



National Research
Council Canada

Conseil national
de recherches Canada

552

Canada

Reprinted from

Recup B 45

Réimpression du

Canadian
Journal of
Genetics and
Cytology

Journal
canadien de
génétique et de
cytologie

Mise en évidence d'une liaison génétique entre un
gène de nanisme et des marqueurs enzymatiques
chez le mil pénicillaire (*Pennisetum glaucum* L.)

S. TOSTAIN

Volume 27 • Number 6 • 1985

Pages 751–758

Fonds Documentaire IRD

Cote : Bx 22740 Ex : *recup*

Fonds Documentaire IRD



010022740



Mise en évidence d'une liaison génétique entre un gène de nanisme et des marqueurs enzymatiques chez le mil pénicillaire (*Pennisetum glaucum* L.)

SERGE TOSTAIN

Laboratoire de génétique, Institut français de recherche scientifique pour le développement en coopération (ORSTOM),
B.P. 11416, Niamey, Niger

Éditeur de correspondance: J. Kuspira

Reçu le 1^{er} mars 1985

Accepté le 19 juillet 1985

TOSTAIN, S. 1985. Mise en évidence d'une liaison génétique entre un gène de nanisme et des marqueurs enzymatiques chez le mil pénicillaire (*Pennisetum glaucum* L.). *Can. J. Genet. Cytol.* **27**: 751–758.

La liaison génétique entre le gène de nanisme *D2* et sept loci codant pour les isoenzymes d'une alcool déshydrogénase (*Adh A*), d'une estérase (*Est A*), d'une malate déshydrogénase (*Mdh D*), d'une peroxydase cathodique (*Pec A*), de la phosphoglucoisomérase (*Pgi A*), d'une phosphoglucomutase (*Pgm A*) et de la shikimate déshydrogénase (*Skdh A*) a été testée dans les descendances de trois croisements entre des lignées de taille normale et une lignée naine de mil pénicillaire (*Pennisetum glaucum* L.). Les plantes ont été classées en naines et normales par une analyse discriminante portant sur 16 caractères morphologiques liés à leur architecture. Les proportions mendéliennes sont respectées pour tous les loci. Une liaison a été mise en évidence entre loci d'isoenzymes, soit entre *Pgi A* et *Pgm A* (4 ± 4 centimorgans (cM)) et entre *Skdh A* et *Adh A* (11 ± 7 cM). Une autre liaison a été observée entre *D2* et *Skdh A* (9 ± 5 cM) et entre *D2* et *Adh A* (17 ± 8 cM). L'ordre des trois loci liés est *Adh A* – 11 cM – *Skdh A* – 9 cM – *D2*. La liaison entre *D2* et les allèles codominants de *Skdh A* doit faciliter le repérage précoce des plantes et la création rapide de lignées isogéniques naines et normales à partir de n'importe quel cultivar.

Mots clés: isoenzymes, groupes de liaison, sélection précoce.

TOSTAIN, S. 1985. Mise en évidence d'une liaison génétique entre un gène de nanisme et des marqueurs enzymatiques chez le mil pénicillaire (*Pennisetum glaucum* L.). *Can. J. Genet. Cytol.* **27**: 751–758.

The genetic linkage relations between the dwarfing (*D2*, *d2*) and seven enzymic marker genes were evaluated in three crosses between semidwarf and normal inbred lines of pearl millet (*Pennisetum glaucum* L.). The seven genes code for the following isoenzymes: alcohol dehydrogenase (*Adh A*), esterase (*Est A*), malate dehydrogenase (*Mdh D*) cathodic peroxydase (*Pec A*), phosphoglucoisomerase (*Pgi A*), phosphoglucomutase (*Pgm A*), and shikimate dehydrogenase (*Skdh A*). Semidwarf and normal plants were identified by a discriminant analysis based on 16 morphological height components. Mendelian segregations have been observed for all eight genes. Linkage was shown between *Pgi A* and *Pgm A* (4 ± 4 centimorgans (cM)), between *Skdh A* and *Adh A* (11 ± 7 cM), between *D2* and *Skdh A* (9 ± 5 cM) and between *D2* and *Adh A* (17 ± 8 cM). The latter three genes are linked in the following order: *Adh A* – 11 cM – *Skdh A* – 9 cM – *D2*. The linkage between the recessive dwarfing gene (*d2*) and the codominant *Skdh A* alleles will help in the creation of isogenic semidwarf lines of cultivars. It is highly probable that the *D2d2* genotype could be separated from the *D2D2* genotype.

Key words: isozymes, linkage groups, early selection.

Introduction

Le mil pénicillaire, *Pennisetum glaucum* L. (= *Pennisetum typhoides* (Burm) Stapf et Hubb., = *Pennisetum americanum* (L.) Leake) est une graminée annuelle cultivée comme céréale ou comme fourrage en Afrique tropicale et en Inde, dans des zones arides aux sols pauvres. Dans la partie ouest de l'Afrique, la surface occupée par cette céréale est estimée à 110 000 km² et le rendement moyen, à seulement 0,6 t/ha (Lambert 1983). Les rapports grain/paille d'environ 0,25 pour les mils précoces, de 0,16 (Lambert 1983) ou 0,12 (Jacquinot 1972) pour les mils tardifs, sont très faibles comparativement aux autres céréales.

Un des objectifs de la sélection du mil a été, depuis 1968 en Afrique de l'Ouest, de diminuer la quantité de paille par la réduction de la hauteur des plantes tout en conservant les qualités de rusticité des variétés locales traditionnelles (Étasse 1972; Jacquinot 1972).

Des gènes contrôlant la taille des premiers entrenœuds des tiges ont été mis en évidence dans des lignées de mils fourragers (Burton et Fortson 1966). Depuis lors, un de ces gènes de nanisme, *D2* (*d2d2* étant le génotype nain récessif), a été utilisé par de nombreux sélectionneurs (Lambert 1983). L'ICRISAT (International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropic) continue à s'intéresser à ce type de plantes naines (Anonyme 1983).

Les premiers tests ont montré l'absence d'effets pléiotropiques de *D2* sur la fertilité ainsi que la possibilité de trouver des recombinants intéressants pour une utilisation agronomique (Thakare et Murty 1972). Mais des lignées isogéniques naines et normales sont nécessaires pour conclure définitivement à l'intérêt réel du gène *D2* en sélection (Chanterau et Arnaud 1981).

Les contraintes dues à la récessivité de *D2* ne permettent pas de réaliser rapidement ces lignées par des séries

de rétrocroisements sur les lignées de taille normale. Le but de cette étude a été la recherche de marqueurs précoces monogéniques, aux allèles codominants, liés génétiquement au gène *D2* et qui permettent de reconnaître le génotype *D2d2* avec une forte probabilité de succès.

Mis en évidence par l'électrophorèse monodimensionnelle sur gel d'amidon et de polyacrylamide, les marqueurs enzymatiques ont souvent ces caractéristiques; leur expression est par ailleurs indépendante des conditions de culture, contrairement aux marqueurs morphologiques.

La liaison entre des marqueurs enzymatiques et le gène *D2* a donc été testée dans les descendance de trois croisements entre des lignées de taille normale et une lignée naine. Sept enzymes présentant une variabilité dans ces lignées ont été considérées: l'alcool déshydrogénase (ADH), l'estérase (EST), la malate déshydrogénase cathodique (MDH), la peroxydase cathodique (PEC), la phosphoglucoisomérase (PGI), la phosphoglucomutase (PGM) et la shikimate déshydrogénase (SKDH). La génétique des ADH, EST, MDH cathodique, PGI et PGM est déjà connue (Banuett-Bourrillon et Hague 1979; Sandmeier et al. 1981; Leblanc et Pernes 1983; Tostain et Riandey 1984, 1985). Le contrôle génétique des deux autres enzymes (PEC et SKDH) sera déterminé au cours de l'étude.

Matériel et méthodes

Matériel végétal

Cinq lignées fixées par autofécondation ont été utilisées.

(i) Deux lignées naines (génotype *d2d2*) sélectionnées à Tifton (États-Unis): 23d2B1 et 23d2A1, respectivement mâle fertile et mâle stérile. Celles-ci ne diffèrent que par leur cytoplasme (stérilisé mâle cytoplasmique du type A1).

(ii) Trois lignées de taille moyenne (génotype *D2D2*): Massue, mil d'origine mauritanienne; J 104, mil d'origine indienne; Violaceum, lignée 76-21 issue d'un mil spontané d'origine sénégalaise appartenant à la sous-espèce *P. glaucum violaceum*.

Trois croisements ont été effectués à partir de ces lignées: 23d2B1 × Massue, 23d2A1 × J 104 et 23d2A1 × Violaceum.

Les observations ont été faites sur les descendance du premier croisement de retour (BC_1) sur 23d2B1 ou 23d2A1 et sur la descendance F_2 de 23d2A1 × Violaceum. Au cours de l'été 1983, environ cent plantes issues des deux premiers rétrocroisements ont été mises en culture en serres tropicalisées à Bondy (France), sans induction artificielle de la floraison. Quarante plantes F_2 et 60 plantes du BC_1 direct et réciproque du troisième croisement ont été mises en culture au cours de la même année, après induction artificielle de la floraison par des traitement en jours courts. Les plantes mâles fertiles ont été autofécondées et les graines récoltées.

Mise en évidence du gène *D2*

L'expression du nanisme a été observée sur 16 caractères morphologiques liés à l'architecture des plantes: hauteur de la

tige de la talle principale (en centimètres); longueur des 11 premiers entre-noeuds à partir du collet de la talle principale (en millimètres); longueur du pédoncule floral de la talle principale porteur du faux épi (en millimètres); nombre total d'entre-noeuds de la tige principale; nombre total de faux épis; longueur du faux épi de la tige principale (en centimètres).

Des fonctions discriminantes ont été établies à partir de certains de ces caractères (différents suivant les croisements mais corrélés) grâce à une analyse discriminante (AD) itérative traitée par l'informatique suivant le programme P7M de Jenrich et Sampson (BMDP). Les plantes de chaque descendance ont été séparées en deux groupes (plantes naines et normales) d'après les valeurs de ces fonctions.

Électrophorèse

Extraits

Cinq enzymes ont été étudiées à partir d'extraits bruts de protéines solubles de jeunes feuilles prélevées sur des plantules âgées de 3 semaines environ: la malate déshydrogénase cathodique (MDH), une peroxydase cathodique (PEC), la phosphoglucoisomérase (PGI), une phosphoglucomutase (PGM) et la shikimate déshydrogénase (SKDH).

Une alcool déshydrogénase (ADH) et une estérase (EST) ont été étudiées sur graines sèches; afin de connaître le phénotype et le génotype correspondant de chaque plante mère, plusieurs graines issues d'autofécondation des plantes BC_1 de 23d2A1 × J 104 et de 23d2A1 × Violaceum ont été broyées ensemble dans un mortier, et les protéines solubles extraites par du Tris-HCl 0,2 M, pH 8,5. Les EST des plantes mâles stériles ont été observées sur feuille.

Électrophorèse sur gel d'amidon

Les isoenzymes des six enzymes (ADH, MDH, PEC, PGI, PGM, SKDH) ont été séparés sur gels d'amidon par une électrophorèse monodimensionnelle horizontale dans un système discontinu de tampon (Tostain et Riandey 1984, 1985).

Pour PGI, PGM et SKDH, le pH des deux tampons de gel et de bac était de 8. Pour MDH et PEC, le pH des deux tampons était de 6.

Les isoenzymes ADH ont des mobilités relatives variables suivant le pH des tampons de gel et de bac: dans le croisement 23d2A1 × J 104, les ADH ont été séparées à pH 8 (à pH 6, les électromorphes sont confondus), tandis que dans le croisement 23d2A1 × Violaceum, les ADH de chaque plante ont été séparées à pH 6.

Électrophorèse sur gel de polyacrylamide

Seules les estérases carboxyliques ont été séparées sur gel de polyacrylamide par une électrophorèse monodimensionnelle verticale dans un système discontinu de tampon (Maurer 1971; Tostain et Riandey 1984).

Révélation enzymatiques

Les alcool déshydrogénases (EC 1.1.1.1), phosphoglucoisomérases (EC 5.3.1.9) et phosphoglucomutases (EC 2.7.5.1) ont été révélées suivant les méthodes de Brewer (1970). Le mélange des substrats de PGI et PGM permet la révélation simultanée des deux enzymes sur un même gel; les isoenzymes ont des distances de migration différentes vers l'anode.

La révélation des malate déshydrogénases (EC 1.1.1.37) et des estérases (EC 3.1.1.1) a été effectuée selon Shaw et

TABLEAU 1. Caractéristiques de certains marqueurs enzymatiques du mil utilisés dans cette étude

Enzyme	Organe	Structure quaternaire	Gènes (nombre)	Nomenclature adoptée	Action	Référence
ADH	Graine	Dimère	2	<i>Adh A</i> <i>Adh B</i>	Codominance	Banuet-Bourrillon et Hague 1979
β -EST	Graine, feuille	Dimère	1	<i>Est A</i>	Codominance	Sandmeier et al. 1981 Tostain et Riandey 1984
MDH cathodique	Feuille	Dimère	1	<i>Mdh D</i>	Codominance	Tostain et Riandey 1985
PGI	Graine, feuille	Dimère	1	<i>Pgi A</i>	Codominance	Leblanc et Pernes 1983
PGM	Graine, feuille	Monomère	1	<i>Pgm A</i>	Codominance	Leblanc et Pernes 1983

TABLEAU 2. Valeurs moyennes, chez les plantes naines et normales, des principaux caractères ayant servis à l'établissement des fonctions discriminantes. Les valeurs entre parenthèses sont les coefficients de variation

Croisement	Caractère	Plantes naines (<i>d2d2</i>)	Plantes normales (<i>D2D2</i> et <i>D2d2</i>)
23d2A1 \times (23d2B1 \times Massue)	Hauteur		
	6 ^e entre-noeud (mm)	27,0 (0,60)	112,4 (0,29)
	Totale (cm)	124,6 (0,19)	256,3 (0,35)
23d2A1 \times (23d2A1 \times J 104)	Hauteur		
	5 ^e entre-noeud (mm)	57,0 (0,55)	143,0 (0,16)
	7 ^e entre-noeud (mm)	78,0 (0,40)	163,5 (0,13)
	Totale (cm)	165,6 (0,52)	218,2 (0,10)
23d2A1 \times Violaceum, F2	Hauteur		
	2 ^e entre-noeud (mm)	1,6 (0,98)	7,3 (0,34)
	Totale (cm)	93,8 (0,11)	126,6 (0,18)
(23d2A1 \times Violaceum) \times 23d2B1 et 23d2A1 \times (23d2A1 \times Violaceum)	Hauteur		
	3 ^e entre-noeud (mm)	4,3 (0,43)	10,9 (0,21)
	Totale (cm)	96,8 (0,13)	127,5 (0,10)

Prasad (1970). Seuls les isoenzymes plus actifs avec le β -naphthyl acétate (après mélange des deux isomères du substrat des estérases, α - et β -naphthyl acétate) ont été considérés dans cette étude.

La méthode de révélation des peroxydases cathodiques (EC 1.11) est celle de Graham et al. (1965), tandis que la méthode de révélation des shikimate déshydrogénases (EC 1.1.1.25) est tirée de Tanksley et Rick (1980). L'intensité des bandes de peroxydase est variable suivant l'âge et l'état physiologique des plantules: seule la présence de bande est notée.

Déterminisme génétique, nomenclature et liaison

Par rapport au point de dépôt des échantillons sur le gel, il a été convenu d'appeler les isoenzymes "anodiques" ou "cathodiques", selon qu'ils migrent vers l'anode ou vers la cathode. Les isoenzymes des ADH, EST, PGI, PGM et SKDH sont anodiques. Nous avons considéré uniquement les isoenzymes cathodiques des MDH et des PEC. L'anode est située systématiquement vers le haut des schémas et des photos.

Les interprétations génétiques (déterminisme génétique ou liaison génétique) ont été faites à partir des zymogrammes d'hybrides F₁, de leurs descendances après autofécondation (F₂) et des descendances du premier rétrocroisement (BC₁). Le déterminisme génétique et les caractéristiques de plusieurs

isoenzymes sont connus (tableau 1). La nomenclature a consisté à noter en italique le nom des gènes de structure codant pour un isoenzyme. Ce nom comprend l'abréviation de l'enzyme dont la lettre initiale seulement garde la majuscule (*Adh*, par exemple), et une lettre majuscule désignant le gène nucléaire (*Adh A*). Des chiffres, liés à la distance de migration des allozymes, désignent les différentes formes alléliques observées sur une collection d'échantillons de mil pénicillaire d'Afrique de l'Ouest (Tostain et Riandey 1984, 1985).

Les distances entre loci ont été estimées suivant Allard (1956). Une autre étude (L. Marchais et S. Tostain, à paraître) a montré une indépendance entre les gènes de restauration de la stérilité mâle cytoplasmique de type A1 (lignée 23d2A1) et le gène de nanisme D2. Ceci a permis de déterminer la liaison entre le gène codant ADH A et le gène de nanisme à partir des seules plantes mâles fertiles ayant produit des graines en autofécondation.

Résultats

Mise en évidence du nanisme, résultats des analyses discriminantes

Dans le rétrocroisement 23d2A1 \times (23d2B1 \times Massue), les caractères qui ont permis d'établir la fonc-

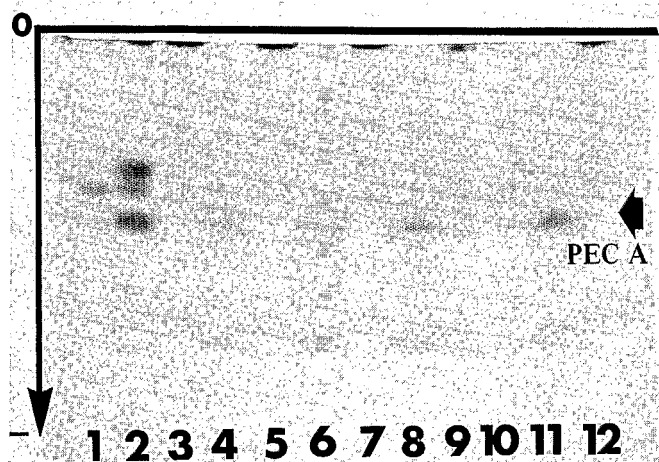


FIG. 1. Peroxydases cathodiques de 23d2B1 ou 23d2A1 (zymogrammes 3, 5, 7, 12), Massue (zymogrammes 4, 6, 8, 11) et de la F_1 23d2B1 \times Massue (zymogrammes 1, 2, 9, 10). La cathode est située vers le bas de la photo.

tion discriminante sont la hauteur des plantes et la longueur du sixième entre-noeud (tableau 2). La discrimination aboutit à 48 plantes naines et 51 plantes normales.

Les caractères discriminants du deuxième croisement, 23d2A1 \times (23d2A1 \times J 104), sont les longueurs des cinquième et septième entre-noeuds ainsi que la hauteur totale de la tige principale (tableau 2). La classification suivant les valeurs de cette fonction a eu pour résultat 50 plantes naines et 51 normales.

Dans le troisième croisement, 23d2A1 \times *Viola*, la discrimination des plantes naines a été effectuée séparément: d'une part, sur la descendance F_2 et, d'autre part, sur les plantes issues des deux croisements de retour. La longueur du deuxième entre-noeud et la hauteur de la tige principale sont les caractères discriminants de la F_2 qui ont permis d'isoler 12 plantes naines sur un total de 40 plantes (tableau 2). Dans les deux rétrocroisements, les caractères discriminants ont été la hauteur des plantes et la longueur du troisième entre-noeud. Vingt-huit plantes naines ont été ainsi isolées sur un total de 60. Il est à signaler une forte corrélation entre les longueurs des premiers entre-noeuds. Les longueurs des premiers entre-noeuds sont également corrélées avec la hauteur totale des plantes.

Suivant ces résultats, le nombre de plantes naines obtenu après isolement par les différentes analyses correspond au nombre de plantes naines attendues dans le cas d'un contrôle monogénique: les X^2 calculés par rapport aux proportions mendéliennes 1:1, dans un croisement de retour, et 1:3, dans une F_2 , ne sont pas significatifs. Ceci confirme le déterminisme du nanisme *D2* des lignées 23d2A1 et 23d2B1 (Burton et Fortson 1966). L'allèle récessif est appelé *d2* et l'allèle dominant *D2*.

Le nombre global des entre-noeuds est pratiquement le même dans les plantes naines et normales des différents croisements. Il est intéressant de constater que dans tous les cas la longueur du faux épi et la longueur du pédoncule floral (le dernier des entre-noeuds) ne sont pas modifiées par l'action du gène de nanisme.

Les rapports longueur moyenne du faux épi — hauteur moyenne de la tige principale sont, pour les plantes issues du croisement 23d2B1 \times Massue, de 0,07 (plantes normales) et de 0,12 (plantes naines). La même amélioration n'a pas été observée entre les plantes normales (rapport de 0,10) et les plantes naines (rapport de 0,12) du croisement 23d2A1 \times J 104. La forte variabilité observée autour de la moyenne des hauteurs dans ce dernier croisement est peut-être due à l'action d'autres gènes ou à des interactions avec *D2*.

Déterminisme génétique des marqueurs enzymatiques

Peroxydases cathodiques: mise en évidence d'un gène Pec A

Le zymogramme des peroxydases cathodiques de mil est composé de nombreuses bandes d'intensité de coloration variable. Une seule de ces bandes située au milieu du zymogramme a été étudiée (Fig. 1). La lignée Massue possède une bande dans cette zone du zymogramme tandis que 23d2B1 et 23d2A1 n'en possèdent pas. Les plantes F_1 de 23d2B1 \times Massue ont le même zymogramme que Massue.

Dans la descendance du BC1, un certain nombre de plantes possèdent le zymogramme de type Massue (46 plantes) et d'autres, celui de type 23d2B1 ou 23d2A1 (53 plantes).

Le X^2 calculé par rapport à une proportion mendélienne, dans le cas d'un gène diallélique (1:1), n'est pas significatif au seuil 5% ($X^2 = 0,5$). L'hypothèse d'un

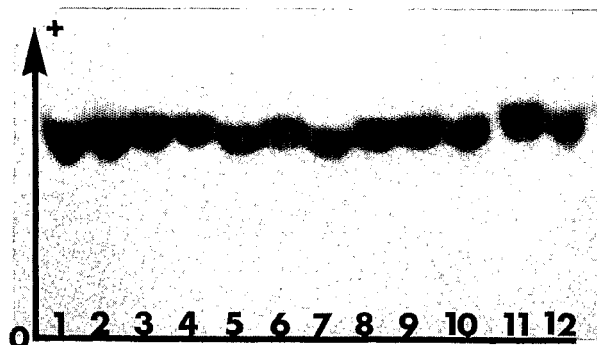


FIG. 2. Shikimique déshydrogénase de 12 plantes issues du rétrocroisement 23d2A1 × (23d2A1 × J 104). L'anode est située vers le haut de la photo.

contrôle de l'expression de cette bande par un gène nucléaire, appelé *Pec A*, et de deux allèles, *Pec A*¹ dominant et *Pec A*⁰ récessif, a été formulée. Les génotypes de 23d2B1 ou 23d2A1, de Massue et des hybrides de ce dernier avec l'une ou l'autre des deux lignées précédentes sont, respectivement, *Pec A*⁰⁻⁰, *Pec A*¹⁻¹ et *Pec A*⁰⁻¹.

Shikimate déshydrogénase: mise en évidence du gène *Skdh A*

Le zymogramme SKDH de mil se compose d'une seule bande sur la partie anodique des gels. Les mobilités relatives des bandes des lignées 23d2B1, 23d2A1 et J 104 sont différentes: la bande de 23d2B1 ou 23d2A1 est moins rapide vers l'anode que celle de J 104.

La descendance du croisement 23d2A1 × (23d2A1 × J 104) présente des plantes ayant deux types de zymogramme SKDH (Fig. 2): un zymogramme de deux bandes de coloration égale (moins intense que l'unique bande des zymogramme de lignées) correspondant au zymogramme de la F1 et un zymogramme composé d'une seule bande dont la mobilité est identique à celle de la bande lente de 23d2B1 ou 23d2A1.

Le nombre de plantes ayant ces phénotypes est respectivement de 48 et 51. Le X² calculé par rapport à la proportion 1:1 n'est pas significatif au seuil 5%. La ségrégation a été supposée celle d'un gène nucléaire, appelé *Skdh A*, et de deux allèles codominants *Skdh A*² et *Skdh A*³ (*Skdh A*¹ a été mis en évidence dans d'autres matériels). Les génotypes de 23d2B1 ou 23d2A1, de J 104 et des hybrides de ce dernier avec l'une ou l'autre des deux lignées précédentes sont, respectivement, *Skdh A*²⁻², *Skdh A*³⁻³ et *Skdh A*²⁻³. Le zymogramme de deux bandes chez l'hybride F₁ indique que l'enzyme active est un monomère.

Zymogrammes et génotypes des différentes lignées

Les marqueurs enzymatiques utilisés dans les tests

TABLEAU 3. Zymogrammes et génotypes correspondants de quatre enzymes des lignées 23d2B1, 23d2A1 et Massue et de leurs hybrides F₁

	Lignées naines (23d2B1, 23d2A1)	F ₁	Lignée normale (Massue)
MDH D			
PEC A			
Pgi A			
Pgm A			

d'indépendance sont différents selon les croisements. Dans le croisement 23d2B1 × Massue, quatre marqueurs enzymatiques, *Mdh D*, *Pec A*, *Pgi A* et *Pgm A* ont été utilisés (tableau 3). Le croisement 23d2A1 × J 104 a permis d'étudier la liaison entre trois autres marqueurs enzymatiques, *Adh A*, *Est A*, *Skdh A* et *D2* (tableau 4). Le croisement 23d2A1 × *Viola* a permis de confirmer les résultats obtenus dans le croisement précédent avec *Adh A* et *D2* (tableau 4).

Pour tous les isoenzymes, les génotypes ainsi que les zymogrammes correspondants des lignées et des hybrides ont été rappelés dans les tableaux 3 et 4.

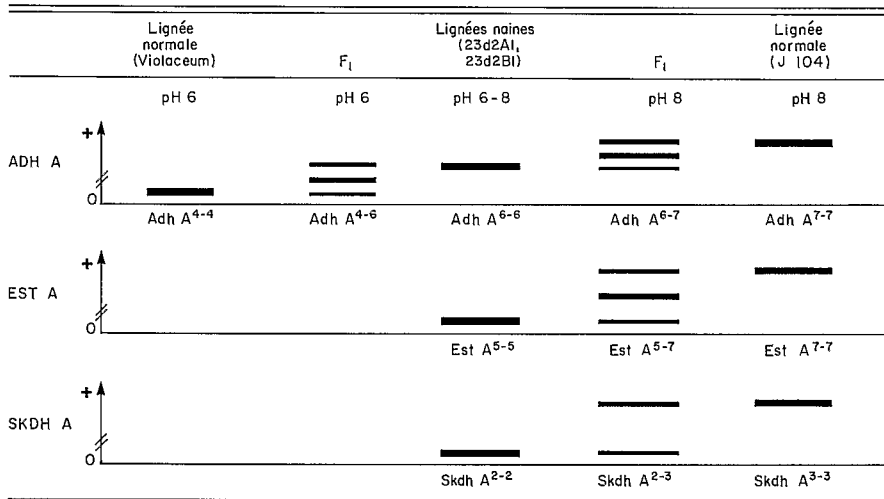
Tests d'indépendance

Liaisons entre loci d'isoenzymes

La ségrégation des allèles de *Adh A*, *Est A*, *Mdh D*, *Pgi A* et *Pgm A*, dont le déterminisme est connu, ne s'écarte pas des proportions Mendéliennes attendues (X² = 1,5 et 0,2 pour *Adh A* et 2,8, 0,8, 3,6 et 1,2 pour *Est A*, *Mdh D*, *Pgi A* et *Pgm A*, respectivement). L'absence de distorsion de ségrégation dans ce matériel permet les tests d'indépendance entre loci d'isoenzymes.

Ces tests (tableau 5) montrent l'indépendance entre *Adh A* et *Est A*, *Mdh D* et *Pec A*, *Mdh D* et *Pgi A*, *Mdh D* et *Pgm A*, *Pec A* et *Pgi A*, *Pec A* et *Pgm A* et entre *Skdh A* et *Est A*.

En revanche, il a été observé une forte liaison entre les deux loci *Pgi A* et *Pgm A* (4 ± 4 centimorgans (cM)) et une liaison moins forte entre *Adh A* et *Skdh A* (11 ± 7 cM).

TABLEAU 4. Zymogrammes et génotypes correspondants de trois enzymes des lignées 23d2B1, 23d2A1, J 104 et Violaceum et de leurs hybrides F₁ (lignée naine × lignée normale)TABLEAU 5. Valeurs des X² testant l'indépendance entre loci d'isoenzymes

	Croisement				
	23d2B1 × Massue			23d2A1 × J 104	
	<i>Pec A</i>	<i>Pgi A</i>	<i>Pgm A</i>	<i>Adh A</i>	<i>Skdh A</i>
<i>Mdh D</i>	0,7	1,3	1,5	—	—
<i>Pec A</i>		0,3	1,1	—	—
<i>Pgi A</i>			83,7**	—	—
<i>Est A</i>				1,4	0,5
<i>Adh A</i>					40,5**

NOTA: **, X² significatif au seuil 1%.

Liaisons entre loci d'isoenzymes et le gène de nanisme

Les tests X² (tableau 6) montrent une indépendance entre la ségrégation des allèles de *D2* et celle des quatre loci d'isoenzymes pouvant être mis en évidence dans le croisement 23d2B1 × Massue. De même le X² testant l'indépendance des gènes *D2* et *Est A* dans le croisement 23d2A1 × J 104 n'est pas significatif.

En revanche les deux X² testant l'indépendance des ségrégations des allèles de *Adh A*, *Skdh A* et *D2* sont significatifs au seuil 1%. La liaison entre *Adh A* et *D2* est estimée à 14 ± 8 cM et la liaison entre *Skdh A* et *D2* à 9 ± 5 cM.

Les distances *Adh A* - *D2* et *Skdh A* - *Adh A* sont peu différentes (14 et 11 cM, respectivement), compte tenu des intervalles de confiance de chaque estimation. Cette imprécision rend difficile la détermination de l'ordre de ces trois loci.

Dans les générations F₂ et BC₁ du croisement 23d2A1 × Violaceum, la distance entre *Adh A* et *D2* a

été estimée à 18 ± 10 cM. Ce résultat n'est pas différent du précédent; en regroupement ces données avec celles obtenues dans le croisement 23d2A1 × J 104, on a une nouvelle estimation de la liaison *Adh A* - *D2*, soit 17 ± 8 cM.

L'ordre des trois loci dans le groupe de liaison doit donc être: *Adh A* - 11 cM - *Skdh A* - 9 cM - *D2*.

Discussion

Les effets du gène *D2* des lignées 23d2B1 ou 23d2A1 sur plusieurs caractères morphologiques confirment des résultats déjà obtenus (Burton et Fortson 1966). L'architecture des plantes naines est caractérisée par une réduction de la taille des premiers entre-nœuds sans réductions du nombre total des entre-nœuds. Chez les plantes naines issues du croisement 23d2B1 × Massue, l'indice de récolte mesuré ici par le rapport longueur moyenne du faux épi - hauteur moyenne de la tige principale a été nettement amélioré.

Dans les différents croisements, les analyses discriminantes ont séparé, sans ambiguïté, les plantes en deux groupes (naines et normales) suivant les proportions mendéliennes attendues dans le cas d'un gène avec dominance (*D2* et *d2*).

Dans nos conditions de culture en serre, la lignée Massue s'est avérée médiocre restauratrice de la fertilité mâle: dans le BC₁ 23d2A1 × (23d2B1 × Massue), il n'y a pas de plante mâle fertile. En revanche, avec J 104, environ 50% des plantes ont produit des graines en autofécondation, et avec Violaceum, environ 60%. L'absence de liaison entre le nanisme *D2* et les gènes de restauration de la stérilité mâle cytoplasmique *A1* a permis d'analyser la liaison entre *Adh A* et le gène *D2* sur les seules plantes fertiles.

TABLEAU 6. Valeurs des X^2 testant l'indépendance entre loci d'isoenzymes et le gène de nanisme *D2*

Croisement	Loci d'isoenzymes	Génotype	Plantes naines <i>d2d2</i>	Plantes normales <i>d2D2</i>	Test X^2
23d2A1 × (23d2B1 × Massue)	<i>Mdh D</i>	4-4	27	27	0,1
		4-1	21	24	
	<i>Pec A</i>	0-0	26	27	0,0
		0-1	22	24	
	<i>Pgi A</i>	3-3	32	27	1,9
		3-5	16	24	
<i>Pgm A</i>	3-3	28	27	0,3	
	3-1	20	24		
23d2A1 × (23d2A1 × J 104)	<i>Est A</i>	5-5	21	21	0,0
		5-7	29	30	
	<i>Adh A</i>	6-6	34	4	33,9**
		6-7	5	23	
	<i>Skdh A</i>	2-2	46	5	66,8**
2-3		4	44		
(23d2A1 × Violaceum) F ₂	<i>Adh A</i>	6-6	4	1	8,1**
		4-6	3	16	
		4-4	2	6	
23d2A1 × (23d2A1 × Violaceum)	<i>Adh A</i>	6-6	15	3	21,4**
		4-6	2	19	

NOTA: **, X^2 significatif au seuil 1%.

Les tests d'indépendance entre *D2* et l'ensemble des loci d'isoenzymes ont mis en évidence une liaison génétique entre *D2* et deux loci, *Skdh A* et *Adh A*, codant pour deux isoenzymes et suivant l'ordre *Adh A* - *Skdh A* - *D2* · ADH, enzyme active dans les graines sèches, ne permet pas de sélection précoce, alors que la sélection au stade plantule est possible avec SKDH A.

Au cours de cette étude, une forte liaison a été observée entre les loci *Pgi A* et *Pgm A* (distance interloci de 4 ± 4 cM).

Les résultats mettent en évidence quatre groupes de liaison possibles entre les loci: *Pgi A* - *Pgm A*, *Pec A*, *Mdh D* - et *Adh A* - *Skdh A* - *D2*. L'absence de liaison entre *Adh A* et *Pgm A* confirme ces résultats. L'indépendance des loci *Est A* et *Adh A* indique que *Est A* peut être le marqueur d'un cinquième groupe de liaison ou lié à *Mdh D* ou *Pec A*.

Il est à rappeler, par ailleurs, la très forte liaison entre *Adh A* et le deuxième locus dupliqué d'ADH, *Adh B* (Banuett-Bourrillon 1982).

La sélection au stade plantule des génotypes *D2d2* (avant expression du nanisme), à l'aide du gène aux allèles codominants codant SKDH A, doit permettre de réaliser des croisements de retour successifs avec la lignée de taille normale sans perdre l'allèle récessif *d2*. Cette méthode évitera les séries d'autofécondations nécessaires à la vérification de la présence de *d2* chez les plantes de taille normale. L'obtention rapide de nombreuses lignées naines pratiquement isogéniques à

des lignées de taille normale (97% des gènes identiques au quatrième BC) est alors possible.

La comparaison entre ces lignées permettra des études approfondies sur l'action du gène de nanisme *D2* sur l'indice de récolte et vis-à-vis de l'ensemble de la morphogénèse des plantes, notamment, sur les effets de la compétition entre la production de biomasse et le remplissage des grains (Siband 1983).

Les recherches de liaisons génétiques entre loci d'enzymes et des gènes majeurs (Tanksley et al. 1984) codant pour des caractères morphologiques au physiologiques (par exemple, la précocité et la photosensibilité) ne font que commencer; elles compléteront la carte des loci des différents groupes de liaison chez le mil et faciliteront la sélection de cette importante céréale.

ALLARD, R. W. 1956. Formulas and tables to facilitate the calculation of recombination values in heredity. *Hilgardia*, **24**(10): 235-278.

ANONYMOUS. 1983. Annual report 1982-1983. International Crops research Institute for the Semi-arid Tropics. ICRISAT Patancheru P.O., Andhra Pradesh, 502324 India.

BANUETT-BOURRILLON, F. 1982. Natural variants of Pearl Millet (*Pennisetum typhoides*) with altered levels of set II alcohol dehydrogenase activity. *Biochem. Genet.* **20**(3/4): 369-383.

BANUETT-BOURRILLON, F., et D. R. HAGUE. 1979. Genetic analysis of alcohol dehydrogenase isozymes in Pearl

- Millet (*Pennisetum typhoides*). *Biochem. Genet.* **17**(5/6): 537–552.
- BREWER, G. J. 1970. An introduction to isozymes techniques. Academic Press, Inc., New York.
- BURTON, G. W., et J. C. FORTSON. 1966. Inheritance and utilization of five dwarfs in Pearl Millet (*Pennisetum typhoides*) breeding. *Crop Sci.* **6**: 69–72.
- CHANTEREAU, J., et M. ARNAUD. 1981. Recherche des effets du gène de nanisme D2 du petit mil par l'interprétation statistique multivariée de croisements. *Agron. Trop.* (Paris), **36**(2): 142–150.
- ÉTASSE, C. 1972. Amélioration du mil (*Pennisetum typhoides* Stapf.) pour l'agriculture intensive. *Agron. Trop.* (Paris), **27**: 783–790.
- GRAHAM, R. C., U. LUNDHOLM, et M. J. KARNOVSKY. 1965. Cytochemical demonstration of peroxidase activity with 3-amino-9-ethylcarbazole. *J. Histochem. Cytochem.* **13**: 150–154.
- JACQUINOT, L. 1972. Résultats et perspectives des recherches effectuées au Sénégal sur la potentialité du mil céréalière (*Pennisetum typhoides*). *Agron. Trop.* (Paris), **27**: 815–821.
- JENNRICH, R., et P. SAMPSON. Biomedical programs 7 M (BMDP 7 M).
- LAMBERT, C. 1983. L'IRAT et l'amélioration du mil. Présentation des travaux. *Agron. Trop.* (Paris), **38**(1): 78–88.
- LEBLANC, J. M., et J. PERNES. 1983. Enzyme polymorphism of *Pennisetum americanum* in the Ivory Coast. *Jpn. J. Genet.* **58**: 121–131.
- MAURER, J. R. 1971. Methods of analytical disc electrophoresis. *Dans* Disc electrophoresis and related techniques of polyacrylamide gel electrophoresis. *Éditeur*: K. Fischbeck. W. de Gruyter, Berlin, New York.
- SANDMEIER, M., M. BENINGA et J. PERNES. 1981. Analyses des relations entre formes spontanées et cultivées chez le mil à chandelles. III. Étude de l'hérédité des estérases et des peroxydases anodiques. *Agronomie*, **6**: 487–494.
- SECOND, G. 1982. Origin of the genic diversity of cultivated rice (*Oryza* sp.): study of the polymorphism scored at 40 isoenzymes loci. *Jpn. J. Genet.* **57**: 25–57.
- SHAW, C. R., et R. PRASAD. 1970. Starch gel electrophoresis of enzymes. A compilation of recipes. *Biochem. Genet.* **4**: 297–320.
- SIBAND, P. 1983. Essai d'analyse du fonctionnement du mil (*Pennisetum typhoides*) en zone sahélienne. *Agron. Trop.* (Paris), **38**(1): 27–36.
- TANKSLEY, S. D., et C. M. RICK. 1980. Isozymic gene linkage map of the tomato applications in genetics and breeding. *Theor. Appl. Genet.* **57**: 161–171.
- TANKSLEY, S. D., C. M. RICK et C. E. VALLEJOS. 1984. Tight linkage between a nuclear male sterile locus and an enzyme marker in tomato. *Theor. Appl. Genet.* **68**: 109–113.
- THAKARE, R. B., et B. R. MURTY. 1972. Effect of dwarfing genes on combining ability in Pearl Millet (*Pennisetum typhoides* Burm. Stapf. and Hubb.). *Indian J. Agric. Sci.* **42**(5): 392–397.
- TOSTAIN, S., et M. F. RIANDEY. 1984. Polymorphisme et déterminisme génétique des enzymes du mil pénicillaire (*Pennisetum glaucum* L.). Étude des alcools déshydrogénases, catalases, estérases et endopeptidases. *Agron. Trop.* (Paris), **39**(4): 335–345.
- 1985. Polymorphisme et déterminisme génétique des enzymes du mil pénicillaire (*Pennisetum glaucum*). Étude des malate déshydrogénases. *Agronomie*, **5**(3): 227–238.