

## CHAPITRE IX

### INCOMPATIBILITE POST-ZYGOTIQUE CHEZ LE MIL PENNISETUM GLAUCUM

I. AMOUKOU ADAMOU

Faculté d'Agronomie-Université de Niamey/Orstom

BP 11416 Niamey ; Niger

Une incompatibilité post-zygotique qui se traduit par une malformation des graines accompagnée d'une diminution du poids de 1000 grains et du taux de germination a été mise en évidence chez le mil dans les croisements entre femelles cultivées et mâles sauvages. Cette étude, qui s'est faite sur 16 échantillons cultivés (*Pennisetum glaucum ssp glaucum*) et 11 échantillons sauvages (*Pennisetum glaucum ssp monodii*), représentatifs des différents groupes enzymatiques de l'espèce, a montré que le phénomène est général. D'un point de vue histologique, cette incompatibilité se manifeste soit par un avortement précoce de la graine soit par une dégénérescence tardive de l'embryon et de l'albumen immatures. Le degré de la malformation des graines dépend plus des effets femelles cultivées que des effets mâles et d'interactions. L'existence de quelques couples compatibles s'explique par ces interactions et aussi par une variabilité intra-population. La malformation des graines semblent indépendante de la distance génétique et géographique entre mils cultivés et sauvages et n'a jamais été observée dans les croisements entre mils cultivés. Réciproquement, les croisements femelles sauvages x mâles cultivés produisent des graines d'aspect normal, de poids réduit mais qui germent aussi bien que les graines sauvages x sauvages. Cette légère barrière à la reproduction entre les sous-espèces cultivée et sauvage apparaît issue du processus de la domestication.

#### I - INTRODUCTION

En général, les croisements entre formes cultivées et formes sauvages du mil se font facilement et la grenaison est bonne (Brunken, 1977, Mohindra et Minocha, 1991). Les hybrides F1 sont viables et fertiles, et les méioses sont normales (Bilquez et Leconte, 1969, Belliard *et al*, 1980, Pernes *et al*, 1980). Il n'y a apparemment aucun obstacle absolu aux échanges géniques entre les deux formes. On peut cependant s'interroger sur le maintien de l'intégrité de ces deux types botaniques en situation de sympatrie.

En 1988, à l'occasion d'une série de croisements entre lignées de mils cultivés pollinisées par des lignées de mils sauvages, divers cas de graines malformées ont été observés, trop fréquemment pour être attribués à un effet du milieu. Une expérience décisive fut alors effectuée sur un lot hétérogène de graines issues d'un épi d'une lignée de mil cultivé pollinisé par du pollen d'une autre lignée de mil sauvage. Ce lot comportait des grosses graines bien formées et des petites graines malformées faciles à séparer. L'électrophorèse enzymatique des graines, en utilisant les estérases comme marqueur, a montré que toutes les graines malformées étaient hybrides "cultivé x sauvage" alors que les bonnes graines correspondaient à des autofécondations (il s'agissait donc d'un croisement mal fait). Cette observation prouvait que le défaut des graines avait une cause

génétique. Deux études furent alors entreprises pour d'une part confirmer cette observation et d'autre part déterminer le degré de généralité du phénomène et son incidence sur la germination, tant dans les croisements "cultivé x sauvage" que dans les croisements "cultivé x cultivé", "sauvage x sauvage" et "sauvage x cultivé".

## II - MATERIELS ET METHODES

Le matériel végétal est composé de 16 échantillons de mils cultivés (*Pennisetum glaucum ssp. glaucum*) et de 11 échantillons de mils sauvages (*Pennisetum glaucum ssp. monodii*) (tableau 1) représentatifs des différents groupes enzymatiques de l'espèce (Tostain et Marchais, 1989 ; Tostain, 1992).

Une première expérience a été mise en place pour confirmer l'existence de la malformation des grains. Pour cela 20 épis femelles d'un cultivar local HKD (C5) ont

**Tableau 1**  
Caractéristiques des échantillons de mils sauvages et cultivés utilisés dans les différents types de croisements.

Type botanique	Groupe Enzymatique	Code	Origine	Degré de consanguinité (*)	Type de croisement (*)
<i>Pennisetum glaucum subsp. glaucum</i> (cultivé)	Précoce de l'Afrique de l'Ouest	C1	Sénégal	So	a b c d
		C2	Mali	lignée	a b d
		C3	Mali	So	a b d
		C4	Niger	lignée	a b d
		C5	Niger	So	a b c d
		C6	Togo	lignée	a b d
	Tardif de l'Afrique de l'Ouest	C7	Mali	So	a d
		C8	Mali	lignée	a d
	C9C10	Niger	Togo	So	a b c d
				lignée	a b d
	Précoce de l'Afrique de l'Est	C11	Soudan	So	a b d
	C12	Tchad	So	a b d	
	Précoce de l'Afrique australe	C13	Zambie	So	a b c d
		C14	Bostwana	So	a
	Tardif de l'Afrique australe	C15	Tanzanie	lignée	a b d
	Précoce de l'Inde	C16	Gujerat	So	a b d
<i>Pennisetum glaucum subsp. monodii</i> (sauvage)	Ouest	W1	Sénégal	So	a b c e
		W2	Mauritanie	So	a b c e
		W3	Mali	So	a c e
	Centre	W4	Niger	So	a b c e
		W5	Niger	So	a b e
		W6	Mali	So	a b c e
		W7	Mali	So	a c e
		W8	Burkina Faso	So	c e
	Tchad Ouest	W9	Tchad	So	a b c e
	Darfour	W10	Tchad	So	a b e
		W11	Sudan	So	a b e

So: échantillon d'origine, a = CxW, b = ANOVA à 2 facteurs, c = WxC, d = CxC, e = WxW

### III - RESULTATS

#### A - Les croisements "cultivés x sauvage" (CxW) et "cultivé x cultivé" (CxC)

L'axe 1 de l'analyse en composantes principales représente 79 % de la variabilité totale et oppose les croisements CxC aux croisements CxW. Il est fortement corrélé avec le poids de 1000 grains ( $r = 0.82$ ), le taux de germination ( $r = 0.93$ ) et la morphologie des graines ( $r = -0.91$ ). Par conséquent, il exprime bien le degré de la malformation des graines.

#### 1) Les combinaisons C5xW6

Les graines issues des croisements C5x et des autofécondations (C5s) ont une morphologie normale, une très bonne germination et des poids de 1000 grains équivalents. Ces familles sont distribuées dans les mêmes classes découpées selon la variable CP1-T (Tableau 2). En revanche, aucun des 20 croisements C5xW6 n'a engendré des graines normales. Il n'y a pas de variabilité dans l'expression de cette incompatibilité, le degré de la malformation étant très important et identique dans tous les croisements C5xW6. Cette malformation ne peut être attribuée à un simple échouage d'autant que les graines témoins et les graines CxW sont développées dans les mêmes conditions de culture sans limitation d'eau. Ce phénomène induit par le pollen sauvage est donc de nature génétique. Des résultats d'étude histologique sur des graines malformées (non publié) ont montré certaines anomalies par rapport aux graines témoins. Deux situations peuvent se présenter et parfois sur un même épi: soit il y a arrêt précoce du développement de la graine (avortement), soit la graine poursuit son développement. Dans ce deuxième cas, on observe à différents stades une dégénérescence de l'albumen au voisinage de l'embryon. Ce dernier, isolé du reste de la graine et par conséquent exposé à un dessèchement rapide, finit par dégénérer. En outre, l'amidon accumulé en faible quantité est constitué de grains d'amidon immatures. L'importance de ces anomalies peut varier en fonction du mil cultivé utilisé comme femelle.

#### 2) Comparaison globale des croisements

Pour vérifier la réussite des croisements CxW, les graines issues de ces croisements ont été semées aux champs. La levée a été très mauvaise à cause de la malformation des graines. Toutes les plantes observées sont de vrais hybrides cultivé x sauvage y compris celles provenant des graines CxW normales. Ces dernières ne sont donc pas issues de croisements CxW ratés (autofécondation accidentelle) mais de couples de mils cultivé et sauvage compatibles.

Les observations faites sur les graines CxW montrent que tous les pollens utilisés peuvent induire cette malformation. On n'observe aucune différence entre les mils sauvages sympatriques des mils cultivés et ceux de la zone pastorale. D'autre part, cette incompatibilité post-zygotique a été observée chez toutes les femelles cultivées conf. C4

Comme les moyennes et les variances de ces trois familles sur cette variable ne sont pas statistiquement différentes, une variance erreur commune à tous les croisements sur femelle cultivée a été estimée:  $s^2 = 0.21$  avec 23 degrés de liberté. Cette variance erreur a permis d'estimer à 2.5 % la probabilité pour un croisement CxC d'être situé dans une classe inférieure à 15 ; c'est dire que tous les croisements CxW situés dans les classes de 1 à 14 peuvent être considérés anormaux. Seuls 18 croisements CxW sur 123 (environ 15 %) semblent normaux (tableau 4). Ces couples normaux sont apparus du côté femelle aussi bien dans les mils cultivés de l'Afrique de l'Ouest qui sont sympatriques des mils sauvages (C1, C2, et C3) que dans les mils cultivés de l'Afrique australe (C13, C14, et C15) éloignés géographiquement des mils sauvages; du côté mâle, on trouve à la fois des mils sauvages de zones pastorales (W2, W6 et W10) et ceux de zones agricoles (W1, W3, W4, W5, et W11).

La distance enzymatique entre couples de mils cultivé-sauvage, estimée sur la base des fréquences alléliques de 12 loci codant pour 8 systèmes enzymatiques, n'est pas significativement corrélée ( $r=0.168$ ) avec la malformation des graines. D'autre part cette malformation n'a jamais été observée entre mils cultivés bien que les distances entre mils cultivées peuvent être aussi importante que celles entre mils cultivés et sauvages (Tableau 3). Cette divergence génétique est donc insuffisante pour expliquer cette incompatibilité post-zygotique.

**Tableau 2**

Distribution des fréquences des familles C5s, C5x, and C5xW6 dans les classes découpées sur la variable CP1-T.

FAMILLES	CLASSES de CP1 - T																				
	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21					
C5s													1	1	3						
C5x											1	1	0	1	1	1					
C5xW6	4	3	7	4	1	1															

N	PHENO	P1000	GERM	CP1-T
5	1	6.36 (1.1)	0.93 (0.04)	0 (0.26)
5	1	7.66 (1.3)	0.85 (0.19)	-0.22 (0.48)
20	3	4.06 (0.7)	0.36 (0.10)	-2.84 (0.33)

Moyennes et écart-types (entre les parenthèses) pour les 3 variables d'origine et CP1-T .

N = nombre de croisements

### 3) Résultats de l'analyse de variance

Les échantillons utilisés dans cette analyse figurent dans le tableau 1. Malgré l'absence de répétitions, la variance erreur estimée sur l'ensemble des familles Cs, Cx, et CxC a permis de tester les effets femelles, mâles et d'interactions (tableau 4). Tous ces effets sont significatifs mais les effets femelles sont beaucoup plus importants que les effets mâles et d'interactions. Les différences entre mils cultivés ne permettent de distinguer des groupes bien définis d'incompatibilité au pollen sauvage, c'est un continuum (tableau 5). Cependant ceux qui réagissent fortement au pollen sauvage sont les tardifs du Togo (C10) et du Niger (C9), et les précoces du Niger, du Soudan et du Tchad (C4, C11, et C12 respectivement). Leurs graines CxW germent entre 1 et 25 % soit 73 à 92 % de baisse de qualité par rapport à celles du témoin. Les autres mils cultivés tolèrent mieux le pollen sauvage, cependant leurs graines CxW sont de qualité significativement inférieure aux graines témoins. Les différences sont moins marquées entre les échantillons de mils sauvages. Le mil sauvage soudanais (W11) est le plus compatible tandis que ceux du Tchad (W9 et W10) induisent le maximum de malformation (tableau 6). Le cas de W9 et W10 est une preuve que l'effet sauvage n'apparaît pas lié à la situation de sympatrie avec les mils cultivés. L'existence des couples cultivé-sauvage compatibles pourrait s'expliquer par ces effets d'interactions (tableau 4) ou par une variabilité au sein des mils cultivés et sauvages.

**Tableau 3**  
Distribution des fréquences des familles Cs, Cx, CxC, et CxW dans les classes découpées sur la variable CP1-T.

FAMILLES	CLASSES POUR CP1-T																						
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
Cs																3	1	3	1	3	5	2	1
Cx																1	1	2	1	1	1		
CxC															2	0	0	0	3	4	3	1	
CxW	4	8	9	5	11	10	4	12	8	7	6	7	5	4	4	7	1	2	1	1	1	1	

N	PHENO	P1000	GERM	CP1-T	D
19	1	7.6 (2.6)	0.89 (0.08)	0 (0.3)	
7	1	8.02 (1.2)	0.89 (0.17)	-0.24 (0.4)	
13	1	8.59 (2.4)	0.87 (0.12)	0.047 (0.5)	0.07 (0.04)
123	2.46 (0.7)	5.35 (2.29)	0.36 (0.31)	-2.55 (1.3)	0.09 (0.05)

Moyennes et écart-types (entre parenthèses) pour les 3 variables d'origine CP1-T et D. distance de Nei entre les parents utilisés dans les croisements. N= nombre de croisements

### B - Les croisements "sauvage x cultivés" (WxC) et "sauvage x sauvage" (WxW)

Les échantillons de mils utilisés dans ces croisements sont donnés dans le tableau 1. Tous ces croisements ont donnés des graines d'aspect normal (tableau 7). Les deux variables P1000 et GERM ont été ajustées par rapport à leur témoin sous la forme P1000/T et GERM/T. Le témoin T est calculé pour chaque femelle sauvage comme la moyenne de tous les croisements Wx. On constate que seul le poids des graines montre une différence significative entre les deux types de croisements (tableau 7). Une baisse de 33 % en moyenne du poids des graines est observée suite à la fécondation par le pollen cultivé. Cette diminution de la taille des graines WxC est sans effet sur la viabilité des graines.

**Tableau 4**  
ANOVA à 2 facteurs sur la variable CP1-T

Source de variation	SS	df	MS	F	Probabilité
Total	179.89	93	1.93		
Famille cultivée	101.92	11	9.27	44.11	0.00
Mâle sauvage	7.71	7	1.07	5.09	0.01
Interaction	70.51	75	0.94	4.28	0.01
Variance erreur	4.82	23	0.21		

**Tableau 5**

ANOVA à 2 facteurs : moyennes des croisements CxW réalisés sur le même parent C pour les 3 variables d'origine et CP1-T.

CODE	PHENO	P1000	GERM	CP1-T / T	CP1-T*	
C6	2	8.95	0.62	19.35	-0.90	a
C15	2	4.89	0.55	29.82	-1.36	a b
C13	2.38	4.35	0.35	34.65	-1.58	a b
C2	2.25	7.19	0.45	37.30	-1.70	a b
C16	2.75	8.16	0.67	44.10	-2.01	a b
C3	2	6.9	0.53	49.56	-2.26	b c
C1	2.25	5.41	0.51	51.53	-2.35	b c d
C12	3	3.89	0.11	73.46	-3.35	c d e
C9	3	5.71	0.25	75.58	-3.46	c d e
C11	2.88	3.15	0.05	77.41	-3.53	d e
C4	2.75	3.89	0.13	81.14	-3.70	d e
C10	3	5.65	0.01	92.32	-4.21	e

\*: les moyennes de CP1-T marquées par la même lettre alphabétique ne sont pas significativement différentes au seuil 5 %.

CP1-T/T : diminution relative de la qualité des graines CxW par rapport au témoin.

## IV - DISCUSSION

L'incompatibilité post-zygotique mise en évidence dans les combinaisons cultivés x sauvage est généralisée à l'échelle des mils cultivés. On s'aperçoit que 85 % des 123 croisements entre les sous-espèces *glaucum* et *monodii* donnent des graines malformées indépendamment des distances géographique et génétique entre les parents. D'autre part, elle n'a jamais été observée dans les croisements au sein de la même sous espèce ni dans les croisements *monodii* x *glaucum*.

Tableau 6

ANOVA à 2 facteurs : moyennes des croisements C x W réalisés avec le même parent mâle W pour les 3 variables d'origine et CP1-T.

CODE	PHENO	P1000	GERM	CP1-T*	
W11	2.16	6.06	0.53	-2.01	a
W1	2.33	6.02	0.40	-2.34	a b
W5	2.36	5.54	0.38	-2.41	a b
W4	2.42	5.88	0.38	-0.47	a b
W2	2.58	5.88	0.33	-2.58	a b
W6	2.58	5.76	0.35	-2.67	a b
W9	2.58	5.36	0.25	-2.84	b
W10	2.75	4.96	0.29	-2.96	b

\*: les moyennes de CP1-T marquées par la même lettre alphabétique ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 %.

Tableau 7

Comparaison des W x W et W x C. N = nombre de croisements. Ecart-types entre parenthèses.

CROISEMENT	N	PHEN O	P1000	P1000 / T	GERM	GERM / T
W x W	27	1	2.17 (0.67)	0.99 (0.19)	0.53	0.99 (0.35)
W x C	13	1	1.44 (0.49)	0.66 (0.14)	(0.21)	1.07 (0.49)



croisements inter spécifiques entre *P. glaucum* x *P. sp* (Dujardin et Hanna, 1989), et pourtant le phénomène existe à l'échelle intra spécifique. Une première raison à cela est l'utilisation du mil sauvage comme parent femelle dans les croisements entre les deux formes: les graines "sauvage x cultivé" sont légèrement plus petites mais parfaitement viables par rapport aux graines de mil sauvage et donnent des plantes fertiles (Bilquez et Lecomte 1969, Belliard *et al.* 1980, Pernès *et al.* 1980). La deuxième raison tient compte de l'existence de mils cultivés compatibles avec certains mils sauvages. Brunken (1977) a utilisé un cultivar proche de notre échantillon bostwanais (C14) qui s'est montré compatible, de même que Marchais et Tostain (1985) ont obtenu des graines normales avec Thiotandé, cultivar sénégalais cultivé en contre saison en l'absence des mils sauvages.

Enfin, si le degré de la malformation des graines "cultivé x sauvage" est faible, leur germination n'est pas sérieusement affectée pour que cela puisse être signalé par les auteurs (Niangado, 1981, Rey Herme 1982, Joly-Ichenhauser, 1984, Dujardin et Hanna, 1989, Robert *et al.* 1991, Mohindra et Minocha, 1991). Dans ce cas, un effet du milieu peut probablement jouer, les conditions naturelles au Niger doivent être plus favorables à l'expression de cette malformation que les conditions douces en serres dans lesquelles certains auteurs ont travaillé.

Cette incompatibilité post-zygotique élimine la presque totalité de la descendance de certains couples cultivé-sauvage à la germination (en moyenne 63 % sur l'ensemble des mils cultivés). Les conséquences seraient plus importantes si les tests de germination avaient été réalisés en plein champ. Dans ces conditions, il est probable que même les petites graines "sauvage x cultivé" aient une valeur sélective négative. En effet, les grosses graines germent plus vite que les petites graines et donnent des plantules plus vigoureuses (Zhang et Maun, 1990) qui survivent plus longtemps dans les milieux pauvres (Krannitz *et al.*, 1991).

Cette malformation des graines CxW ainsi que ces petites graines WxC contribuent certainement au maintien de l'intégrité des types botaniques sauvage et cultivé comme l'ont montré Tostain (1992) et Marchais et Tostain (1992) en situation de sympatrie. Cette légère barrière à la reproduction, issue du processus de la domestication, apparaît comme un marqueur des sous-espèces botaniques *glaucum* et *monodii* en accord avec la taxonomie de Brunken (1977). La domestication apparaît alors comme un mécanisme de spéciation (Pernès, 1985).

## Remerciements

Nous remercions S. Tostain, J.F. Renno, et G. Bezançon pour la correction du manuscrit.

## BIBLIOGRAPHIE

- BELLIARD (J.), NGUYEN VAN (E.) et SANDMEIER (M.), 1980. Analyse des relations génétiques entre formes spontanées et cultivées chez le mil à chandelle. I. Etude des parents et des hybrides de première génération (F1) entre un écotype de *P.mollissimum* et différentes formes cultivées de *P. americanum* Ann. Amélior. Plantes 30 (3): 229-251.
- BILQUEZ (A.F.) et LECOMTE (J.), 1969. Relation entre mils sauvages et cultivés: Etude de l'hybride *Pennisetum typhoides* stapf et Hubb. x *Pennisetum violaceum* L. (Rich) Agronomie Tropicale. 24 (3): 249-257
- BRUNKEN (J.N.), 1977. A systematic study of *Pennisetum* sect. *Pennisetum* (Gramineae). Amer.J..Bot. 64 (2): 161-176.
- DUJARDIN (M.) and HANNA (W.W), 1989. Crossability of Pearl Millet with wild *Pennisetum* species. Crop science 29 : 77-80.
- JOLY-ICHENHAUSER (H.), 1984. Héritéité du syndrome de domestication chez le mil *Pennisetum typhoides* BURN, STAPF et HUBB : Etude comparée de descendances (F2 et retrocroisements) issues croisements entre plusieurs géniteurs cultivés et spontanés. Thèse de 3e cycle, Université de Paris-sud.
- KRANNITZ (P.G.), AARSEN (L.W.), and DOW (J.M), 1991. The effect of genetically based differences in seed size on seedlings survival in *Arabidopsis thaliana* (*Brassicaceae*).Amer.J. Bot. 78 (3) : 446-450.
- LOWE (J.) and NELSON (O.E.), 1946. Miniature seed - A study in the the development of a defective caryopsis in maize. Genetics 31 : 525-533.
- MARCHAIS (L.) and TOSTAIN (S.), 1985. Genetic divergence between wild and cultivated Pearl Millets (*Pennisetum typhoides*). II. Characters of domestication. Z. Pflanzenzüchtg. 95 : 45-261.
- MARCHAIS (L.) and TOSTAIN (S.), 1992. Bimodal phenotypic structure of two wild pearl millet samples collected in an agricultural area. Biodiversity and Conservation 1 : 170-178.
- MOHINDRA (V.) and MINOCHA (J.L.), 1991. Pollen pistil interactions and interspecific incompatibility in *Pennisetum*. Euphytica 56 : 1-5.
- NEUFFER (M.G.) and SHERIDAN (W.F.), 1980. Defective kernel mutants of maize. I. Genetic and lethality studies. Genetics 95 : 929-944.
- NIANGADO (O.) 1981. Utilisation des retrocroisements chez le mil (*Pennisetum americanum*). Thèse de 3e cycle en amélioration des plantes, Université Paris XI, Orsay.
- PERNÈS (J.), 1986. L'allogamie et la domestication des céréales: l'exemple du maïs (*Zea mays* L.) et du mil (*Pennisetum americanum* L.) K.Schum. Bull. Soc. bot. fr., Actual. bot., 1 : 27-34.

- PERNÈS (J.), NGUYEN VAN (E.), BENINGA (M.B.) et BELLIARD (J.), 1980. Analyse des relations génétiques entre formes spontanées et cultivées chez le mil à chandelle. II. Etudes de 3 familles F2 issues d'hybrides entre une plante d'un écotype de *P. mollissimum* et 3 lignées de mil cultivé *P. americanum*. Ann. Amélior. Plantes, 30 : 253-269.
- REY-HERME (C.), 1982. Les relations génétiques entre formes spontanées et cultivées chez le mil. Thèse de 3e cycle, Université Paris XI, Orsay.
- ROBERT (T.), LESPINASSE (R.), PERNÈS (J.), and SARR (A), 1991. Gamétophytique competition as influencing gene flow between wild and cultivated forms of pearl millet (*Pennisetum typhoides*). Genome 34 : 195-200.
- TOSTAIN (S.), 1992. Enzyme diversity in pearl millet (*Pennisetum glaucum* L.). III. Wild millet. Theor. Appl. Genet. 83 : 733-742.
- TOSTAIN (S.) and MARCHAIS (L.), 1989. Enzyme diversity in pearl millet (*Pennisetum glaucum*) 2. Africa and India. Theor Appl Genet 77: 634-640.
- ZHANG (J.), and MAUN (M.A.), 1990. Seed size variation and its effects on seedling growth in *Agropyron psammophilum*. Bot Gaz. 151 (1) : 106-113.