones.

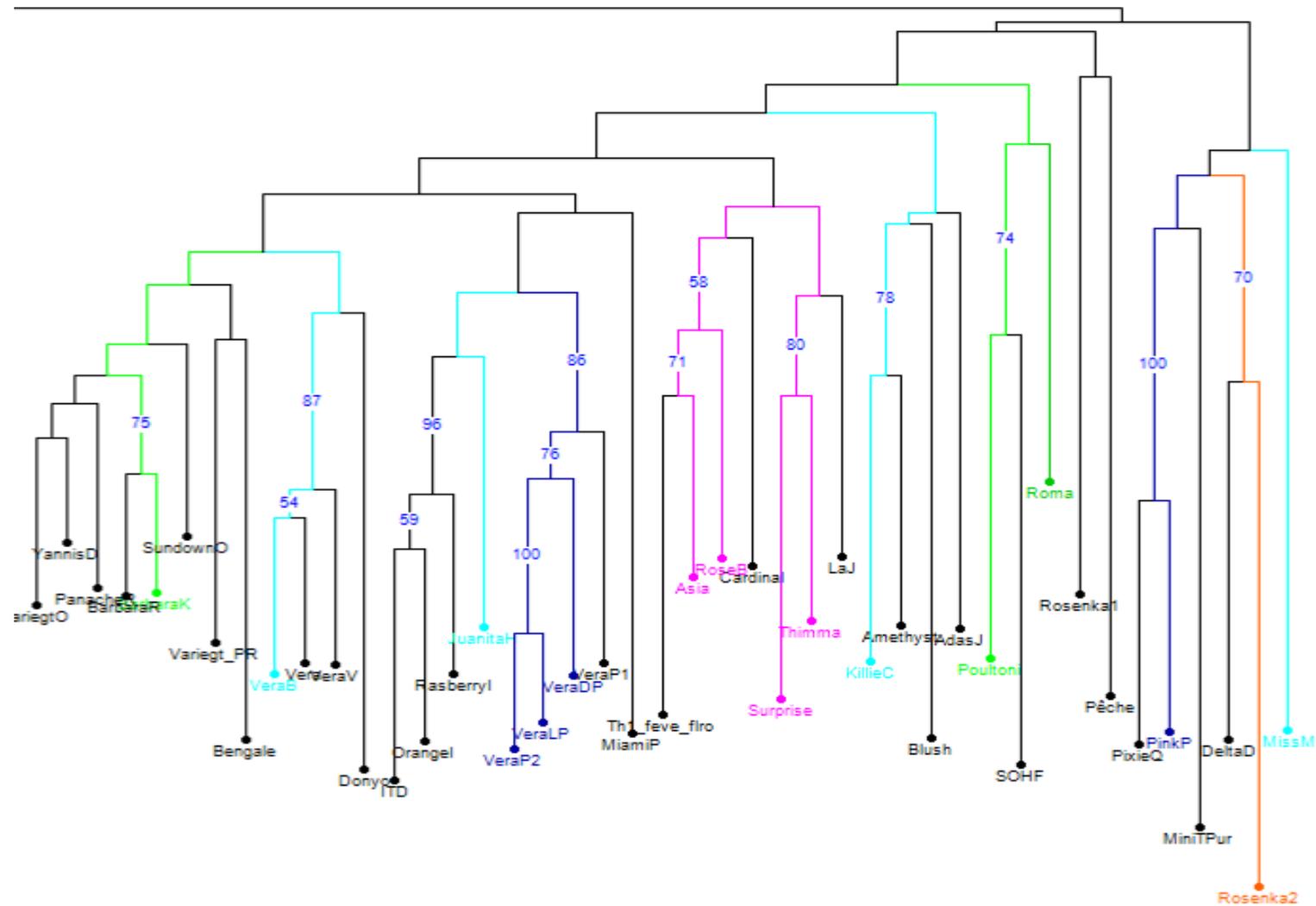


Figure 19 : Groupe 3 du dendrogramme réalisé à partir des données génétiques. Les chiffres sur les branches correspondent au bootstrap (BS). Les branches de couleur vert clair, bleu clair, bleu foncé, rose, et orange correspondent respectivement aux semis d'hybrides *B. x buttiana*, aux hybrides interspécifiques, aux cultivars de l'espèce *B. spectabilis*, aux cultivars de l'espèce *B. peruviana* ou des hybrides spectro-peruviana et aux hybrides *B. x buttiana*.

- le groupe des cultivars 'PinkP' (*B. spectabilis*) et 'PixieQ', supporté par un BS élevé (BS=100). Ces deux cultivars se distinguant uniquement par la couleur de leurs feuilles (vert moyen ou panaché) et de leurs bractées (différents tons de roses), ces résultats associés à leur proximité génétique indiquent clairement qu'ils sont des sports. Ces deux cultivars semblent également proches du cultivar 'MiniTPur' (BS= non significatif). Contrairement au dendrogramme précédent, le cultivar 'MiniT' est classé dans un groupe distinct (groupe 1) de celui de 'PinKP'.

le groupe des cultivars 'DeltaD' et 'Rosenka2' (*B. x buttiana*), supporté par un BS moyen (BS=70). Ces deux cultivars présentant des feuilles de différentes couleurs (panachées pour 'DeltaD' et vertes foncées pour 'Rosenka2'). Ces résultats génétiques et phénotypiques semblent indiquer qu'ils sont des 'sports'.

Dans ce groupe 3, les cultivars 'PanachéR' et 'YannisD' semblent proches génétiquement bien que le bootstrap ne soit pas significatif. La proximité entre ces deux cultivars est aussi visible sur l'arbre basé sur les données morphologiques (sous-groupe IV). De plus, visuellement 'PanachéR', 'RaspberryI' ainsi que 'OrangeI' sont difficilement distinguables.

Dans cet arbre (Figure 19), les cultivars des sous-groupes V, VI et VII, distingués dans le dendrogramme basé sur les données phénotypiques, se divisent en deux sous-groupes : le premier sous-groupe comprend en général des individus génotypés dans la plaque 1 et le deuxième sous-groupe des individus génotypés dans la plaque 2.

3.3 Paramètres biologiques et méthodologiques, des espèces ornementales de bougainvilliers, essentiels pour initier un programme d'amélioration

3.3.1 Les différentes méthodes d'obtention de nouveaux cultivars

Un nouveau cultivar peut être obtenu par trois méthodes : la mutation de bourgeons ('sport') spontanée ou induite, l'hybridation naturelle ou contrôlée et le développement de polyploïdes par des moyens artificiels (Singh *et al.*, 1999).

3.3.1.1 La mutation de bourgeons : méthode d'obtention principale des cultivars

La mutation de bourgeons est l'origine la plus commune des cultivars (Singh *et al.*, 1999). Elle peut être spontanée ou induite. Selon Iridel (1995), les mutations spontanées ont lieu principalement et fréquemment chez les hybrides dont l'un des deux parents appartient à l'espèce *B. peruviana*. Comme par exemple l'hybride *B. x buttiana* 'Mrs Butt' qui est le cultivar initial de nombreux sport commercialisés (ex : 'Mrs McClean') et présentant des bractées de différentes couleurs et parfois des feuilles panachées. Les mutations de bourgeons peuvent être également induites :

- soit par irradiation par exemple de rayons gamma, dont la dose devant être appliquée varie en fonction du cultivar, sur des boutures enracinées (ex : obtention du cultivar 'Los Banos Variegata' par irradiation aux rayons gamma (entre 3 kRr et 3.5 kR) du cultivar 'Los Banos Beauty')
- soit en utilisant des composés chimiques tel que l'éthyle méthyle sulfonate qui à 0,02% a permis d'obtenir par exemple le cultivar 'Pixie Variegata' (Banerji, 2012).

Ces mutations, spontanées ou induites, permettent d'obtenir des cultivars présentant :

- des bractées doubles (ex : le cultivar 'Mahara' serait un sport de l'hybride *B. x buttiana* 'Mrs Butt' (Iridel, 1995),

Taxon	Parental clone	Character		Reference (vide HOLTUM 1955)
		parental	sport	
'Mrs. McClean'	'Mrs. Butt'	Bracts crimson	Bracts burnt-orange	R. O. WILLIAMS, 1931
'Louis Wathen'	'Scarlet Queen'	Bracts crimson, flower imperfect	Bracts burnt-orange, flower imperfect	B. S. NIRODY, 1932
'Mary Baring'	'Mrs. McClean'	Bracts burnt-orange	Bracts majolica-yellow	—
'Enid Lancaster'	'Louis Wathen'	Bracts burnt-orange, flowers imperfect	Bracts majolica-yellow, flowers imperfect	PERCY LANCASTER, 1942
'Scarlet Queen'	'Mrs. Butt'	Flowers perfect	Flowers imperfect	—
'Versicolor'	'Scarlet Queen'	Bracts crimson	Magenta with crimson flecks, leaves crinkled	—
'Alick Lancaster'	'Scarlet Queen'	Bracts crimson	Bracts magenta	—
'Scarlet Queen Variegata'	'Scarlet Queen'	Leaves normal green	Leaves variegated	—
'Mary Palmer'	'H. C. Buck'	Bracts magenta	Chimeral bracts magenta and parchment white	PERCY LANCASTER, 1949
'Thimma'	'Mary Palmer'	Leaves normal green	Leaves variegated	—
'Shubhra'	'Mary Palmer'	Bracts chimeral magenta and parchment white	Pure white	NBG, 1965
'Partha Variegata'	'Partha'	Leaves normal green	Leaves variegated	NBG, 1967

Figure 20 : Sport et leur cultivar initial (extrait de Zadoo *et al.*, 1975a).

- des feuilles panachées (ex : ‘Los Banos Variegata’ obtenu à partir d’une mutation de ‘Los Banos beauty’),
- des cymes panachées (ex : ‘Mary Palmer’, présentant des cymes panachées, est un sport de ‘Mrs H.C. Buck’, présentant une cyme unie et rose),
- une couleur de bractée différente du cultivar initial. La couleur du mutant est en général plus claire et donc à partir de cultivars présentant des bractées rouges sont obtenus des mutants aux bractées orange puis similairement des mutants aux bractées jaunes puis roses puis blanches. Il arrive parfois que le sport mute et présente sur cette partie mutée des bractées de la couleur du cultivar initial. Par exemple, le cultivar ‘Louis Wattan’ présente un sport dont les bractées sont de couleur cramoisi, couleur de son cultivar initial ‘Scarlet Queen’ (Zadoo *et al.*, 1975a). La figure 20 présente des exemples de cultivars obtenus par mutation de bourgeons (extrait de Zadoo *et al.*, 1975a).

3.3.1.2 Les hybridations : une méthode d’obtention présentant de nombreuses limites

La seconde méthode principale d’obtention de cultivars est l’hybridation naturelle ou contrôlée. Depuis la culture des trois espèces ornementales, la majorité des hybridations ont eu lieu naturellement et en général l’un des deux parents (le parent mâle) ou les deux parents de ces hybrides sont inconnus. Peu d’hybridations contrôlées ont été réalisées. Néanmoins, divers auteurs décrivent les différentes étapes nécessaires pour réaliser un croisement (Singh *et al.*, 1999 ; Iridel, 1995 ; Pal et Swarup, 1974). Ces étapes sont les suivantes :

- en fin de journée, les fleurs qui sont prêtes à s’ouvrir sont coupées longitudinalement et émasculées à l’aide d’une fine paire de ciseaux en prenant garde de ne pas abimer le stigmate. Ces fleurs ainsi que les fleurs du parent mâle sélectionné sont ensuite recouvertes d’un sac (permettant la circulation de l’air) pendant la nuit,
- tôt dans la matinée, les fleurs du parent mâle sont coupées longitudinalement, exposant les anthères, puis le pollen est déposé doucement sur le stigmate des fleurs femelles émasculées
- après pollinisation, les fleurs sont recouvertes à nouveau d’un sac afin d’éviter tout croisement naturel et elles sont identifiées avec les informations concernant l’expérience.

Selon Singh et collaborateurs (1999), si le croisement est un succès, l’ovaire s’élargit et forme un fruit contenant une graine. Au bout de 30 jours (Iridel, 1995 ; Gillis, 1976), la graine est mature. Cette dernière est petite et ressemble à un grain de blé. Elle est viable pendant quelques temps mais pour accélérer les étapes suivantes (Iridel, 1995), elle doit être semée dans un pot aussitôt qu’elle a été récoltée. Elle germe au bout d’environ 10 jours (Gillis, 1976), puis une année au moins est nécessaire pour obtenir des inflorescences, et trois ans pour évaluer le cultivar obtenu. Les hybrides obtenus présentent des caractères plus variables et parfois différents des caractères parentaux (la taille et la couleur des bractées, type de floraison, degré de pilosité). Néanmoins, cette méthode d’obtention est limitée par trois principaux facteurs : les conditions environnementales, la présence d’auto-incompatibilité et d’incompatibilité sporophytique et la présence de stérilité mâle et femelle.

Difficulté d’obtention de graines

Le succès du croisement et du développement des graines est fortement influencé par les conditions climatiques. Selon Pal et Swarup (1974), les graines ne sont obtenues qu’en conditions climatiques favorables. Cependant, ces auteurs n’indiquent pas quelles sont ces conditions et donnent uniquement les exemples suivants. En Inde, à Coimbutone, les graines ne sont obtenues qu’entre les mois de Février et Avril et il semble que certains cultivars fructifient seulement dans certaines régions. Selon les mêmes auteurs, l’obtention de graines est également liée à l’âge de la plante (seules celles âgées de plus de 2 à 4 ans fructifieraient) et à sa capacité à avoir des bractées persistantes (les cultivars fructifiant dans la nature étant souvent ceux qui possèdent des bractées persistantes tels que le cultivar ‘Formosa’).

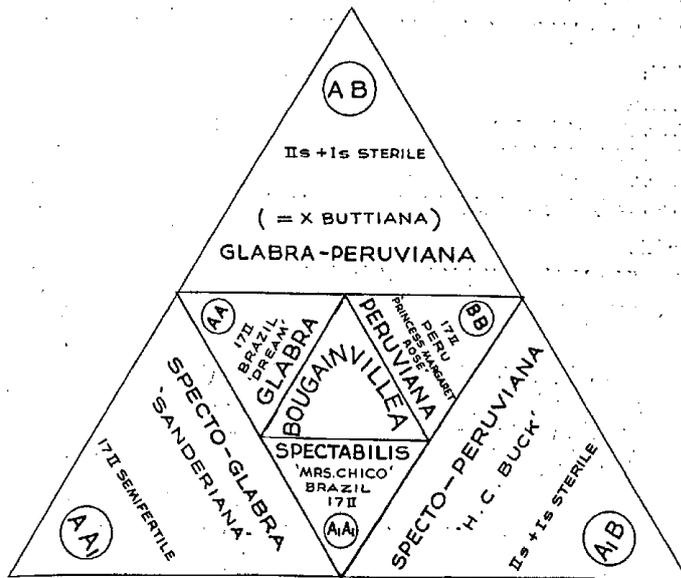


Figure 21 : Origine et stérilité des différents groupes d'hybrides (Ohri et Khoshoo, 1981). Les codes A, A1 et B correspondent aux génomes des espèces *B. glabra*, *B. spectabilis* et *B. peruviana* respectivement. Le nombre de base de chromosomes est de 17 et les hybrides issus de ces espèces présentent soit des chromosomes univalents (Is) ou/et bivalents (IIs).

Auto-incompatibilité et incompatibilité sporophytique

Chez les bougainvilliers, la réceptabilité du stigmate ainsi que la déhiscence des anthères coïncident, semblant indiquer un mécanisme d'autofécondation. Cependant, la plupart des cultivars sont auto-incompatibles c'est-à-dire qu'aucune graine n'est obtenue lorsque le stigmate est pollinisé par le pollen de la même fleur. Seul un nombre limité de cultivars tels que 'Red Triangle' sembleraient auto-fertiles. Cette caractéristique facilite ainsi la réalisation d'hybrides. Cependant, certains hybrides sont incompatibles. Cette incompatibilité est de type sporophytique et déterminée génétiquement par un allèle dit « S ». Ohri et Zadoo en 1979 ont démontré que l'allèle S de l'espèce *B. spectabilis* est dominant, que celui de l'espèce *B. peruviana* est récessif et que les hybrides et les sports issus de ces hybrides sont en général incompatibles avec les parents des hybrides possédant l'allèle dominant.

Stérilité mâle et femelle (Figure 21)

Selon Zadoo et collaborateurs (1975b), 80 % des bougainvilliers présentent une stérilité mâle (des pollens) et femelle (des ovules). La viabilité du pollen et de l'ovule varie en fonction des cultivars. Le cultivar 'Formosa', correspondant au cultivar 'VDM' de la collection, et le cultivar 'Sanderiana', correspondant au cultivar 'SanderianaA', de la collection présentent des pollens viables à 57 % et 22,4% respectivement. Il semble que les hybrides *specto-peruviana* et *B. x buttiana* soient stériles et que seuls les hybrides *specto-glabra* présentent une fertilité partielle (Zadoo *et al.*, 1975a). Cette stérilité semble être due à des méioses irrégulières (nombre de chromosomes anormaux et disjonction des chromosomes homologues anormaux) (Zadoo *et al.*, 1976a). Heureusement, la fertilité du pollen et des ovules de ces cultivars peut être restaurée en induisant des cultivars polyploïdes.

3.3.2 La polyploïdie

La majorité des cultivars de bougainvilliers sont diploïdes avec ($2n = 2x = 34$) et certains sont triploïdes ($2n = 3x = 51$ tels que 'Temple Fire' et 'Poultoni Special') et sont naturellement (ex : 'Mahara') ou artificiellement (ex : 'Tetra McClean') tétraploïdes ($2n = 4x = 68$) (Pal et Swarup, 1974). L'induction de cultivars tétraploïdes à l'aide de produits chimiques (ex : colchicine) permet de créer de nouveaux cultivars, présentant des caractères (bractées et fleurs) de plus grande taille, et de restaurer la fertilité des ces derniers. Cette fertilité est restaurée car chez ces individus tétraploïdes les méioses anormales sont réduites et les chromosomes homologues correctement associés (Zadoo *et al.*, 1974 et Ohri et Zadoo, 1979). Les individus tétraploïdes sont fertiles mais présentent toujours une incompatibilité sporophytique.

3.3.3 *B. glabra*: l'espèce ornementale la plus tolérante au froid

Parmi les trois espèces ornementales, l'espèce *B. glabra* et ses cultivars sont les plus tolérants au froid. Des cultivars de cette espèce ont été trouvés sur certaines îles de l'Angleterre dans une grande serre et dans des jardins (Zadoo *et al.*, 1976b).

3.4 Réalisation du dossier de demande de certification « collection nationale » du CCVS

Au final, les informations (morphologie, relations génétiques, autres renseignements) de 83 cultivars (les 90 cultivars phénotypés entièrement moins les 7 clones hypothétiques) et de leur gestion ont été synthétisées dans un tableau Excel. Ce tableau constitue le dossier de demande de certification « Collection Nationale ». Un extrait est présenté en Annexe X.

Rapport-Gratuit.com

4 Discussion

L'utilisation de ressources génétiques conservées dans une collection pour un programme de création variétale implique nécessairement de caractériser cette collection. Dans cette étude, la collection de bougainvilliers de l'entreprise du Cannebeth a été caractérisée phénotypiquement et génétiquement.

4.1 Les outils morphologiques et moléculaires

Cette étude est la première qui associe à la fois des marqueurs ISSR et des descripteurs morphologiques afin de caractériser une collection de bougainvilliers.

4.1.1 Les outils morphologiques

Après l'étude réalisée par Mohammed (2007) sur 45 cultivars, cette étude est la deuxième dans laquelle les bougainvilliers ont été phénotypés à l'aide de descripteurs quantitatifs (19) et qualitatifs (30). Ce travail a porté sur 90 cultivars.

Sur 128 cultivars étudiés, 38 cultivars présentent des données manquantes. Sur ces 38 cultivars, les inflorescences de 22 cultivars n'ont pu être phénotypés soit parce que les cultivars n'avaient pas encore fleuri (car ils étaient trop jeunes) soit parce que leur période de floraison était terminée ou que leur deuxième floraison a débuté trop tardivement. Pour les futures caractérisations morphologiques des individus de la collection, les parties florales devront être phénotypées avant les parties végétatives et de préférence aux mois de Mars, Avril et Mai, mois durant lesquels les inflorescences sont les plus représentatives.

Les 19 caractères quantitatifs étudiés sur les 87 cultivars, ne présentant aucune donnée manquante, montrent une variabilité entre les cultivars aussi importante que les 15 caractères utilisés par Sharif et Kumar (2008) pour caractériser la variance phénotypique de 13 cultivars. Les analyses du coefficient de variation montrent notamment que les caractères les plus variables entre les individus sont également ceux qui présentent le plus de variabilité au sein des individus (longueur des entre-nœuds et des épines, nombre moyen de bractées par cyme). Ces résultats indiquent que parmi les 19 caractères, les 2 caractères les plus intéressants, car plus variables entre les cultivars qu'au sein des cultivars, sont finalement la longueur et la largeur des bractées.

Les corrélations entre les 19 caractères quantitatifs indiquent que les dimensions des parties végétatives (feuilles) sont fortement liées à celles des parties florales (bractées). Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par Sharif et Kumar (2008) et par Leonardi et Romano (2003). Plus précisément, ces premiers auteurs ont montré la présence de corrélations positives entre la vigueur de la plante (longueur de la branche, diamètre et taille des feuilles) et la vigueur des inflorescences (diamètre des bractées et longueur du tube floral). Les dimensions des différentes parties florales sont également fortement liées : plus la bractée sera longue, plus elle sera large et plus la fleur portée par cette dernière sera large. Ces résultats seront utiles pour tout programme de création variétale futur dont l'objectif concernera la dimension des parties florales.

L'analyse des composantes principales montrent que 10 caractères sur 19 sont les plus discriminants : le rapport de la longueur sur la largeur des épines ; le rapport de la longueur sur la largeur, la longueur et la distance entre la base et la largeur maximale de la feuille ; la longueur et la largeur maximale des bractées ; la longueur des fleurs, la largeur maximale du tube floral, le rapport de la longueur sur la largeur des fleurs et la longueur d'insertion de la fleur sur la bractée.

L'analyse des correspondances multiples indique que les 6 caractères qualitatifs les plus discriminants sont : la forme générale, la position de la largeur maximale et la couleur secondaire des jeunes et des feuilles anciennes; la position de l'inflorescence ; la persistance des bractées. Ainsi, pour la caractérisation morphologique de la collection, les caractères les plus discriminants et intéressants concernent les épines, les feuilles, les inflorescences, les bractées et les fleurs.

Le dendrogramme obtenu avec les 36 caractères quantitatifs (10) et qualitatifs (26) sélectionnés montre une composition des sous-groupes qui est en général similaire à celle des groupes du dendrogramme basé sur les données génétiques. Ces résultats semblent indiquer que ces 36 caractères décrivent correctement les cultivars et qu'ils reflètent un profil génétique.

4.1.2 Les outils moléculaires

Dans cette étude, 4 marqueurs ISSR ont été utilisés dont 3 ont permis de caractériser génétiquement la collection de bougainvilliers. Le nombre de bandes polymorphiques obtenues sur les 109 individus étudiés avec les marqueurs UBC 835 et UBC842 est au moins cinq fois plus élevé que celui obtenu par Li *et al.* (2011) sur 68 cultivars et Wu (2012) sur 48 cultivars (Tableau 14).

Ce nombre très supérieur peut s'expliquer soit par une plus grande diversité des cultivars composant la collection soit par une surestimation de la diversité due à une détermination de la présence et de la taille des bandes de manière visuelle. L'intégration de répétitions pour un même individu permettrait de préciser la surestimation éventuelle faite lors du codage. La réalisation de la matrice binaire avec des moyens modernes (un logiciel performant) par des techniciens plus expérimentés tels que ceux de Végépolys, ainsi que la comparaison des dendrogrammes (celui réalisé avec cette dernière matrice et le dendrogramme de cette étude) permettront de déterminer l'hypothèse la plus juste. Si la deuxième hypothèse est avérée, la réalisation de cette nouvelle matrice permettra à l'entreprise d'avoir des données plus justes.

Le nombre de bandes obtenu dans cette étude avec le marqueur ISSRa, marqueur utilisé fréquemment par Végépolys sur différentes espèces, est plus faible que celui obtenu avec les deux autres marqueurs (UBC 835 et UBC 842) mais ce nombre reste toujours plus élevé par rapport à celui obtenu dans les deux autres études (Li *et al.*, 2011 ; Wu, 2012). Donc, ce marqueur est bien transférable sur le bougainvillier et permet d'obtenir un nombre conséquent de bandes.

Sur le dendrogramme réalisé à partir de ces données génétiques, une longueur anormale des branches terminales a été observée, les mutants de bourgeons connus n'étant pas strictement identiques génétiquement. Ces résultats peuvent s'expliquer par la surestimation de bandes polymorphes entraînant des différences génotypiques entre les cultivars donc entre les mutants de bourgeons et les clones présents dans la collection. Dans cette étude,

- les cultivars proches génétiquement (avec un BS significatif) et proches morphologiquement (se distinguant que par la couleur de leur bractées ou de leurs feuilles) ont été considérés comme des mutants de bourgeons,
- les cultivars proches génétiquement (avec un BS significatif) et morphologiquement identiques ont été considéré comme des clones.

Sur cet arbre, un effet plaque important (séparation des cultivars proches en fonction de la plaque dans laquelle ils ont été génotypés : plaque 1 contenant les 96 premières accessions et plaque 2 contenant les 32 autres accessions) est également visible surtout dans le groupe 3 (Figure 22). Pour les futures analyses, cet effet pourra être évité soit en réalisant

Tableau 14 : Comparaison du nombre de bandes polymorphiques obtenu à l'aide de 3 marqueurs ISSR utilisés dans cette étude. na : information non disponible.

	Nombre de bandes polymorphiques		
	selon Li et <i>al.</i> , 2011	selon Wu, 2012	Dans cette étude
ISSR	68 cultivars	48 cultivars	109 cultivars
UBC 835	13	20	105
UBC 842	16	10	71
ISSRa	na	na	58

des répétitions d'individus entre les plaques (solution plus coûteuse), soit en faisant en sorte que les clones et les mutants hypothétiques soient génotypés sur une même plaque (solution impliquant que les clones et mutants soient connus).

4.2 Une collection qui semble se structurer en trois principaux groupes

La similarité génétique entre 109 individus de la collection a été obtenue en générant un dendrogramme à partir de la matrice de dissimilarité basée sur l'indice de Dice et en utilisant la méthode de Neighbor Joining (NJ). Sur ce dendrogramme, bien que les bootstraps des branches internes ne soient pas significatifs, trois principaux groupes distincts sont visibles : Groupe 1, Groupe 2 et Groupe 3.

Le groupe 1 contient des individus hybrides *B. x buttiana* et des hybrides interspécifiques mais dont les deux parents sont inconnus. Il semble qu'il soit donc composé de l'ensemble des cultivars de l'espèce *B. x buttiana* caractérisés par des bractées arrondies (grandes ou moyennes) avec un apex apiculé.

Le groupe 2 contient en général des cultivars de l'espèce *B. glabra*, de l'espèce *B. spectabilis* et des hybrides *specto-glabra*. Ces cultivars sont caractérisés par une cyme divisée une ou deux fois, par des feuilles elliptiques et des bractées dont l'apex est acuminé ou aigu.

Le groupe 3 est composé en général d'hybrides interspécifiques dont les deux parents sont inconnus, de complexes d'hybrides (impliquant un parent *B. x buttiana* et un parent inconnu, *B. x buttiana x B. glabra* ou *B. x buttiana x B. peruviana*) et des hybrides *specto-peruviana*. Ces cultivars sont caractérisés en général par des feuilles ovales moyennes à ovales larges et glabre et des bractées dont l'apex est obtus.

4.3 Une collection qui présente de nombreux clones et mutants

La caractérisation génotypique et phénotypique de la collection a permis de :

- confirmer la présence de 13 groupes de mutants de bourgeon (cultivars proches génétiquement avec un BS significatif et se distinguant morphologiquement uniquement par la couleur de leurs feuilles ou de leurs bractées),
- de mettre en évidence clairement 6 groupes de clones (individus proches génétiquement avec un BS significatif et identiques morphologiquement),
- de suspecter des cultivars proches, des clones ou des mutants hypothétiques mais dont l'étude actuelle n'a pas permis de confirmer ces hypothèses (individus proches génétiquement mais dont le BS n'est pas significatif et proches ou identiques morphologiquement).

4.3.1 Les 13 groupes de proximité confirmés

1) Les cultivars 'San Diego'

Les analyses phénotypiques et génétiques montrent que les introductions 'SDR', 'SDO' et 'SDG' sont très proches et issus de mutation de bourgeons. Ces deux derniers noms n'étant pas référencés dans les ouvrages, on peut supposer soit qu'ils ont été obtenus récemment (après la réalisation des ouvrages) soit qu'ils ne sont présents que dans certaines régions (les ouvrages de référence étant souvent réalisés par des Indiens, les Américains ou les Africains). Selon Iridel (1995), 'SDR' est un hybride interspécifique dont les deux parents sont inconnus. Son positionnement ainsi que celui des deux autres sports dans le groupe 1 du dendrogramme génétique semble indiquer qu'ils sont des hybrides *B. x buttiana*.

2) ‘LouisW’, ‘Louisa’ et ‘JamesW’

Les analyses précédentes montrent une proximité importante entre ces trois individus (génétique et phénotypique). Comme ces trois accessions présentent des bractées de couleur différente, elles seraient issus de mutations de bourgeons. Le cultivar ‘Louisa’, identifié comme ‘Scarlet Queen’ dans les ouvrages de référence, a été obtenu par mutation de bourgeon de ‘Louis Wattan’ dans l’entreprise. Ces résultats permettent de vérifier la précision et la justesse de l’arbre génétique. Le lien de parenté entre ‘JamesW’ et les deux autres cultivars n’est pas référencé. Cela peut s’expliquer par le fait que c’est la première étude comprenant les trois cultivars à la fois.

3) ‘RossoS’ et ‘Rubiana’

Les analyses phénotypiques et génotypiques ont mis en évidence que ces deux accessions sont très proches et seraient des sports car elles se distinguent seulement par la couleur de leur bractée. Le nom référencé ainsi que leur attribution à une espèce ou à un groupe d’hybrides n’ont pu être identifiés. Néanmoins leur positionnement dans le groupe 1 du deuxième dendrogramme semble indiquer que ce sont des hybrides *B. x buttiana*.

4) Les cultivars ‘Sanderiana’

Les données génétiques et phénotypiques montrent clairement que ces quatre introductions sont très proches et plus précisément des sports (se distinguant uniquement par la couleur de leurs bractées et de leurs feuilles). Dans les ouvrages, seuls ‘SanderianaA’ et ‘SanderianaP’ sont référencés sous le nom de ‘Sanderiana’ et ‘PJ Weeding Beauty’ respectivement. Selon les auteurs, ‘SanderianaA’ est un hybride specto-glabra, appartient à l’espèce *B. glabra* ou à l’espèce *B. spectabilis* (cf Annexe V). La présence chez ce cultivar de caractères spécifiques à l’espèce *B. glabra* (bractée dont l’apex est acuminé et persistantes et une plus grande tolérance au froid) ainsi qu’à l’espèce *B. spectabilis* (inflorescences sur les branches principales et secondaires) soutient l’hypothèse qu’il soit un hybride specto-glabra.

5) ‘Th2_fepa_floble’ et ‘Th2_fepa_fbl’ et ‘SmallLW’

Les analyses génétiques montrent clairement (BS=100) que les introductions ‘Th2_fepa_floble’ et ‘Th2_fepa_fbl’ sont très proches et ces résultats, associés à un phénotype visuellement très proche, à l’exception de la couleur des bractées, indiquent que ces deux cultivars provenant de Thaïlande sont des sports. Le nom référencé ainsi que leur attribution à une espèce ou à un groupe d’hybrides n’ont pu être identifiés. Néanmoins leur positionnement dans le groupe 2 du dendrogramme génétique semble indiquer que ce sont soit des hybrides specto-glabra soit des cultivars de l’espèce *B. glabra* ou *B. spectabilis*.

6) ‘RijplantRL1’, ‘RijplantRL2’, ‘RijplantRW’ et ‘MaunaK’

Les données génétiques indiquent que le cultivar ‘RijplantRL1’ est proche du cultivar ‘MaunaK’ (*B. glabra*). ‘RijplantRL2’ et ‘RijplantRW’ sont également proches mais forment un autre groupe de proximité. Ces cultivars se distinguant uniquement par leur couleur de bractées (rose pour ‘RijplantRL1’ et ‘RijplantRL2’, blanc pour ‘RijplantRW’ et ‘MaunaK’), il est fort probable qu’il s’agisse de sports. Si cette hypothèse est avérée, les trois cultivars ‘Rijplant’ appartiendraient à l’espèce *B. glabra*.

7) ‘Barbara Karst’ et ‘Barbara Rosea’

Les analyses génétiques ainsi que les observations visuelles permettent de dire que ces deux individus sont des mutants. Ces résultats sont confirmés par le fait que le cultivar ‘BarbaraR’ a été obtenu par mutation de bourgeon de ‘BarbaraK’ dans l’entreprise. Néanmoins, comme pour les cultivars ‘NainO’ et ‘MiniT’, cette proximité génétique ne se reflète pas dans les analyses phénotypiques. Il semble donc que pour certains cultivars l’analyse phénotypique

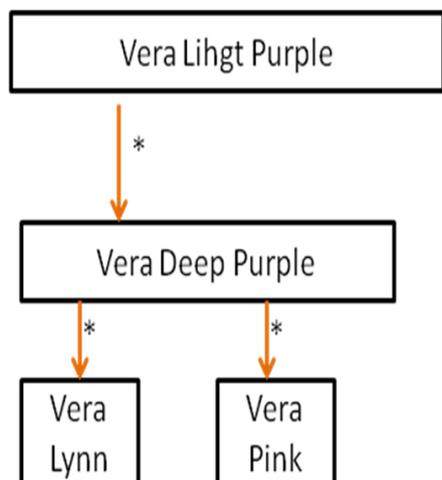


Figure 23 : Lien de parenté entre les cultivars 'Vera' selon les Plantpatent.

peut encore être améliorée. Selon Singh *et al.*, 1999 'BarbaraK' serait issu d'un croisement entre un cultivar *B. x buttiana* et un cultivar *B. glabra*. Son positionnement dans le seul groupe comprenant à priori des complexes d'hybrides (groupe 3), conforte cette hypothèse.

8) 'Killie Campbell' et 'Améthyste'

Ces deux introductions, selon les analyses génétiques et phénotypiques, sont proches. Leur morphologie identique (à l'exception de la couleur de leurs bractées) permet d'affirmer qu'ils sont liés par une relation de mutation. Selon Pal et Swarup (1974), 'KillieC' serait un semis d'un hybride *B. x buttiana* (*B. glabra* x *B. peruviana*). Cette hypothèse est soutenue par son positionnement, dans le dendrogramme basé sur les données génétiques, à proximité du cultivar hybride specto-peruviana ('Thimma') et de cultivars issus de semis d'hybrides *B. x buttiana* ('Poultoni' et 'Roma' - identifié dans les ouvrages comme 'Chitra'-).

9) Les cultivars 'Vera'

Les accessions 'Vera' forment un seul groupe dans les analyses phénotypiques (sous-groupe VII) et deux groupes dans les analyses génétiques. Néanmoins, dans ces dernières analyses, la répartition de ces individus en deux groupes s'explique par un effet « plaque ». Les analyses génétiques indiquent que 'VeraP2' est plus proche de 'VeraLP' puis de 'VeraDP' et enfin de 'VeraP'. Ces résultats ne concordent pas avec ceux référencés dans les PlantPatent (Figure 23). Cela s'explique soit par une erreur d'identification des plantes reçus de Porto Rico - nos plantes 'VeraLP' correspondraient au cultivar 'VeraL' - (la différence entre les deux cultivars n'étant pas flagrante), soit par une erreur réalisée dans les documents PlantPatent. Selon ces derniers ouvrages, les cultivars 'Vera' appartiendraient à l'espèce *B. spectabilis*. Cependant, ils présentent une morphologie assez différente de celle des cultivars de l'espèce *B. spectabilis* notamment dans leurs feuilles glabres et leurs cymes de taille importante et divisées plus de deux fois. Ce dernier caractère est spécifique de l'espèce *B. peruviana* ou des hybrides impliquant cette espèce. Les cultivars 'Vera' seraient plutôt des hybrides interspécifiques impliquant *B. peruviana* et peut être *B. spectabilis*. Le positionnement de ces cultivars dans le groupe 3 du dendrogramme génétique, contenant les hybrides specto-peruviana et les semis d'hybrides de *B. x buttiana*, conforte cette hypothèse.

10) 'Pink Pixie', 'Pixie Queen'

Les analyses génétiques montrent clairement que ces deux individus sont des mutants l'un de l'autre. Ces résultats concordent avec ceux obtenus par Wu (2012) avec 11 ISSR sur 48 cultivars. Selon Iridel (1995), 'PinkP' serait un hybride interspécifique ou, selon Wu (2012), il appartiendrait à *B. spectabilis*. Ce cultivar ainsi que 'PixieQ', comme les cultivars 'Vera', présentent une morphologie qui ne correspond pas à celle de l'espèce *B. spectabilis* (des feuilles petites, ovales moyennes et glabres ; une inflorescence localisée au niveau axillaire et terminale de la branche ; des petites bractées, ovales étroites, avec un apex aigu et base obtuse). Ces cultivars seraient plutôt des hybrides interspécifiques. Cette hypothèse est soutenue par leur positionnement dans le groupe 3 du dendrogramme basé sur les données génétiques.

11) 'Delta Dawn' et 'Rosenka'

Les analyses génétiques mettent en évidence la proximité entre ces deux accessions. 'DeltaD' présentant des feuilles panachées semble être un mutant de 'Rosenka'. Le positionnement de ces deux cultivars dans le groupe 3 plutôt que dans le groupe 1 (contenant l'ensemble des cultivars *B. x buttiana* référencé) indique qu'ils sont plus proches des hybrides specto-peruviana ou des semis d'hybrides *B. x buttiana* que des *B. x buttiana* (Wu, 2012). Ces résultats sont soutenus par ce même auteur dont le cultivar 'Rosenka' est à proximité des hybrides specto-peruviana ('Thimma' et 'Surprise').

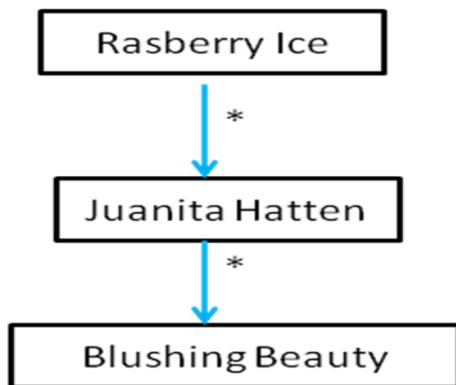


Figure 24 : Liens de parenté entre 3 cultivars (selon Iridel, 1995).

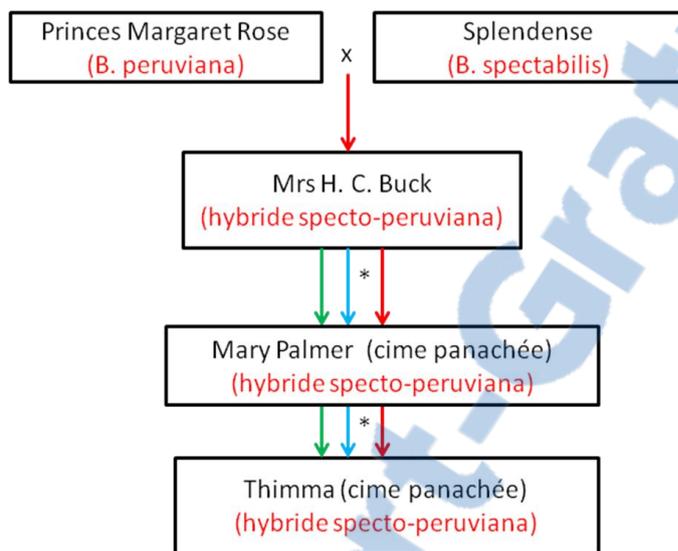


Figure 25: Lien de parenté entre certains hybride specto-peruviana selon 3 auteurs différents (Iridel, 1995 ; Pal et Swarup, 1974 et Chatterjee *et al.*, 2007). Les étoiles indiquent l'obtention des cultivars par mutation de bourgeon.

12) 'Raspberry Ice', 'Orange Ice' et 'Imperial Thai Delight'

Selon les données génétiques et les observations visuelles, les individus 'OrangeI' et 'RaspberryI' semblent être des mutants et proches de 'ITD'. Ces accessions sont également proches du cultivar 'JuanitaH', bien que le BS ne soit pas significatif. Selon Iridel, 'RaspberryI' serait le cultivar initial de 'JuanitaH' et ce dernier celui de 'BlushingB' ; il est caractéristique par ses feuilles présentant deux couleurs de vert et ses bractées de couleur rose et blanc (« blush ») (Figure 24). L'individu de 'JuanitaH' utilisé dans cette étude présente une morphologie similaire à celle référencée à l'exception de ses feuilles qui présentent deux couleurs. A cause de cette différence, dans cette étude il a été classé comme individu dont le nom n'est pas correctement attribué. Cependant, compte tenu des résultats génétiques, on peut supposer que le cultivar 'JuanitaH' est soit une mutation du vrai cultivar 'JuanitaH' ou soit que les ouvrages n'ont pas indiqué ses feuilles panachées. 'ITD' présente également une morphologie similaire à celle de 'Blushing Beauty' à l'exception de ses feuilles qui ne sont pas panachées. Compte tenu des données génétiques, on peut supposer que le cultivar 'ITD' est mutant du cultivar 'JuanitaH' ou du cultivar 'Blushing Beauty', la mutation consistant à la perte de la panachure des feuilles.

13) 'Asia', 'Thimma', 'RoseB', 'Surprise' et Th1 feve flo

L'introduction 'Asia' a été identifiée, par sa morphologie, comme étant le cultivar 'Thimma' référencé dans les ouvrages. Les accessions 'RoseB' et 'Surprise', par leur morphologie caractéristique des hybrides specto-peruviana et surtout par l'absence de cyme panachée, ont été identifiés comme étant le cultivar 'Mrs H. C. Buck', cultivar initial de 'Mary Palmer', qui lui-même est à l'origine du cultivar 'Thimma' (Figure 25). Ces hypothèses sont soutenues par les données génétiques et phénotypiques. Les cultivars 'Asia' et 'Thimma' semblent donc être des mutants de manière indirecte des cultivars 'RoseB' et 'Surprise'. La proximité du cultivar Th1_feve_flo avec ces quatre plantes permet de le classer parmi les hybrides specto-peruviana.

4.3.2 Les 6 groupes de clones clairement identifiés

1) 'Variegatum Magenta' ('VariegtM') un clone de 'Sanderiana Panaché'

Les données génétiques ainsi que les observations phénotypiques indiquent que les accessions 'VariegatumM', provenant d'Afrique du Sud, est 'SanderianaP' sont un même clone.

2) 'MaunaK' et 'RijplantRW', 'RijplantRL1' et 'RijplantRL2'

Compte tenu de l'effet plaque observé dans les analyses génétiques et de la ressemblance morphologique entre ces quatre individus (faible croissance, grandes feuilles elliptiques avec une base atténuée, une cyme divisée une ou deux fois et des bractées grandes, elliptiques avec un apex aigu et de couleur blanche), il est fort probable qu'ils soient apparentés et que 'RijplantRL1' et 'RijplantRL2' soient un même clone et que 'MaunaK' et 'RijplantW' constituent également un même clone.

3) 'Vera' et 'VeraP'

Les individus 'Vera' et 'VeraP2' présentent visuellement une morphologie identique ainsi que les accessions 'VeraP1' et 'VeraB'. Cette proximité est visible sur l'arbre basé sur les données morphologiques. Cependant, à cause de la formation de deux groupes, elle n'est pas visible sur l'arbre basé sur les données génétiques. Cette hypothèse devra donc être vérifiée dans une prochaine analyse. La proximité génétique de l'introduction 'VeraP1', cultivar appartenant depuis plus d'un an à la collection et faisant partie des 21 individus dont le nom référencé a été attribué, au cultivar 'VeraDP' confirme que 'VeraP1' et 'VeraDP' serait un même et unique cultivar à nommer 'VeraDP'.

4) ‘Poultoni’ et ‘Scarlet’O Hara Fuchsia’

Les données génétiques montrent que ces deux accessions sont proches génétiquement. Ces dernières présentant une morphologie similaire, cela indique que ce sont des clones et qu'ils correspondent à un même cultivar.

5) ‘Asia’, ‘Thimma’, ‘RoseB’ et ‘Surprise’

Les individus ‘Asia’ et ‘Thimma’ correspondraient au même clone et il en serait de même pour les individus nommés ‘RoseB’ et ‘Surprise’.

6) ‘Pink Pixie’, ‘Pixie Queen’ et les cultivars ‘Mini Thai’

Phénotypiquement, les accessions ‘PinkP’, ‘MiniT’ et ‘MiniTPur’ sont proches et paraissent être des clones. Au niveau génétique, ‘PinkP’, ‘MiniT’ et ‘MiniTPur’ sont répartis dans deux groupes (groupe 1 et groupe 3). Uniquement ‘MiniTPur’ est proche de ‘PinkP’, bien que ce dernier soit plus proche de ‘Pixie Queen’. Cela peut s'expliquer soit par l'arbre qui n'est pas optimum, comme évoqué auparavant, soit à une évolution différente des cultivars, le cultivar ‘PinkP’ provenant de Porto Rico, et le cultivar ‘MiniTPur’ provenant de l'île Maurice. ‘MiniT’ étant présent dans le groupe 1 du dendrogramme basé sur les données génétiques, sa proximité phénotypique ne peut être confirmée.

4.3.3 Les individus proches, les mutants et les clones à confirmer par des études futures

Suite à la caractérisation morphologique et phénotypique de la collection, différents groupes d'individus proches, différents clones et différents mutants de bourgeons ont été suspectés. Cependant, les analyses n'ont pas pu permettre de confirmer ces hypothèses. Ces dernières pourront être déterminées dans de futures analyses. Ces hypothèses sont les suivantes.

‘Ruby’ et ‘Flame’ : 2 mutants

Les données phénotypiques indiquent que les introductions ‘Flame’ et ‘Ruby’ sont très proches. Ces deux plantes se distinguent principalement par la couleur de leurs bractées (rouge et rouge cramoisi respectivement) et donc semblent être des clones. Malheureusement, l'accession ‘Ruby’ a été absente de l'analyse génotypique ne permettant pas de valider ou non cette hypothèse.

Les cultivars ‘Marie’ et les clones et mutants hypothétiques

Les cultivars ‘Marie’ ainsi que les accessions ‘Latherita’, ‘AfterG’, ‘HawaiW’, ‘CaliforniaG’, ‘MissP’, ‘Albia’, ‘DoubleB’ et ‘DoubleO’ semblent former un grand groupe de proximité et être plus ou moins proches phénotypiquement (avec des mutants et des clones) et génétiquement. Néanmoins dans cette étude, les BS étant non significatifs sur le dendrogramme basé sur les données génétiques, aucune affirmation ne peut être faite.

Autres clones hypothétiques

La caractérisation morphologique et l'observation des individus présentant des données manquantes a permis de mettre en évidence de nombreux clones hypothétiques. Ces hypothèses n'ont pas pu être vérifiées avec les données obtenues dans cette étude. Ces clones sont les suivants : ‘TempleF’ = ‘NainR’ ; ‘Don Mario’ = ‘SDR’ ; ‘SOH’ = ‘Marie’ ; ‘ITD’ = ‘ImperialD’ ; ‘PanachéR’ = ‘RaspberryI’.

4.4 Les cultivars ‘Violet de Mèze’ (‘VDM’) et ‘Sanderiana Alexandra’ (‘SanderianaA’) : des parents potentiels pour la création de nouveaux cultivars rustiques

Afin d’obtenir de nouveaux cultivars présentant une tolérance au froid égale ou plus importante que VDM et des bractées d’une autre couleur que mauve pâle, deux principales méthodes peuvent être utilisées : la mutation induite ou l’hybridation contrôlée.

La mutation induite est une méthode qui permet d’éviter tous les facteurs limitant l’hybridation (stérilité mâle et femelle, incompatibilité et développement difficile de graines). Néanmoins, cette méthode nécessite une infrastructure et certains matériels. De plus, l’un de ces principaux inconvénients est que la couleur des bractées obtenue est souvent plus claire et limitée aux couleurs que présente l’espèce ou le groupe d’hybrides du cultivar muté.

L’hybridation contrôlée, contrairement à la mutation induite, permet d’obtenir de nouvelles couleurs de bractées et des caractères intermédiaires aux parents. Mais, l’obtention de graines est difficile et peut demander plusieurs années. De plus, actuellement, aucune donnée concernant l’héritabilité du caractère de tolérance au froid et concernant la détection de ce caractère à un stade précoce n’est disponible. Dans cette dernière méthode, deux cultivars : ‘VDM’ et ‘Sanderiana’ de la collection présentent un pedigree intéressant. Le ‘VDM’, référencé dans les ouvrages comme ‘Formosa’, est le cultivar le plus résistant parmi ceux de la collection. Ce cultivar appartiendrait à l’espèce *B. glabra*. Diploïde, présentant 57% de pollens viables et des bractées persistantes (caractéristiques de nombreux bougainvilliers fructifiant) (Pal et Swarup, 1974), le cultivar ‘VDM’ est un parent femelle idéal pour la création variétale. Il peut également être utilisé comme parent mâle. Le cultivar ‘Sanderiana’, référencé sous le nom de ‘Sanderiana Alexandra’, présente une tolérance au froid entre -4°C et -6°C. Ce cultivar serait un hybride *specto-glabra*. Diploïde également, présentant seulement 27% de pollen viable et des bractées persistantes, ce cultivar serait plutôt un parent femelle idéal pour les croisements.

5 Conclusion

Dans cette étude, 4 principaux objectifs étaient poursuivis : 1) réaliser un phénotypage complet discriminant de différents cultivars de la collection ; 2) déterminer les relations génétiques entre ces cultivars ; 3) réaliser un dossier de demande de certification « collection nationale » du CCVS ; 4) synthétiser les principaux paramètres biologiques et méthodologiques les plus pertinents afin d'initier un programme de création variétale.

Sur les 128 accessions étudiées, 90 ont été entièrement phénotypées en utilisant 19 caractères quantitatifs et 30 caractères qualitatifs. Suite à ce phénotypage, le nom référencé de 20 individus a été vérifié et un nom référencé a été attribué à 21 accessions.

Les analyses des caractères quantitatifs et qualitatifs ont montré que parmi ces 49 caractères 16 (10 quantitatifs et 6 qualitatifs) étaient les plus discriminants. Le dendrogramme obtenu à partir des données morphologiques a mis en évidence la présence de deux principaux groupes : le premier groupe étant subdivisé en 7 sous-groupes morphologiques et le deuxième groupe en 3 sous-groupes morphologiques. Les analyses moléculaires de 109 individus permettent de distinguer 3 principaux groupes : le premier groupe comprend en général des cultivars hybrides *B. x buttiana*, le deuxième groupe comprend en général des cultivars des espèces *B. glabra* et *B. spectabilis* et des hybrides *specto-glabra* et le troisième groupe comprend des cultivars issus de semis de cultivars hybrides *B. x buttiana*, des hybrides interspécifiques et des cultivars hybrides *specto-peruviana*.

Les analyses phénotypiques associées aux analyses génétiques ont permis de distinguer 13 groupes de mutants et 6 groupes de clones. Elles ont permis aussi de mettre en évidence des groupes de mutants et de clones hypothétiques mais qui n'ont pu être confirmés par les données obtenues.

Les caractères morphologiques et génétiques de 86 différents cultivars ne présentant chacun aucune donnée manquante ont été synthétisés dans un tableau. A ce tableau ont été ajoutés des renseignements complémentaires sur les cultivars et la gestion de la collection afin de constituer un dossier de demande de certification complet.

La synthèse des principaux paramètres biologiques et méthodologiques des espèces ornementales de bougainvilliers indique que trois principales méthodes permettent d'obtenir de nouveaux cultivars (mutations induites ou spontanées, hybridations naturelles ou contrôlées et polyploïdisations). L'hybridation est la méthode la plus accessible qui permet d'obtenir de nouveaux caractères tels que des nouvelles couleurs de bractées. Néanmoins cette méthode possède de nombreuses limites dont la présence de stérilité mâle et femelle, l'incompatibilité sporophytique et la difficulté à obtenir des graines.

Ainsi, afin d'initier un programme de création variétale, il sera nécessaire et intéressant de :

- connaître la ploïdie des différents cultivars pour déterminer ceux qui pourront être potentiellement croisés,
- connaître la stérilité mâle et femelle des cultivars,
- et enfin tester la tolérance au froid des cultivars proches de 'VDM' déterminés dans les analyses génétiques, cultivars présentant surtout d'autres couleurs de bractées.

6 Bibliographie

Sitographie :

Planche botanique de l'échantillon de bougainvillier, prélevé par Commerson en 1767, conservée dans les collections d'herbiers du Muséum National d'Histoire Naturelle à Paris. (MNHN - Patrick Lafaute). Consulté 14 Mai 2014, à l'adresse

<http://dsiphoto.mnhn.fr/sonnera2/LAPI/scanG/G20090518/P00169376.jpg>

Port arborescent de *Bougainvillea argentin*. (28 septembre 2012). Consulté le 14 Mai 2014, à l'adresse <http://arbolesdelchaco.blogspot.fr/2012/09/bougainvillea.html>

Port arbustif du *Bougainvillea berberidifolia*. (7 novembre 2011). Consulté le 14 Mai 2014, à l'adresse https://www.flickr.com/photos/chdeff_photos/6634199551/in/photostream/

Articles scientifiques :

Anonyme. (1959). *Bougainvillea*. *Bulletin of the Lucknow National Botanic Garden*, 41 : 1-33.

Aranda R., Catian G., Bogiani P.A. et Inforzato I. (2011). Effect of nectar pillaging by native stingless bees (*Hymenoptera: Apidae*) in the abscission of flowers of *Bougainvillea spectabilis* Willd. (Nyctaginaceae). *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 33 : 399-405.

Banerji B.K. (2012). Pixie Variegata a newly evolved *Bougainvillea* cultivar. *Floriculture Today*, 16 (11 - avril 2012) : 44-45.

Benham J., Jeung J.U., Jasieniuk M., Kanazin V. et Blake T. (1999). Genographer: a graphical tool for automated fluorescent AFLP and microsatellite analysis. *Journal of Agricultural Genomics*, 4 : 1-3.

CCVS. (2012). Du spécimen botanique à la passion horticole. Consulté le 15 Mars 2014, à l'adresse http://www.senat.fr/fileadmin/Fichiers/Images/evenementiel/expo_automne/PANNEAU_12_V4.pdf

Chatterjee J., Mandal A.K.A., Chakrabarty D. et Datta S.K. (2007). Use of RAPD analysis to determine genetic diversity and relationships among *Bougainvillea* cultivars at intra- and inter-specific levels. *Horticulture, Environment and Biotechnology*, 48 : 43-51.

Chen T. et al. (2012). Analysis on genetic diversity of *Bougainvillea* spp. germplasm resources based on isozyme. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 40 : 29-31.

Chew S. (2010). Anatomical features of *Bougainvillea* (Nyctaginaceae). *Studies by Undergraduate Researchers at Guelph*, 4 : 72-78.

Douglas N.A. et Manos P.S. (2007). Molecular phylogeny of Nyctaginaceae: taxonomy, biogeography, and characters associated with a radiation of xerophytic genera in North America. *American Journal of Botany*, 94 : 856-872.

Douglas N.A. et Spellenberg R. (2010). A new tribal classification of Nyctaginaceae. *Taxon*, 59 : 905-910.

Fakir S. (1988) *Morphologie pollinique des hybrides et variétés cultivés de bougainvilliers : signification taxonomique*. DEA de Biologie Végétale Tropicale, Université Pierre et Marie Curie (Paris VI), Paris, 45 p.

- Gillis W.T.** (1976). *Bougainvilleas* of cultivation (Nyctaginaceae). *Baileya*, 20 : 34-41.
- Hammad I.** (2009). Genetic variation among *Bougainvillea glabra* cultivars (Nyctaginaceae) detected by RAPD markers and isozymes patterns. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 5 : 63-71.
- Heimerl A.** (1900). Monographie der Nyctaginaceen I. *Bougainvillea, Phaeoptilum, Colignonia*. *Denkschriften der Kaiserlichen Akademie der Wissenschaften, Mathematisch-Naturwissenschaftliche Classe*, 70 : 98-137.
- Iridel J.** (1995). *Growing Bougainvilleas* (Cassell Good Gardening Guides). Cassell Illustrated, Londres, 96 p.
- Jussieu A.-L.** (1789). *Genera Plantarum*. Herissant & Barrois, Paris, 498 p.
- Leonardi C. et Romano D.** (2003). Characteristics of *Bougainvillea* types widespread in the East of Sicily. *Italus Hortus* (Italy), 10 : 234-237. Résumé consulté à l'adresse <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=IT2004061763>
- Li F., Huang Y. et Wu S.** (2011). ISSR Analysis of Germplasm Resources of *Bougainvillea spectabilis* Willd. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 32 : 1692-1696.
- MacDaniels L.H.** (1981). A study of cultivars in *Bougainvillea* [Nyctaginaceae]. *Baileya*, 21 : 77-100.
- Mohammed, Z.M.** (2007). *Characterization of some Bougainvillea varieties in Sudan*. Mémoire de MSc en Horticulture, University of Karthoum, Karthoum, 85 p. résumé consulté le 3 Mai 2014, à l'adresse <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=SD2009000028>, et <http://agris.fao.org/aos/records/SD2009000028?output=xml>.
- Najib Najah M.** (1984). *Contribution à l'étude de Bougainvillea : systématique, propagation, floraison*. Mémoire de fin d'études, ENSH, Versailles, 50 p.
- Nores M.J., Lopez H.A., Rudall P.J., Anton A. et Galetto L.** (2013). Four o'clock pollination biology: nectaries, nectar and flower visitors in Nyctaginaceae from southern South America. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 171 : 551-567.
- Ohri D. et Zadoo S.N.** (1979). Cytogenetics of cultivated *Bougainvilleas*. VIII. Cross compatibility relationships and origin of *Bougainvillea* « H. C. Buck » family. *Zeitschrift für Pflanzenzüchtung*, 82 : 182-186.
- Pal B.P. et Swarup V.** (1974). *Bougainvilleas*. Indian council of agricultural research, New Delhi, 105 p.
- Pancho J.V. et Bardenas E.A.** (1959). *Bougainvillea* in the Philippines. *Baileya*, 7 : 91-101.
- Perrier X. et Jacquemoud-Collet J.P.** (2006). DARwin software. <http://darwin.cirad.fr/>
- Rea E. et al.** (2011). *Schede descrittive Bougainvillea*. En ligne http://rps.entecra.it/pages/ResearchData/data/progetti/62_ALLEGATO_schede%20descrittive%20Bougainvillea.pdf
- Santoni S., Faivre-Rampant P., Prado E. et Prat D.** (2000). Marqueurs moléculaires pour l'analyse des ressources génétiques et l'amélioration des plantes. *Cahiers agricultures*, 9 : 311-327.

- Sharif M. et Kumar R.** (2008). Phenotypic variance and covariance among varieties of *Bougainvillea*. *The Allahabad Farmer*, 64 : 62-66.
- Singh B., Panwar R.S. et Voleti S.R.** (1999). The origin, registration and identification of *Bougainvillea* cultivars. In: *Taxonomy of cultivated plants: Third international symposium*. Andrews S., Leslie A.C. et Alexander C. eds., Royal Botanic Gardens, Kew, pp. 113-116.
- Spach E.** (1841). *Histoire naturelle des végétaux – phanérogames, volume 10*. Librairie encyclopédique de Roret, Paris, 572 p.
- Srivastava R., Shukla S., Soni A. et Kumar A.** (2009). RAPD-based genetic relationships in different *Bougainvillea* cultivars. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 9 : 154-163.
- Standley P.C. et Steyermark J.A.** (1944). Studies of central american plants IV. *Field Museum of natural History – Botanical Series*, 23 : 44-48.
- Swarup V. et Singh B.** (1964). Pollen morphology and leaf hairs in classification of *Bougainvillea*. *Indian Journal of Horticulture*, 21 : 155-164.
- UPOV.** (2011). *Bougainvillée - Code UPOV : BOUGA - Bougainvillea Juss. - Principes directeurs pour la conduite de l'examen de la distinction, de l'homogénéité et de la stabilité du Bougainvillée*. UPOV, Genève. 31 p. Consulté le 25 Mars 2014, à l'adresse <http://www.upov.int/edocs/tgdocs/fr/tg267.doc>
- Wu X.-Y.** (2012). *Studies on genetic diversity and phylogenetic relationship of ornamental germplasm resources in Bougainvillea*. Mémoire de master, Huaquiao University, Huaquiao.Chine. 81 p.
- Xu S., Huang Q., Shu Q., Chen C. et Vick B.A.** (2009). Reproductive organography of *Bougainvillea spectabilis* Willd. *Scientia Horticulturae*, 120 : 399-405.
- Zadoo S.N., Roy R.P. et Khoshoo T.N.** (1974). Cytogenetics of cultivated *Bougainvilleas*. I. Morphological variation. *Proceedings of the Indian National Science Academy, part B Biological Sciences*, 41 : 121-132.
- Zadoo S.N., Roy R.P. et Khoshoo T.N.** (1975a). Cytogenetics of cultivated *Bougainvilleas*. III. Bud sports. *Zeitschrift für Pflanzenzüchtung*, 74 : 223-239.
- Zadoo S.N., Roy R.P. et Khoshoo T.N.** (1975b). Cytogenetics of cultivated *Bougainvilleas*. V. Induced tetraploidy and restoration of fertility in sterile cultivars. *Euphytica*, 24 : 517-524.
- Zadoo S.N., Roy R.P. et Khoshoo T.N.** (1976a). Cytogenetics of cultivated *Bougainvilleas*. IV. Variation in meiotic system. *Cellule*, 71 : 311-322.
- Zadoo S.N., Roy R.P. et Khoshoo T.N.** (1976b). Cytogenetics of cultivated *Bougainvilleas*. VII. Origin and evolution of ornamental taxa. *Indian Journal of Horticulture*, 33 : 278-288.
- Zhou Q., Huang K.-F. et Guo H.-Z.** (2011a). The terminology for recording characteristics of *Bougainvillea* Fancy Breed. *Subtropical Plant Science*, 40 : 78-80.
- Zhou Q., Huang K.-F., Ding Y.-L. et Guo, H.-Z.** (2011b). Investigation and taxonomic identification on introduced ornamental varieties in *Bougainvillea* in China. *Acta Agriculturae Jiangxi*, 23 : 53-56.

7 Annexes

Annexe I : Nom, code utilisé et origine des différents cultivars composant la collection (1/3)

Nom commercial	Code	Origine du cultivar
Abricot	Abricot	Italie
After Glow	AfterG	Porto Rico
Albia Hs	Albia	Italie
Amethyste	Amethyst	Danemark
Asia	Asia	Ile de la Réunion
Barbara Karst	BarbaraK	Danemark
Barbara Rosea	BarbaraR	France
Bengale	Bengale	France
Big Spectoglabra	BigS	Italie
Blush	Blush	Italie
California Gold	CaliforniaG	Porto Rico
Cardinal	Cardinal	France
Corail De la Réunion	CorailDR	Ile de la Réunion
Corsaire	Corsair	Italie
Double Blanc	DoubleB	France
Double Orange	DoubleO	France
Double Rose	DoubleRo	France
Double Rouge	DoubleRou	France
Don Mario	DonM	Italie
Elisabeth Angus	ElisabethA	Danemark
Flame	Flame	Porto Rico
Formosa	Formosa	France
Gold	Gold	Porto Rico
Gold Sun	GoldS	Italie
Hawai White	HawaiianW	Porto Rico
James Walker	JamesW	Porto Rico
Killie Campbell	KillieC	Danemark
Latherita	Latherita	Italie
Lavender	Lavender	Italie
Louis Wattan	LouisW	France
Louisa	Louisa	France
Marie Blanc	MarieB	Danemark
Marie Jaune	MarieJ	Danemark
Marie Orange	MarieO	Danemark
Marie Rose	MarieRo	Danemark
Marie Rouge	MarieRou	Danemark
Mauna Kea	MaunaK	Porto Rico
Mini Thai	MiniT	France
Miss Pink	MissP	Italie
Nain Orange	NainO	Italie
Nain Rouge	NainR	Italie
Opulence	Opulence	Italie
Panaché Rouge	PanachéR	France
Parme	Parme	France
Peche 2012	Pêche	Italie
Roma	Roma	Italie
Rose Bonbon	RoseB	France



Annexe II : Nom, code utilisé et origine des différents cultivars composant la collection (2/3)

Nom commercial	Code	Origine du cultivar
Rosenka	Rosenka	Porto Rico
Rosso Scuro	RossoS	Italie
Rubiana	Rubiana	Italie
San Diego Grenat	SanDG	France
San Diego Orange	SanDO	France
San Diego Rouge	SanDR	France
Sanderiana Alexandra	SandA	Danemark
Sanderiana Elisabeth	SandE	Danemark
Sanderiana Panaché	SandP	Danemark
Sanderiana Sophie	SandS	Danemark
Saumonné 2011	Saumonné	Italie
Scarlet O'Hara	ScarletOH	Danemark
Scarlet O'Hara Fushia	ScarletOH_F	Italie
Sea Foam	SeaF	Italie
Rijplant Rjinstar Lila	RijplantRL1	Italie
Small Leaf pink	SmallLP	Italie
Small Leaf white	SmallLW	Italie
Sundown Orange	SundownO	Porto Rico
Vera	Vera	Danemark
Vera Blackman	VeraB	Danemark
Vera Pink	VeraP	Danemark
Vera Variegata	VeraV	Danemark
Verone	Verone	Italie
Violet De La Réunion	VioletDR	Ile de la Réunion
Violet De Mèze	VioletDM	France
White Stripe	WhiteS	Porto Rico
Yannis Delight	YannisD	Porto Rico
Variegatum Orange	VariegatumO	Afrique du Sud
Variegatum Petite fleur Rouge	Variegatum_PR	Afrique du Sud
Variegatum Grande fleur Rouge	Variegatum_GR	Afrique du Sud
Variegatum Magenta	Variegatum_M	Afrique du Sud
Th1_feuille panaché fleur blanche	Th1_fepa_flbl	Thaïlande
Th1_feuille panaché fleur magenta	Th1_fepa_flmag	Thaïlande
Th1_feuille verte fleur rose	Th1_feve_flo	Thaïlande
Th2_feuille panaché fleur blanche-rose	Th2_fepa_flbl	Thaïlande
Th2_feuillepanaché fleur blanche	Th2_fepa_floblc	Thaïlande
Th2_feuilleverte fleur rose	Th2_feve_flo	Thaïlande
Orange	Orange	Italie
Rose d'Italie	RoseIt2014	Italie
Jaune d'Italie	JauneIt2014	Italie
Ex1_Ada's Joy	AdasJ	Ile Maurice
Ex2_Blanc	Blanc	Ile Maurice
Ex3_Cherry Blossom	CherryB	Ile Maurice
Ex4_Donyo	Donyo	Ile Maurice
Ex5_Imperial Delight	ImperialD	Ile Maurice
EX6_Jaune Orangé	JauneO	Ile Maurice
Ex7_Jaune	Jaune	Ile Maurice

Annexe III : Nom, code utilisé et origine des différents cultivars composant la collection (3/3)

Nom commercial	Code	Origine du cultivar
Ex8_Mahara	Mahara	Ile Maurice
Ex9_Manyla Hybride	ManylaH	Ile Maurice
Ex10_Mini Thaï Pink	MiniTP	Ile Maurice
Ex11_Mini Thaï Purple	MiniTPur	Ile Maurice
Ex12_Nathalia	Nathalia	Ile Maurice
Ex13_Orange Ice	OrangeI	Ile Maurice
Ex14_Poultoni	Poultoni	Ile Maurice
Ex15_Raspberry Ice	RaspberryI	Ile Maurice
Ex16_Rosenka	Rosenka	Ile Maurice
Ex17_Roseville Delight	RosevilleD	Ile Maurice
Ex18_Rouge	Rouge	Ile Maurice
Ex19_Temple Fire	TempleF	Ile Maurice
Ex20_Thimma	Thimma	Ile Maurice
Ex21_Tom Thumb	TomT	Ile Maurice
VF1_Ruby New	RubyN	Porto Rico
VF2_Blueberry Ice	BlueberryI	Porto Rico
VF3_Delta Dawn	DeltaD	Porto Rico
VF4_Imperial Thaï Delight	ImperialTD	Porto Rico
VF5_Juanita Hatten	JuanitaH	Porto Rico
VF6_La Jolla	LaJ	Porto Rico
VF7_Miami Pink	MiamiP	Porto Rico
VF8_Miss Manyla	MissM	Porto Rico
VF9_Pink Pixie	PinkP	Porto Rico
VF10_Pixie Queen	PixieQ	Porto Rico
VF14_Rijplant Rjinstar Lila	RijplantRL2	Porto Rico
VF12_Silouhette	Silouhette	Porto Rico
VF13_Surprise	Surprise	Porto Rico
VF14_Rijplant Rjinstar Lila	RijplantRL2	Porto Rico
VF15_Rijplant Rjinstar Pink	RijplantRP	Porto Rico
VF16_Rijplant Rjinstar White	RijplantRW	Porto Rico
VF17_Vera Deep Purple	VeraDP	Porto Rico
VF18_Vera Light Purple	VeraLP	Porto Rico
VF19_Vera Lynn	VeraP	Porto Rico
VF20_Vera Pink	VeraL	Porto Rico
VF21_Vera White	VeraW	Porto Rico

Annexe IV : Espèce ou groupe d'hybrides des cultivars de la collection de *Bougainvillea*, dont le nom est référencé dans les ouvrages, et d'un cultivar, dont le nom n'est pas référencé dans les ouvrages (page 1/ 2). (1) : Chatterjee *et al.*, 2007 ; (2) : Iridel, 1995; (3) : Wu, 2012 ; (4) : Pal et Swarup, 1974 ; (5) : Srivastava *et al.*, 2009 ; (6) : Singh *et al.*, 1999 ; (7) : Zadoo *et al.*, 1974 ; (8) : UPOV et Plantpatent ; (9) : Leonardi et Romano, 2003 ; (10) : MacDaniels, 1981 et (11) : Banerji, 2012.

Code	Nom du cultivar	Attribution du cultivar à une espèce ou un hybride selon les références disponibles
AfterG	référéncé	hybride <i>B. x buttiana</i> (3 et 4)
Amethyst	référéncé	inconnue (8)
Asia	référéncé	semis d'un hybride <i>B. x buttiana</i> (1) ; hybride interspécifique (2)
BarbaraK	référéncé	inconnue (1) ; hybride interspécifique (2) ; semis d'hybride (5) ; hybride <i>B. x buttiana</i> x <i>B. glabra</i> (6)
CaliforniaG	référéncé	inconnue (9 et 10)
DonM	référéncé	inconnue (10)
ElisabethA	référéncé	<i>B. glabra</i> (2)
Flame	référéncé	hybride impliquant <i>B. spectabilis</i> (1) ; hybride interspécifique (2)
Formosa	référéncé	<i>B. glabra</i> (2, 3, 5 et 7)
JamesW	référéncé	hybride interspécifique (2)
KillieC	référéncé	hybride interspécifique (2) ; semi d'un hybride <i>B. x buttiana</i> (4)
LouisW	référéncé	hybride <i>B. x buttiana</i> (2, 5 et 7)
MaunaK	référéncé	<i>B. glabra</i> (2 et 3)
Rosenka	référéncé	inconnue (2) ; hybride <i>B. x buttiana</i> (3)
SanDR	référéncé	hybride interspécifique (2)
SandA	référéncé	hybride specto-glabra (1 et 7) ; <i>B. glabra</i> (2 et 3) ; <i>B. spectabilis</i> (5)
ScarletOH	référéncé	hybride interspécifique (2)
RijplantRL1	référéncé	inconnue (8)
VeraB	référéncé	hybride interspécifique (2)
VeraP	référéncé	<i>B. spectabilis</i> (8)
VDM	non référencé	Hybride specto-glabra (entreprise du Cannebeth)
AdasJ	référéncé	inconnue (8)
CherryB	référéncé	<i>B. glabra</i> (1) ; hybride <i>B. x buttiana</i> (2)
Donyo	référéncé	hybride interspécifique (2)
ImperialD	référéncé	<i>B. peruviana</i> (3)
Mahara	référéncé	hybride <i>B. x buttiana</i> (1, 2 et 7)
ManylaH	référéncé	inconnue (9 et 10)

Annexe V : Espèce ou groupe d'hybrides des cultivars de la collection de *Bougainvillea*, dont le nom est référencé dans les ouvrages, et d'un cultivar, dont le nom n'est pas référencé dans les ouvrages (page2/2). (1) : Chatterjee *et al.*, 2007 ; (2) : Iridel, 1995; (3) : Wu, 2012 ; (4) : Pal et Swarup, 1974 ; (5) : Srivastava *et al.*, 2009 ; (6) : Singh *et al.*, 1999 ; (7) : Zadoo *et al.*, 1974 ; (8) : UPOV et Plantpatent ; (9) : Leonardi et Romano, 2003 ; (10) : MacDaniels, 1981 et (11) : Banerji, 2012.

Code	Nom du cultivar	Attribution du cultivar à une espèce ou un hybride selon les références disponibles
Poultoni	référencé	semi d'un hybride <i>B. x buttiana</i> (1 et 4)
RasberryI	référencé	inconnue (2)
Rosenka	référencé	inconnue (2) ; hybride <i>B. x buttiana</i> (3)
RosevilleD	référencé	hybride <i>B. x buttiana</i> (1, 2 et 3)
TempleF	référencé	inconnue (2)
Thimma	référencé	hybride specto-peruviana (1 et 7) ; <i>B. peruviana</i> (2 et 3)
TomT	référencé	inconnue (10)
JuanitaH	référencé	hybride interspécifique (2)
LaJ	référencé	hybride interspécifique (2)
MiamiP	référencé	inconnue (9)
MissM	référencé	hybride interspécifique (2)
PinkP	référencé	hybride interspécifique (2) ; <i>B. glabra</i> (3)
PixieQ	référencé	<i>B. spectabilis</i> (8 et 11)
Surprise	référencé	hybride specto-peruviana (1 et 7) ; <i>B. peruviana</i> (2 et 3)
RijplantRL2	référencé	inconnue (8)
RijplantRW	référencé	inconnue (8)
VeraDP	référencé	<i>B. spectabilis</i> (8)
VeraLP	référencé	<i>B. spectabilis</i> (8)
VeraP	référencé	<i>B. spectabilis</i> (8)
VeraL	référencé	<i>B. spectabilis</i> (8)
VeraW	référencé	<i>B. spectabilis</i> (8)

Annexe VI : Ensemble des protocoles utilisés par Végépolys pour génotyper des individus à l'aide de marqueurs ISSR

Extraction de l'ADN

Les feuilles sont préalablement congelées à -20°C, lyophilisées (Alpha 1-2 LDplus Référence 101521) et broyées en utilisant un broyeur à bille (Vibro-broyeur MM400 Retsch). Puis, l'ADN total de ces feuilles est extrait en utilisant le kit d'extraction d'ADN Macherey-Nagel (NucleoSpin® 96Plant II). Ces ADN sont ensuite élués en une seule fois dans 100µl d'eau.

Visualisation de la qualité et concentration de l'ADN

La qualité et la concentration des ADN est déterminée visuellement sur gel d'électrophorèse en utilisant 1.5% d'agarose avec une gamme de référence d'ADN phage lambda comprise entre 5 et 60 ng.

Condition d'amplification

Les réactions PCR ont été réalisées dans un volume final de 20 µl, contenant 20 ng d'ADN matrice, 1.6µl (0,8 µM) d'amorces marquées à l'aide de fluorochrome (6-FAM, VIC, NED ou PET), 1.6 µl de dNTP (200 µM), 4 µl de tampon PCR 5X, 0,8 µl de MgCl₂ (1 mM), 7,6 µl d'EUS et 0,4 µl de Go Taq Flexi (0,1 U). Elles ont été réalisées dans un thermocycleur Techne TC-Plus avec le programme suivant : une dénaturation initiale de 5 min à 94°C puis 39 cycles de 30 s à 94°C, 30 s à 50 °C et 2 min à 72 °C suivi par un cycle d'extension final de 10 min à 72°C.

Annexe VII : Individus absents des analyses phénotypiques et génétiques. Les individus surlignés en rose sont ceux qui sont absents dans les deux analyses.

Nom commercial des cultivars	code	Individus manquants	
		Phénotypage	Génotypage
Corail de la réunion	CDR	Manquant	
Corsaire	Corsaire	Manquant	
Double Blanc	DoubleB	Manquant	
Double Orange	DoubleO	Manquant	
Double Rose	DoubleRo	Manquant	
Double Rouge	DoubleRou	Manquant	Manquant
Don Mario	DonM	Manquant	Manquant
Elisabeth Angus	ElisabethA		Manquant
Flame	Flame		Manquant
Formosa	Formosa		Manquant
Gold	Gold		Manquant
Gold Sun	GoldS	Manquant	Manquant
Mauna Kea	MaunaK	Manquant	
Nain Rouge	NainR	Manquant	
Opulence	Opulence	Manquant	
Sanderiana Panaché	SandP		Manquant
Sea Foam	SeaF	Manquant	
Small Leaf pink	SmallLP		Manquant
Vera variegata	VeraV	Manquant	
Variegatum rouge petite	VariegtPR	Manquant	
Variegatum rouge grande	VariegtGR	Manquant	
Variegatum magenta	VariegtM	Manquant	
Th1_panachégrossefeuille_fleurblanche	Th1_fepa_fbl		Manquant
Th2_fpanaché_flpteblancrose	Th2_fepa_fblro	Manquant	
Jaune d'Italie (Mars 2014)	JauneI	Manquant	Manquant
Ex2_Blanc	Blanc	Manquant	
Ex3_Cherry Blossom	CherryB	Manquant	Manquant
Ex4_Donyo	Donyo	Manquant	
Ex5_Imperial delight	ImperialD		Manquant
EX6_jaune orangé	JauneO	Manquant	
Ex7_Jaune	Jaune	Manquant	
Ex8_Mahara	Mahara	Manquant	Manquant
Ex9_Manyla hybride	ManylaH		Manquant
Ex10_Mini thaï pink	MiniTP	Manquant	Manquant
Ex11_Mini thaï purple	MiniTPur	Manquant	
Ex12_Nathalia	Nathalia	Manquant	
Ex13_Orange ice	Orangel	Manquant	
Ex14_Poultoni	Poultoni	Manquant	
Ex15_Raspberry ice	Rasberyl	Manquant	
Ex17_Roseville delight	RosevilleD	Manquant	Manquant
Ex18_Rouge	Rouge	Manquant	
Ex19_Temple fire	TempleF	Manquant	
Ex20_Thimma	Thimma	Manquant	
Ex21_Tom thumb	TomT	Manquant	
VF4_Imperial thaï delight	ITD	Manquant	
VF8_Miss manyla	MissM	Manquant	
VF10_Pixie queen	PixieQ	Manquant	
VF15_Rijplant Rjinstar pink	RijPink	Manquant	
VF18_Vera light purple	VeraLP	Manquant	
VF19_Vera lynn	VeraL		Manquant
VF21_Verawhite	VeraW	Manquant	Manquant

Annexe VIII : Coefficients de corrélation de Pearson obtenus entre les 19 caractères morphologiques quantitatifs mesurés sur les 87 cultivars de bougainvilliers. Les valeurs en gras et surlignées en jaune correspondent aux coefficients de corrélation de Pearson les plus élevés.

	EN_long	E_long	E_LM	E_long_larg	F_long	F_LM	F_Long_larg	F_db_LM	C_long	B_long	B_LM	B_long_larg	B_NBmoy_cime	Fl_long	Fl_LM	Fl_dbaseLM	Fl_long_larg	P_insertionfl_long	Li_long
EN_long	1																		
E_long	0.33	1																	
E_LM	0.53	0.62	1																
E_long_larg	-0.1	0.73	-0.02	1															
F_long	0.02	0.21	-0.04	0.28	1														
F_LM	0.07	0.03	0.02	-0.03	0.79	1													
F_Long_larg	-0.12	0.26	-0.06	0.47	-0.1	-0.67	1												
F_db_LM	-0.15	0.09	0.12	0.05	0.6	0.19	0.39	1											
C_long	0.26	0.16	0.09	-0.06	0.35	0.11	0.16	0.31	1										
B_long	0.13	0.15	0.38	-0.16	0.11	-0.21	0.4	0.58	0.63	1									
B_LM	0.29	0.03	0.54	-0.44	0.14	0.08	-0.02	0.5	0.5	0.86	1								
B_long_larg	-0.29	0.24	-0.16	0.46	-0.08	-0.6	0.86	0.27	0.25	0.46	-0.06	1							
B_NBmoy_cime	-0.01	0.06	-0.19	0.13	0.36	0.35	-0.19	-0.02	0.38	-0.02	-0.09	0.02	1						
Fl_long	0.02	0.07	0.16	-0.1	0.09	-0.25	0.48	0.51	0.73	0.86	0.69	0.44	-0.06	1					
Fl_LM	0.53	-0.09	0.49	-0.56	-0.27	-0.09	-0.2	-0.12	0.12	0.24	0.44	-0.3	-0.56	0.16	1				
Fl_dbaseLM	0.19	0.12	0.2	-0.09	0.07	-0.23	0.42	0.41	0.71	0.85	0.7	0.4	-0.13	0.93	0.29	1			
Fl_long_larg	-0.46	0.16	-0.28	0.47	0.29	-0.12	0.57	0.47	0.34	0.39	0.1	0.58	0.36	0.55	-0.71	0.41	1		
P_insertionfl_long	0.17	0.31	0.21	0.11	0.32	0.14	0.06	0.35	0.46	0.69	0.58	0.3	0.16	0.5	-0.04	0.58	0.32	1	
Li_long	0.03	-0.19	-0.01	-0.15	-0.2	-0.44	0.48	0.28	0.24	0.57	0.53	0.23	-0.25	0.67	0.12	0.64	0.44	0.14	1

Annexe IX : Nom référencé attribué suite à la caractérisation morphologique ou génétique des individus.

Nom commercial	Nom attribué suite au phénotypage	Nom attribué suite au génotypage
Asia	'Thimma'	
Blush	'Sakura'	
Double Blanc	'Cherry Blossoms'	
Double Orange	'Roseville's Delight'	
Double Rose	'Los Banos Beauty'	
Double Rouge	'Mahara'	
Formosa	'Poulton's special'	
Lavender	'Mrs Eva'	
Louisa	'Scarlet Queen'	
Mauna Kea		'Rijplant Rjinstar White'
Nain Rouge	'Temple Fire'	
Panaché Rouge	'Raspberry Ice'	
Parme	'Rijplant Rjinstar Pink'	'Rijplant Rjinstar Pink'
Roma	'Chitra'	
Rose Bonbon	'Mrs H. C. Buck'	
Sanderiana Alexandra	'Sanderiana'	
Sanderiana Panaché	'PJ Weeding Beauty'	
Saumoné 2011	'Bois de Rose'	
Scarlet O'Hara Fushia		'Poultoni'
Vera	'Vera Pink'	
Vera Pink	'Vera Deep Purple'	
Violet De Mèze	'Formosa'	
Variegatum Magenta	'Sanderiana Panaché' et 'PjWeeping Beauty'	
Ex10_Mini Thaï Pink	'Kasumi'	
Ex11_Mini Thaï Purple	'Pink Pixie' et 'Koiro'	
VF13_Surprise	'Mrs H. C. Buck'	
VF14_Rijplant Rjinstar Lila	'Rijnbo0802'	
VF16_Rijplant Rjinstar White	'Rijnbo0801'	

Annexe X : Extrait du dossier de demande de certification « collection nationale » du CCVS.

N°	Nom commercial utilisé au Cannebeth	Gestion de la collection				Classification				
		Nom du fournisseur	Pays du fournisseur	N° d'introduction au Cannebeth	Nombre de pied mère	Famille	Genre	Espèce ou groupe d'hybrides	Nom référencé	Synonymes
1	Abricot	Ets Cannebeth	France	1	2	Nyctaginaceae	Bougainvillea	hybride B. x buttiana		
2	After Glow	Vista Farms	Porto Rico	2	2	Nyctaginaceae	Bougainvillea	hybride B. x buttiana		
3	Albia Hs	Altiflor	Italie	3	2	Nyctaginaceae	Bougainvillea	hybride B. x buttiana		
4	Amethyste	Gasa Odense	Danemark	4	3	Nyctaginaceae	Bougainvillea	inconnue		
5	Asia	Ets Cannebeth	France	5	3	Nyctaginaceae	Bougainvillea	hybride specto-peruviana	Thimma	Vicky
6	Barbara Karst	Gasa Odense	Danemark	6	2	Nyctaginaceae	Bougainvillea	B. x buttiana x B. glabra		
7	Barbara Rosea	Ets Cannebeth	France	7	2	Nyctaginaceae	Bougainvillea	B. x buttiana x B. glabra		
8	Bengale	Ets Cannebeth	France	8	2	Nyctaginaceae	Bougainvillea	inconnue		
9	Big Spectoglabra	Florcirceo	Italie	9	2	Nyctaginaceae	Bougainvillea	B. spectabilis , B. glabra ou hybride specto-glabra		
10	Blush	Florcirceo	Italie	10	2	Nyctaginaceae	Bougainvillea	inconnue	Sakura	
11	California Gold	Vista Farms	Porto Rico	11	2	Nyctaginaceae	Bougainvillea	hybride B. x buttiana		
12	Cardinal	Ets Cannebeth	France	12	2	Nyctaginaceae	Bougainvillea	inconnue		
13	Double Orange	Pépinière Rey	France	13	2	Nyctaginaceae	Bougainvillea	hybride B. x buttiana	Roseville's Delight	Doubloon, Golden Doubloon, Mahara Orange, Thai Gold

	Diplôme / Mention : Master 2 Sciences Technologie Santé Biologie et Technologie du Végétal Spécialité : Production et Technologie du Végétal (ProTeV) Parcours : Productions Végétales Spécialisées Option : Filières de l'Horticulture et Végétal Urbain
Auteur(s) : Anthéa SUPPLY	Organisme d'accueil : Ets du Cannebeth
Date de naissance* : 12/09/1990	Adresse : Chemin Cannabech, 34130 Mauguio
Nb pages : 36 Annexe(s) : 10	
Année de soutenance : 2014	Maître de stage : Philippe LEVAUX
Titre français : Caractérisation phénotypique et génétique d'une collection de bougainvilliers dans un objectif de création et de labellisation collection nationale	
Titre anglais : Phenotypic and genotypic characterisation of Cannebeth germplasm collection in order to initiate breeding and to have the certification "national collection" from CCVS	
Résumé (1600 caractères maximum) : Les bougainvilliers (<i>bougainvillea</i>) sont des plantes ornementales très utilisées pour la décoration des jardins en régions méditerranéennes et des terrasses en Europe du Nord. Afin d'initier un programme de création variétale de cultivars présentant une tolérance importante au froid et ayant une couleur de bractées attrayante différente de la couleur mauve, la collection de bougainvilliers de l'entreprise du Cannebeth a été caractérisée morphologiquement et génétiquement. L'analyse des caractères morphologiques montre que la longueur et la largeur des bractées sont les 2 caractères qui présentent une variabilité entre les individus supérieure à celle présente en leur sein. Les dimensions des parties végétatives sont fortement et positivement corrélées aux dimensions des parties florales et ces dernières sont étroitement liées entre elles. Les ACP et ACM révèlent que 10 caractères quantitatifs et 6 caractères qualitatifs sont les plus discriminants. Pour les analyses génétiques, 3 ISSR ont été utilisés sur l'ensemble des cultivars étudiés. Le dendrogramme obtenu à partir de ces données répartit les cultivars en 3 groupes dont le premier est dominé par des cultivars de l'espèce <i>B. x buttiana</i> , le second par des cultivars des espèces <i>B. glabra</i> , <i>B. spectabilis</i> et des hybrides <i>specto-glabra</i> et le troisième par des cultivars hybrides interspécifiques aux parents inconnus, de complexes d'hybrides et d'hybrides <i>specto-peruviana</i> . Les données génotypiques et phénotypiques montrent la présence de 13 groupes de cultivars mutants et de 6 groupes de clones. Elles ont aussi permis de déterminer les cultivars proches de 'VDM' qui pourront être utilisés pour une création variétale.	
Abstract (1600 caractères maximum) : <i>Bougainvillea</i> are ornamental shrubs often use to decorate garden and terrace. In order to create new <i>bougainvillea</i> which are cold tolerant and with bright bracts, the Cannebeth germplasm collection was characterized using phenotypic traits and ISSR markers. Phenotypic analyses show that among traits, length and width bract have a higher variation among cultivar than within. Leaf dimension were in significant correlation with inflorescence traits. A high correlation exists also among inflorescence traits. PCA and CMA analyses indicated 16 (10 quantitative and 6 qualitative traits) most suitable traits for classification. Genetic analysis have done using 3 ISSR on the complete collection. Clustering from genetic data show three distinct groups. The first group contains <i>B. x buttiana</i> hybrids, the second contains two species (<i>B. glabra</i> and <i>B. spectabilis</i>) and hybrid between this species and the last group contains hybrids between unknown species and <i>specto-peruviana</i> hybrids. Combination of phenotypic and genotypic data reveals 13 groups of cultivar implying bud sports and 6 clones. They also allow to identify cultivars close to 'VDM' which can be used for breeding.	
Mots-clés : <i>Bougainvillea</i> , morphologie, ISSR, relations de parenté, tolérance au froid	
Key Words: <i>Bougainvillea</i> , phenotypic traits, ISSR, relationships, cold tolerance	