

DISCRIMINATION DE DEUX ESPECES DE GOMBO CULTIVEES EN COTE D'IVOIRE  
(*Abelmoschus esculentus* et *Abelmoschus* sp.) SUR LA BASE DE LEURS  
PROFILS ENZYMATIQUES

- Variabilité restreinte des formes cultivées
- Stérilité des hybrides. *A. esculentus* x *A. sp.*

HAMON (S), 1981e

**MOTS CLES** : *Abelmoschus esculentus*, Gombo ivoirien, Formes cultivées, Isoenzymes, Hybridation interspécifique, Taxonomie.

## I - INTRODUCTION

La culture du Gombo est largement répandue dans les zones tropicales et sub-tropicales. Ce légume peut être consommé en salade, s'il est cueilli très jeune, mais il entre principalement dans la composition de la "sauce Gombo".

La Côte d'Ivoire est caractérisée par deux types de végétation de part et d'autre d'une ligne Man - Bouaké - Abengourou. Au Nord, en savane, la forme cultivée appartient à l'espèce *Abelmoschus esculentus* (2n = 128). Au Sud, en forêt, on trouve une espèce non décrite botaniquement: "Gombo ivoirien", *Abelmoschus* sp (2n = 188).

SIEMONSMA (1980) a prospecté la Côte d'Ivoire et constitué une collection de 324 échantillons appartenant aux deux espèces. Selon cet auteur, *A. sp* serait le résultat d'une hybridation entre *A. esculentus* et *A. manihot* autre espèce rencontrée en Côte d'Ivoire. Un diallèle complet entre deux variétés de *A. sp.* et trois variétés de *A. esculentus* a été réalisé par SIEMONSMA et étudié par F. VRANCKEN (1981).

CHARRIER (1981) dans une revue bibliographique concernant les problèmes posés par la conservation et l'évaluation des ressources génétiques du genre *Abelmoschus*, dégage les principales voies de recherche et les tentatives d'explication des relations entre les différentes espèces. L'organisation du complexe d'espèce reste flou et CHARRIER souligne qu'aucune approche utilisant la technique d'électrophorèse n'a été entreprise à sa connaissance.

Nous présentons ici :

- Les premiers essais d'électrophorèse sur le Gombo et les modifications apportées aux techniques couramment utilisées sur le riz (SECOND, TROUSLOT, 1980) et sur le Caféier (BERTHOU, TROUSLOT, HAMON, 1980).
- Les premiers résultats comparatifs entre les deux espèces cultivées et leur niveau de variabilité respectif.
- Les résultats concernant l'autofécondation systématique des hybrides *A. esculentus* x *A. sp.*
- La difficulté d'obtention d'hybrides entre *A. esculentus* ou *A. sp* et *A. manihot*.

## II - MATERIEL ET METHODES

### 1. Gels d'amidon utilisés

- Système de BREWER 1970 (modifié par SECOND - TROUSLOT, 1980)
  - . Amidon : Concentration 14 %
  - . Tampon Gel : Histidine Na Cl pH 6,0 ou pH 8,0
  - . Tampon bac : Citrate pH 6,0 ou pH 8,0
- Système de SHAW et PRASAD (1970) N°1
  - . Amidon : Gel 14 %
  - . Tampon bac et gel : Tris citrate pH 7,0
  - . Tampon gel constitué à partir du tampon bac (66,7 ml pour 1000 ml)

O. R. S. T. O. M. Fonds Documentaire

N° : 16168, ex 1

Cote : A

- Système de SMITHIES (1955) (modifié par SECOND - TROUSLOT, 1980)
  - . Amidon : Concentration 11 %, gels plus mous
  - . Tampon borate pH 7,0 (gel et bacs)
- Système SHAW - PRASAD (1970) N° XV
  - . Amidon : Concentration 14 %
  - . Tampon gel et bacs : Phosphate pH 7,0
- Système Tris-Maléate (HARRIS - HOPKINSON, 1964) (modifié, BERTHOU et al., 1980)
  - . Utilisation courante pour les estérases et phosphatases acides du Caféier
  - . Amidon 14 %
  - . Tampon gel et bac : Tris-Maléate pH 7,0
- Système Tris-Glycine (HARRIS - HOPKINSON, 1978)
  - . Amidon 14 %
  - . Tampon gel Tris-HCl           pH : 8,0
  - . Tampon bac Tris-Glycine       pH : 8,0

## 2. Tampon d'extraction

Le tampon utilisé pour le caféier (BERTHOU, TROUSLOT, HAMON, 1980) donne de bons résultats. Des modifications utilisant du PVP soluble, du disulfite de sodium, du diethythiocarbamate n'ont pas amélioré la résolution.

## 3. Le matériel végétal

✕ Parents du diallèle de SIEMONSMA

*A. esculentus* : Clemson Spineless C.S  
Perkins Long Pods P.L.P  
F 3,6

*A. sp.* E 10,4  
H 12,2

✕ *A. manihot*, *A. esculentus* (1 provenance de chaque espèce)

✕ *A. esculentus*, *A. sp.* - Prospection SIEMONSMA : 314 échantillons au total

✕ Les hybrides du diallèle SIEMONSMA

## III - RESULTATS

### 1. Choix de l'organe

L'utilisation de graines sèche donne de bons résultats. Il faudra améliorer les extractions à partir des feuilles, le principal problème rencontré, outre une résolution légèrement moins bonne est l'état excessivement gluant des broyats.

### 2. Système enzymatique

La révélation des systèmes suivants a été tentée :

AdH : Alcool déshydrogénases  
Mdh : Malate déshydrogénases  
PGI : Phospho - glucose - isomérase  
PGM : Phospho - gluco - mutases  
ICD : Isocitrate déshydrogénases  
6 PGD : 6 Phospho - gluconate et déshydrogénases  
LDH : Lactate déshydrogénases  
EST : Estérases  
POX : Peroxydases  
Cat : Catalases  
Ac.P : Phosphatases acides

La résolution optimale est obtenue pour les AdH et Mdh, viennent ensuite les systèmes ICD, PGI, PGM, PGD et EST. LDH, ACP et POX n'ont pas pu être mis en évidence.

En ce qui concerne les systèmes de migration nous obtenons le classement suivant en fonction des systèmes révélés :

Mdh	: Hist 6,0	>	Phosphate 7,0	>	Citrate 7,0	>	Borate
AdH	: Phosphate 7,0	>	Hist. 6,0	>	Citrate	>>	Borate
PGI	: Hist 6,0	>	Phosphate	>	Citrate	>>	Borate
PGM	: Hist 6,0	>	Phosphate,		Citrate,		Borate
ICD	: Phosphate 7,0	>	Hist. 6,0				

### 3. Les zymogrammes des parents du diallèle (Fig. 1)

Cinq systèmes donnent des qualités de révélation correctes : AdH, MdH, PGI, PGM, ICD.

#### \* AdH - Alcool déshydrogénases

Trois zones sont nettement distinguables. Systématiquement l'activité la plus intense est révélée dans la zone basale (Z 1) : molécules lentes. L'activité la plus faible se situe dans la zone Z 3 (molécules rapides).

##### La zone Z 1

. Nous notons une différence entre les variétés ivoiriennes et américaines sélectionnées, au niveau de la bande la plus rapide. *A. moschatus* et *A. manihot* sont caractérisés par la présence d'électromorphes plus lents, *A. manihot* possède des bandes communes à *A. esculentus*.

##### La zone Z 2

. La seule différence observée chez les formes cultivées correspond à une bande plus rapide chez H 12.2.  
 . Les formes sauvages possèdent des bandes plus lentes, et une seulement en commun avec les formes cultivées.

##### La zone Z 3

. Aucune variation observée chez *A. esculentus* et *A. sp.*, pas de révélation dans cette zone chez *A. manihot* et *A. mostachus*.

#### \* MdH (Malate déshydrogénases)

. Les électromorphes sont nombreux, mais régulièrement espacés. Nous comptons au minimum huit bandes (*A. manihot*) au maximum dix sept (*A. sp.*)  
 . Une zone médiane dépourvue d'activité existe chez *A. manihot* et *A. moschatus*.  
 . Une différence entre *A. esculentus* et *A. sp.* est à noter au niveau des 2 bandes les plus rapides, absentes chez *A. esculentus*, présentes chez *A. sp.* et *A. moschatus*.

#### \* PGI (Phospho-glucose-isomérases)

. Nous remarquons une absence de variation au sein de chaque espèce *A. esculentus* (3 bandes), *A. sp.* (5 bandes).  
 . Le profil de *A. sp.* possède une zone commune à *A. esculentus* et 2 bandes plus rapides.  
 . *A. manihot* est caractérisé par un profil unibande, celle-ci est commune avec *A. sp.*

#### \* ICD (Isocitrate déshydrogénases)

. Dans la zone médiane, *A. esculentus* montre un groupe de trois bandes intenses entre lesquelles nous trouvons deux bandes supplémentaires chez *A. sp.*  
 . Dans la zone anodique *A. esculentus* est caractérisé par une ou deux bandes plus rapides que l'on retrouve chez *A. moschatus*.  
 . Le profil de *A. manihot* ne présente que deux similitudes avec *A. esculentus* sur un total de neuf bandes.

#### \* PGM (Phospho-glucomutases)

. Pas de variation chez les formes cultivées :  
 1 bande lente, 1 bloc de trois bandes intermédiaires,  
 1 bande rapide. PLP seul fait exception.  
 . Le profil de *A. moschatus* est plus proche des formes cultivées que celui de *A. manihot*.

### 4. Polymorphisme enzymatique des Gombos cultivés en Côte d'Ivoire

Constitué de 314 échantillons, la collection de SIEMONSMA correspond à 103 points de prélèvements dont un certain nombre pour lesquels les deux espèces sont cultivées simultanément.

Dans un premier temps nous avons prélevé une graine par lot pour cerner les limites de la variabilité (Annexe 2).

La variabilité intraspécifique est très faible (Tableau I), les plus grandes différences sont notées au niveau des AdH.

Chaque espèce peut être caractérisée par son profil MdH, PGI, ICD, qui se révèlent être, dans les limites de notre échantillon, des caractères discriminants à 100 %.

### 5. Zymogrammes des hybrides contrôlés

Dans chaque situation, sauf PGM, les zymogrammes des hybrides au niveau des graines est égal à la somme des bandes des parents. Ceci est également valable pour la descendance *A. sp* x *A. manihot*.

## 6. Essais d'autofécondations des hybrides interspécifiques

Ces hybrides manifestent une stérilité très grande (F. VRANCKREEN, 1981). Nous avons réalisé de nombreuses autofécondations. Seule la combinaison (E 10.4 x Cs) a donné deux fruits

En fécondation libre nous avons remarqué trois faits principaux.

- Le nombre maximum de fruits est obtenu pour la combinaison E 10.4 x Cs mais le nombre de graines à l'intérieur d'un fruit dépasse rarement 4 au lieu d'une quarantaine dans des conditions de fertilité normale. Les fruits sans aucun grain ne sont pas rares.
- Les combinaisons (H 12.2 x PLP ; Cs x H 12.2) donnent peu de fruits mais ceux-ci sont souvent mieux remplis ( $\approx$  10 graines).
- La fertilité des hybrides n'est pas uniforme dans le temps, en effet en fin de cycle, on constate pour les combinaisons précitées une augmentation du taux de réussite en fécondation libre.

## 7. Essais d'obtention d'hybrides avec *A. manihot*

Nous avons porté du pollen de *A. manihot* sur les fleurs de *A. esculentus* et *A. sp.*. Nous n'avons obtenu de fruits et de graines que dans la combinaison Man x E 10.4. Ce qui rejoint les observations de SIEMONSMA.

## CONCLUSIONS

L'étude par électrophorèse du polymorphisme enzymatique des espèces du genre *Abelmoschus* donne des résultats satisfaisants notamment pour les systèmes enzymatiques tels que les malate-déshydrogénases, les alcool déshydrogénase, les phosphoglucosoménases et isocitrate déshydrogénases aussi bien à partir de graines que de jeunes feuilles.

Nous mettons en évidence deux grandes lignes :

- Absence de polymorphisme presque totale au sein de formes cultivées.
- Trois systèmes enzymatiques ont un pouvoir discriminant de 100% entre les deux espèces (PGI, ICD, MDH).

La construction de l'espèce *A. sp.* à partir d'une hybridation *A. esculentus* x *A. manihot* (SIEMONSMA, 1980) semble ne pas être exacte, d'après nos observations. *A. moschatus* serait certainement un meilleur candidat mais il ne résoud pas tous les problèmes.

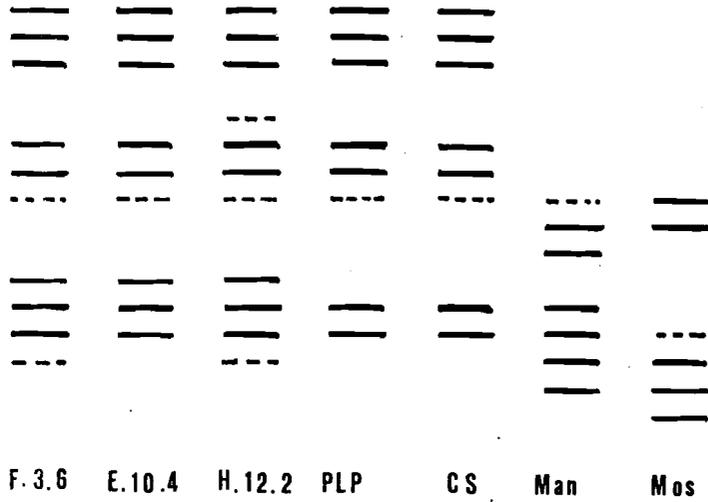
Les individus de l'espèce *A. esculentus* sont excessivement sensibles aux maladies et disparaissent rapidement du champ en saison humide. L'hybridation avec l'espèce *A. sp.* ivoirienne donne une vigueur hybride assez générale (VRANCKEN, 1981), cependant les hybrides sont très stériles. Quelques combinaisons donnent des fruits dépourvus de graines, ce qui peut être un caractère agronomique intéressant.

La stratégie d'étude la plus intéressante à adopter consisterait certainement en une prospection approfondie de la zone sahélienne (Mali - Haute-Volta - Niger) en se focalisant plus précisément sur les espèces spontanées à faible nombre de chromosomes en relation avec les formes cultivées localement. La découverte d'une espèce autoincompatible correspondrait, si elle existe encore, certainement au nombre chromosomique diploïde minimal et au polymorphisme maximal.

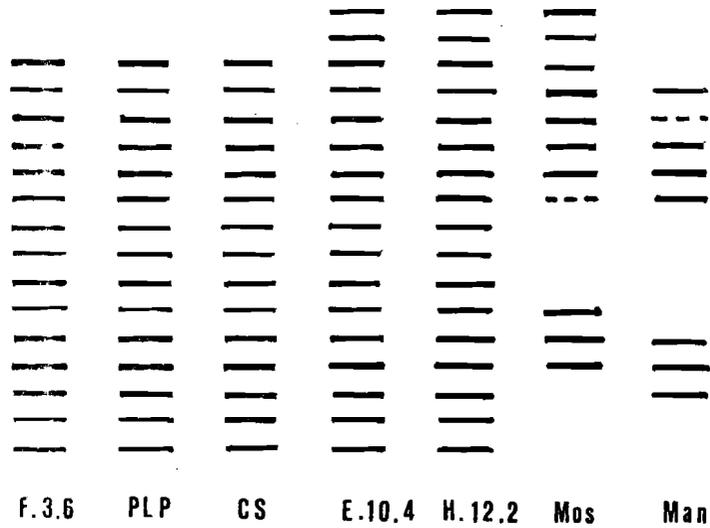
TABLEAU 1 : Polymorphisme de la collection de *A. esculentus* et *A. sp.*

	MdH		AdH				PGI			ICd			
	-				-					⊙	⊙	⊙	⊙
	-				-					⊙	⊙	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	⊙	⊙	⊙	⊙
13 bandes communes			-	-	-	-	-	-	-	⊙	⊙	⊙	⊙
			-	-	-	-	-	-	-	⊙	⊙	⊙	⊙
			-	-	-	⊙	⊙	⊙	-		-		-
			-	-	-	-	-	-	-				
<i>A. sp.</i>	76	0	60	11	4	2	76	0	0	0	4	12	50
<i>A. esculentus</i>	0	42	33	5	4	0	0	36	6	42	0	0	0

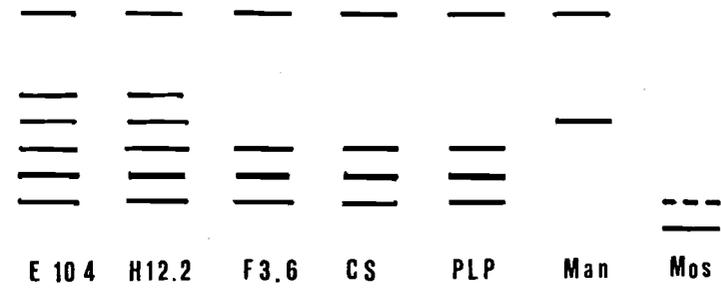
•Alcool deshydrogenases.



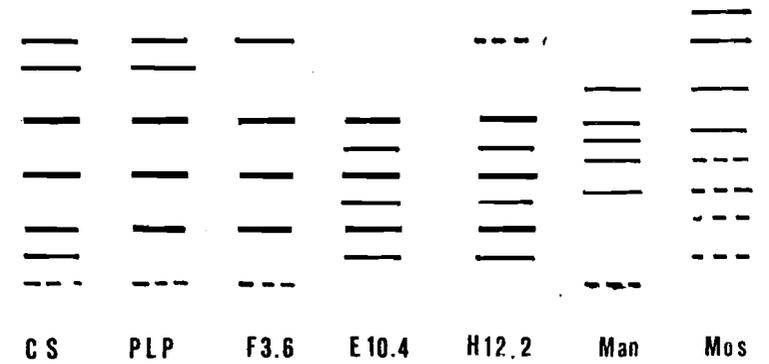
•Malate deshydrogenases.



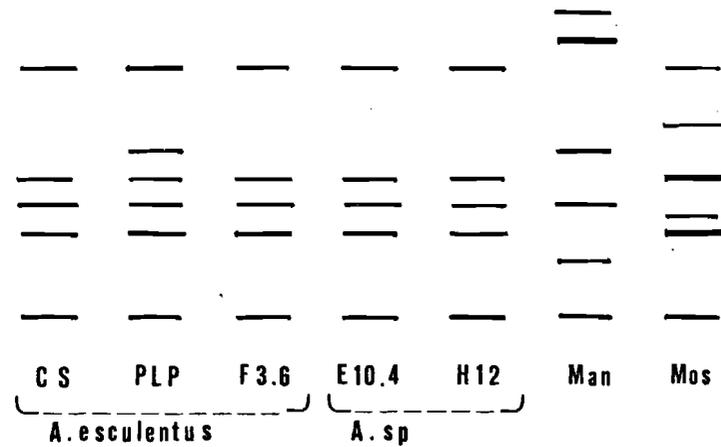
•Phospho. glucose. isomérases.



•Isocitrate. deshydrogenases.



•Phospho. glucomutases.



( Zymogrammes: Abelmoschus(esculentus, sp, manihot, moschatus))

BIBLIOGRAPHIE

- BERTHOU (F.), TROUSLOT (P.), HAMON (S.), VEDEL (F.), QUETIER (F.)  
Analyse du polymorphisme biochimique des caféiers.  
Variation enzymatique dans dix huit populations sauvages.  
Variation de l'ADN mitochondrial dans les espèces.: *C. canephora*, *C. eugenioides* et  
*C. arabica*.  
Café, Cacao, Thé, vol 24, n° 4, pp. 313-326 (1980).
- BREWER (C.J.)  
An introduction to isozymes techniques.  
Ac. Press. New York (1971), 185 p.
- CHARRIER (A.)  
Etude des ressources génétiques d'*Abelmoschus esculentus* (Gombo) et des espèces apparen-  
tées.  
Contrat (FAO-ORSTOM), ORSTOM BP V51 abidjan, RCI (1981), 56 p.
- HAMON (S.)  
Mise en évidence de deux formes sympatriques au sein de l'espèce *C. zanguebariae* au  
Kenya.  
Rapport ORSTOM, (1981), pp. 47-64.
- HARRIS (H.), HOPKINSON (D.A.)  
Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics.  
North Holland Publishing Company, Amsterdam (1976).
- SECOND (G.), TROUSLOT (P.)  
Technique d'électrophorèse en gel d'amidon appliquée au Riz.  
Travaux et documents de l'ORSTOM N° 120, (1980), 88 p.
- SIEMONSMA  
Local OKRA cultivars from Ivory Coast.  
Note for International board for plant genetic resources  
Centre Neerlandais, ORSTOM, BP V51 Abidjan, (1980), 11 p.
- SHAW (C.R.), PRASAD (R.)  
Starch gel electrophoresis of enzymes : a compilation of recipes.  
Biochemical genetics (N.Y.), 4, (1970), pp. 297-320.
- SMITHIES (O.)  
Zone electrophoresis in starch gels. Groups variations in the serum proteins normal  
human adults.  
Biochemical journal (London), 61, (1955), pp. 629-641.