GÉNÉTIQUE. — Les différents isoenzymes de la glutamate oxaloacétate transaminase du Mil (Pennisetum glaucum L.). I. Polymorphisme et déterminisme génétique. Note de Serge Tostain et Danièle Lavergne, présentée par Alexis Moyse.

Deux isoenzymes de la glutamate oxaloacétate transaminase (GOT) de mil pénicillaire Pennisetum glaucum L. sont codés par deux gènes nucléaires, Got A et Got B. Pour chacun d'eux, trois formes alléliques codominantes, dont une très fréquente, ont été observées dans un grand nombre d'échantillons. Les deux isoenzymes sont dimères. Les tests d'indépendance entre les deux loci et deux autres marqueurs (un gène codant pour une estérase et un gène codant une déficience chlorophyllienne) indiquent une absence probable de liaison génétique

GENETICS. -- Different isoenzymes of pearl millet (Pennisetum glaucum L.) glutamate oxaloacetate transaminase. I. Polymorphism and genetics.

Two isoenzymes of pearl millet (Pennisetum glaucum L.) glutamate oxaloacetic transaminase (GOT) were coded by two nuclear genes, Got A and Got B. For each of them, three codominant allelic forms have been observed in a high number of samples. Both isoenzymes were dimeric. The independance tests between the two loci and two other markers showed no genetic linkages between Got A and Got B.

Le mil pénicillaire à chandelle, Pennisetum glaucum, est une Graminée annuelle diploïde (2n=14) cultivée comme céréale et comme fourrage dans les zones arides d'Afrique et de l'Inde [1].

L'étude de marqueurs au déterminisme génétique simple, un gène et des allèles codominants, présente de nombreuses applications : établissement de groupes de liaison entre gènes [2], identification de gènes codant pour des caractères quantitatifs [3], étude de la structure des espèces ([4], [5] à [9]).

Le déterminisme génétique de la GOT a été étudié dans ce travail.

MATÉRIEL ET MÉTHODES. - Pour le mil cultivé Pennisetum glaucum L. [synonyme de P. typhoïdes (Burm.) Stapf et Hubbard et de P. americanum (L.) Leekel, les plantes utilisées sont : 2 lignées homozygotes, 23 DB (sélectionné aux U.S.A.) et J 104 (sélectionné en Inde), et une plante désignée P 1450, issue d'un échantillon du Sénégal. Pour le mil spontané, on a utilisé une plante appelée mollissimum, issue d'un mil sauvage P. glaucum sp. mollissimum, du Mali ([10], [11]).

L'inventaire du polymorphisme des isoenzymes de la GOT a été réalisé sur environ 2 200 plantes de mil

provenant des collections d'Afrique de l'Ouest et de l'Est, et de l'Inde. Les plantes sont cultivées en conditions contrôlées [9]. Les isoenzymes GOT sont observés sur des broyats de feuilles [9].

L'électrophorèse de zone monodimensionnelle sur gel d'amidon [12] a été employée ([8], [9]). Le système de révélation des isoenzymes de la GOT est basé sur la coloration de l'oxaloacétate [13].

Les interprétations génétiques ont été faites à partir des zymogrammes de la F_1 , mollissimum $\times J$ 104, des descendants F_2 de ce croisement et de la descendance d'une plante de P 1450 autofécondée (AF). La distribution des différents zymogrammes a été comparée par un test X^2 à une distribution mendélienne théorique.

La nomenclature des gènes consiste à désigner par une lettre majuscule le gène et par des chiffres les

différentes formes alléliques inventoriées ([8], [9]).

Des fréquences moyennes ont été calculées pour chaque allèle sur les 2 200 plantes examinées.

TABLEAU

Effectifs pour chaque génotype dans la descendance d'une plante de P1450, X^2 éprouvant l'indépendance entre les loci Est A, Got B et W. éprouvant l'indépendance entre les loci Est A, Got B et W

Test of independance between the loci East A, Got B and W.

Number of plants for each genotype observed in the progeny of a selfed plant taken from accession P 1450,

East A					W				W			
Got B	3-3	3-4	4-4	~	Got B	ww	Ww+WW		East A	ww	Ww+WW	
2-2 2-3 3-3	. 10	18	8	36	2-2 2-3 3-3	4		37	3-3 3-4 4-4	9	13 26 11	19 35 19
TOTAL	18 $X^2 = 3,6$		19	70		$\frac{21}{X^2 = 49}$	50 54 S	71	>	$\frac{23}{3}$ $3^2 = 1,5$	50 NS	73

0249-6313/86/03020181 \$2.00 © Académie des Sciences



Fonds Documentaire Cote: B x 24253 Ex: 1 L'indépendance génétique des loci de la GOT a été éprouvée indirectement par rapport à deux autres marqueurs, le gène Est A codant la β-estérase ([6], [8]) et un gène létal codant une déficience chlorophyllienne, appelé provisoirement W (données non publiées). W est l'allèle sauvage de w l'allèle mutant récessif. L'estimation des distances interloci exprimée en centimorgans, cM, est celle de Allard [14].

RÉSULTATS. — Les zymogrammes GOT des feuilles sont toujours composés de trois zones, I, II, III, vers l'anode, ayant respectivement 1, 3, 1 bandes. Les isoenzymes de la "zone I (GOTA) présentent des mobilités relatives différentes pour mollissimum et pour les deux lignées de mil cultivé. Dans la zone II (GOTB) une plante de l'échantillon P 1450 a présenté cinq bandes au lieu de trois. Grâce à cette variabilité, le déterminisme génétique des bandes des zones I et II a pu être analysé.

Mise en évidence du gène Got A. — L'hybride F_1 issu du croisement contrôlé $mollissimum \times J$ 104 a trois bandes dans la zone I du zymogramme GOT. Dans la descendance F_2 (fig. 1 et 2a) 105 plantes ont été analysées : 25 plantes ont le phénotype mollissimum, 17 plantes ont le phénotype du parent J 104 et 63 plantes possèdent le phénotype de la F_1 (3 bandes). Cette distribution des phénotypes n'est pas différente d'une distribution 1-2-1 dans le cas d'un gène nucléaire et de 2 allèles codominants ($X^2 = 5,3$, non significatif à 5%). Le gène est appelé GOTA. Les 3 bandes, $GOTA^{1-1}$, $GOTA^{1-2}$ et $GOTA^{2-2}$ des zymogrammes hybrides indiquent que l'enzyme active est dimère. Trois alloenzymes ont été observés parmi les 2 200 plantes analysées avec les fréquences moyennes de respectivement, 2,0% pour $GotA^1$, 97,9% pour $GotA^2$ et 0,1% pour $GotA^3$ (fig. 2b).

Mise en évidence du gène Got B. — Dans l'échantillon P1450 du Sénégal, une plante ayant un zymogramme de 5 bandes dans la zone II a été isolée et autofécondée (fig. 2 c, zymogramme du centre). Sur 114 plantes observées (AF), 25 plantes ont le zymogramme avec 3 bandes du type 23 DB, J 104 ou mollissimum, 27 plantes ont un phénotype inconnu composé de 3 bandes plus mobiles et 62 plantes ont le zymogramme de la plante d'origine (fig. 2 c et 3). Cette distribution des phénotypes n'est pas différente d'une proportion 1-2-1 dans le cas d'un gène nucléaire et de 2 allèles codominants ($X^2 = 0.9$, non significatif au seuil 5%). Le gène est appelé Got B et les 2 allèles Got B² et Got B³.

EXPLICATIONS DES FIGURES

- Fig. 1. Zymogramme des GOT, descendance F_2 du croisement $mollissimum \times J$ 104. (1), (4): GOT A^{2-2} ; (2), (3), (5), (8): GOT A^{1-2} ; (6), (7): GOT A^{1-1} .
- Fig. 1. -GOT zymogram observed in the F_2 generation of the cross mollissimum $\times J$ 104. (1), (4): GOT A^{2-2} ; (2), (3), (5), (8): GOT A^{1-2} ; (6), (7): GOT A^{1-1} .
- Fig. 2. Représentation schématique de la mobilité des alloenzymes GOTA et GOTB. (a) zymogrammes observés dans la F₂ de mollissimum × J 104 et interprétation de la composition des bandes du zymogramme de type hybride. (b) mobilités relatives des 3 alloenzymes observés dans la collection. (c) zymogrammes observés dans la descendance (AF) d'une plante de P1450 et interprétation des bandes du zymogramme de type hybride. (d) mobilités relatives des 3 alloenzymes observés dans la collection. (O) point d'insertion des échantillons.
- Fig. 2. Schematic composite zymogram showing the alloenzymes mobility of GOTA and GOTB. (a) zymograms observed for anodic GOT in the F_2 generation of the cross mollissimum $\times J$ 104; for the hybrid, the band composition is given. (b) relative mobilities of the 3 alloenzymes observed in the collection. (c) zymograms observed in the offspring of a selfed plant taken from accession P 1450. For the hybrid, the band composition is given. (d) relative mobilities of the 3 alloenzymes observed in the collection. (\bigcirc) indicates point of sample insertion.
- Fig. 3. Zymogrammes des GOT, descendance AF de l'échantillon P1450. (1): GOT B^{2-2} ; (2), (4), (5), (6): GOT B^{2-3} ; (3), (7), (8): GOT B^{3-3} .
- Fig. 3. Diagram of the zymograms observed for anodic GOT in the offspring of a selfed plant taken from accession P 1450. (1): GOT B²⁻²; (2), (4), (5), (6): GOT B²⁻³; (3), (7), (8): GOT B³⁻³.

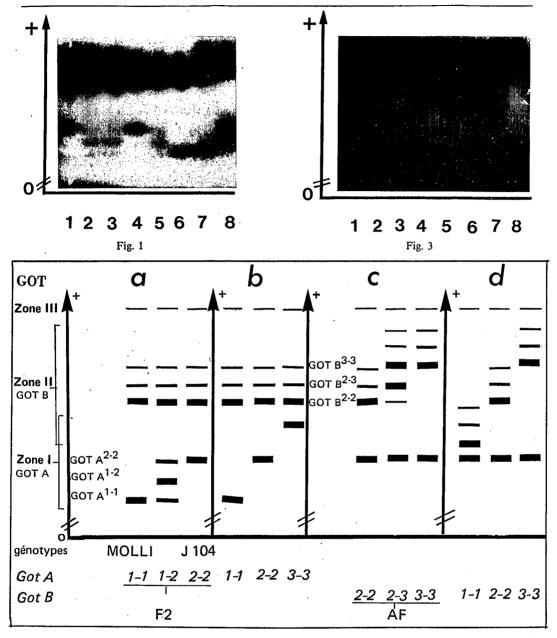


Fig. 2

Les 3 bandes toujours observées pour une plante homozygote sont donc codées par un seul gène. Les 2 bandes, plus rapides vers l'anode ont été considérées comme des isoenzymes secondaires [15].

Le zymogramme de la plante d'origine a 2 bandes intermédiaires très actives. Dans le cas d'un enzyme tétramère, il présenterait 3 bandes. La structure quaternaire de l'enzyme active a donc été supposée dimère, comparable à GOT A. La composition en isoenzymes est donnée suivant cette hypothèse sur la figure 2c. La première bande très active est intermédiaire entre les bandes principales des parents présumés, elle serait l'addition des hétérodimères $GOT B^{2-3}$ et de la première bande d'isoenzymes secondaires de $GOT B^{2-2}$.

La deuxième bande très active vers l'anode serait formée des homodimères GOT^{3-3} et de la deuxième bande d'isoenzymes secondaires de $GOTB^{2-2}$.

Trois alloenzymes ont été observés parmi les 2200 plantes échantillonnées avec les fréquences moyennes suivantes: 0.4% pour $Got B^1$, 99.1% pour $Got B^2$ et 0.5% pour $Got B^3$ (fig. 2 d).

Liaisons génétiques. — L'indépendance des ségrégations de Got B et Est A a été éprouvée sur 70 descendants de la plante issue de P1450 (génotype Got B²⁻³-Est A³⁻⁴-Ww). Le X² étant non significatif à 5%, les 2 loci sont sans doute indépendants ou très éloignés l'un de l'autre (tableau). Une autre série de tests portant sur 71 plantes montre une liaison de 6.7 ± 3.1 cM entre Got B et W (X² significatif à 5%). Le test entre Est A et W donne un X² non significatif (tableau). Les 2 loci sont sans doute indépendants ou très éloignés l'un de l'autre.

Une liaison de 28.8 ± 3.2 cM entre Got A et Est A a déjà été mise en évidence [16].

Compte tenu de la faiblesse des échantillons et de la méthode indirecte utilisée pour ce test de liaison génétique, l'hypothèse de l'indépendance entre Got A et Got B sera reprise par un test direct entre les 2 loci à partir d'une plante de génotype $Got A^{1-2}$ - $Got B^{2-3}$.

Conclusion. — Le système des GOT chez les Mils est formé de 3 isoenzymes dont 2 sont dimères, GOTA et GOTB. Pour le Maïs, Scandalios et coll. ont montré aussi que la GOT active est dimère [17]. Les isoenzymes sont codés par 2 gènes nucléaires GotA et GotB probablement indépendants. Le système des GOT chez les Mils est peu polymorphe, on observe 6 formes alléliques codominantes dont 2 très fréquentes, GotA² et GotB².

Remise le 16 décembre 1985.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- G. W. Burton, A. T. Wallace et K. O. Rachie, Crop Science, 12, 1972, p. 187-188.
 S. D. Tanksley et C. M. Rick, Theor. Appl. Genet., 57, 1980, p. 161-170.
 S. D. Tanksley, H. Medina-Filho et C. M. Rick, Heredity, 49, 1982, p. 11-25.
 G. Second, Jpn. J. Genet., 57, 1982, p. 25-27.
 F. Banuett-Bourrillon et D. R. Hague, Biochem. Genet., 17, 1979, p. 537-552.
 M. Sandmeier, M. Beninga et J. Pernes, Agronomie, 6, 1981, p. 487-494.
 J. M. Leblanc et J. Pernes, Jpn. J. Genet., 58, 1983, p. 121-131.
 S. Tostain et M. F. Riandey, Agro. Trop., 39, 1984, p. 335-345.
 S. Tostain et M. F. Riandey, Agronomie, 5, 1985, p. 227-258.
 A. F. Bilquez et J. Lecomte, Agro. Trop., 24, 1969, p. 249-257.
 J. Belliard, E. Nguyen Van et J. Pernes, Ann. Amélior. Plantes, 30, 1980, p. 229-251.
 G. Brewer, An introduction to isoenzyme techniques, Academic Press, New York, 1970, p. 62-133.
 C. R. Shaw et R. Prasad, Biochem. Genet., 8, 1970, p. 297-320.
 R. W. Allard, Hilgardia, 24, 1956, p. 235-278.
 C. R. Shaw, Int. Res. Cytol., 25, 1969, p. 297-332.
 C. R. Shaw, Int. Res. Cytol., 25, 1969, p. 297-332.
 J. G. Scandalios, J. C. Sorenson et L. A. Ott, Biochem., 13, 1975, p. 759-769.
 - S. T.: Institut français de Recherche scientifique pour le Développement en Coopération (O.R.S.T.O.M.), B.P. n° 11416, Niamey, Niger;

D. L.: Laboratoire de Photosynthèse et Métabolisme, U.A. C.N.R.S. nº 1128, Université de Paris-Sud, Centre d'Orsay, Bât. 430, 91405 Orsay Cedex.