

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle
Bureau international



(10) Numéro de publication internationale

WO 2011/055352 A1

PCT

(43) Date de la publication internationale
12 mai 2011 (12.05.2011)

(51) Classification internationale des brevets :
C12N 15/82 (2006.01)

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/IB2010/055084

(22) Date de dépôt international :
9 novembre 2010 (09.11.2010)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
09/05375 9 novembre 2009 (09.11.2009) FR

(71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US) :
INSTITUT DE RECHERCHE POUR LE
DEVELOPPEMENT (IRD) [FR/FR]; Immeuble Le
Sextant, 44, Bd de Dunkerque - CS 90009, F-13572
Marseille cedex 02 (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) :
GRIMANELLI, Daniel [FR/FR]; 32, rue de Aires,
F-34820 Assas (FR). LEBLANC, Ollivier [FR/FR]; 2,
Rue des Olivettes, F-34270 Sainte Croix de Quintillargues
(FR). GARCIA AGUILAR, Marcelina [FR/FR]; 137
rue Jean Thuile, Résidence Felibre, app. 77, F-34090
Montpellier (FR).

(74) Mandataires : PEAUCHELLE, Chantal et al.; Cabinet
Armengaud Aine, 3, Avenue Bugeaud, F-75116 Paris
(FR).

(81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection régionale disponible) : ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), européen (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :

- avec rapport de recherche internationale (Art. 21(3))
- avec la partie de la description réservée au listage des séquences (règle 5.2.a))

(54) Title : INDUCTION OF APOMIXIS IN SEXUALLY REPRODUCING CULTIVATED PLANTS AND USE FOR PRODUCING TOTALLY OR PARTIALLY APOMIXIC PLANTS

(54) Titre : INDUCTION DE L'APOMIXIE CHEZ LES PLANTES CULTIVEES A REPRODUCTION SEXUEE ET UTILISATION POUR LA PRODUCTION DE PLANTES TOTALEMENT OU PARTIELLEMENT APOMICTIQUES

(57) Abstract : The invention relates to the use, for producing partially or totally apomictic plants, of a gene, of a transcript of this gene, or of the ORF thereof, encoding a protein comprising a DNA methyltransferase motif.

(57) Abrégé : L'invention vise l'utilisation pour produire des plantes partiellement ou totalement apomictiques d'un gène, d'un transcrit de ce gène, ou de son ORF, codant pour une protéine à motif DNA Méthyl Tranférase.

Induction de l'apomixie chez les plantes cultivées à reproduction sexuée et utilisation pour la production de plantes totalement ou partiellement apomictiques.

L'invention a pour objet des moyens pour réguler le développement reproducteur chez 5 les plantes cultivées. Plus particulièrement, l'invention a pour objet le développement de plantes se reproduisant totalement ou partiellement par apomixie gamétophytique, c'est-à-dire de manière asexuée par l'intermédiaire de graines.

L'apomixie gamétophytique est une forme de reproduction asexuée par graine. Elle 10 existe chez de nombreuses angiospermes, et près de 400 espèces apomictiques ont été recensées. On ne trouve cependant pas de plantes apomictiques chez les principales céréales cultivées (maïs, blé, ou riz), mais uniquement chez des plantes sauvages, quelque espèces fourragères cultivées, et certaines espèces fruitières. L'apomixie est un mécanisme contrôlé 15 génétiquement. Les plantes apomictiques développent les gamètes femelles sans méiose préalable. Les gamètes ainsi formés contiennent un génome identique à celui des tissus somatiques dont ils sont dérivés. Le développement de l'embryon à partir de ces gamètes se fait sans fécondation par un gamète mâle, c'est à dire par parthénogenèse. Le génome de l'embryon ainsi formé est donc strictement identique à celui de sa plante mère, sans 20 contribution paternelle. L'apomixie est donc un mode de clonage par graine qui assure la perpétuation à l'identique des génotypes au travers des générations.

L'utilisation de l'apomixie de manière contrôlée chez les espèces cultivées offre de nombreuses applications potentielles. Ces applications concernent la propagation de génotypes instables, le contrôle des contaminations polliniques, les méthodes d'amélioration 25 des plantes, et les méthodes de production commerciale de graines.

Aucune des ces applications n'est envisageable chez les principales espèces cultivées telles le blé, maïs, riz, et autres sur la base des technologies actuelles. On ne connaît en effet pas de formes apomictiques chez ces différentes espèces, et on ne connaît aucun système 30 génétique qui permette d'induire de l'apomixie chez des plantes sexuées.

De nombreux laboratoires se sont attachés, au cours des années passées, à développer des plantes apomictiques, soit en tentant de transférer les déterminants de l'apomixie depuis des plantes sauvages vers des plantes cultivées, soit en induisant par mutagenèse des

phénotypes apomictiques chez des plantes sexuées. Aucune de ces deux approches n'a produit de génotype apomictique chez une espèce où ce mode de reproduction n'existe pas antérieurement.

5 Des résultats récents, publiés récemment dans la revue Nature (Ravi, M., Marimuthu, M.P., and Siddiqi, I. (2008). Gamete formation without meiosis in *Arabidopsis*. *Nature* 451: 1121-1124.), montrent chez *Arabidopsis* que l'inactivation d'un gène impliqué dans la méiose, appelé DYAD, dont la fonction est de réguler la cohésion des chromatides durant la méiose, permet de produire environ 0,1% de gamètes qui échappent à la méiose (Ravi et al., *Nature* 10 2008 -451 :1121-1124). Le reste des gamètes, et donc 99,9% des descendances, sont stériles. Il est même probable que la fréquence de gamètes non-méiotiques ne soit pas significativement différente chez ces plantes mutantes de celle chez des plantes sexuées, et que ces gamètes n'apparaissent en fait à l'observation que parce que la mutation tue par ailleurs tous les gamètes normalement issus de sexualité. Un autre travail récent (d'Erfurth, I., 15 Jolivet, S., Froger, N., Catrice, O., Novatchkova, M., and Mercier, R. (2009). Turning meiosis into mitosis. *PLoS Biol.* 7: e1000124.), beaucoup plus prometteur, montre qu'il est possible, chez *Arabidopsis*, de changer la division méiotique en division mitotique par l'inactivation simultanée de trois gènes impliqués dans la méiose (*osd1/Atspo11-1/Atrec8*). Le triple mutant produit des gamètes diploïdes fonctionnels. Ces gamètes sont cependant fécondés, les 20 descendances ne sont donc pas apomictiques, et on ne sait pas si ce résultat est transposable chez d'autres espèces qu'*Arabidopsis*.

25 Les travaux des inventeurs dans ce domaine ont montré qu'il est possible d'induire un phénotype tout ou partiellement apomictique chez le maïs en manipulant l'expression de plusieurs gènes qui sont collectivement impliqués dans la régulation de l'expression des gènes dans les organes reproducteurs femelles (les ovules) de maïs. Les graines produites échappent à la réduction méiotique et sont fertiles. Ces résultats s'appliquent avantageusement aux autres plantes cultivées telles que le riz ou le blé.

30 L'invention vise donc l'utilisation de séquences de nucléotides spécifiques dont la manipulation permet le développement de plantes se reproduisant totalement ou partiellement par apomixie gamétophytique.

Elle a également pour but de fournir une méthode de production de plantes apomictiques.

Selon encore un autre aspect, l'invention vise à utiliser de manière contrôlée l'apomixie chez des espèces cultivées à reproduction sexuée pour développer de nombreuses 5 applications comme il sera exposé ci-après.

L'invention vise ainsi, pour la production de plantes partiellement ou totalement apomictiques, l'utilisation d'un gène codant pour une protéine à motif DNA Méthyl Transférase. Il s'agit plus spécialement d'un gène de la famille des DNA Méthyl Transférases 10 codant pour une protéine de séquence SEQ ID N°1 ou SEQ ID N°5.

Selon un mode de réalisation, l'invention vise l'utilisation du gène DMT 103 de la famille des DNA Méthyl Transférases répondant à la séquence SEQ ID N°2 ou du transcrit d'un tel gène répondant à la séquence SEQ ID N°3, ou de l'ORF de séquence SEQ ID N°4.

15

Dans un autre mode de réalisation, l'invention vise l'utilisation du gène DMT102 de la famille des ADN Methyl Transférases, répondant à la séquence SEQ ID N°6, ou du transcrit d'un tel gène répondant à la séquence SEQ ID N°7, ou de l'ORF de séquence SEQ ID N°8.

20

Ces gènes sont exprimés de manière spécifique dans les ovules où se déterminent les cellules reproductives.

25

L'inactivation de ces gènes par mutagenèse et donc des transcrits et des protéines chez des plantes sexuées conduit à la formation de gamètes non-réduits et de gamétophytes multiples dans l'ovule, caractéristiques du développement apomictique.

30

L'invention vise également une méthode pour induire, dans les espèces cultivées telles que le maïs, riz ou blé, un phénotype tout ou partiellement apomictique, caractérisée en ce qu'elle comprend l'inactivation ciblée, par un élément transposable, par exemple de type Mutator, d'un gène, d'un transcrit de gène ou de son ORF, tels que définis ci-dessus, et l'identification du locus muté.

L'utilisation de l'apomixie de manière contrôlée chez les espèces cultivées offre de nombreuses applications potentielles. Elles concernent la propagation de génotypes instables,

le contrôle des contaminations polliniques, les méthodes d'amélioration des plantes, et les méthodes de production commerciale de graines.

La première application concerne la propagation clonale, par graine, de génotypes 5 génétiquement instables. C'est le cas en particulier de toutes les plantes hybrides; ces plantes hybrides produisent, par brassage génétique au cours de la méiose et de la fécondation des descendances qui sont différentes entre elles, et différentes de leur plante mère. C'est encore le cas des espèces cultivées présentant des niveaux de ploïdie instables en méiose, comme les formes triploïdes.

10

Chez la plupart des espèces cultivées, il est nécessaire, pour maintenir un haut niveau de pureté génétique, de contrôler rigoureusement la pollinisation, pour éviter une contamination par du pollen issu de champs voisins, plus ou moins éloignés, le pollen pouvant se déplacer sur des distances assez variables, fonctions de l'espèce, des conditions 15 climatiques, ou des vecteurs de dissémination comme les insectes. Dans le cas de plantes apomictiques, cependant, le génome issu des gamètes mâles ne participe pas à la génération suivante. L'utilisation de plantes apomictiques permettrait donc de s'affranchir des risques de contamination. L'apomixie constitue donc une méthode totalement unique de contrôle de pureté génétique. C'est aussi potentiellement une méthode efficace pour éviter les flux 20 indésirables de transgènes dans le cas de culture d'organismes génétiquement modifiés.

L'apomixie offre aussi de nouvelles perspectives en amélioration des plantes. Elle permettrait en effet d'utiliser comme variété nouvelle tout génotype sélectionné comme intéressant, dès lors qu'il s'agit d'un critère génétiquement déterminé, quelle qu'en soit la 25 structure génétique, puisque celui-ci, dès lors qu'il est apomictique, devient génétiquement stable. On peut donc envisager de développer des variétés directement à partir de formes hybrides, éventuellement interspécifiques, en s'affranchissant des étapes de stabilisation actuellement nécessaires, comme les étapes d'autofécondation successives, ou la production d'haploïdes doublés. Cette méthode permet donc un gain de temps considérable, mais ouvre 30 aussi certainement la porte à l'introduction de matériels génétiques totalement nouveaux dans les programmes de sélection, et en particulier de matériels génétiques qui, chez des plantes sexuées, induisent une forte stérilité. C'est le cas par exemple de la plupart des croisements interspécifiques.

Une application très importante concerne la production de graines hybrides. Telle qu'elle se pratique aujourd'hui, celle-ci implique l'hybridation contrôlée à large échelle d'écotypes parentaux génétiquement stables. Il s'agit généralement de lignées homozygotes, obtenues par différentes méthodes (production d'haploïdes doublés, autofécondations...). L'un 5 des deux parents est utilisé comme mâle, l'autre comme femelle. Seules les femelles produisent les graines commerciales. Le rendement des parcelles de production de semences est généralement faible comparativement aux hybrides, pour trois raisons: (1) les lignées mâles sont nécessaires mais utilisent une part importante de l'espace sans produire de graines; (2) les lignées parentales ont généralement un rendement très inférieur aux hybrides du fait de 10 la dépression de consanguinité ; (3) le contrôle des pollinisations implique la castration physique ou génétique des lignées utilisées comme femelle, un processus qui entraîne une perte de rendement importante. Dans le cas de plantes apomictiques, cependant, on pourrait envisager de produire les graines directement à partir d'hybrides, donc avec des rendements très supérieurs, en utilisant 100% de la surface disponible, sans nécessité de contrôler la 15 pollinisation, et sans étape de castration. L'intérêt d'utiliser l'apomixie pour la production de graine est très significatif chez les espèces comme le maïs, où l'on produit déjà des formes hybrides, pour des raisons de diminution de coûts, mais aussi chez les espèces autogames, comme par exemple le blé ou le riz, où les hybridations contrôlées à large échelle sont difficiles. La production de quelques plantes hybrides apomictiques serait suffisante pour 20 initier la production à large échelle de graines hybrides, génétiquement stables.

25 Les plantes ou graines de plantes partiellement ou totalement apomictiques d'espèces cultivées telles que le maïs, riz et blé, caractérisées en ce qu'elles comprennent des allèles inactivés d'un gène, tel que défini ci-dessus entrent également dans le champ de l'invention.

25

Les plantes ou graines de plantes de l'invention sont avantageusement telles qu'obtenues par inactivation du gène par mutagénèse ou selon la méthode telle que définie ci-dessus, pour induire dans les plantes cultivées un phénotype tout ou partiellement apomictique.

30

Ces plantes et ces graines, dont la protéine à motif DNA Méthyl Transférase est inactivée, produisent des gamètes non réduits et des sacs embryonnaires multiples.

D'autres caractéristiques et avantages de l'invention sont donnés dans les exemples qui suivent à titre illustratif.

Ces exemples font référence aux figures 1 à 6, qui représentent, respectivement,

- 5 - la figure 1 : les profils comparés d'expression des régulateurs chromatidiens;
 - la figure 2 : la comparaison de séquences protéiques avec l'alignement des séquences protéiques de DMT 102 et CMT3, et DMT 103 et DRM2;

- 10 - la figure 3 : le profil d'expression des deux gènes par mRNA in situ ;
 - la figure 4 : la structure des deux gènes DMT 102 et DMT 103 ;
 - la figure 5 : les phénotypes des plantes mutantes avec production de sacs embryonnaires multiples ; et
 - la figure 6 : les phénotypes des plantes mutantes avec production de gamètes non-réduits.

15 Les séquences SEQ ID N°9, 10, 11 et 12 correspondent à celles de mutants ago104-752, 770, 775 et 1352. Les séquences SEQ ID N°13 et 14 correspondent à celles de mutants de DMT 103-1042 et DMT 103-1342.

DEFINITIONS

20 « Le gamétophyte » est la structure haploïde qui se développe à partir des produits de la méiose, et contient à maturité les gamètes. Il s'agit du sac embryonnaire côté femelle, et du grain de pollen côté mâle. Chez le maïs, l'ovule ne contient qu'un sac embryonnaire.

25 « L'apomixie gamétophytique » se réfère à une forme de reproduction asexuée par graines dans laquelle les gamètes produits dans les gamétophytes femelles n'ont pas subis de réduction méiotique, et présente donc la même ploïdie et la même constitution génétique que la plante mère. L'apomixie gamétophytique implique deux étapes successives : apoméiose et parthénogenèse.

30 « L'apoméiose » correspond aux mécanismes par lesquels les plantes apomictiques échappent à la méiose.

La « non-réduction » correspond à la formation de gamète en absence de réduction méiotique.

Des gamètes « non-réduits » sont donc des gamètes qui se développent en absence de méiose, ou au travers d'une méiose non réductionnelle. L'apoméiose est donc la forme 5 spécifique de non réduction que l'on observe chez les plantes apomictiques.

« La displosporie » est une forme spécifique d'apomixie gamétophytique, dans laquelle les gamètes apoméiotiques se développent à partir des mêmes cellules que celles qui participent au développement reproducteur sexué, c'est-à-dire l'archéspore.

10

« L'aposporie » est une forme spécifique d'apomixie gamétophytique, dans laquelle les gamétophytes femelles et les gamètes apoméiotiques se développent à partir des cellules somatiques de l'ovule. Chez les plantes aposporiques, la sexualité et l'apomixie coexiste fonctionnellement, et on retrouve donc typiquement plusieurs sacs embryonnaires dans un 15 même ovule, issus soit de sexualité soit d'aposporie.

La « parthénogenèse » correspond au développement des embryons sans fécondation et sans contribution génétique paternelle.

20

EXEMPLE 1 : Identification de régulateur de la structure de la chromatine dérégulée chez les plantes apomictiques

25

L'expérience décrite ci-après porte sur la comparaison du profil d'expression de gènes impliqués dans le déterminisme de la structure de la chromatine entre des plantes sexuées et des plantes apomictiques.

30

Les ARNs d'échantillons correspondant à des ovules de plantes apomictiques et sexuées aux stades de développement suivants ont été isolés ; ovules contenant une cellule mère de la mégasporé, ovules contenant une mégasporé fonctionnelle, et ovules au moment de la fécondation.

Les plantes sexuées utilisées sont deux lignées de maïs de référence, B73 et W23.

Les plantes apomictiques sont des formes hybrides obtenues par croisement d'une plante apomictique de l'espèce *Tripsacum dactyloides*, un apparenté sauvage du maïs chez

qui on trouve des formes apomictiques, avec un maïs sexué ; ces plantes ont été ensuite rétro-croisées plusieurs fois sur du maïs, en sélectionnant les descendances apomictiques, jusqu'à l'obtention de plantes contenant un génome de maïs diploïde, et un génome de *Tripsacum dactyloides* haploïde.

5

Ces plantes ont été décrites dans la littérature précédemment, (Grimanelli et al, Genetics, 2003, Nov, 163(3) ; 1521-31) et se reproduisent par apomixie avec très forte pénétrance du caractère, proche de 95%. La taille relativement importante des organes reproducteurs chez le maïs permet une dissection fine des tissus utilisés, en utilisant un stéréomicroscope. Un échantillon aléatoire des tissus échantillonnés est utilisé après chaque 10 prélevement pour vérifier les stades de développement.

Dans cette expérience, le profil d'expression de 386 gènes de maïs appartenant aux différentes familles de gènes connus pour affecter la structure de la chromatine a été précisé. 15 Ces gènes ont été identifiés en utilisant la base de données CHROMDB, qui répertorie l'ensemble de gènes appartenant à ces familles chez les différentes espèces dont le génome est tout ou partiellement séquencé.

L'analyse s'est faite en deux étapes, avec tout d'abord la sélection des gènes 20 s'exprimant spécifiquement dans les tissus reproducteurs ; puis, pour ces gènes sélectionnés, l'analyse de leur profil d'expression aux différents stades mentionnés précédemment pour les formes apomictiques et sexuées.

Sur 386 gènes analysés, 8 présentent un profil clairement altéré.

25

Ces résultats sont illustrés sur la Figure 1 : Légende :mei : ovule en méiose (sexualité) ou apoméiose (apomixie), gam : ovules en gaméto-génèse ; emb : démarrage de l'embryogenèse, correspondant au moment de la fécondation ; soma ; tissus somatiques de la plante.

30

L'altération des profils d'expression peut impliquer l'absence totale d'expression chez une forme de reproduction par rapport à l'autre, c'est le cas par exemple de DMT 102 et CHR 106, dont l'expression est totalement abolie chez les plantes apomictiques.

La majorité des exemples, cependant, illustrent des dérégulations plus spécifiques dans le temps. C'est le cas de CHR120, DMT 103, DMT 107 HXA 102, MBD 109 ou SGD 110, dont l'expression n'est abolie qu'à cette étape spécifique du développement.

5 EXAMPLE 2 : Fonction biologique des gènes, identifiée par homologie de séquence

La recherche d'homologies pour ces différents gènes, et en particulier l'utilisation de BLAST pour les comparer aux bases de données publiques, permet de leur attribuer une fonction biologique. Il apparaît clairement sur la base de ces homologies que l'ensemble des 10 gènes identifiés sont impliqués directement ou indirectement dans les voies de silencing, et en particulier l'établissement ou de la maintenance de la méthylation de l'ADN :

CHR 106 est un homologue chez le maïs de DDM1 chez Arabidopsis, une enzyme impliquée dans la maintenance de la méthylation de l'ADN.

15

DMT102, DMT103 and DMT107 sont les homologues chez le maïs de respectivement CMT3, et DRM2 ou DRM1 chez Arabidopsis. DRM1 et 2 et CMT3 agissent de manière partiellement redondante dans le contrôle de la méthylation asymétrique (au site CHH ou CHG).

20

MBD109 est une protéine à motif d'attachement au groupe méthyle (Methyl Bindind Domain), de fonction inconnue, mais agit donc probablement sur des sites méthylés.

25

CHR120 est un homologue chez le maïs de MOM1 chez Arabidopsis, un gène impliqué dans les mécanismes de silencing.

HXA102 est un homologue chez le maïs de AtADA2 chez Arabidopsis, un composant du complexe histone acetyltransférase ADA.

30

SDG110 est une histone méthyl transférase, de fonction inconnue.

EXEMPLE 3 : Profil d'expression des gènes DMT102 et DMT103 chez le maïs sexué.

On rapporte ci-après les résultats relatifs à DMT102 et DMT103. Ils correspondent à une voie extrêmement bien caractérisée chez *Arabidopsis*, appelée voie RdDM (pour RNA 5 dependent DNA methylation).

DMT102 et DMT103 sont respectivement les homologues de CMT3 (CHROMOMETHYLASE 3) et DRM1 et 2 (DOMAIN REARRANGED METHYL TRANSFERASE 1 et 2) chez *Arabidopsis*. Les profils d'expression tissulaires de ces deux 10 gènes (DMT102 et DMT103) ont été analysés par hybridation *in situ* de sondes ARN chez un maïs sexué.

Les résultats sont illustrés Figure 3. Les profils d'hybridation obtenus confirment la grande spécificité d'expression détectée par RT-PCR: les deux gènes s'expriment de manière 15 très spécifique au cours d'étapes ciblées du développement reproducteur. Ainsi, un signal est détectable pour DMT102 immédiatement avant, puis pendant la méiose. DMT103 n'est détecté qu'au cours de la gamétogenèse. Les données *in situ* montrent par ailleurs qu'au niveau tissulaire, ces deux gènes ne s'expriment que dans un nombre très limité de cellules, correspondant pour chaque ovule d'une part à la cellule reproductrice (l'archéspore, la cellule 20 mère de la mégaspoore et les méiocytes durant la sporogenèse; le gamétophyte au cours de la gamétogenèse), et d'autre part à un petit nombre de cellules entourant la cellule reproductrice.

L'action de ces gènes est donc limitée par un profil d'expression extrêmement ciblé 25 d'un point de vue spatial et temporel.

25

Ce profil indique une différence importante entre les membres de la voie RdDM identifiés ici et la voie RdDM telle qu'elle a été décrite chez *Arabidopsis*: chez cette espèce, la voie RdDM est essentielle dans les tissus somatiques de la plantes, où ils jouent un rôle dans le maintien des profils de méthylation des séquences répétées. Leur rôle reproducteur 30 chez *Arabidopsis* est inconnu, et des mutations dans les gènes correspondant n'ont pas de phénotype reproducteur particulier, ou d'effets notables sur la fertilité des plantes. Les gènes identifiés ici, par opposition, possèdent un profil d'expression essentiellement reproducteur.

EXEMPLE 4 : Phénotype de plantes mutantes pour lesquelles la fonction de DMT102 et DMT103 est abolie

5 Pour démontrer le rôle potentiel de DMT102 et DMT103 dans l'expression de l'apomixie des expérimentations ont été réalisées pour vérifier si l'inactivation de leur fonction chez une plante sexuée conduit au même phénotype que celui de plantes apomictiques. Il s'agit de vérifier qu'en manipulant l'expression de ces gènes de telle façon que leur expression soit similaire à ce qu'elle est chez une plante apomictique, on récupère bien un réponse phénotypique équivalente.

10 Les plantes de maïs mutées spécifiquement dans ces deux gènes ont donc été analysées, les mutations correspondantes abolissant leur fonction. Pour DMT102, la lignée mutante correspond à l'insertion d'un transposon de la famille Mutator dans le domaine methyltransférase de la protéine. Pour DMT103, la mutation découle de la substitution de plusieurs acides aminés dans des sites essentiels: R-49-I, R-272-Q, C-182-Y (résidu dans la 15 forme sauvage - position - résidu dans le mutant).

L'analyse de ces plantes a porté sur l'expression de deux caractéristiques propres aux plantes apomictiques: l'apoméiose, et donc la capacité à produire des gamètes non réduits, et l'aposporie, et donc la capacité à produire plusieurs sacs embryonnaires dans les ovules, mais avec une seule archéspore.

20

Comme montré sur la figure 5, les formes mutantes de DMT103 produisent des sacs embryonnaires multiples dans un unique ovule.

25 Ce phénotype n'a jamais été décrit dans la littérature en dehors des plantes apomictiques.

30 La figure 6 donne les phénotypes des plantes mutantes avec production de gamètes non-réduits : A) la taille des gamétophytes mâles est chez les plantes très corrélée au niveau de ploïdie des gamètes qu'ils contiennent. On peut rapidement évaluer la capacité d'une plante à produire des gamètes non-réduits par l'observation sous microscope des gamètophytes matures, ici les grains de pollen.

WT correspond à une plante sauvage, la lignée W23.

dmt102-mu et dmt103 sont deux formes mutantes de DMT102 et DMT103, respectivement, et produisent clairement des gamétophytes de tailles variables, telles qu'illustrées par le graphe de fréquence B). La fréquence de ces gamètes dans les plantes sauvage W23, et les deux formes mutantes est quantifiée en C). La relation entre taille des 5 graines et le niveau de ploïdie est démontrée par une analyse en cytométrie de flux (D).

Cette figure montre que les deux gènes, sous leurs formes mutantes respectives, produisent une proportion élevée de gamètes non-réduits, de 30% chez DMT103 à 50% chez DMT102. Ces formes sont donc fortement apoméiotiques.

REVENDICATIONS

1 - Utilisation pour produire des plantes partiellement ou totalement apomictiques d'un gène, d'un transcrit de ce gène, ou de son ORF, codant pour une protéine à motif DNA

5 Méthyl Tranférase.

2 – Utilisation selon la revendication 1, d'un gène codant pour une protéine de séquence SEQ ID N°1 ou SEQ ID N° 5.

10 3 – Utilisation selon la revendication 2, caractérisée en ce qu'il s'agit du gène DMT 103 répondant à la séquence SEQ ID N°2, ou d'un transcrit d'un tel gène répondant à la séquence SEQ ID N°3, ou de son ORF de séquence SEQ ID N°4.

15 4 – Utilisation selon la revendication 2, caractérisée en ce qu'il s'agit du gène DMT 102 répondant à la séquence SEQ ID N°6, ou du transcrit d'un tel gène répondant à la séquence SEQ ID N°7, ou de son ORF de séquence SEQ ID N°8.

20 5 – Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisée en ce que le gène est inactivé par mutagénèse.

6 – Méthode pour induire dans les espèces cultivées telles que le maïs, riz ou blé un phénotype tout ou partiellement apomictique, caractérisée en ce qu'elle comprend l'inactivation ciblée, par un élément transposable, par exemple de type Mutator, d'un gène tel que défini dans l'une quelconque des revendications 1 à 4, d'un transcrit de ce gène selon la revendication 1 ou 4, ou de son ORF selon la revendication 1 ou 5, et l'identification du locus muté.

30 7 – Application de la méthode selon la revendication 6, pour la propagation de génotypes instables, le contrôle de contaminations polliniques, l'amélioration des plantes et la production commerciale de graines.

8 – Plantes ou graines de plantes totalement ou partiellement apomictiques d'espèces cultivées telles que le maïs, riz ou blé caractérisées en ce qu'elles comprennent des allèles inactivés d'un gène tel que défini dans l'une quelconque des revendications 1 à 4.

9 – Plantes ou graines de plantes totalement ou partiellement apomictiques d'espèces cultivées telles que le maïs, riz ou blé obtenues selon la revendication 5.

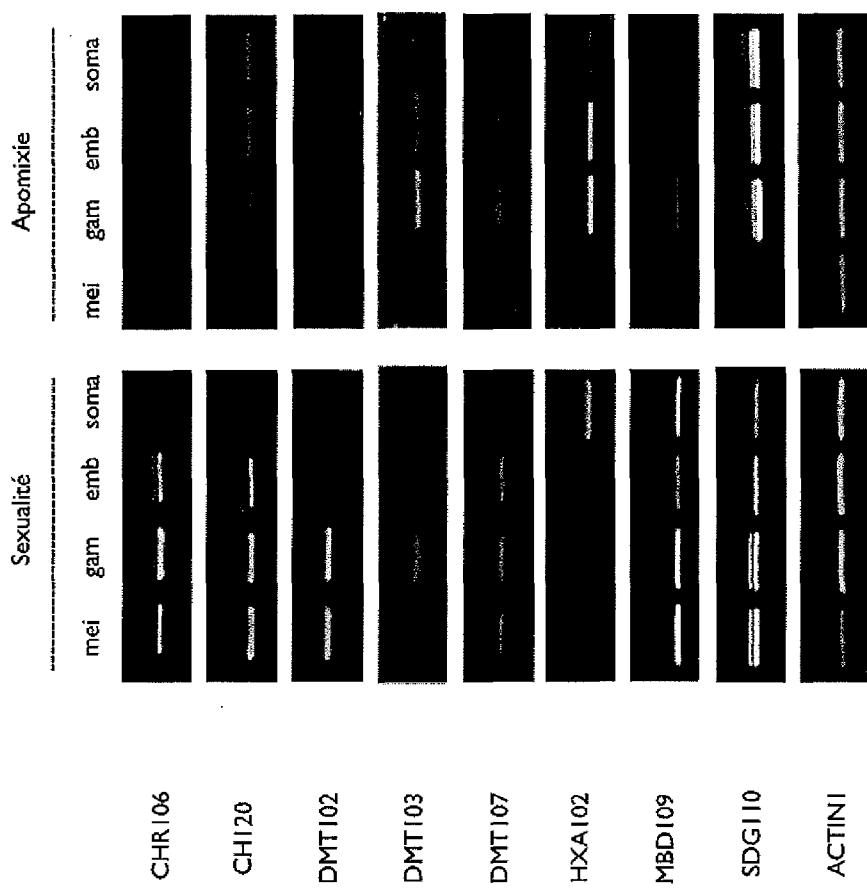


FIGURE 1

Homologies DMT102/CMT3

Homologies DMT103/DRM2

Score = 749 bits (1935), Expect = 0.0
 Identities = 401/794 (50%), Positives = 518/794 (65%), Gaps = 52/794 (6%)

Query: 136 HEPEFIGSPVDAEAEKSPKRYG-----RSTRAKKEDEEE---IKARCHYRSAKVD 1
 Sbjct: 46 HVAEDEPTESEAKSTWPDRXKPLTQPKASSRKTQDKEVETIARCHYRRAIVD 1

Query: 186 N-VVYCLGDDVYKAGNEADYIGRTRTEFEDQCHYETCPRNPFRAEDTIVNLSYLSIV 2
 Sbjct: 106 ERQTYEINDDAYVQSECKGPICKLITEMEGANGKLVETARNYPRPSDYMKEPEFELI- 1

Query: 245 DGEKADDEPRTVLSSEKNDVNLQDITISKVKVHDTPKMDPKAKAQIIESCDLYTMSYVA 3
 +RUF SE ++ N I + K I+ + N + K E+CD + DM+Y +
 Sbjct: 165 -----AKKRVYSEIQTDTNELGKLNLTQPLNENTKETTIPATENCDPFCOMNYFLP 2

Query: 305 YSTFANISSENQSDSDTASGLISSDDVELETSSSMPT-----RITALDLYSGC 3
 Y TF I E + S+++ ISD E ++++ + ATILDLYSGC + ATILDLYSGC 2

Query: 354 GGMSTCICLGAGSLGKSLTREKWDYDENSFAQCQSLKYNHPOTEVNEKEADEFLALIKEWV 4
 G MSLGICL+GA LSLG I T+NAVD N+ AC+S+I+N+H+T VSN A++FL LLKRN
 Sbjct: 279 GAMSTICGMAGQISGNLIVTKWADYDANABACKTQSENHPEPTNTVNTMATEDEFLIKEWV 3

Query: 414 LCKY-----VQDVSNLASSDDEADSPSLQDDEFVWKEVLGICGYCGS 4
 LC + + +V+ N SE+ +ED D + F V+K+VG1 +G
 Sbjct: 339 LCKHEFLSRNSNSEEYANLHGNNVEDDVSSESENED---DGEVETVDKVGLGSFSGV 3

Query: 458 DR--ENGTIFYKQWEGYGPEDTWEPIQNLSDGPKDRTFVOGEHKRKTLPQGDYDVIC 5
 + + GHY KV4W Y DTWEPI+ LS+H KI +FV+ G+K TLPFG VD+V C
 Sbjct: 396 KRLKRGKDTLKVWLNDDSDHTWEPIEGLSNRGKLGEEFKVGLGKSCILPLPGCYDVC 4

Query: 516 GGPCCGTSIGNR+RN+PL+H+K+KQ+ +H+IV LKKEP+VLMENYD+ILK A GIL 5
 Sbjct: 456 GGPCCGTSIGNR+RN+PL+H+K+KQ+ +H+IV LKKEP+VLMENYD+ILK A GIL 5

Query: 576 GRYALSCIVAMCQYQARLGMVAGYACGGLPFRKMYELNGAISSTVLPKLPDLYVRRGG 6
 Sbjct: 516 AREFAVERILQDQXQYVNRGEMAMAGAAGLQFRKFLGALPSELIQFPLTHDLYHGRN 5

Query: 636 APNAFSCQMVADETOPSLKXKILLGDAISDLPKQHOPNDYMEYGGSKTEFORYIR 6
 L RKD S + + 1 DH PL IN +DYERY Q+P +K+GANFRD GV VG
 Sbjct: 636 L-RKD+ASGSQRSKSKS -KXHV1V1DHEPLNLTNDIERYCQYKRGANFRD+PGV1VPG 6

Query: 756 NIVEWDEPELERYVLLSSGRPLVYDAMSTFUKGSKLKFGRWMDWV+VPTVYTRAEPNQVI 8
 N+V+ + ERYKL SGR IVPYTA+---GKS KFEGFLWDE VPTVYTRAEPNQVI
 Sbjct: 694 NIVKLEGGKERYVLLSSGRPLVYDAMSTFUKGSKLKFGRWMDWV+VPTVYTRAEPNQVI 7

Query: 816 IHP7QARVLTIRENARLQGEPDVYRFLGPKIETIIOVGNAAVAPVARYALGICQNLGE 8
 IHP Q RYL+IRENARLQGEPD Y+LFGP K+XYTOVGNAAVAPVARYALGICQNLGE
 Sbjct: 754 IHP7QEVNLVSTIRENARLQGEPDVYRFLGPKIETIIOVGNAAVAPVAKALGTAFLGQI 8

Query: 876 SEGSDFXQOLPPE 889
 + G DFL LP F
 Sbjct: 811 IHP7QARVLTIRENARLQGEPDVYRFLGPKIETIIOVGNAAVAPVARYALGICQNLGE
 IHP Q RYL+IRENARLQGEPD Y+LFGP K+XYTOVGNAAVAPVARYALGICQNLGE
 Sbjct: 812 IHP7QEVNLVSTIRENARLQGEPDVYRFLGPKIETIIOVGNAAVAPVAKALGTAFLGQI 8

Score =	526 bits (1356)	Expect = e-151
Identities =	282/549 (51%)	Positives = 363/549 (66%)
Caps =	37/549 (6%)	
Query: 58	KAGRASAS-LVQKXVDMGPFSEETIVKAKMDKGNDGADSLIVELITYQELGLNDLKVDDNEAS	116
+S +	+AG S S + ++ MGF EE V+KA+--+G++ +++ LL+ E	+
Sbjct: 106	EGSSSESKAIDHFLAMEDEECKVKAIOHGDEDNNEAIVANLSCS-----A	153
Query: 117	SCAPKTAADDSDDDTTLEDDAGGSRSPVANSYDSDDEDFLHEMRSKDEKVDSLIVM	176
P ++ D D	W D T + NS D +	+
Sbjct: 154	KKLPAVTEEDGID---WSSDDDTNTDMLNSDDEKOPNS----NENGSKTRSLIVM	204
Query: 177	GEPEDAAALAYTRCPDASISVYDSDTASOATGNDCTCGNLSDYEDNSYGGERTGNGKRR	236
GF E E+LA+ RCG +	I+ L D + A+Q A +	+
Sbjct: 205	GESELESLAIVERCENYDIAELDFLCAQMAR----ESEFVYTHEEOPRNTIKR	259
Query: 237	KRYGGOOAGSGRPDGSIDEEMPLPHMAYSENLFNLPDWSRVRDSLPAOAGPPYFTTENV	296
+ +--+G+ P	DEP+ LP+PM+GF +P+I+ RSLP A GPP+FTTENV	
Sbjct: 260	RF---ESEKGE--EESSTYDDEPIRLENPMTEGVPENGLITHRSLLPSELLARGPPFTTENV	314
Query: 297	ALAKPGWTTISFLYDIOPEFYDSKYYCRAARCGTYHNPLENNRSELPPTKTESEA	356
AL PKGW TISR L+I PEFDSKYYC AARKCGTYHNP+ MR + P P TI +A		
Sbjct: 315	ALTPKGWETISFLHFLFTEPEFYDSKYYCRAARCGTYHNP+INNREQOPPPRTIDR	374
Query: 357	FPTKRKWPSPWDPRQFNLQLOTCYSSACLLERIRVLT--NSSDPDPVXVLECRK	414
FP +KRPWP WD R + NC+ TC SA+L RIRVL N	PP VO+YV++-C+K	
Sbjct: 375	FPLSKRWPWNPEDERTKNCILITCGSQAQMLRIVLPEPYNEEPEPKHVRQRTVIDQCRK	434
Query: 415	WNLAWYGGINKVAAPELDPDNEFLLGPFDRH--G13TERVNLGNSFQDVTAYHLSV1	472
WNL WVG NK APLDPDNE +LGFPK+TRN G+SRTR+--SLGNSFQDVTAYHLSV1		
Sbjct: 435	WNLWVGGINKVAAPELDPDNEFLLGPFDRHGGMSTERKFLGNSFQDVTAYHLSV1	494
Query: 473	KDLFPQMVNLTSFGIGGAEVHLRGLQMMTVISVEKSEVNRLKSWWDQT-QTGWL	531
K +FP G+NVSLF+GIGG EVJHLR I+M V-SVE SAVNR TIK +W+Q+ QTG I		
Sbjct: 495	KP1FPGGIVNLSEKTFGIGGEVHLRQIKMKLTVSVEISYRNRLKDFNEQTNQGFL	554
Query: 532	IEITDVGQISSSERIAKIRGGEDFLVGGSPCWNNTGNSRHEHDEGLEGEHSALFHYER	591
IE +D+Q L++ IE + + GGTDLVIGESCPNNL G NR R GIGG+ S+LF Y R		
Sbjct: 555	IEFSDZIHLHNDTEGMLMEKYGGDTLVIGESCPNNLAGGNSVSRVLEGQSSLEFECCR	614
Query: 592	ILBVKSTM 600	
Sbjct: 615	IL V++ M	
Sbjct: 615	ILEVVRARM 623	

FIGURE 2

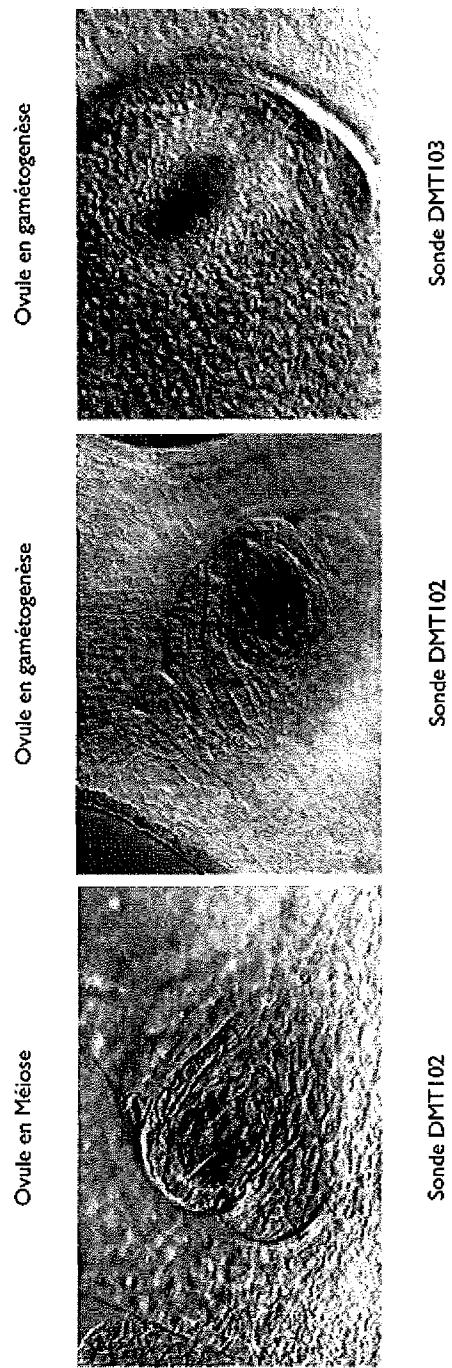


FIGURE 3

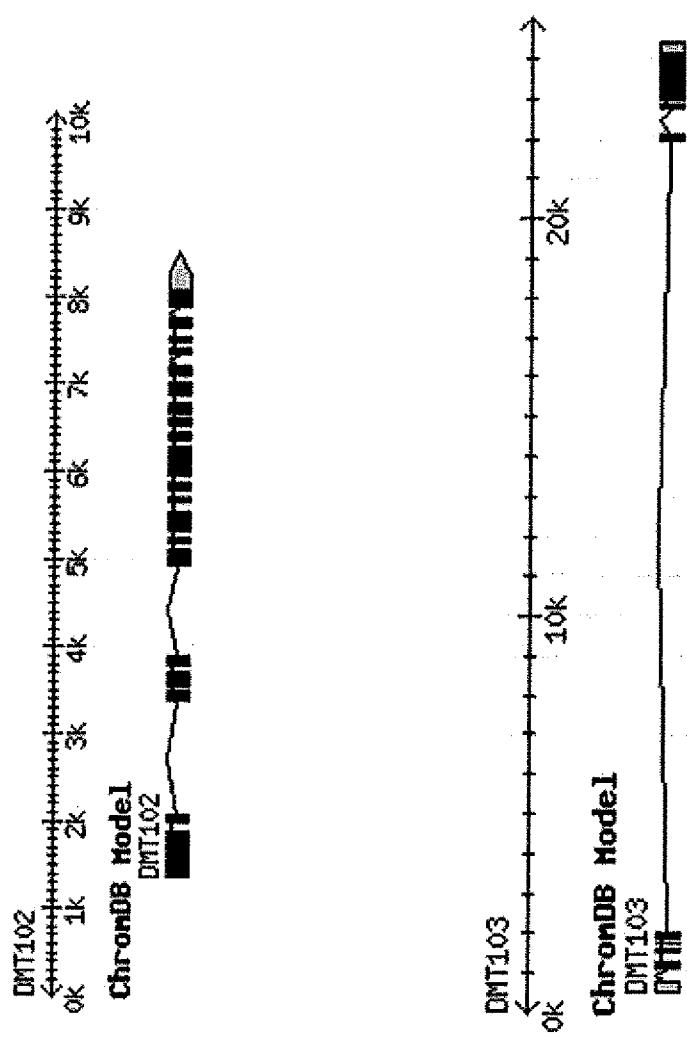


FIGURE 4

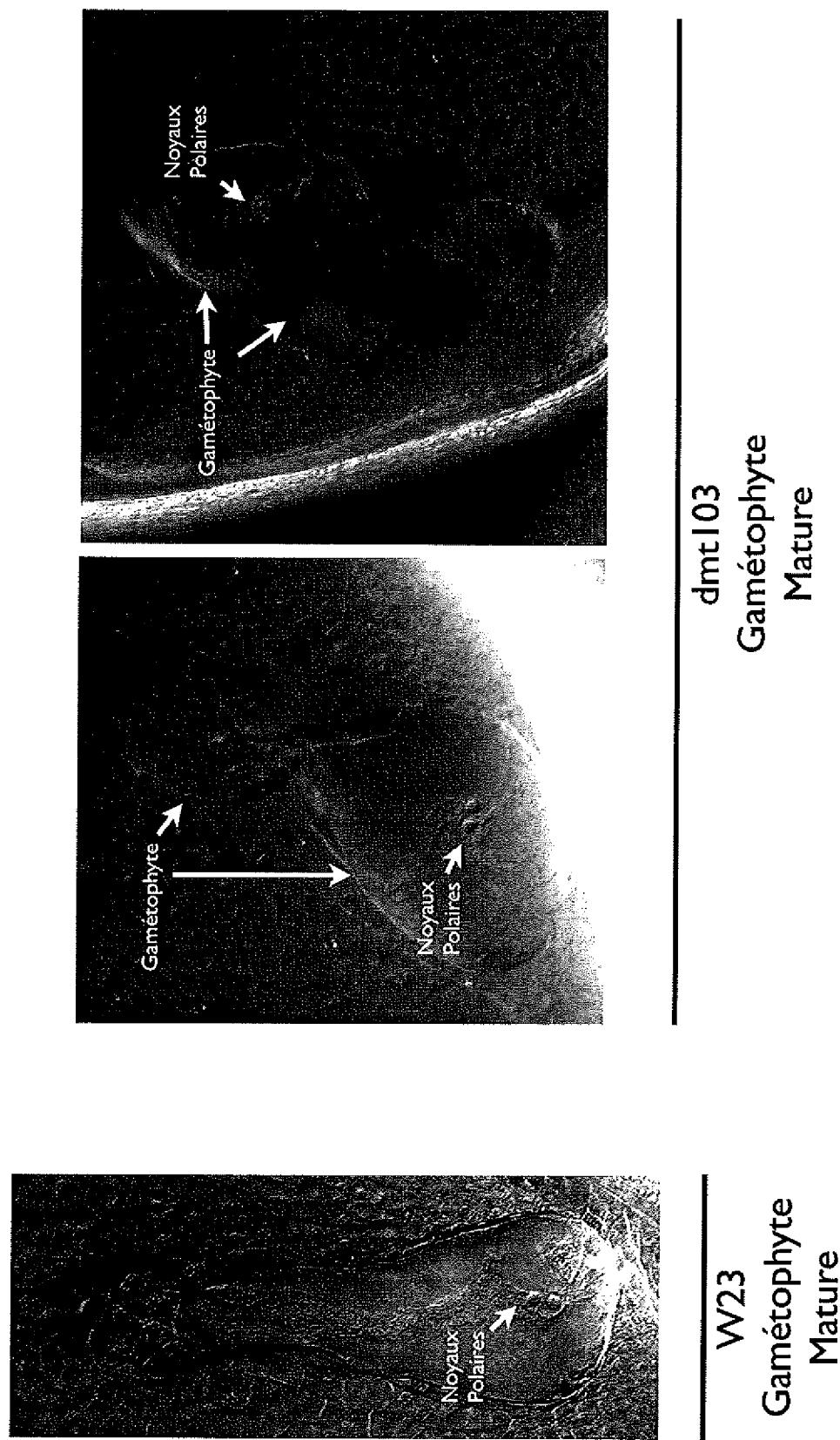


FIGURE 5

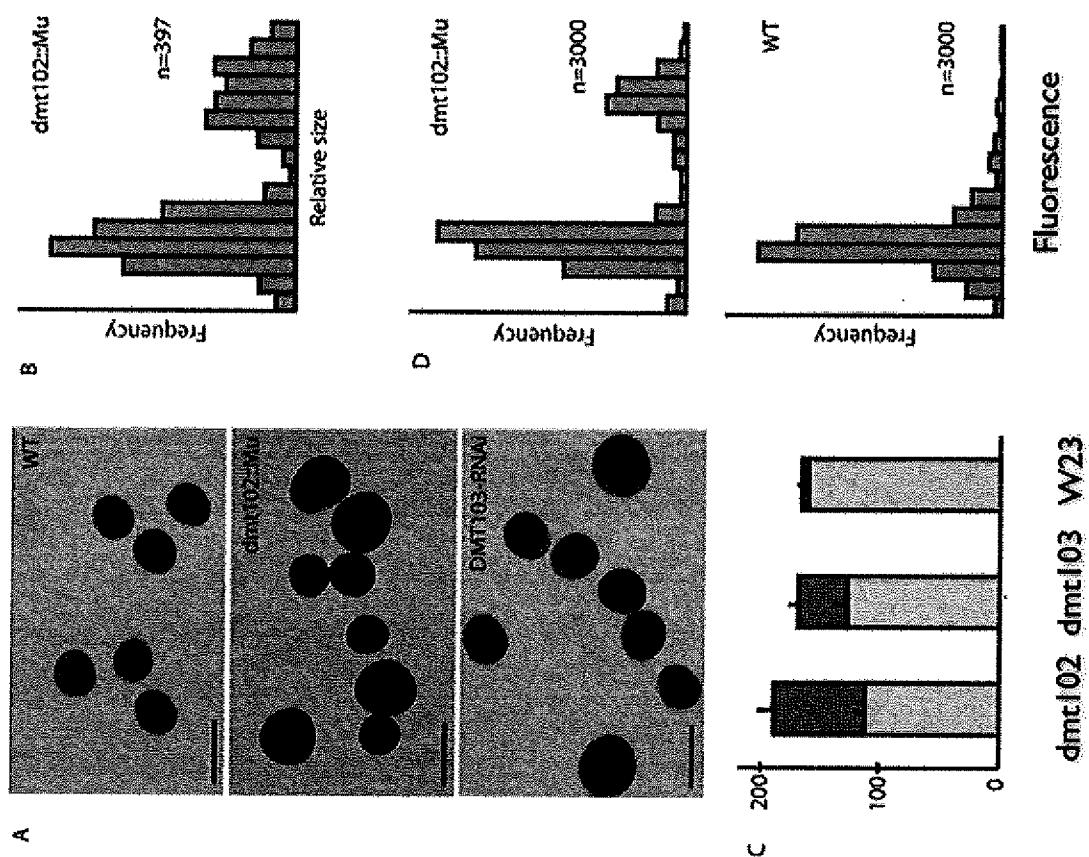


FIGURE 6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2010/055084

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C12N15/82
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C12N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, BIOSIS, Sequence Search, EMBASE, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	FR 2 759 708 A1 (ORSTOM [FR]) 27 August 1999 (1999-08-27) the whole document -----	6-9
A	OZIAS-AKINS PEGGY ET AL: "Mendelian genetics of apomixis in plants", 2007, ANNUAL REVIEW OF GENETICS, VOL. 41, PAGE(S) 509-537, XP002583194, ISSN: 0066-4197 the whole document ----- -/-	1-8

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *&* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search 13 January 2011	Date of mailing of the international search report 21/01/2011
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Keller, Yves

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2010/055084

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	TAKASHI OKADA ET AL: "An <i>Hieracium</i> mutant, loss of apomeiosis 1 (loa1) is defective in the initiation of apomixis", SEXUAL PLANT REPRODUCTION, SPRINGER, BERLIN, DE LNKD- DOI:10.1007/S00497-007-0057-5, vol. 20, no. 4, 8 November 2007 (2007-11-08), pages 199-211, XP019564547, ISSN: 1432-2145 the whole document -----	1-8
A	CATANACH ANDREW S ET AL: "Deletion mapping of genetic regions associated with apomixis in <i>Hieracium</i> ", December 2006 (2006-12), PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA, VOL. 103, NR. 49, PAGE(S) 18650-18655, XP002583195, ISSN: 0027-8424 the whole document -----	1-8
A	BICKNELL R A ET AL: "Monogenic inheritance of apomixis in two <i>Hieracium</i> species with distinct developmental mechanisms", HEREDITY, vol. 84, no. 2, February 2000 (2000-02), pages 228-237, XP002583196, ISSN: 0018-067X the whole document -----	1-8
A	NATALIA V LASPINA ET AL: "Gene expression analysis at the onset of aposporous apomixis in <i>Paspalum notatum</i> ", PLANT MOLECULAR BIOLOGY, KLUWER ACADEMIC PUBLISHERS, DORDRECHT, NL, vol. 67, no. 6, 15 May 2008 (2008-05-15), pages 615-628, XP019613462, ISSN: 1573-5028 the whole document -----	1-8
A	LEBLANC OLIVIER ET AL: "Seed development and inheritance studies in apomictic maize- <i>Tripsacum</i> hybrids reveal barriers for the transfer of apomixis into sexual crops.", 2009, THE INTERNATIONAL JOURNAL OF DEVELOPMENTAL BIOLOGY 2009 LNKD- PUBMED:19247928, VOL. 53, NR. 4, PAGE(S) 585 - 596, XP002583197, ISSN: 1696-3547 the whole document -----	1-8

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/IB2010/055084

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
FR 2759708	A1	21-08-1998	AU 6405498 A	08-09-1998
			CA 2282085 A1	20-08-1998
			CN 1248296 A	22-03-2000
			DE 975799 T1	31-08-2000
			EP 0975799 A1	02-02-2000
			ES 2146561 T1	16-08-2000
			WO 9836090 A1	20-08-1998

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande Internationale n°

PCT/IB2010/055084

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
INV. C12N15/82
ADD.

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)
C12N

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)

EPO-Internal, BIOSIS, Sequence Search, EMBASE, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	FR 2 759 708 A1 (ORSTOM [FR]) 27 août 1999 (1999-08-27) le document en entier -----	6-9
A	OZIAS-AKINS PEGGY ET AL: "Mendelian genetics of apomixis in plants", 2007, ANNUAL REVIEW OF GENETICS, VOL. 41, PAGE(S) 509-537, XP002583194, ISSN: 0066-4197 le document en entier ----- -/-	1-8



Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents



Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

- *A* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- *E* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- *L* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- *O* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- *P* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- *T* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- *X* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- *Y* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- *&* document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée	Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale
13 janvier 2011	21/01/2011
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Palentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Fonctionnaire autorisé Keller, Yves

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande Internationale n°
PCT/IB2010/055084

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'Indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	<p>TAKASHI OKADA ET AL: "An <i>Hieracium</i> mutant, loss of apomeiosis 1 (<i>loa1</i>) is defective in the initiation of apomixis", SEXUAL PLANT REPRODUCTION, SPRINGER, BERLIN, DE LNKD- DOI:10.1007/S00497-007-0057-5, vol. 20, no. 4, 8 novembre 2007 (2007-11-08), pages 199-211, XP019564547, ISSN: 1432-2145 le document en entier</p> <p>-----</p> <p>CATANACH ANDREW S ET AL: "Deletion mapping of genetic regions associated with apomixis in <i>Hieracium</i>", décembre 2006 (2006-12), PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA, VOL. 103, NR. 49, PAGE(S) 18650-18655, XP002583195, ISSN: 0027-8424 le document en entier</p> <p>-----</p> <p>BICKNELL R A ET AL: "Monogenic inheritance of apomixis in two <i>Hieracium</i> species with distinct developmental mechanisms", HEREDITY, vol. 84, no. 2, février 2000 (2000-02), pages 228-237, XP002583196, ISSN: 0018-067X le document en entier</p> <p>-----</p> <p>NATALIA V LASPINA ET AL: "Gene expression analysis at the onset of aposporous apomixis in <i>Paspalum notatum</i>", PLANT MOLECULAR BIOLOGY, KLUWER ACADEMIC PUBLISHERS, DORDRECHT, NL, vol. 67, no. 6, 15 mai 2008 (2008-05-15), pages 615-628, XP019613462, ISSN: 1573-5028 le document en entier</p> <p>-----</p> <p>LEBLANC OLIVIER ET AL: "Seed development and inheritance studies in apomictic maize-<i>Tripsacum</i> hybrids reveal barriers for the transfer of apomixis into sexual crops.", 2009, THE INTERNATIONAL JOURNAL OF DEVELOPMENTAL BIOLOGY 2009 LNKD- PUBMED:19247928, VOL. 53, NR. 4, PAGE(S) 585 - 596, XP002583197, ISSN: 1696-3547 le document en entier</p> <p>-----</p>	1-8
A		1-8

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande Internationale n°

PCT/IB2010/055084

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)		Date de publication
FR 2759708	A1 21-08-1998	AU	6405498 A	08-09-1998
		CA	2282085 A1	20-08-1998
		CN	1248296 A	22-03-2000
		DE	975799 T1	31-08-2000
		EP	0975799 A1	02-02-2000
		ES	2146561 T1	16-08-2000
		WO	9836090 A1	20-08-1998