

CHAPITRE VI

STRUCTURE GENETIQUE DU COMPLEXE D'ESPECES *PENNISSETUM*

J-F RENNO

Laboratoire de génétique, ORSTOM
BP 11416, Niamey ; Niger.

I - PRESENTATION DU PROGRAMME

Depuis une vingtaine d'années l'ORSTOM avec ses partenaires développe l'étude des complexes d'espèces de plantes tropicales. Ces recherches conduisent à une meilleure compréhension des mécanismes de l'évolution, avec pour retombées des applications dans la gestion des ressources génétiques pour l'amélioration des espèces cultivées. Le programme de génétique du mil du laboratoire de l'ORSTOM au Niger, d'abord focalisé sur les relations entre formes spontanées et formes cultivées de l'espèce *P. glaucum* (Chapitres III et X de ce document) est maintenant étendu en collaboration avec l'ICRISAT, à l'ensemble des espèces du genre distribuées en Afrique de l'ouest ou signalées comme susceptibles d'améliorer le mil cultivé.

Ces espèces offrent une grande diversité dans leur système de reproduction (de l'allogamie à l'apomixie) leur longévité (annuelles ou pérennes), leur niveau de ploïdie. De plus elles sont distribuées des régions sub-sahariennes aux régions soudano-guinéennes et affectionnent donc des milieux écologiques extrêmement variés. Cette richesse biologique suppose l'existence de potentialités agronomiques qui pourraient être exploitées dans l'amélioration du mil. Les relations phylogénétiques entre ces espèces ainsi que leur structuration génétique sont particulièrement étudiées à l'ORSTOM au Niger. La mise en évidence des relations phylogénétiques par l'utilisation de caractères biochimiques, moléculaires, mais aussi morphologiques et cytogénétiques pourrait servir de guide dans les schémas d'amélioration classiques. L'étude de la structuration génétique à l'intérieur de chaque espèce, en relation avec le système de reproduction et l'écologie de l'espèce, est le préalable nécessaire à une exploitation des ressources génétiques.

Ainsi, au sein de *P. glaucum*, à laquelle appartient le mil cultivé, une perception microgéographique des échanges géniques - par l'accès aux génotypes des plantes en place et aux flux de gènes d'origine pollinique - pourrait révéler une structuration génétique à l'intérieur des populations spontanées et cultivées (plusieurs sous unités de reproduction), conséquence de barrières à la reproduction déjà partiellement mises en évidence (Chapitre IX). Dans *Pennisetum* (mais aussi *Cenchrus*), les espèces apomictiques sont

des candidates à l'amélioration du mil en permettant la mise en place de "lignées fixées auto maintenues". Toutefois, un des écueils dans une bonne exploitation de l'apomixie semble être une apparente incompatibilité avec la notion de diversité génétique, diversité nécessaire au maintien des cultivars dans un milieu particulièrement instable. Pourtant, dans ce même milieu, des populations naturelles d'espèces préférentiellement apomictiques existent. Il semble donc que la voie de l'amélioration des plantes tropicales par l'apomixie doit découler d'une bonne compréhension des stratégies permettant le maintien d'espèces ne pratiquant pas, ou occasionnellement, la sexualité, dans un environnement fluctuant.

Dans les espèces apomictiques, l'estimation de la diversité clonale et de son origine - sexualité, remaniements chromosomiques, mutations géniques - est donc un préalable nécessaire à une exploitation non empirique de l'apomixie, pour un mil cultivé qui devra, même s'il est issu d'une manipulation génétique, suffisamment mimer les formes apomictiques naturelles.

II - RESULTATS PRELIMINAIRES

La méthode d'échantillonnage optimale doit permettre l'accès direct aux informations (morphologie et génétique) portées par chaque plante considérée dans les conditions naturelles. De plus, un lot de graines prélevé sur chaque individu échantillonné doit permettre l'étude du système de reproduction du géniteur et d'apprécier l'effet génétique du nuage pollinique. Ne disposant pas encore de suffisamment d'échantillons collectés de façon optimale, après une mise au point technique sur différentes espèces, les résultats préliminaires ont été obtenus à partir d'échantillons de mélange de graines issues de plusieurs géniteurs (collection IBPGR).

A - Marqueurs électrophorétiques

L'analyse électrophorétique est actuellement développée sur 5 espèces de l'Afrique de l'ouest : *P. divisum* (Niger), *P. glaucum monodii* (Niger et Mauritanie), *P. pedicellatum* (Tchad, Mauritanie et Niger), *P. polystachion* (Tchad), *P. ramosum* (Tchad), auxquelles sera ajouté *P. purpureum* récemment récolté.

Excepté *P. glaucum* et *P. purpureum* qui sont des espèces à allogamie préférentielle, le système de reproduction des autres espèces est soit mal connu, soit mentionné (ou supposé) apomictique (*P. pedicellatum*, *P. polystachion*, *P. divisum*). Une quinzaine de systèmes enzymatiques analysés par électrophorèse enzymatique sur gel d'amidon ont été révélés pour chacune des plantes analysées. Certains de ces systèmes - AAT, ADH, MDH, 6PGDH, PGM, CAT, EST, PGI - ont un déterminisme génétique connu chez l'espèce *P. glaucum*, ce qui aide à comprendre les zymogrammes des autres espèces. Ce n'est toutefois pas le cas pour les systèmes - EFL, GAL, GDH, ME, EP, SKDH, LAP - pour lesquels le déterminisme génétique n'a été vérifié chez aucune des espèces étudiées.

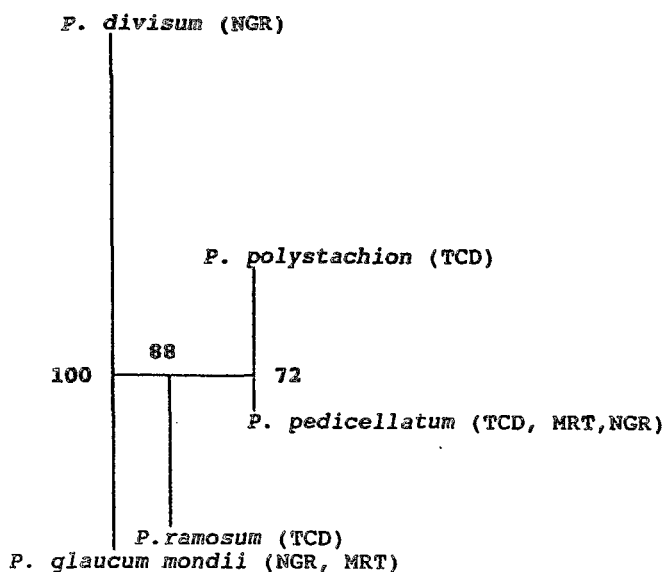
Au total 22 locus présumés ont été identifiés, soit 56 allèles pour l'ensemble des espèces, avec une vingtaine d'individus analysés par espèce. Aucune polyploïdie n'apparaît clairement à la lecture des zymogrammes. Des duplications de locus Pgi existent cependant chez *P. pedicellatum*. Chaque plante est conservée après analyse jusqu'à la fin de son cycle pour suivre sa phénologie et décrire sa morphologie.

B - Phylogénie préliminaire

A ce stade de l'étude, les mesures des paramètres de la diversité génétique auraient peu de sens. Toutefois, avec les données actuellement disponibles une première phylogénie réalisée selon la méthode de Wagner a été mise à l'épreuve par la méthode du bootstrap, elle servira de support par la suite. La méthode de Wagner suppose : 1/ que l'apparition et la disparition d'un caractère (allèle déduit des observations électrophorétiques dans ce cas) sont deux événements équiprobables dans deux segments différents du cladogramme, 2/ que les caractères et les taxons (espèces dans ce cas) évoluent indépendamment. L'arbre phylogénétique n'a pas de racine (on parlera plutôt d'un réseau), l'état ancestral restant inconnu.

La méthode du Bootstrap consiste en une succession de n échantillonnages par tirage aléatoire avec remise des caractères (allèles). Pour chaque échantillonnage, une matrice espèce X allèles, est établie. La matrice ayant toujours le même nombre de colonnes (allèles) et de lignes (espèces), le tirage avec remise des caractères va avoir pour effet de dupliquer certaines colonnes et d'en supprimer d'autres de façon aléatoire. Ainsi l'influence de chaque caractère varie à chaque tirage. Un dendrogramme est construit pour chaque matrice d'échantillonnage. L'indice de confiance pour chaque embranchement est exprimé en pourcentage du nombre de fois que l'embranchement est formé dans l'ensemble des n dendrogrammes reconstitués après tirage.

Avec les données actuellement disponibles - échantillonnage disparate, répondant mal aux besoins de cette étude et loin d'être représentatif de chaque espèce - cette phylogénie est certainement très provisoire. Toutefois, elle apparaît actuellement comme très robuste, un seul réseau ayant été obtenu et les indices de confiance du bootstrap étant particulièrement élevés, suite à cent répétitions. Une cohérence biogéographique semble se dessiner. En effet, *P. polystachion* et *P. pedicellatum*, très proches par leur morphologie et dont les aires de distribution se chevauchent dans la région sahélo-soudanienne, constituent un groupe monophylétique (espèces soeurs).



légende

Les segments du réseau sont proportionnels au nombre d'événements (apparition et disparition d'allèles) impliqués. Les nombres en gras indiquent l'indice de confiance du bootstrap après cent tirages (MRT = Mauritanie, NGR = Niger, TCD = Tchad)

Pennisetum divisum et *P. glaucum monodii*, espèces bien différenciables par leur morphologie mais toutes deux de la zone sahélienne et subsaharienne, seraient aussi deux espèces sœurs. Toutefois, ce n'est qu'en intégrant la diversité génétique et morphologique intraspécifique, qu'une phylogénie deviendra réellement intéressante. Le positionnement sur le cladogramme des différentes populations (dans le cas des "taxons sexués") et des différents clones (taxons apomictiques) pourrait susciter des discussions sur la nature du monophylétisme. La structure d'espèce et les mécanismes qui y conduisent dans le genre *Pennisetum* pourront alors être appréhendés à la lumière notamment des données écologiques.

La perception du polymorphisme biologique, par l'intégration des données de l'écologie, de la morphologie, de la caryologie, et de la biologie moléculaires (ADN et isoenzymes), permettra l'intégration d'une grande diversité d'informations peu redondantes pour une meilleure vision de l'objet d'étude.

BIBLIOGRAPHIE

- BIRARI (S.P.), 1981. Mechanism of apomixis in *Pennisetum polystachion*. J. Maharashtra Agric. Univ. 6 (3) : 208-212.
- BRAY (R.A.), 1979. Evidence for facultative apomixis in *Cenchrus ciliaris*. Euphytica 27 (3) : 801-804.
- BRUNKEN (J.N.), 1977. A systematic study of *Pennisetum* sect. *Pennisetum* (Gramineae). Amer.J. Bot. 64 (2) : 161-176.
- BRUNKEN (J.N.), 1979. Cytotaxonomy and evolution in *Pennisetum* section *brevivalvula* gramineae in tropical Africa. Bot. J. Linn. Soc., 79 (1) : 37-50.
- CHATTERJI (A.K.) and TIMOTHY (D.H.), 1969. Apomixis and tetraploidy in *Pennisetum orientale*. Crop. Sci. 9 (6) : 796-799.
- CHATTERJI (A.K.) and SAHU (N.), 1982. Biotypic differences in karyology of *Pennisetum pedicellatum*. Biol. Plant (Prague) 24 (1) : 13-19.
- DUJARDIN (M.) and HANNA (W.W.), 1984. Microsporogenesis, reproductive behavior, and fertility in five *Pennisetum* species. Theor. Appl. Genet. : 67 (2/3) : 197-201.
- DUJARDIN (M.) and HANNA (W.W.), 1989. Crossability of Pearl Millet with Wild *Pennisetum* Species. Crop Science 29 : 77-80.
- DUJARDIN (M.) and HANNA (W.W.), 1990. Cytogenetics and reproductive behavior of 48-chromosome pearl millet X *Pennisetum squamulatum* derivatives. Crop Science, 30 (5) : 1015-1016.
- GEPTS (P.) and CLEGG (M.T.), 1989. Genetic diversity in Pearl Millet (*Pennisetum glaucum* (L) R. Br.) at the DNA sequence level. J. of Heredity 80 : 203-208.
- GROUZIS (M.), 1979. Sur *Pennisetum violaceum* sensu lato en Afrique de l'ouest : formes, écologie et distribution géographique. Bulletin de l'IFAN 41 : 300-316.
- HIGNIGHT (K.W.), BASHAW (E.C.) and HUSSEY (M.A.), 1991. Cytological and morphological diversity of native apomictic buffelgrass *Pennisetum-ciliare* L. Link. Bot. Gaz. 152 (2) : 214-218.
- INAMUDDIN (M.) and FARUQI (S.A.), 1982. Studies in Lybian grasses 8. Apomixis in *Pennisetum divisum* sensu-lato and *Pennisetum setaceum*. Pak. J. Bot. 14 (1) : 69-74.
- KALYANE (V.L.) and CHATTERJI (A.K.), 1981. Reproductive characteristics of *Pennisetum pedicellatum*, Indian J. Genet. 41 : 384-388.

- LAGUDAH (E.S.), HANNA (W.W.), 1989. Species relationship in *Pennisetum* gene pool : enzyme polymorphism. *Theor. Appl. Genet.* 78 (6) : 801-808.
- LUMARET (R.), 1988. Cytology, genetics, and evolution in the genus *Dactylis*. *CRC Critical Reviews in Plant Sciences* 7 : 55-91.
- LUMARET (R.), 1988. Adaptative strategies and ploidy levels. *Acta Oecologica / Oecol. Plant.* 1 (9) : 83-93.
- LUMARET (R.), BOWMAN (C.M.) and DYER (T.A.), 1989. Autopolyploidy in *Dactylis glomerata* L. : further evidence from studies of chloroplast DNA variation. *Theor. Appl. Genet.* 78 : 393-399.
- MARCHAIS (L.) and TOSTAIN (S.), 1985. Genetic divergence between wild and cultivated Pearl Millets (*Pennisetum typhoides*) II. Characters of Domestication. *Z. Pflanzenzüchtg* 95 : 245-261.
- MARSHALL (D.R.) and BROWN (A.H.D.), 1981. The evolution of apomixis. *Heredity* 47 : 1-15.
- PALMER (J.D.), 1987. Chloroplast DNA Evolution and biosystematic uses of chloroplast DNA variation. *Am. Nat.* 130 : S6-S29.
- PANTULU (J.V.) and KRISHNA RAO (M.), 1982. Cytogenetics of Pearl Millet., *Theor Appl. Genet.* 61 : 1-17.
- PARIHAR (S.K.) and TRIPATHI (S.N), 1987. On the cytology of *Pennisetum orientale* Rich (2n = 56). *Current Science* 56 (15) : 784-787.
- RAO (Y.S.), RAO (S.A.) and MENGESHA (M.H.), 1989. New evidence on the phylogeny of basic chromosome number in *Pennisetum*. *Current Science* 58 (15) : 869-871.
- ROBERT (T.), LESPINASSE (R.), PERNES (J.) and SARR (A.), 1991. Gametophytic competition as influencing gene flow between wild and cultivated forms of pearl millet (*Pennisetum typhoides*). *Genome*, 34 : 195-200.
- ROBERT (T.), LAMY (F.) and SARR, (A.) 1992. Evolutionary role of gametophytic selection in the domestication of *Pennisetum typhoides* (pearl millet) : a two-locus asymmetrical model. *Heredity* 69 : 372-381.
- ROBERT (T.) and SARR (A.), 1992. Multivariate analysis of recombination between wild and cultivated genomes within the primary gene pool of pearl millet (*Pennisetum typhoides*). *Genome* 35 : 208-219.
- SAVIDAN (Y.), 1978. Gametophytic apomixis in the gramineae and its use in plant breeding *Ann. Amelior. Plant.* 28 (1) : 1-10.

- SAVIDAN (Y.) et DUJARDIN (M.), 1992. Apomixie : la prochaine révolution verte ?
La Recherche 241 : 327- 334.
- SHANTHAMMA (C.), 1982. Apomixis in *Cenchrus glaucus*. Proc. Indian Acad. Sci.
Plant. Sci. 91 (1) : 25-36.
- SHERWOOD (R.T.), YOUNG (B.A.) and BASHAW (E.C.), 19... Facultative apomixis
in buffel grass *Cenchrus ciliaris*. Crop Sci. 20 (3) : 375-379.
- SISODIA (K.P.S.), 1970. Cytological studies on some species in genus *Pennisetum*-M.
Theor. Appl. Genet. 40 (1) : 26-31.
- TOSTAIN (S.), RIANDEY (M.F.) and MARCHAIS (L.), 1987. Enzyme diversity in
pearl millet (*Pennisetum glaucum*) I. West Africa. Theor. Appl. Genet. 74 : 188-193.
- TOSTAIN (S.) and MARCHAIS (L.), 1989. Enzyme diversity in pearl millet
(*Pennisetum glaucum*) II. Africa and India. Theor. Appl. Genet. 77 : 634-640.
- TOSTAIN (S) 1992. Enzyme diversity in pearl millet (*Pennisetum glaucum* L.). III.
Wild millet. Theor. Appl. Genet. 83 : 733-742.
- VEYRET (Y.), 1957. Les chromosomes somatiques chez quelques espèces de
Pennisetum. Agro. Trop. 5 : 595-598.
- VISHNUVARDHAN (Z.) and LAKSHMI (N.), 1989. Cytomorphological studies in two
new biotypes of *Pennisetum pedicelletum*. Trin. Cytologia 54 (1) 73-78.
- ZADOO (S.N.), 1986. Cytological analysis of *Pennisetum pedicelletum* Trin.
accessions. Cytologia, 51 (3) : 473-478.
- ZURAWSKI (G.), 1987. Evolution of higher-plant chloroplast DNA-encoded genes :
implications for structure-function and phylogenetic studies; Ann. Rev. Plant Physiol.
38 : 391-418.