



INSTITUT FRANCAIS DE RECHERCHE SCIENTIFIQUE POUR LE DEVELOPPEMENT EN COOPERATION

LABORATOIRE D'AMELIORATION DES PLANTES

Centre ORSTOM d'Adiopodoumé

BP V51 ABIDJAN (COTE D'IVOIRE)

RAPPORT DE STAGE DE MAITRISE:

(MAGISTERE DE BIOLOGIE)

**CONTRIBUTION A L'ETUDE DES RELATIONS ENTRE
SOUS-ESPECES CHEZ LE RIZ CULTIVE *ORYZA SATIVA* L.**

**Observation de descendance issues de croisements entre les variétés
éloignées 108 et 521.**

par

Annabel DESGREES DU LOU

JUILLET - AOUT 1988

RESUME

Afin de mieux connaître les relations qui existent entre les sous-espèces *indica* et *japonica* chez le riz cultivé *O.sativa* pour établir ensuite des schémas de sélection, on a croisé les variétés *indica* 108 et *japonica* 521.

Sur les descendance de la F2 521/108 et du rétrocroisement 521/108//108 essentiellement, on a observé par électrophorèse la ségrégation de sept loci enzymatiques, et on a mesuré la fertilité pollinique, le tallage à un moment donné et le délai entre le semis et l'épiaison.

Sur les sept loci étudiés, trois présentent une distorsion par rapport aux ségrégations mendéliennes. Cette distorsion provient pour deux loci des gamètes femelles F1 qui ne ségrègent pas selon les lois mendéliennes par suite de duplications chromosomiques ou à cause de l'influence de gènes gamétophytiques.

Pour le troisième loci, la sélection porte au contraire sur les gamètes mâles F1 par le jeu de gènes de certation ou de gènes gamétophytiques responsables d'une stérilité partielle du pollen.

Par contre pour les caractères morphologiques étudiés on observe des situations conformes aux lois mendéliennes: les parents présentent des caractères très différents, tandisqu'on retrouve chez les hybrides des statuts intermédiaires.

Enfin il paraît possible d'associer des caractères morphologiques à des marqueurs enzymatiques puisque deux liaisons ont été mises en évidence : une liaison entre un marqueur enzymatique et le délai d'épiaison et une autre entre un second marqueur et la fertilité pollinique.

SOMMAIRE

INTRODUCTION

A. MATERIEL ET METHODES

1. Matériel végétal
2. Itinéraire cultural et dispositif d'essai
3. Electrophorèse
4. Fertilité pollinique
5. Caractères morphologiques
6. Méthodes statistiques
7. Logiciels utilisés

B. RESULTATS

1. Analyse des ségrégations enzymatiques
2. Fertilité pollinique
3. Analyse des caractères morphologiques
4. Relations entre caractères et marqueurs enzymatiques

C. DISCUSSION

1. Analyse des ségrégations enzymatiques monocus
2. Analyse des relations entre loci
3. Fertilité pollinique
4. Caractères morphologiques
5. Liaisons entre les caractères et les marqueurs enzymatiques étudiés

CONCLUSION

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXE 1: Résultats supplémentaires obtenus pour un huitième marqueur enzymatique, les *phosphatases acides*

ANNEXE 2: Organisation des bacs dans la serre

ANNEXE 3: Composition des solutions utilisées

ANNEXE 4: Tableaux de contingence entre marqueurs enzymatiques

ANNEXE 5: ANOVA entre marqueurs et caractères morphologiques

ANNEXE 6: Tallage au 35° jour

ANNEXE 7: Photographies

Addenda: Mise au point d'une technique de préparation d'ADN mitochondrial de Riz.

INTRODUCTION

Le Laboratoire d'Amélioration des Plantes de l'ORSTOM à Adiopodoumé (Côte d'Ivoire) est engagé dans des programmes de recherche sur les Ressources Génétiques de cinq plantes économiquement importantes: le PANICUM (graminée fourragère), le CAFE, le GOMBO (légume), le MANIOC et le RIZ, céréale dont la demande est croissante en Afrique.

L'étude des ressources génétiques consiste à appréhender la diversité génétique des plantes citées, pour pouvoir sauvegarder les espèces sauvages en voie de disparition ou les variétés traditionnelles peu à peu abandonnées au profit de variétés importées, et étudier les possibilités d'utilisation optimale en amélioration des plantes des complexes d'espèces considérés.

Mon stage s'intégrait dans le programme "Riz", et avant d'en définir le sujet, il est nécessaire d'introduire quelques généralités sur la systématique et la biologie du riz.

SYSTEMATIQUE

Le genre *Oryza* comporte deux groupes d'espèces principaux: *Sativa* et *Latifolia*. On y trouve cinq génomes: A, B, C, D, E à l'état 2n ou 4n.

Un seul génôme (A) est reconnu dans le groupe *Sativa*, qui présente cinq espèces diploïdes à 24 chromosomes, dont trois espèces sauvages: *Oryza rufipogon* Griff., *O.longistaminata* A. Chev. et Roehr, *O.breviligulata* A. Chev. et Roehr, et deux espèces cultivées: *O.glaberrima* Steud. et *O.sativa* L.

L'espèce *O.sativa*, d'origine asiatique, sur laquelle porte ce travail, se divise en deux sous-espèces: *indica* et *japonica*, que l'on distingue grâce à des combinaisons des critères consignés dans le tableau suivant, et qui sont séparées par des barrières reproductives non-absolues: le taux de stérilité F1 dans un croisement entre *indica* et *japonica* pouvant aller de 50% à 100 %.

CARACTERES	SOUS-ESPECE	
	INDICA	JAPONICA
Résistance au chlorate de potassium	-	+
Résistance aux basses températures	-	+
Rapport longueur/largeur des épillets	+	-
Longueur des poils apiculaires	-	+
Réaction de coloration des glumelles au phénol	+	-

BIOLOGIE

Graminée monocotylédone de type C3, *Oryza sativa* est une espèce cultivée, de type annuel, présentant une autogamie non stricte mais largement prédominante.

Plusieurs types de culture existent: la riziculture pluviale sur sol non inondé, la riziculture irriguée, et la culture de riz flottant, qui peut vivre dans un à deux mètres d'eau en s'adaptant à la profondeur de l'eau par la croissance de ses entre-noeuds.

La durée du cycle de culture varie selon les variétés entre trois et six mois mais on retrouve toujours les mêmes étapes.

Pour les riz les plus précoces les plantules sortent du sol cinq jours après le semis: c'est la "levée". L'émission des tiges secondaires ou "tallage" débute vingt jours après le semis. Les panicules sortent de leur gaine foliaire environ trente jours après: c'est "l'épiaison". Suit la floraison, les fleurs de riz ou "épillets" sont généralement autofécondées. La phase de maturation dure alors trente à trente-cinq jours, au bout desquels on récolte les grains.

PROGRAMME RIZ ET SUJET DE STAGE

Les projets menés au Laboratoire portent sur le groupe *Sativa*: on s'intéresse d'une part à la systématique, à la diversité* et à l'évolution des espèces qui le constituent, notamment en étudiant la dynamique de la domestication des plantes cultivées, d'autre part aux relations interspécifiques et intraspécifiques, à travers l'étude des barrières reproductives et de l'hérédité des caractères.

SECOND, GHESQUIERE et PHAM proposaient en 1985 un protocole général d'expérimentation intitulé: "Croisements entre parents éloignés de riz cultivés."

L'idée majeure était la suivante: il s'agissait d'étudier les relations entre les sous-espèces *japonica* et *indica* chez le riz cultivé *O.sativa*, le maintien à l'état hybride entre ces deux sous-espèces devant permettre d'une part de favoriser des recombinaisons fines entre génomes, d'autre part d'exprimer un éventuel effet mutagène de l'état hybride.

Mon stage s'intègre dans une expérimentation préliminaire à petite échelle, portant sur des descendances issues des variétés *indica* 108 et *japonica* 521.

On se propose d'observer la ségrégation de marqueurs enzymatiques, la fertilité pollinique et certains caractères morphologiques de la descendance issue du rétrocroisement 521/108//108, et de façon annexe de la F2 521/108 et de la descendance issue du rétrocroisement 521/108//521. On étudiera si dès cette génération il est possible, sur des effectifs réduits, de rencontrer des faits allant dans le sens des prévisions citées plus haut.

*J'ai participé, dans le cadre de l'étude de la diversité des variétés traditionnelles de riz en Côte d'Ivoire, à une courte mission de prospection dans le Centre du pays. Le compte-rendu est adjoint au présent rapport.

A. MATERIEL ET METHODES

1. MATERIEL VEGETAL

a. Variétés parentales utilisées

Les deux parents utilisés, 108 et 521, sont appelés "testeurs de OKA" (du nom d'un chercheur japonais) car ce sont des variétés caractérisant, pour les réactions de fertilité en croisement, les deux sous-espèces *japonica* (521) et *indica* (108) de l'espèce *O.sativa* (SECOND 1982).

b. Descendances étudiées

Trois types de descendances sont étudiées*: la F2 issue du croisement 521/108 par autofécondation contrôlée de la F1, les descendances issues des rétrocroisements 521/108//108 et 521/108//521. Les hybrides F1 521/108 sont également observés .

2. ITINERAIRE CULTURAL ET DISPOSITIF D'ESSAI

a. Semis-repiquage

Les graines ont été semées en terrines le 07.06.88 . Les plantules ont été repiquées le 20.06.88 en pots moyens de 4 litres (pour l'expérimentation principale) ou en petits pots de 1 litre (pour l'electrophorèse seulement), en serre, dans des bacs remplis d'eau (sans submersion).

Les effectifs sont indiqués sur le tableau 1.

b. Dispositif d'essai

Les pots de 4 litres sont disposés dans deux bacs en randomisation totale. Les plantes uniquement destinées à l'electrophorèse sont disposées sans organisation particulière dans deux autres bacs, l'environnement n'influant pas de façon apparente sur les marqueurs enzymatiques étudiés.

Le plan du dispositif est donné en annexe.

* La convention IRRI (International Rice Research Institute, Philippines) sera utilisée ici pour symboliser les différents types de croisements:

521/108: hybride 521(femelle) X 108(mâle)

521/108//108: back cross (521X108)X108

521/108//521: back cross (521X108)X108

TABLEAU 1: Effectifs mis en culture

GENOTYPE	semé	repiqué en pots moyens	repiqué en petits pots
108	60	8	9
521	60	8	10
F1 521/108	15	8	8
F1 108/521	15	0	0
F2 521/108	150	0	134
BC 521/108//108	150	104	17
BC 521/108//521	17	0	11

TABLEAU 2: Choix du système d'électrophorèse en fonction de l'enzyme révélée

ENZYME	TAMPON d'électrophorèse		ORGANE ECHANTILLONNE			PAPIER WHATMAN		MIC volt
	A pH 6,0	B pH 8,0	F1 partie verte	F1 partie blanche	F2-F3-F4	N°3	N°1	
CAT		+		+			+	
EST	+		+			+		
GOT	+		+			+		
PGD		+		+			+	
PGI		+			+		+	
POX		+		+			+	

F1: jeune feuille

F2-F3-F4: feuilles âgées

c. fumure et traitements phytosanitaires

Toutes les trois semaines à partir du repiquage:

- engrais: N P K 10-18-18 (60 g par bac)
- insecticides: 75 cc DECIS, 75cc THIMUL

3. ELECTROPHORESE

La technique développée au Laboratoire depuis 1974 est l'électrophorèse d'enzymes sur gel d'amidon en système horizontal, les procédés d'extraction, de migration et de révélation étant ceux décrits par SECOND et TROUSLOT (1980).

a. choix des enzymes révélées

Après analyse des zymogrammes* parentaux, on a retenu six enzymes discriminantes présentant pour 7 loci des allèles différents chez les parents 108 et 521:

- catalase* (locus A), CAT.
- 6-phosphogluconate déshydrogénase* (locus B), PGD
- glutamate oxaloacétate transaminase* (locus B), GOT
- estérases* (locus E), EST
- peroxydases* (locus B), POX
- phosphoglucose isomérase* (loci A et B), PGI

Le déterminisme génétique des systèmes utilisés est connu (PHAM et *al.* en préparation).

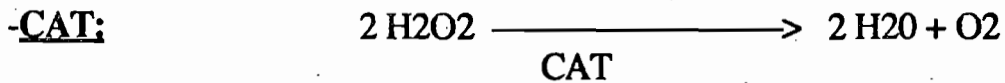
VARIETE	GENOTYPES PARENTAUX AUX LOCI ETUDIES						
	CAT-A	EST-E	GOT-B	PGD-A	PGI-A	PGI-B	POX-B
108	A1A1	E2E2	B1B1	A2A2	A1A1	A2A2	B4B4
521	A2A2	E0E0	B0B0	A1A1	A2A2	A1A1	B3B3

b. choix du système en fonction de l'enzyme révélée

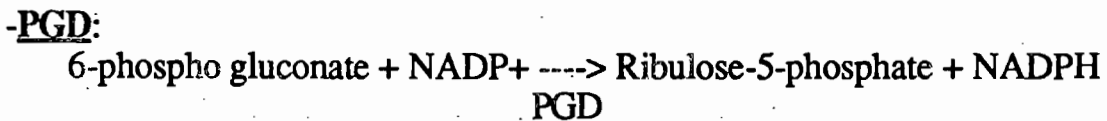
Les échantillons sont toujours broyés à température ambiante sans tampon d'extraction. Selon l'enzyme révélée, on modifie l'organe prélevé (jeunes feuilles ou feuilles plus âgées), le tampon de migration et l'épaisseur de la rondelle de papier imbibée d'extrait (tableau 2).

*Par *zymogramme* on désigne la combinaison des bandes observées sur une plaque d'électrophorèse pour un individu avec un système de révélation spécifique d'une enzyme.

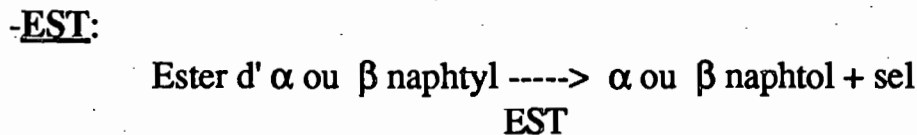
c. Principes biochimiques des révélations:



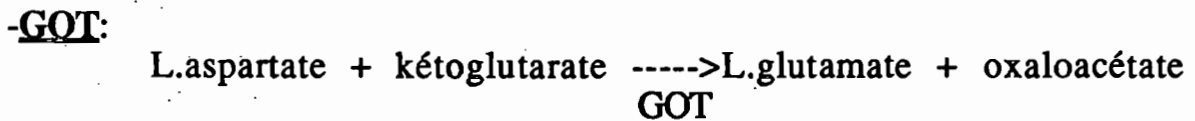
Après incubation de la plaque pendant 5 minutes dans une solution de H₂O₂ à 0,05% , on rince à l'eau et on immerge dans une solution de 0,4% de FeCl₃ et 0,4% de K₃FeCN₆. La réaction fait alors apparaitre les bandes CAT en négatif (bandes blanches sur fond bleu).



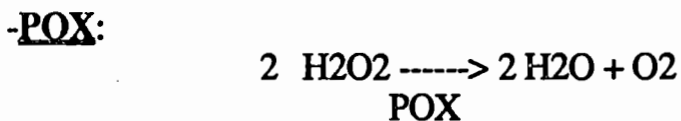
Révélation: NADPH + NBT + PMS -----> FORMAZAN (précipité bleu)



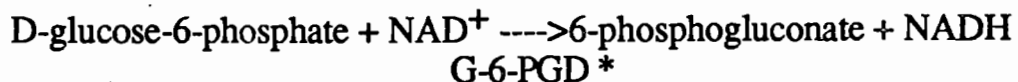
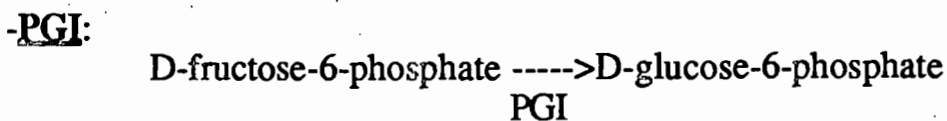
Révélation: α ou β naphthol + Fast Blue RR Salt-----> précipité coloré



Révélation: Oxaloacétate + Fast Blue BB Salt -----> coloration verte



L'oxygène libéré oxyde un composé (3 amino 9 éthyl carbazole) qui se colore.



NADH + NBT + PMS -----> FORMAZAN (précipité bleu)

* **G-6-PGD:** *Glucose-6-phosphate déshydrogénase* , ajoutée dans la solution de révélation.

La coloration apparait ici à la surface du gel mais très faiblement dans

son épaisseur. On utilise alors la méthode de révélation à l'agar: le mélange réactionnel est mélangé à une solution d'agar-agar (2 %) portée à ébullition, juste avant la révélation. La solution gélifie sur le gel d' amidon en refroidissant. C'est ce second gel qui sera conservé.

Les gels sont fixés à l'acide acétique 7% et conservés en gaine plastique.

d. Vérification des croisements effectués:

L'observation des zymogrammes des hybrides F1 permet de vérifier qu'il s'agit bien d'hybrides 521/108. D'autre part les ségrégations dans la descendance du rétrocroisement 521/108//108 montrent que 10 individus présentent des allèles du parent 521 à l'état homozygote. Ces individus ne peuvent provenir d'un rétrocroisement, ils témoignent sans doute d'une autofécondation incontrôlée et ne seront pas pris en compte dans les analyses statistiques qui suivent.

4. FERTILITE POLLINIQUE.

La fertilité pollinique est évaluée par la colorabilité des grains de pollen. Nous avons utilisé le colorant d'ALEXANDER (1969) qui colore la paroi du pollen en vert, le cytoplasme et le noyau en rouge. Si on considère comme fertiles les gamètes présentant un cytoplasme qui occupe tout le volume du grain de pollen, et comme stériles les grains de pollen présentant un cytoplasme partiellement rétracté ou inexistant, on obtient une bonne corrélation entre la fertilité pollinique évaluée par cette méthode et la fertilité paniculaire (PHAM 1984).

Quatre épislets ont été prélevés sur la première panicule de chaque plante, à différents niveaux, puis conservés dans de l'alcool acétique 3:1 en chambre froide. Le pollen récolté est coloré par le réactif d' ALEXANDER, monté en lame mince et observé au microscope .

On observe sur 340 grains de pollen la répartition en grains totalement remplis et en grains partiellement remplis ou vides.

5. CARACTERES MORPHOLOGIQUES.

Six caractères quantitatifs seront notés sur les plantes: le tallage, la date d'épiaison, la hauteur et la longueur du drapeau (première feuille paniculaire), le nombre d'épislets par panicules et leur type d'insertion. Les deux premiers caractères seulement seront analysés, les autres mesures n'ayant pu être faites qu'en Septembre.

- Tallage:

Au 35° jour et au 51° jour on a compté le nombre de talles présenté

par chaque plante sur la descendance du rétrocroisement 521/108//108, sur la F1 et sur les parents.

- Date d'épiaison:

On a relevé les dates d'apparition des trois premières panicules sur la descendance du rétrocroisement 521/108//108 et des deux premières panicules sur les autres descendance.

Remarque: pour les mesures de fertilité pollinique et pour les délais d'épiaison les résultats sont incomplets, 70% seulement des plantes ayant fleuri avant la fin du stage; en particulier les parents 108, à cycle plus long, n'avaient pas encore commencé à épier le 25 Août (le stage se terminant le 27 Août) et aucune mesure de fertilité ou de délai d'épiaison n'a pu être faite sur ces individus.

6. METHODES STATISTIQUES

a. Ségrégations enzymatiques:

-Locus par locus:

.Comparaison des ségrégations observées avec une ségrégation mendélienne monogénique:

Pour chaque locus, les ségrégations obtenues sont comparées à une ségrégation mendélienne monogénique, au moyen du test du chi-2 pour les descendance F2 et BC 108/521//108, au moyen du test binomial pour la descendance BC 108/521//521 à cause de son faible effectif.

Test binomial:

Soit "a" l'effectif de la catégorie la moins fournie et "n" l'effectif total, on évalue la probabilité P d'obtenir un effectif égal ou inférieur à "a" dans une distribution binomiale B(n,p):

$$P = \sum_{x=0}^a C_n^x p^x q^{n-x} \quad (1)$$

"p" étant la probabilité dans l'hypothèse nulle qu'un individu appartienne à l'une ou l'autre des catégories.

La règle de décision est la suivante:

si $P > 0,05$ on accepte l'hypothèse nulle; la ségrégation est mendélienne.

si $P < 0,05$ on refuse l'hypothèse nulle, il y a des distorsions.

. En cas de distorsion, on calcule les fréquences alléliques et leurs intervalles de confiance.

Pour calculer les intervalles de confiance, on utilisera les formules suivantes:

- erreur-type sur un effectif:

$$S_F = \sqrt{F(N-F) / N}$$

N: effectif total

F: effectif de la catégorie considérée

- erreur-type sur une fréquence:

$$S_p = \sqrt{p(1-p)/p}$$

N: effectif total

p: fréquence considérée

On testera la différence entre effectifs alléliques observés et effectifs attendus selon Mendel par le test du chi-2.

.Comparaison (par le test du chi-2) de la ségrégation observée dans la descendance F2 avec une ségrégation correspondant à l'hypothèse de "panmixie".

Par "panmixie" de la F2, on entend que cette F2 résulte:

- d'association aléatoire des gamètes en F1
- de non sélection sur les zygotes produits.

-Liaisons entre loci:

Pour les descendances de la F2 et du rétrocroisement 521/108//108 on établit un tableau de contingence pour chaque couple de loci, et on effectue un test d'indépendance (chi-2). Dans le cas de liaisons, le calcul des pourcentages de recombinaison entre loci n'a pas été fait.

b. Fertilité pollinique, tallage et date d'épiaison:

Le pourcentage de grains de pollen pleins, le tallage à 51 jours et le délai moyen entre le semis et l'épiaison pour chaque plant seront analysés de la même façon.

On caractérisera tout d'abord la répartition de la variable étudiée au sein de chaque descendance par sa moyenne et son diagramme de répartition, ce qui permettra de comparer entre elles les descendances.

Si deux descendances ont des moyennes très proches pour le caractère

étudié, on comparera leur répartition par un χ^2 .

c. Relations entre caractères quantitatifs et marqueurs enzymatiques.

On étudiera s'il existe des liaisons entre le caractère étudié et chaque marqueur enzymatique suivi, en effectuant une analyse de variance à un facteur: on compare entre elles les moyennes du caractère étudié au sein de chaque classe de génotypes pour un locus donné. Si une différence significative apparaît (au seuil de 5%), on conclut à une liaison entre le locus en question et au moins un locus influant sur le caractère étudié (TANKSLEY et RICK 1982).

7. LOGICIELS UTILISES.

La plupart des calculs ont été effectués sur MACINTOSH PLUS avec le logiciel STATVIEW 512+.

Les superpositions de graphes ont été faites grâce au logiciel CRICKET-GRAPH.

TABLEAU 3a: Analyse des ségrégations enzymatiques observées dans le back-cross 521/108//108 et test de leur conformité par rapport aux proportions mendéliennes.

LOCUS	GENOTYPE	EFFECTIFS OBSERVES	EFFECTIFS THEORIQUES	TEST de CONFORMITE:		
				CHI-2	DL	SIGNIFICATION
CAT-A	A1A1	53	58	0,86	1	NS
	A2A1	63	58			
PGD-A	A2A2	52	58	1,24	1	NS
	A1A2	64	58			
PGI-A	A1A1	46	48,5	0,258	1	NS
	A2A1	51	48,5			
PGI-B	B2B2	69	47,5	19,46	1	***
	B1B2	26	47,5			
POX-B	B4B4	52	58,5	1,44	1	NS
	B3B4	65	58,5			

Niveaux de signification:

- NS : différence non significative
- * : différence significative au seuil de 5%
- ** : différence significative au seuil de 1%
- ***: différence significative au seuil de 0,1%

B. RESULTATS

1. ANALYSE DES SEGREGATIONS ENZYMATIQUES.

Nous présenterons tout d'abord les ségrégations monocus , puis les relations entre loci.

a. ségrégations monocus.

***Tests de conformité par rapport aux ségrégations mendéliennes:**

Les tableaux 3a, 3b, 3c présentent les ségrégations observées et les résultats des tests de leur conformité par rapport aux ségrégations mendéliennes.

Dans la plupart des cas la ségrégation mendélienne est respectée. Cependant des distorsions de ségrégations apparaissent pour trois loci: au locus PGI-B dans les trois descendances, au locus EST-E dans la F2 et BC 521/108//521, au locus POX-B dans la F2. Dans les trois cas c'est l'allèle du parent 108 qui est en excès.

*** Distorsions de ségrégation:**

- calcul des fréquences alléliques:

Pour pouvoir comparer entre elles les fréquences alléliques des différentes descendances, on ne considèrera dans les back-cross que les fréquences des allèles issus du parent femelle F1; on peut ainsi tout comparer à une distribution théorique 1/2:1/2 alors que si on considèrait tout le pool de gamètes la distribution théorique serait 1/4:3/4 dans les back-cross et 1/2:1/2 dans la F2.

Les effectifs du BC 521/108//521 sont trop faibles pour calculer une estimation précise des effectifs alléliques. Ceux-ci ne sont donnés qu'à titre indicatif.

*** POX:** Tableau 4a.

La F2 présente un excès significatif de l'allèle 108, mais ce phénomène s'annule, voire s'inverse dans la descendance BC108.

*** PGI-B:** Tableau 4b.

Les trois descendances présentent un excès de l'allèle 108.

*** EST:** on ne possède ici que deux classes d'individus, les génotypes E0E2 et E2E2 n'étant pas distinguables. Les fréquences sont estimées en supposant que les génotypes se répartissent selon le schéma:

$$\begin{array}{lcl} \text{E0E0} & : & p^2 N \\ \text{E0E2} & : & 2pq N \\ \text{E2E2} & : & q^2 N \end{array} \quad \begin{array}{l} \text{où } p: \text{ fréquence de E0} \\ \text{q: fréquence de E2} \\ N=135 \end{array}$$

TABLEAU 3b: Analyse des ségrégations enzymatiques observées dans la F2 521/108 et test de leur conformité par rapport aux proportions mendéliennes.

LOCUS	GENOTYPE	EFFECTIFS OBSERVES	EFFECTIFS THEORIQUES	TEST de CONFORMITE:		
				CHI-2	DL	SIGNIFICATION
CAT-A	A1A1	29	33,75	0,91	2	NS
	A1A2	70	67,5			
	A2A2	36	33,75			
EST-E	E0E0	13	33,75	17,01	1	***
	E0E2 et	122	101,25			
	E2E2					
GOT-B	B0B0	34	33,75	0,002	1	NS
	B1B0 et	101	101,25			
	B1B1					
PGD-A	A1A1	33	33,75	0,02	2	NS
	A1A2	68	67,5			
	A2A2	34	33,75			
PGI-A	A1A1	30	33,75	0,95	2	NS
	A1A2	67	67,5			
	A2A2	38	33,75			
PGI-B	B1B1	24	33,75	13,75	2	***
	B1B2	59	67,5			
	B2B2	52	33,75			
POX-B	B3B3	8	29,25	25,60	2	***
	B3B4	65	58,5			
	B4B4	44	29,25			

TABLEAU 3c: Analyse des ségrégations enzymatiques observées dans le back-cross 521/108//521 et test de leur conformité par rapport aux proportions mendéliennes.

LOCUS	GENOTYPE	EFFECTIFS OBSERVES	EFFECTIFS THEORIQUES	TEST de CONFORMITE: test binomial	SIGNIFICATION
CAT-A	A2A2	5	5,5	P=0,5	NS
	A1A2	6	5,5		
EST-E	E0E0	0	5,5	P=0,0005	***
	E2E0	11	5,5		
GOT-B	B0B0	3	5,5	P=0,113	NS
	B1B0	8	5,5		
PGD-A	A1A1	8	5,5	P=0,113	NS
	A2A1	3	5,5		
PGI-A	A2A2	7	5,5	P=0,274	NS
	A1A2	4	5,5		
PGI-B	B1B1	1	5,5	P=0,006	**
	B2B1	10	5,5		
POX-B	B3B3	3	5,5	P=0,113	NS
	B4B3	8	5,5		

TABLEAU 4a: Fréquences alléliques observées au locus POX-B et test de leur conformité aux fréquences attendues

Descendance	Allèle	Effectifs observés	Erreur type	Effectifs théoriques	CHI-2 et signification	DL	Fréquences alléliques observées	Erreur type
F2	B3 B4	40,5 76,5	5,1	58,5 58,5	11,08 ***	1	0,346 0,654	0,044
BC 521/108//108	B3 B4	65 52	5,3	58,5 58,5	1,44 NS	1	0,55 0,45	0,058
BC 521/108//521	B3 B4	3 8	1,48	5,5 5,5	Test binomial: P=0,113 NS		0,273 0,727	0,13

TABLEAU 4b: Fréquences alléliques observées au locus PGI-B et test de leur conformité aux fréquences attendues

Descendance	Allèle	Effectifs observés	Erreur type	Effectifs théoriques	CHI-2 et signification	DL	Fréquences alléliques observées	Erreur type
F2	B1 B2	53,5 81,5	5,7	67,5 67,5	5,8 **	1	0,396 0,604	0,042
BC 521/108//108	B1 B2	26 69	4,3	47,5 47,5	19,46 ***	1	0,274 0,726	0,046
BC 521/108//521	B1 B2	1 10	0,9	5,5 5,5	Test binomial: P=0,006 **		0,1 0,9	0,09

On obtient alors : $p = 0,31$
 $q = 0,69$
Erreur type = 0,04

On ne peut pas ici tester par le chi-2, le nombre de degrés de liberté étant insuffisant.

. comparaison de la ségrégation observée avec la ségrégation correspondant à l'hypothèse d'une "panmixie" de la descendance F2.

Le tableau 5 montre que la panmixie est vérifiée pour le locus PGI-B (on sait que PGI-B et EST-E sont liés, l'estimation faite ci-dessus pour calculer les fréquences alléliques du locus EST-E est donc légitime); par contre ce n'est pas le cas pour le locus POX-B, les associations B3B4 étant favorisées par rapport aux associations B3B3 ou B4B4.

2.Relations entre loci.

Les tableaux de contingence sont placés en annexe; les tableaux 6a, 6b donnent les résultats des tests d'indépendance pour les descendance BC108 et F2.

Dans la descendance BC108, seuls les loci PGI-A et PGI-B apparaissent liés; dans la descendance F2, on observe quatre liaisons: GOT-B/PGD-B, EST-E/PGI-B, GOT-B/PGI-B, POX-B/PGI-B.

2.FERTILITE POLLINIQUE

Le tableau 7 donne les valeurs moyennes des fertilités polliniques pour chaque classe étudiée (on assimile fertilité pollinique et pourcentage de grains de pollen pleins).

Les figures 1 à 5 représentent la répartition du taux de fertilité au sein de chaque classe. Ces diagrammes sont superposés dans les figures 2bis et 5bis pour permettre leur comparaison.

On observe une stérilité pollinique étonnamment forte chez le parent 521 (50%): cela peut être dû à une forte sensibilité à la chaleur (il a très peu plu pendant cet hivernage), ou au manque de lumière (sous la serre), ou encore à un comptage trop sévère.

Cette stérilité est amplifiée dans les descendance jusqu'à 75% dans la F1 et dans la descendance du BC 521/108//521 et seulement jusqu'à 60% dans la F2 et la descendance du BC 521/108//108; cependant la répartition est très différente entre les descendance de la F2 et du BC 521/108//108 puisqu'on trouve un chi-2 de 111 donc fortement significatif: il semble qu'on ait une restauration de la fertilité plus rapide dans le BC 521/108//108.

Les effectifs sont trop petits pour pouvoir analyser la répartition mais il apparaît tout

TABLEAU 5: Comparaison de la ségrégation observée avec la ségrégation correspondant à l'hypothèse d'une panmixie de la descendance F2

LOCUS	GENOTYPE des F2	DISTRIBUTION ATTENDUE	DISTRIBUTION OBSERVEE	CHI-2	DL	Signification
PGI-B	B1B1	21,15	24	1,02	2	NS
	B1B2	64,6	59			
	B2B2	49,25	52			
POX-B	B3B3	14	8	6,03	2	**
	B3B4	53	65			
	B4B4	50	44			

TABLEAU 6a: Relations entre loci dans la descendance du back-cross 521/108//108

	CAT-A	PGD-A	PGI-A	PGI-B	POX-B
CAT-A		I	I	I	I
PGD-A			I	I	I
PGI-A				D**	I
PGI-B					I

TABLEAU 6b: Relations entre loci dans la descendance F2 521/108

	CAT-A	EST-E	GOT-B	PGD-A	PGI-A	PGI-B	POX-B
CAT-A		I	I	I	I	I	I
EST-E			I	I	I	D***	I
GOT-B				D**	I	D***	I
PGD-A					I	I	I
PGI-A						I	I
PGI-B							D**

I : indépendance

D* : liaison significative au seuil de 5%

D** : liaison significative au seuil de 1%

D***: liaison significative au seuil de 0,1%

TABLEAU 7: Fertilités polliniques moyennes

CLASSE:	521	F1	BC 521/108//108	BC 521/108//521	F2
Fertilité moyenne:	50,7%	25,9%	40,8%	22,3%	35,5%
Erreur-type:	7,5%	3,4%	3,7%	2,7%	2,8%
Coefficient de variation:	42	31,9	59,9	40,2	62,1

TABLEAU 8: Caractérisation des tallages mesurés pour chaque classe d'individus

	108	521	F1 521/108	BC 521/108//108
MOYENNE du TALLAGE	7,9	5,6	6,9	8,1
ECART-TYPE	0,7	0,3	0,6	0,2
Coefficient de variation (%)	23,9	13,2	23,8	24,2

TABLEAU 9: Délais moyens d'épiaison (en jours)

CLASSE:	521	F1	BC 521/108//108	BC 521/108//521	F2
Délai moyen d'épiaison:	63,6	74,8	74,6	64,9	72,7
Erreur-type:	0,5	1,1	0,7	1,3	0,6
Coefficient de variation:	2	4,6	6,5	6,7	6,4

FIGURE 1: REPARTITION DE LA FERTILITE POLLINIQUE DES PARENTS 521

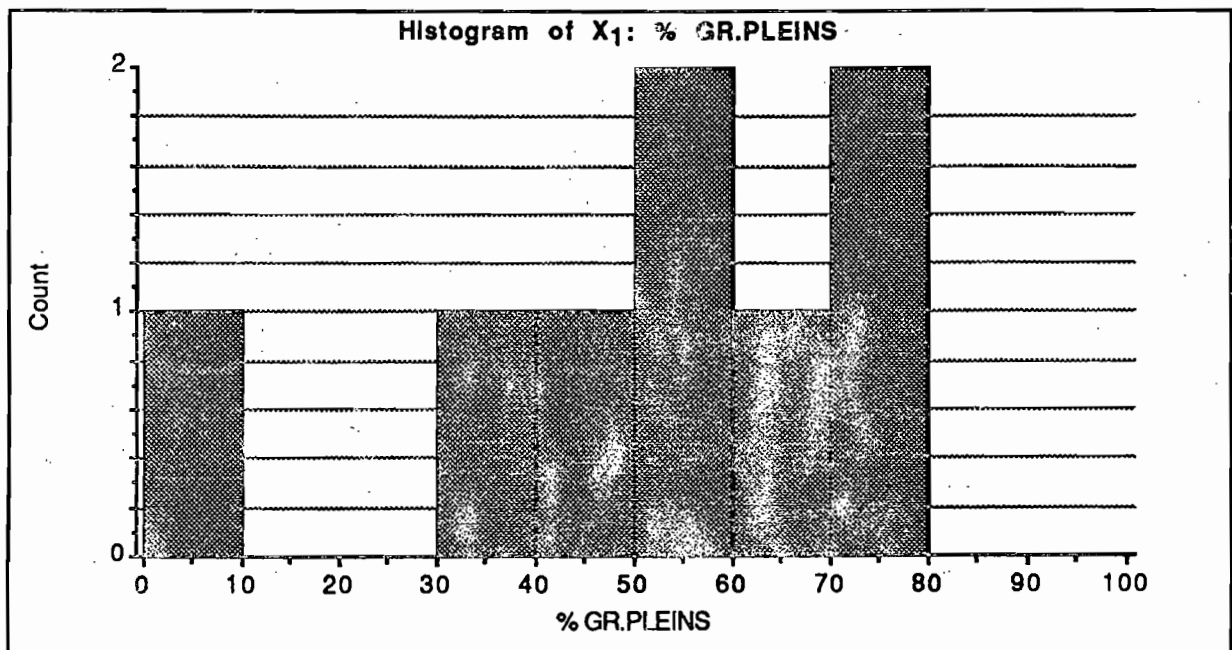


FIGURE 2: REPARTITION DE LA FERTILITE POLLINIQUE DES F1

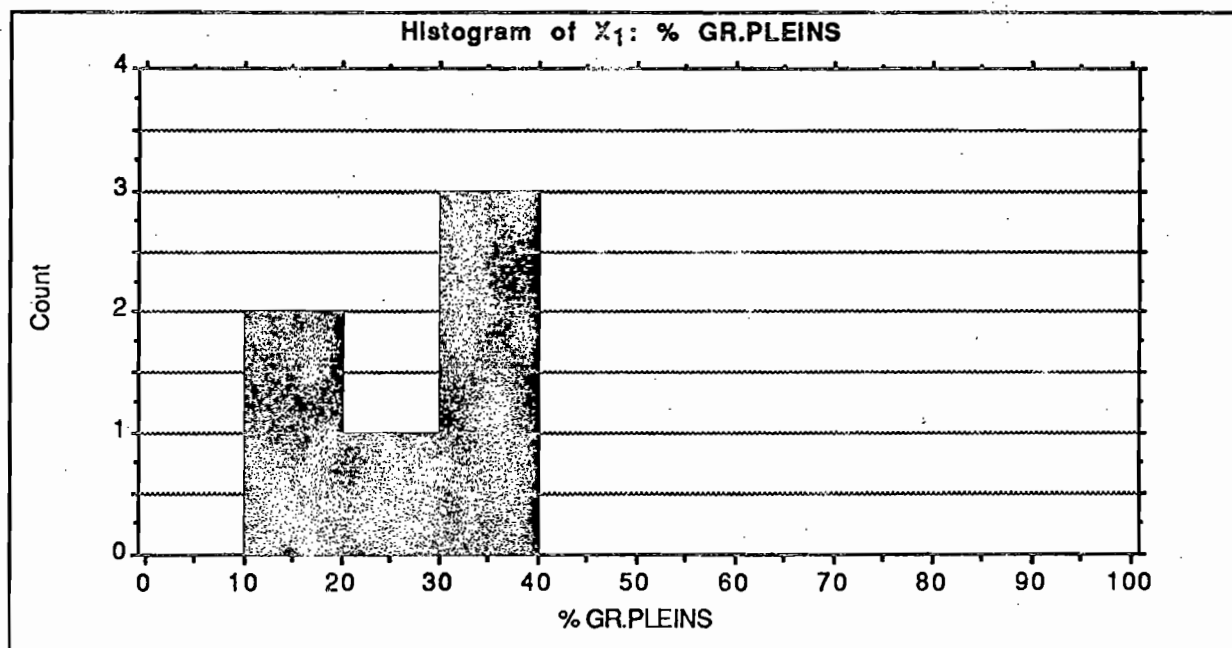


FIGURE 2bis: Fertilités polliniques comparées des 521 et des F1

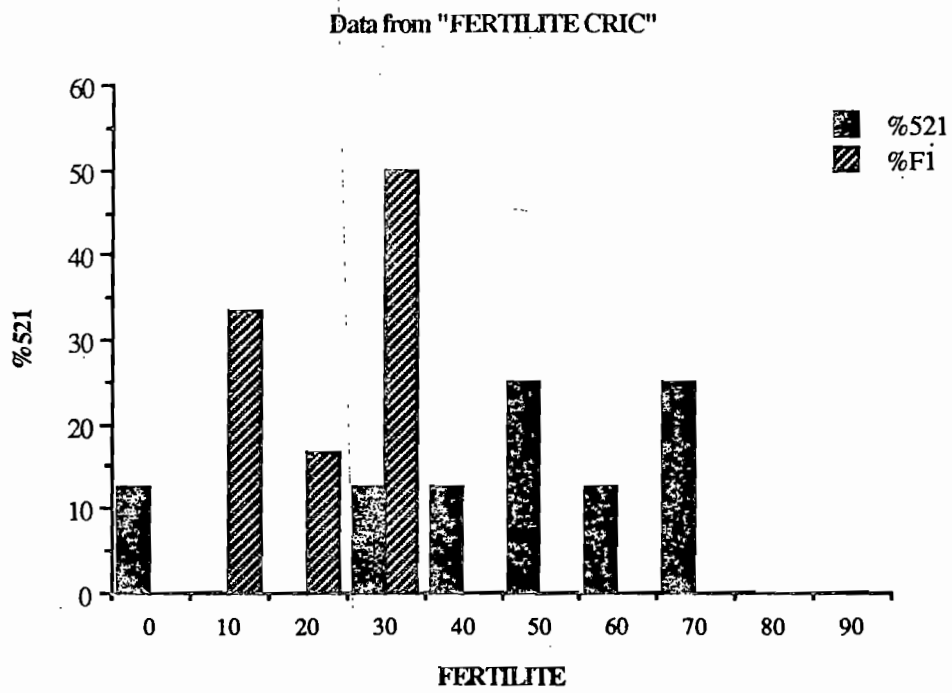


FIGURE 3: REPARTITION DE LA FERTILITE POLLINIQUE DES BC 108

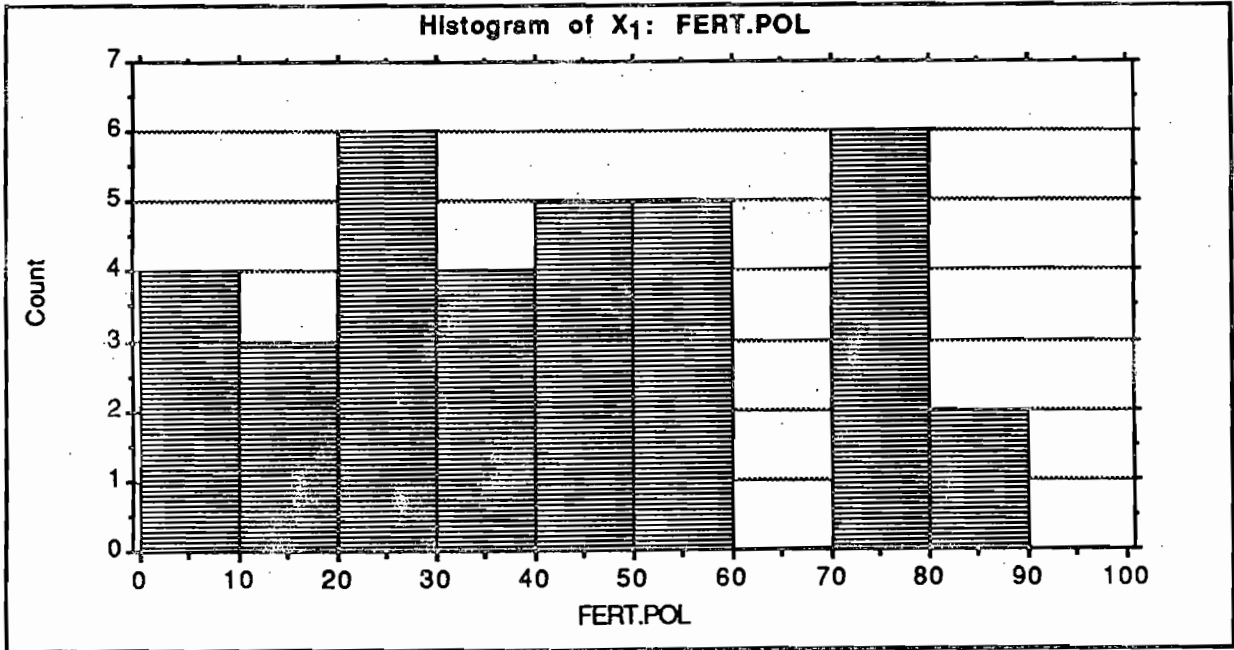


FIGURE 4: REPARTITION DE LA FERTILITE POLLINIQUE DES BC 521

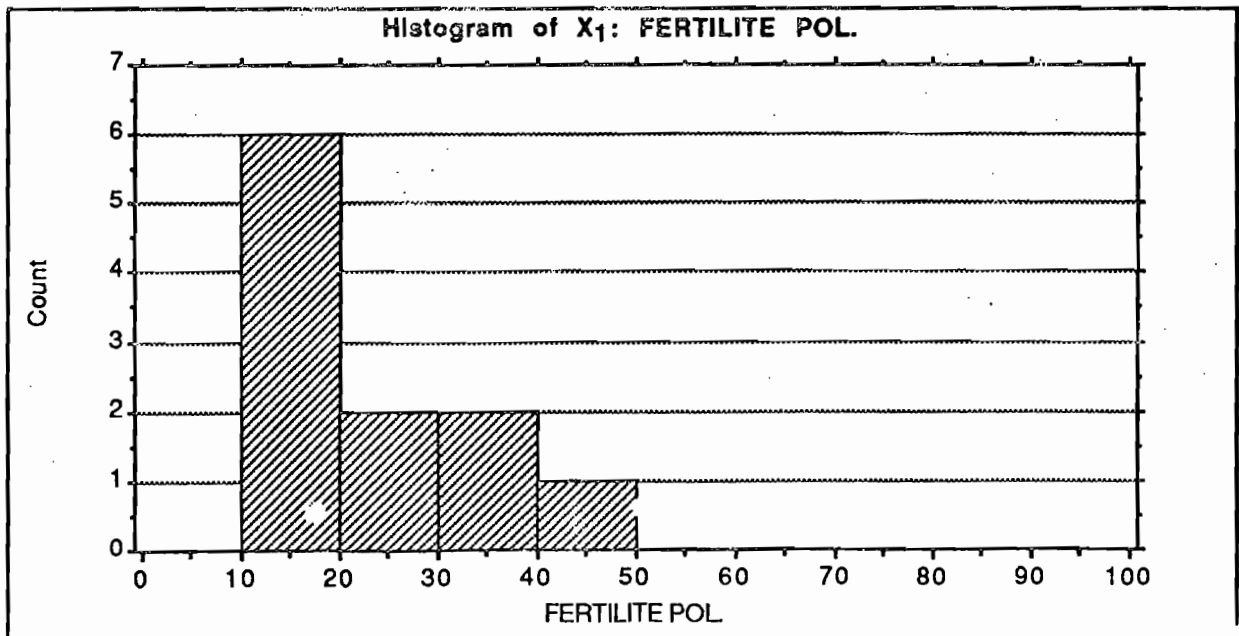


FIGURE 5: REPARTITION DE LA FERTILITE POLLINIQUE DES F2

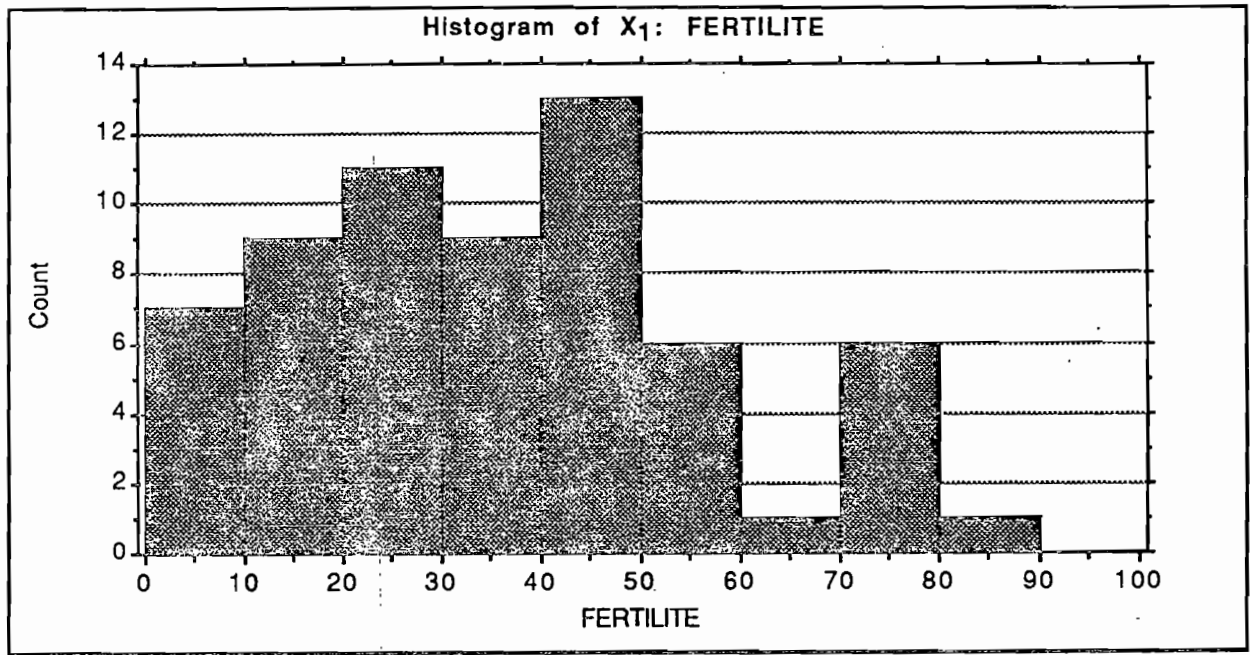
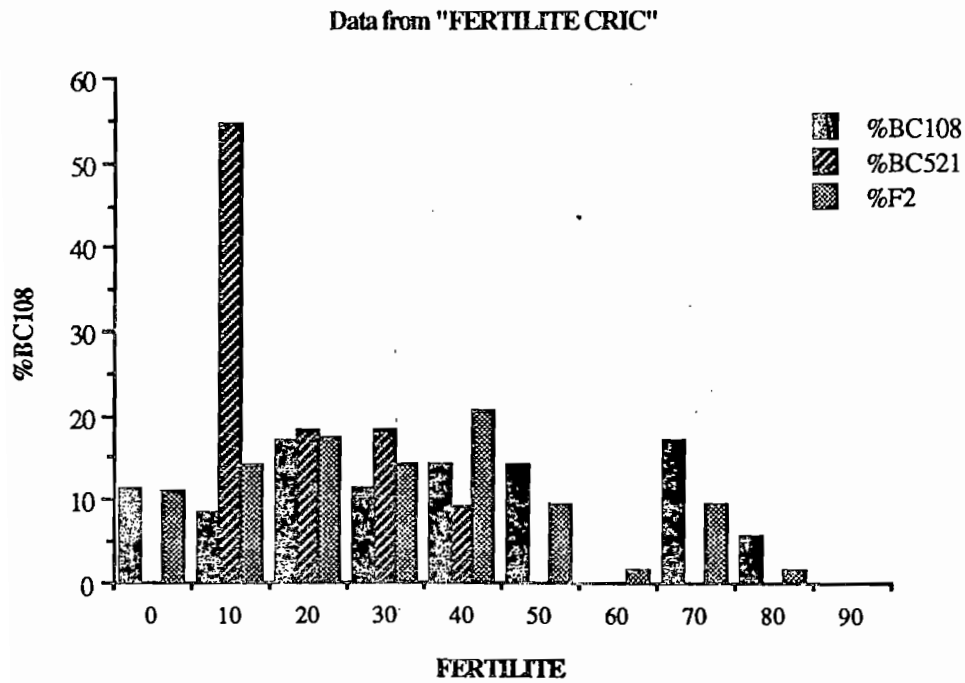


FIGURE 5bis: Fertilités polliniques comparées des BC108, des BC 521 et des F2



de même une plus grande hétérogénéité dans les fertilités de la F2 et de la descendance du BC 521/108//108 que dans celles de la F1, de la descendance du BC 521/108//521 et des parents 521.

3. ANALYSE DES CARACTERES MORPHOLOGIQUES:

a. tallage:

Le tallage au 35° jour ne présentant pas encore une hétérogénéité suffisante il n'est donné qu'à titre indicatif en annexe.

Le tableau 8 présente la moyenne et l'écart-type des tallages mesurés dans les différents groupes d'individus (parents 108 et 521, hybrides 521/108 et descendance du BC 521/108//108); la répartition au sein de chaque groupe apparaît sur les figures 6 à 9. Les figures 8bis et 9bis permettent de comparer entre elles ces répartitions.

Dans le BC 521/08//108 où on considère 100 individus, la répartition observée est clairement une répartition gaussienne; pour les parents et la F1 l'effectif est trop faible (8 individus) pour analyser la répartition.

Cependant des tendances générales se dégagent nettement: les parents 108 tallent plus que les parents 521, la F1 présentant un tallage intermédiaire; on retrouve un tallage de type 108 dans le BC108, avec certaines plantes transgressives qui tallent beaucoup plus que les parents.

b. délai d'épiaison:

Les délais moyens en jours pour chaque classe d'individus apparaissent sur le tableau 9.

Les figures 10 à 14 présentent la répartition de ces délais jusqu'au 80° jour (25 Août) au sein de chaque classe d'individus. Les différentes répartitions sont superposées dans les figures 11bis et 14bis.

On voit apparaître deux tendances nettement différentes: les parents 521 ont une épiaison précoce et groupée, tendance que l'on retrouve dans la descendance du BC 521/108//521 malgré des résultats plus hétérogènes. Par contre l'épiaison est plus étalée dans le temps et retardée d'environ 10 jours dans la F1, la F2, et la descendance du BC 521/108//108.

Les répartitions de la F2 et du BC 521/108//108 sont très différentes puisque le chi-2 obtenu est très significatif (162,2), il apparaît donc que dans le BC 521/108//108 on retrouve la tendance des parents 108 avec un délai d'épiaison plus long.

4. RELATIONS ENTRE CARACTERES ET MARQUEURS ENZYMATIQUES

FIGURE 8bis: Tallages au 51^ojour comparé des parents et des F1

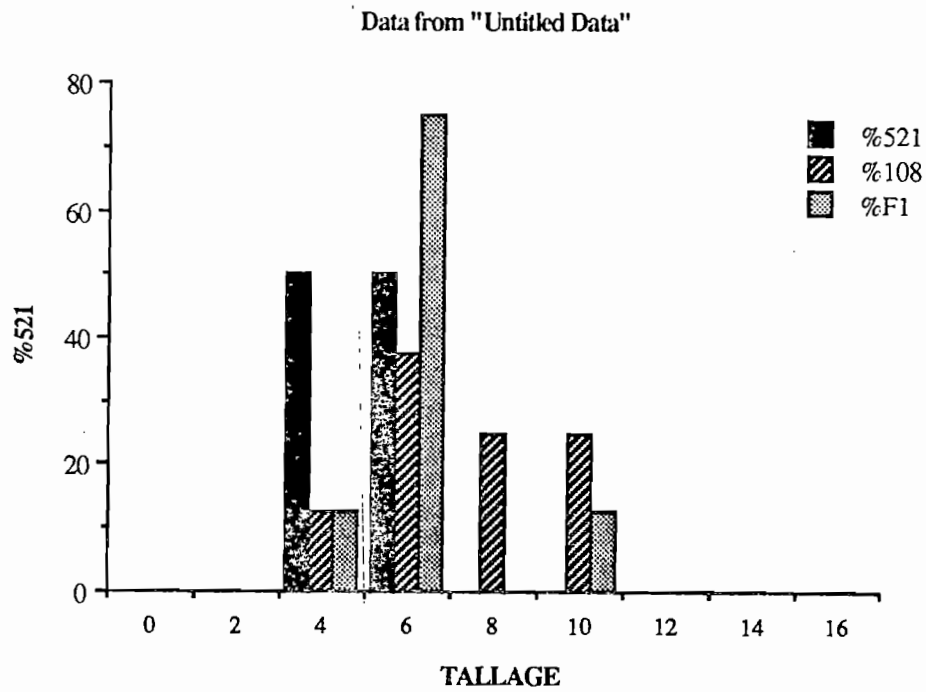


FIGURE 9bis: Tallages au 51^ojour comparé des parents et des BC 108

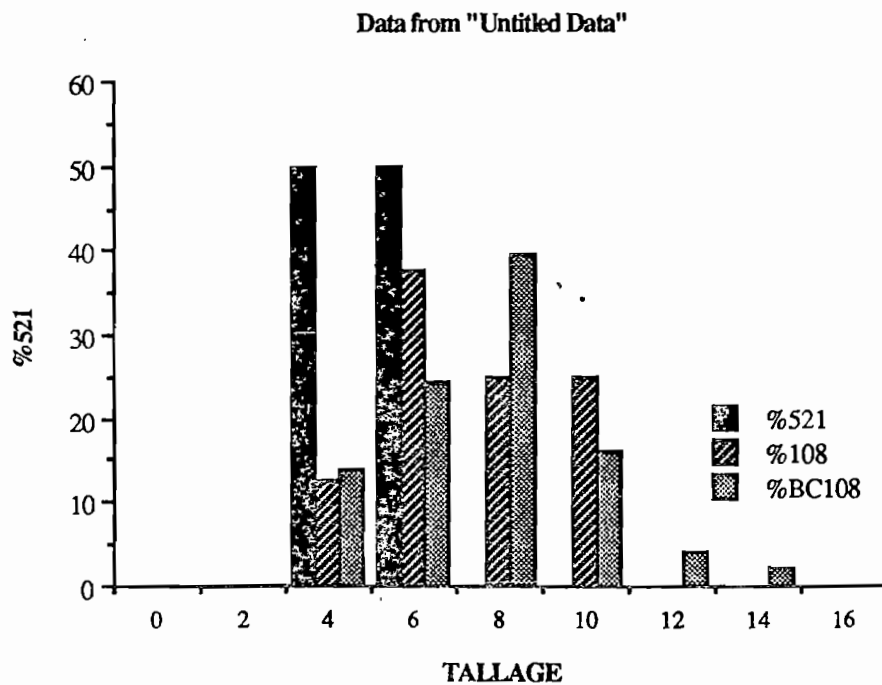


FIGURE 6: REPARTITION DU TALLAGE AU 51° JOUR DES PARENTS 521

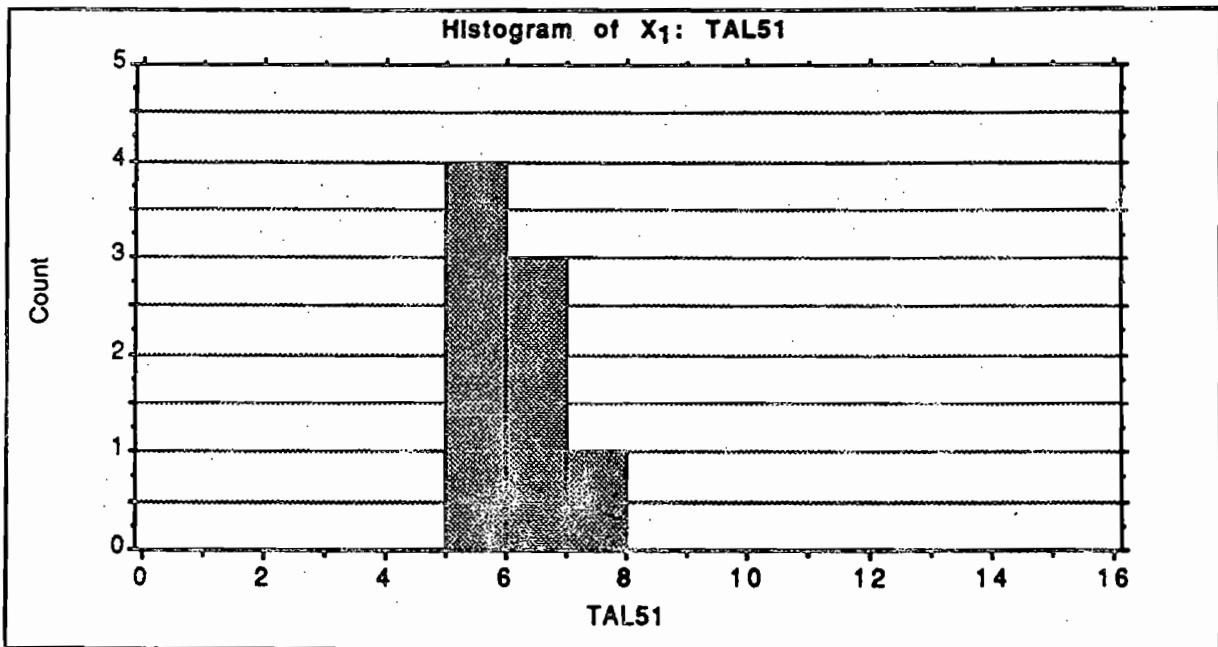


FIGURE 7: REPARTITION DU TALLAGE AU 51° JOUR DES PARENTS 108

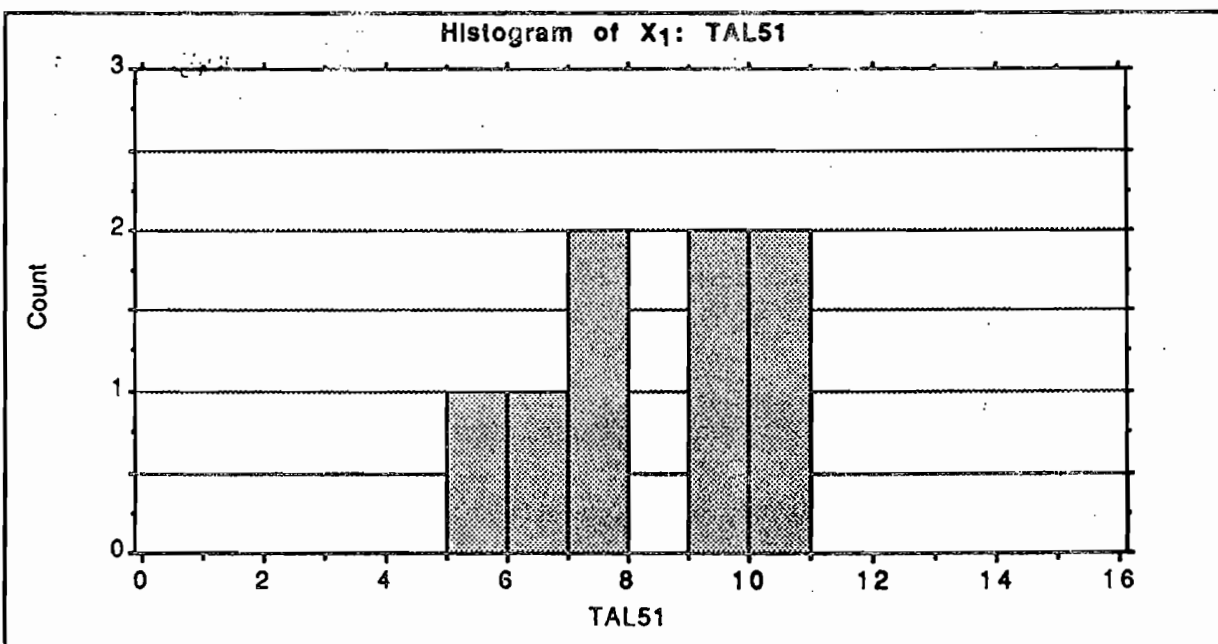


FIGURE 8: REPARTITION DU TALLAGE AU 51° JOUR DES F1

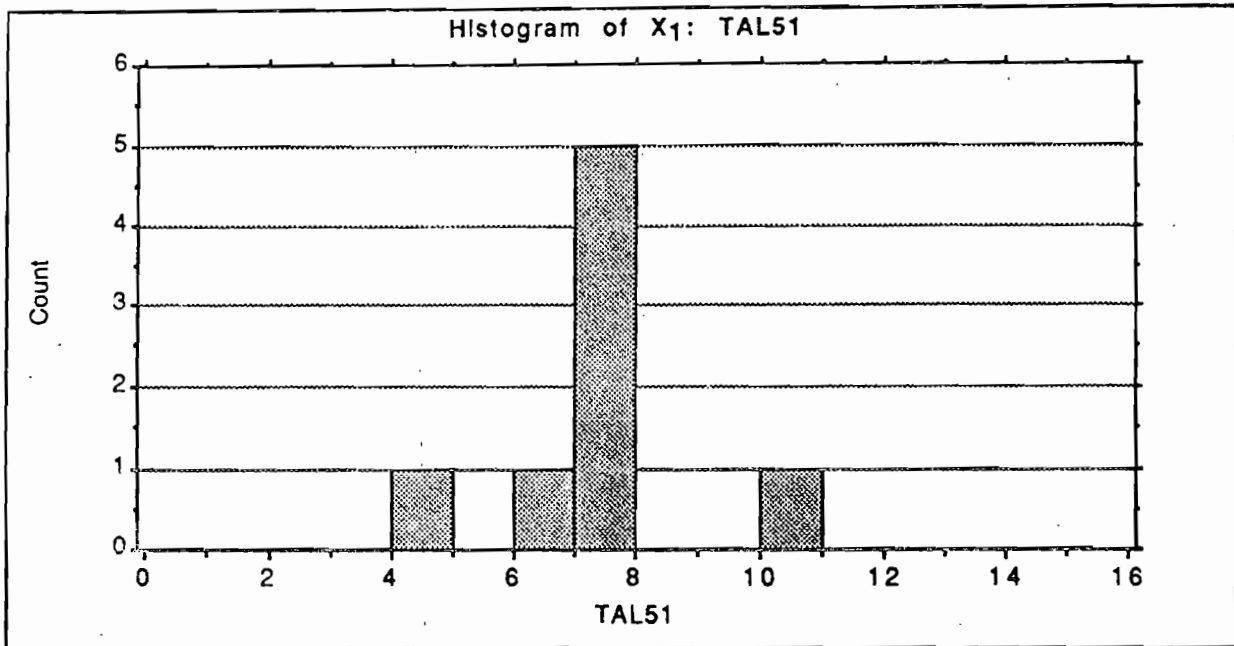


FIGURE 9: REPARTITION DU TALLAGE AU 51° JOUR DES BC108

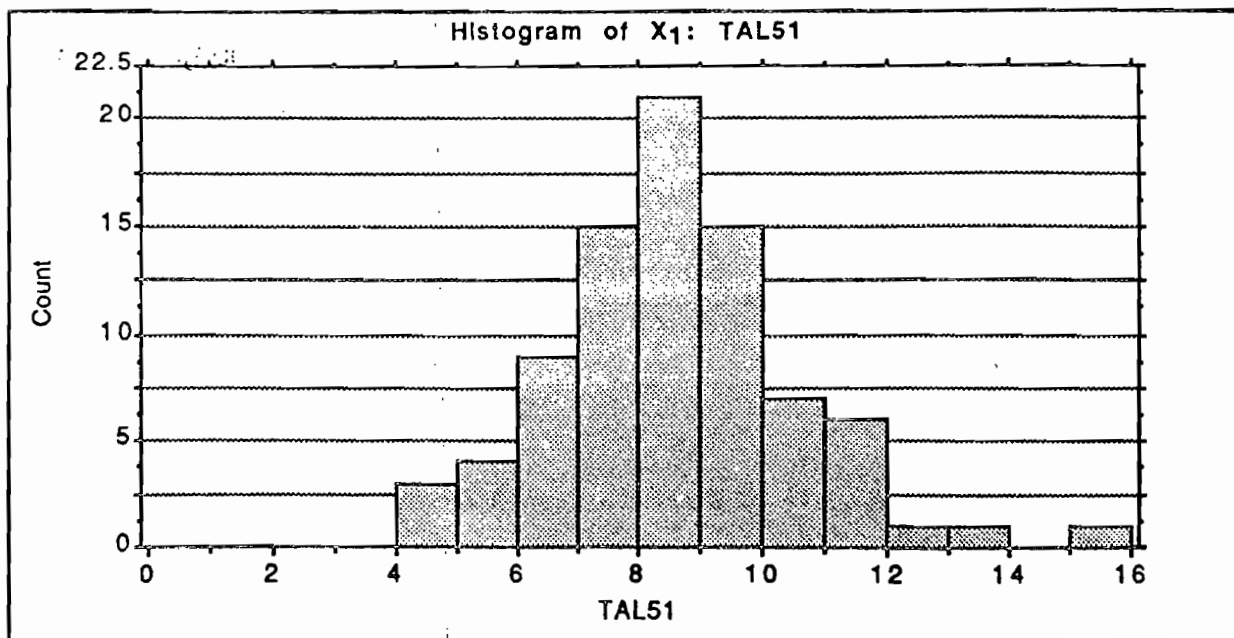


FIGURE 10: REPARTITION DE L'EPIAISON DES 521

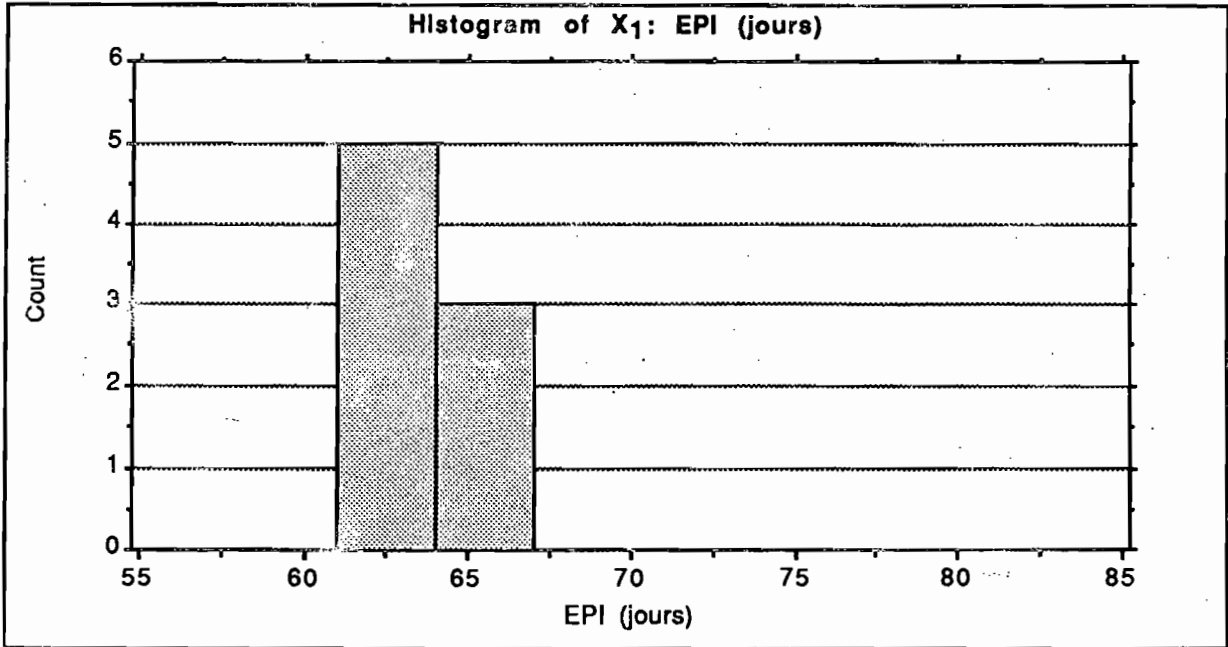


FIGURE 11: REPARTITION DE L'EPIAISON DES F1

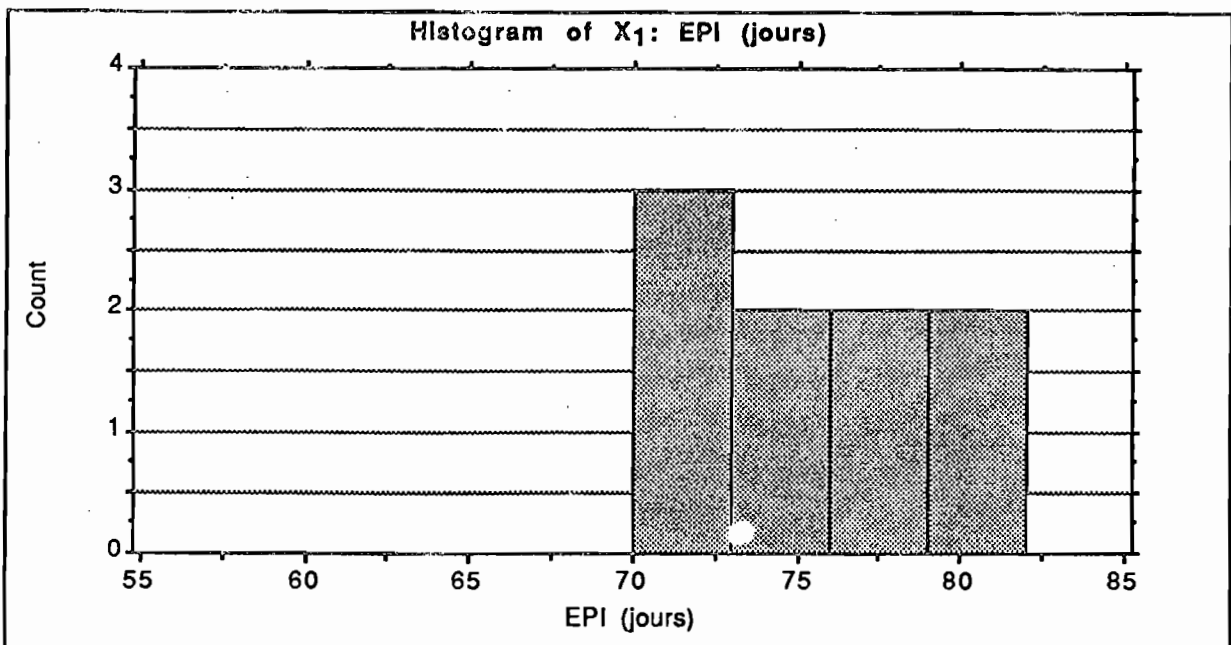


FIGURE 11bis: Epiaisons comparées des 521 et des F1

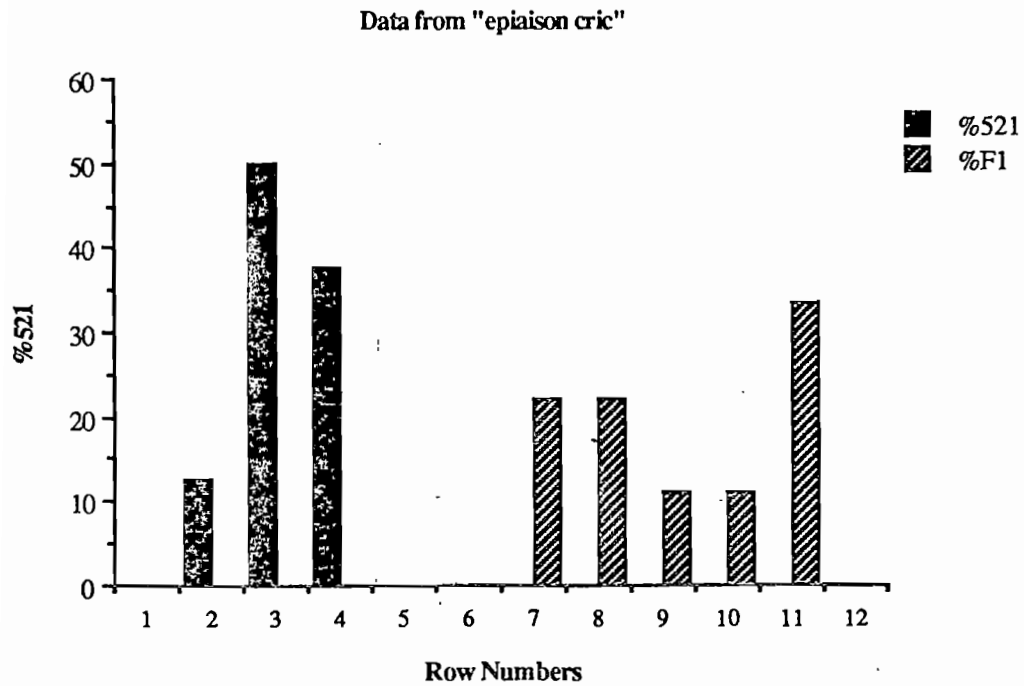


FIGURE 12: REPARTITION DE L'EPIAISON DES BC 108

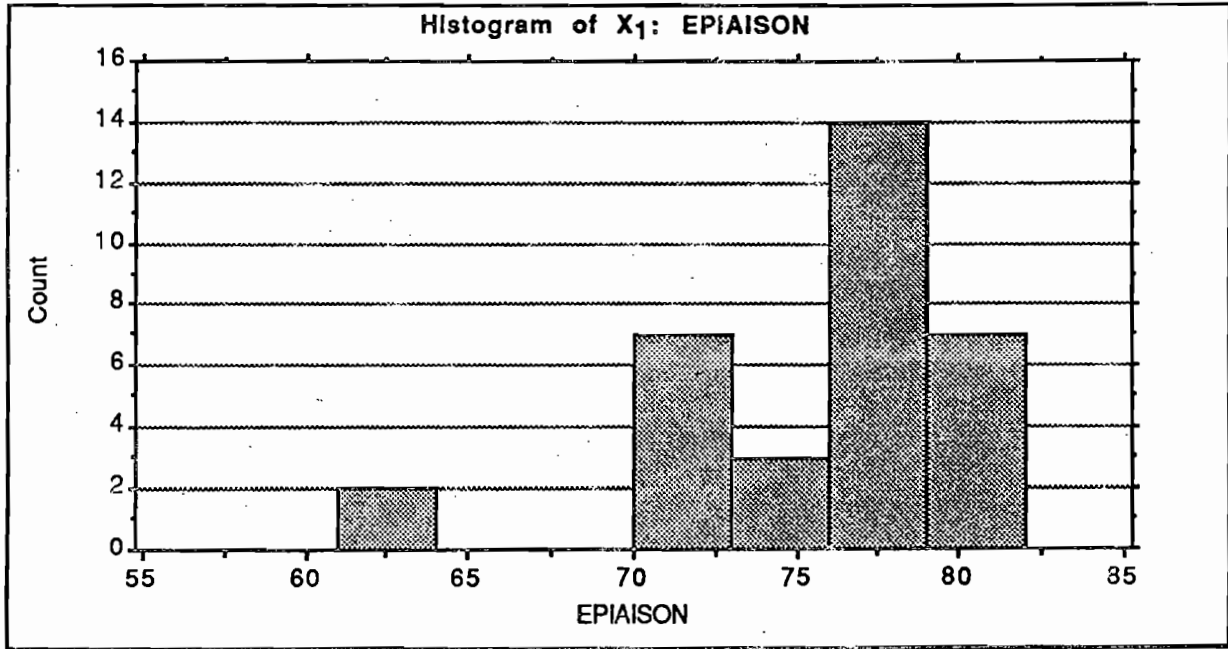


FIGURE 13: REPARTITION DE L'EPIAISON DES BC 521

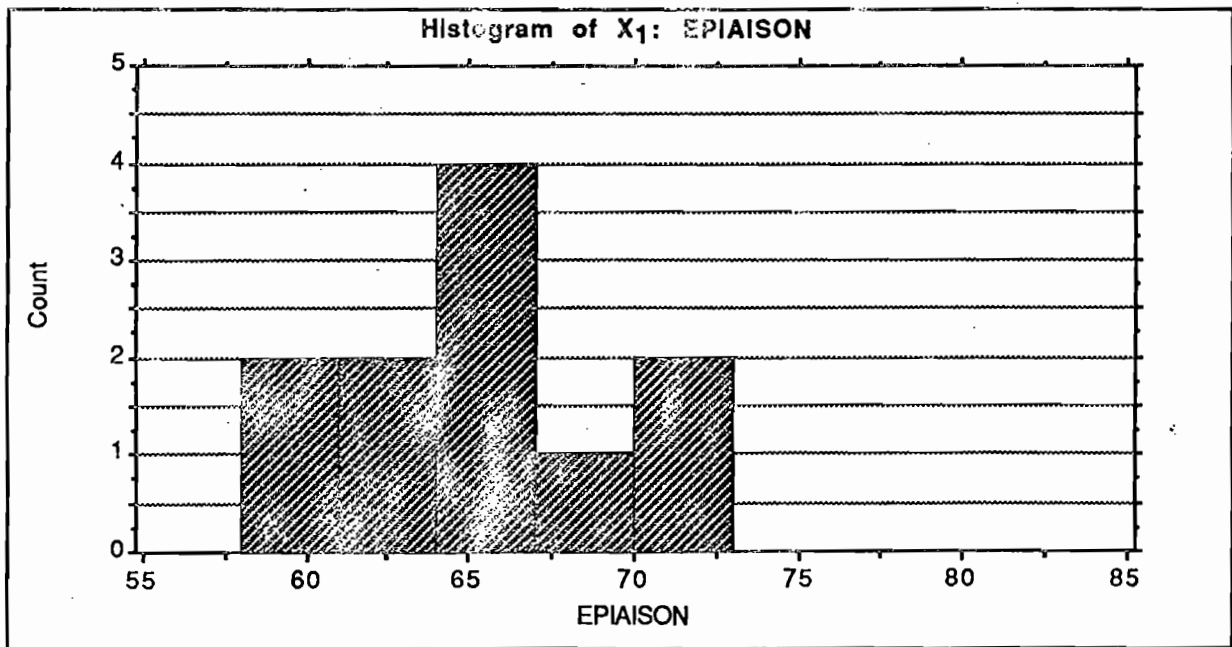


FIGURE 14: REPARTITION DE L'EPIAISON DES F2

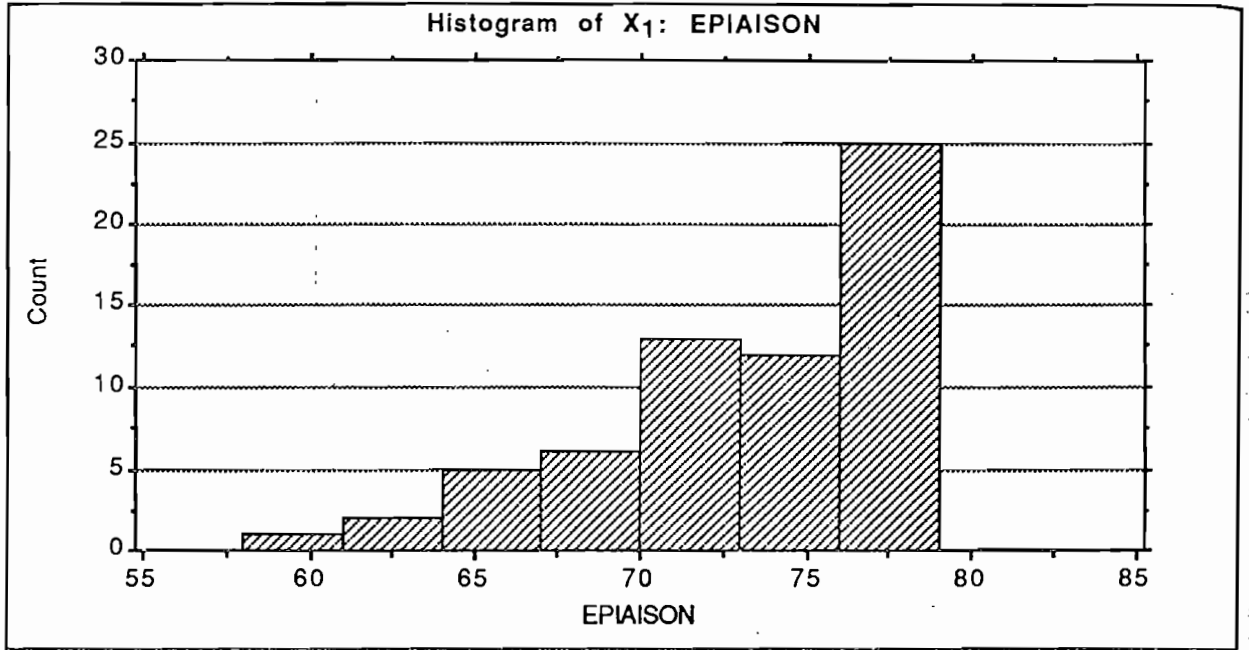
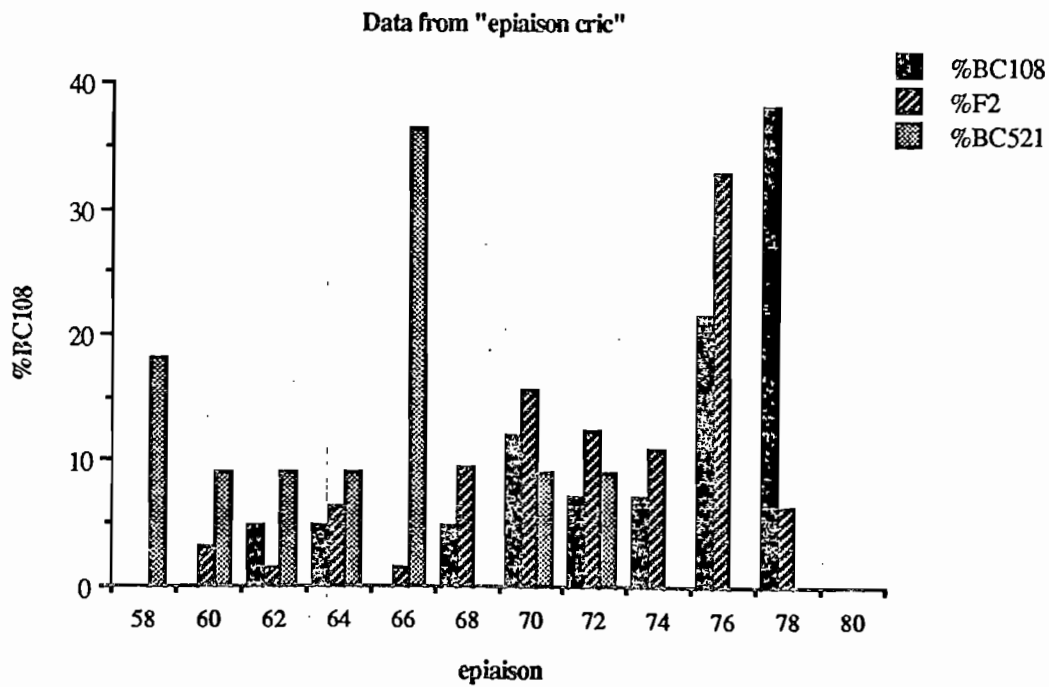


FIGURE 14bis: Epiaisons comparées des BC 108, des BC 521 et des F2



.Le tableau 10 donne les résultats des analyses de variance de la fertilité par rapport à chaque marqueur enzymatique étudié dans la descendance du BC 521/108//108 et dans la F2 .

Seul le locus GOT-B semble présenter une liaison avec le caractère de fertilité pollinique. On a indiqué dans le tableau 10 bis les moyennes de la fertilité pollinique pour chaque génotype de ce locus .

.Des analyses de variance ont été effectuées entre le tallage et les marqueurs CAT-A, PGD-A, PGI-A, PGI-B, POX-B. Elles sont fournies en annexe. Les résultats de ces tests sont résumés dans le tableau 11.

Au seuil de 5% on ne peut conclure à aucune liaison d'un des locus étudié avec un locus influant sur le tallage. Cependant au seuil de 10% trois tests deviennent significatifs: TAL/CAT-A, TAL/PGI-A, TAL/POX-B.

.On a résumé dans le tableau 12 les résultats des analyses de variance entre le délai d'épiaison et chaque marqueur enzymatique pour chaque classe d'individus.

On voit qu'il existe une liaison fortement significative entre le marqueur PGI-B et le délai d'épiaison. Le tableau 12 bis détaille les moyennes de délais d'épiaison pour chaque génotype du locus PGI-B; la comparaison des classes deux à deux fait apparaître deux classes de génotypes: B1B1 et B1B2 ont un délai moyen d'épiaison de 70 jours alors que B2B2 épie au bout de 76 jours.

Remarque: On pourrait alors faire une objection: l'épiaison étant liée à un des marqueurs enzymatiques, l'échantillon traité n'est pas représentatif de la population puisque les individus à délai d'épiaison supérieur à 80 jours n'apparaissent pas. Il est cependant légitime de faire des analyses de variance, même sur cet échantillon incomplet, car si un marqueur influe sur l'épiaison alors cette influence apparaîtra aussi sur les individus les plus précoces; réciproquement s'il n'y a pas d'influence il est équivalent de considérer les plantes les plus précoces ou la totalité des individus.

TABLEAU 10: Résultats des analyses de variance pour la fertilité pollinique

	CAT-A	EST-E	GOT-B	PGD-A	PGI-A	PGI-B	POX-B
fertilité pollinique dans BC 521/108//108	NS	-	-	NS	NS	NS	NS
fertilité pollinique dans la F2	NS	NS	*	NS	NS	NS	NS

TABLEAU 8 bis: comparaison des moyennes des fertilités polliniques pour chaque génotype du locus GOT-B dans la F2

GENOTYPE (locus GOT-B)	FERTILITE POLLINIQUE MOYENNE
B0B0	27%
B0B1 ou B1B1	39%

TABLEAU 11: Résultats des analyses de variance pour le tallage

	CAT-A	PGD-A	PGI-A	PGI-B	POX-B
TALLAGE test au seuil de 5%	NS	NS	NS	NS	NS
TALLAGE test au seuil de 10%	*	NS	*	NS	*

NS: test non significatif
* : test significatif

TABLEAU 12: Résultats des analyses de variance pour les délais d'épiaison

	CAT-A	EST-E	GOT-B	PGD-A	PGI-A	PGI-B	POX-B
épiaison dans BC 521/108//108	NS	-	-	NS	NS	**	NS
épiaison dans la F2	NS	NS	NS	NS	NS	***	NS

TABLEAU 12 bis: comparaison des moyennes de délai d'épiaison pour chaque génotype au locus PGI-B dans la F2 et dans la descendance du BC 521/108//108

GENOTYPE (locus PGI-B)	EPIAISON MOYENNE des F2	EPIAISON MOYENNE des BC 521/108//108
B1B1	69j	
B1B2	71j	72j
B2B2	76j	77j

C. DISCUSSION

1. ANALYSE DES SEGREGATIONS ENZYMATIQUES MONOLOCUS:

Le tableau 13 récapitule les résultats des tests de conformité des ségrégations observées pour chaque enzyme et chaque descendance avec les ségrégations mendéliennes théoriques. On distingue deux types de distorsions : pour les loci EST-E et PGI-B la distorsion apparaît dans les descendances des rétrocroisements et dans la F2 ; pour le locus POX-B la distorsion n'apparaît que dans la descendance F2.

Nous allons donc traiter ces deux cas séparément.

1^{er} cas: la distorsion sur les loci EST-E et PGI-B.

Ces deux loci étant très liés (ils sont situés à 14 cM l'un de l'autre sur le chromosome 3 d'après GLAZMANN 1982), nous ne traiterons que le cas de PGI-B, les données sur EST-E étant moins complètes du fait de la présence d'un allèle nul.

La distorsion peut provenir des gamètes femelles des gamètes mâles ou encore des deux types de gamètes. On remarque qu'une distorsion apparaît dans les descendances des rétrocroisements; or dans ces descendances on observe seulement la ségrégation des gamètes femelles (les plantes fournissant les gamètes mâles étant homozygotes). L'hypothèse la plus simple pour expliquer ce résultat est donc celle d'une sélection sur les gamètes femelles des hybrides F1 521/108.

Intéressons-nous alors à la F2: en supposant que la même situation existe pour les gamètes femelles que dans le BC 521/108//108, la F2 permet de calculer les fréquences des allèles issus des gamètes mâles.

Tableau de croisement des gamètes F1:

		gamètes mâles F1:	
		B1 p'1	B2 p'2
gamètes femelles F1	B1 p1=0,274	B1B1 p1p'1	B1B2 (p1p'2+p2p'1)/2
	B2 p2=0,726	B2B1 (p1p'2+p2p'1)/2	B2B2 p2p'2

TABLEAU 13: Tableau récapitulatif des résultats des tests de conformité des ségrégations observées pour chaque enzyme et pour chaque descendance avec les ségrégations mendéliennes localisation des différents marqueurs

	CAT-A	EST-E	GOT-B	PGD-A	PGI-A	PGI-B	POX-B
F2	NS	***	NS	NS	NS	***	***
BC 521/108//108	NS	-	-	NS	NS	***	NS
BC 521/108//521	NS	***	NS	NS	NS	**	NS
localisation chromosomique	ch.3	ch.3	ch.3	ch.11	ch.4	ch.3	inconnue (pas sur ch.3)

La résolution du système:

$$\begin{aligned} p''1 &= 0,396 = p1p'1 + (p1p'2 + p2p'1)/2 \\ p''2 &= 0,604 = p2p'2 + (p1p'2 + p2p'1)/2 \end{aligned} \quad \text{donne:}$$

$$\begin{aligned} p''1 &= 0,482 \\ p''2 &= 0,518 \\ \text{erreur-type} &= 0,04. \end{aligned}$$

Ces résultats sont bien conformes à ceux attendus sous l'hypothèse d'une distorsion portant uniquement sur les gamètes femelles .

Il faut maintenant tenter d'interpréter cette distorsion dans la ségrégation des gamètes femelles. Remarquons que le déséquilibre va toujours dans le sens d'un excès de l'allèle du parent 108. Deux types de modèles sont alors possibles:

1er modèle: MISUSHIMA et KONDO (1960) ont montré que des distorsions dans les ségrégations alléliques pouvaient intervenir par suite de duplications de gènes ou de chromosomes; un tel phénomène pourrait expliquer les résultats obtenus si la portion chromosomique portant l'allèle 108 se duplique plus facilement que la portion chromosomique portant l'allèle 521.

2ème modèle: Imaginons qu'une fraction des gamètes portant l'allèle 521 soit stérile; cela entraînerait la ségrégation gamétique suivante:

	fréquence initiale	% de stérilité	fréquence finale
gamètes portant l'allèle 108	0,5	0	$\frac{0,5}{0,5+0,5(1-p)} > 0,5$
gamètes portant l'allèle 521	0,5	p	$\frac{0,5(1-p)}{0,5+0,5(1-p)} < 0,5$

D'après les fréquences gamétiques obtenues pour chaque locus on peut calculer le pourcentage de stérilité qui correspondrait aux résultats trouvés:

$$\text{au locus PGI-B:} \quad 0,726 = 0,5 / (0,5 + 0,5(1-p))$$

$$p = 62 \% \quad (\text{erreur-type de } 4,2\%)$$

$$\text{au locus EST-E:} \quad 0,69 = 0,5 / (0,5 + 0,5(1-p))$$

$p = 55 \%$ (erreur-type de 4,3%)

Un pourcentage de stérilité gamétique de 60 % sur les gamètes portant les allèles provenant du parent 521 aux loci PGI-B et EST-E permettrait donc d'expliquer les résultats obtenus. Or l'existence de gènes de stérilité liés aux marqueurs du chromosome 3 (auxquels appartiennent PGI-B et EST-E) a été montrée par OKA(1953). Ces gènes sont appelés S1/s1 et S2/s2, les gamètes s1s2 étant létaux et les gamètes S1S2 partiellement stériles.

La distorsion de ségrégation observée aux deux loci étudiés peut alors s'expliquer par le modèle suivant:

GENOTYPES PARENTAUX: 108: $\frac{S1s2 \text{ allèle } 108}{S1s2 \text{ allèle } 108}$ 521: $\frac{S1S2 \text{ allèle } 521}{S1S2 \text{ allèle } 521}$

GENOTYPE F1: $\frac{S1 s2 \text{ allèle } 108}{S1 S2 \text{ allèle } 521}$

GAMETES en F1: $\frac{S1 s2 \text{ allèle } 108}{\text{fertiles}}$ $\frac{S1 S2 \text{ allèle } 521}{60 \% \text{ de stérilité}}$

Les conventions utilisées pour l'écriture des génotypes sont les conventions habituelles: si A et B sont indépendants le génotype s'écrit $\frac{A}{A} \frac{B}{B}$

s'ils sont liés: $\frac{AB}{AB}$

Pour simplifier les calculs nous supposons, à chaque fois que nous envisageons une liaison entre deux gènes, que cette liaison est suffisamment forte pour que les recombinaisons soient négligeables.

Selon ce modèle, la distorsion de ségrégation devrait exister aussi bien sur les gamètes mâles que sur les gamètes femelles; mais il est possible que l'expression des gènes S diffère entre gamètes mâles et femelles.

2ème cas: la distorsion sur le locus POX-B

La ségrégation est conforme aux modèles mendéliens dans les descendance des rétrocroisements: il n'y a donc pas de distorsion sur la ségrégation des gamètes femelles. L'hypothèse la plus simple pour expliquer le déséquilibre obtenu en F2 est

alors celle d'une sélection portant sur les gamètes mâles.

On peut de la même façon que précédemment calculer les fréquences des gamètes mâles de la F1 à partir des fréquences alléliques du rétrocroisement (qui sont les fréquences des gamètes femelles de la F1) et des fréquences alléliques de la F2, et regarder si les valeurs obtenues sont compatibles avec l'hypothèse faite.

Tableau de croisement des gamètes F1:

		gamètes mâles F1	
		B3 p'3	B4 p'4
gamètes femelles F1	B3 p3=0,5	B3B3 p3p'3	B3B4 (p3p'4+p'3p4)/2
	B4 p4=0,5	B4B3 (p3p'4+p'3p4)/2	B4B4 p4p'4

La résolution du système:

$$\begin{aligned}
 p''3 &= 0,346 = p3p'3 + (p3p'4+p'3p4)/2 \\
 p''4 &= 0,654 = p4p'4 + (p3p'4+p'3p4)/2 \quad \text{donne:}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 p'3 &= 0,2 \\
 p'4 &= 0,8 \\
 \text{erreur-type} &= 0,04
 \end{aligned}$$

L'hypothèse d'un déséquilibre causé seulement par les gamètes mâles est donc compatible avec la situation observée mais cela implique une forte distorsion au niveau de leur ségrégation; là encore deux modèles sont envisageables, sachant que les gamètes en excès sont encore les gamètes portant l'allèle du parent 108 au locus étudié:

1er modèle: On connaît l'existence de gènes de certation appelés ga/ga^+ (NAKGHARA 1972), le pollen portant l'allèle ga^+ étant plus compétitif que celui portant l'allèle ga . Le pollen portant l'allèle du parent 108 peut donc être favorisé si le gène POX-B est lié à un gène ga/ga^+ selon le schéma:

ga^+ allèle 108 ga allèle 521

2ème modèle: On peut envisager une stérilité partielle du pollen portant l'allèle du parent 521 au locus POX-B. Un phénomène de stérilité partielle du pollen des hybrides F1 intra-sativa a en effet été découvert par OKA en 1957: deux gènes indépendants $s1/+1$ et $s2/+2$ provenant de la duplication d'un

même gène interagissent, la présence simultanée des deux allèles récessifs s1 et s2 provoquant un développement anormal du grain de pollen et sa stérilité. Si POX-B est lié fortement à un de ces deux gènes, l'allèle du parent 521 étant couplé à un allèle récessif et l'allèle du parent 108 à un allèle dominant on a la situation suivante:

GENOTYPES PARENTAUX: 108: $\frac{s1 \ +2 \ \text{allèle 108}}{s1 \ +2 \ \text{allèle 108}}$ 521: $\frac{+1 \ \frac{s2 \ \text{allèle 521}}{\text{stérilité}}}{+1 \ s2 \ \text{allèle 521}}$

GENOTYPE F1: $\frac{s1 \ +2 \ \text{allèle 108}}{+1 \ s2 \ \text{allèle 521}}$

GAMETES en F1: 25%: s1 $\frac{+2 \ \text{allèle 108}}{\text{stérilité}}$ 25%: s1 $\frac{s2 \ \text{allèle 521}}{\text{stérilité}}$
25%: +1 $\frac{+2 \ \text{allèle 108}}{\text{stérilité}}$ 25%: +1 $\frac{s2 \ \text{allèle 521}}{\text{stérilité}}$

FREQUENCES GAMÉTIQUES

FINALES en F1: allèle 108: allèle 521:

$$p4 = 0,5/(0,5+0,25) = 0,67 \quad p3 = 0,25/(0,5+0,25) = 0,33$$

$$\text{erreur-type} = 0,04$$

le tableau suivant permet de comparer la situation réelle et la situation attendue d'après le modèle proposé:

	fréquences gamétiques observées en F1	erreur type	fréquences gamétiques attendues en F1 selon le modèle 2	erreur type
B4 allèle 108	0,8	0,04	0,67	0,04
B3 allèle 521	0,2		0,33	

Le modèle proposé n'est donc pas tout à fait suffisant pour expliquer la distorsion observée; celle-ci étant très forte, il n'est pas exclu qu'elle soit en fait due à une action combinée des deux phénomènes: la stérilité pollinique en F1 engendrant une distorsion de ségrégation, tandis que la liaison du marqueur à des gènes de certation entraîne une plus grande compétitivité des gamètes mâles portant l'allèle 108.

D'autre part les tests ont montré que les génotypes hétérozygotes au locus POX-B sont privilégiés ; or il ne peut s'agir d'un phénomène d'autoincompatibilité, courant chez les végétaux, puisque le Riz présente un fort taux d'autofécondation. Il faut envisager ici une mortalité des homozygotes pour expliquer cet excès d'hétérozygotes.

Or OKA a mis en évidence en 1957 un phénomène de faible viabilité des individus de la F2 provenant d'un croisement intra-sativa dû à l'existence de deux gènes dupliqués A1/a1 et A2/a2 pour lesquels deux allèles dominants sont nécessaires pour assurer le développement de la plante.

Exemple: génotypes viables: $\frac{A1}{A1} \frac{a2}{a2}$, $\frac{A1}{A1} \frac{A2}{A2}$, $\frac{A1}{a1} \frac{a2}{A2}$...
 $A1 \ a2 \ A1 \ A2 \ a1 \ A2$

génotypes non viables: $\frac{A1}{a1} \frac{a2}{a2}$, $\frac{a1}{a1} \frac{a2}{a2}$...
 $a1 \ a2 \ a1 \ a2$

Supposons que POX-B soit lié fortement à un de ces gènes, l'allèle du parent 108 étant conjugué à un allèle récessif et l'allèle du parent 521 à un allèle dominant; on aurait alors la situation suivante:

GENOTYPES PARENTAUX: 108: $\frac{A1}{A1} \frac{a2}{a2}$ allèle 108 521: $\frac{a1}{a1} \frac{A2}{A2}$ allèle 521
 $A1 \ a2$ allèle 108 $a1 \ A2$ allèle 521

GENOTYPE F1: $\frac{a1}{A1} \frac{A2}{a2}$ allèle 521
 $A1 \ a2$ allèle 108

GAMETES en F1: 25%: $a1 \ A2$ allèle 521 25%: $a1 \ a2$ allèle 108
 25%: $A1 \ A2$ allèle 521 25%: $A1 \ a2$ allèle 108

VIABILITE EN F2: homozygotes 521: 100%
 homozygotes 108: 33%
 hétérozygotes : 75%

(On considère évidemment l'homozygotie et l'hétérozygotie pour le locus POX-B)

Ce modèle explique donc l'avantage des hétérozygotes sur les homozygotes 108, l'avantage qu'ils ont sur les homozygotes 521 pouvant s'expliquer par le phénomène de stérilité pollinique lié à l'allèle du parent 521 vu précédemment.

2. ANALYSE DES RELATIONS ENTRE LOCI:

Deux des liaisons trouvées sont conformes aux résultats connus sur sativa puisque la liaison entre GOT-B et PGI-B a été démontrée par GHESQUIERE (1981): les deux gènes sont sur le chromosome 3 à une distance de 31 cM; la liaison entre EST-E et PGI-B a été prouvée par GLAZMANN (1982), les deux gènes sont à 14 cM de distance.

Mais pour les trois autres couples GOT-B/PGI-B, PGI-A/PGI-B, POX-B/PGI-B les gènes sont considérés comme indépendants génétiquement. On peut expliquer le résultat obtenu par un phénomène d'élimination des gamètes correspondant à une recombinaison entre les deux loci considérés pour chaque couple, ce qui engendrerait un excès de gamètes parentaux par rapport aux gamètes recombinés et par là même une pseudo-liaison génétique. On peut résumer ce phénomène dans le schéma suivant:

GAMETES EN F1	FREQUENCES INITIALES	% D'ELIMINATION	FREQUENCES FINALES
gamètes parentaux:	0,5	0	$0,5/(0,5+0,5(1-P))$
gamètes recombinés:	0,5	p	$0,5(1-p)/(0,5+0,5(1-p))$

Cette hypothèse est tout à fait cohérente pour le couple POX-B/PGI-B avec le modèle de stérilité partielle du pollen F1 qui a été proposé. En effet on a postulé une liaison entre POX-B et le gène s2/+2; si maintenant il existe une liaison entre POX-B et le gène s1/+1, on a la situation suivante en F1:

GENOTYPES PARENTAUX: 108: PGI-B2 s1 +2 POX-B4
 PGI-B2 s1 +2 POX-B4

521: PGI-B1 +1 s2 POX-B3
 PGI-B1 +1 s2 POX-B3

GENOTYPE F1: PGI-B2 s1 +2 POX-B4
PGI-B1 +1 s2 POX-B3

GAMETES F1: PARENTAUX RECOMBINES

<u>PGI-B2 s1 +2 POX-B4</u>	<u>PGI-B2 s1 s2 POX-B3</u> létaux
<u>PGI-B1 +1 s2 POX-B3</u>	<u>PGI-B1 +1 +2 POX-B4</u>

Ce modèle implique donc un pourcentage d'élimination des gamètes recombinés $p = 50\%$, ce qui donnerait en situation finale pour les gamètes mâles 33% de recombinés et 67% de parentaux tandis que les gamètes femelles gardent une répartition 50:50.

On calcule les effectifs attendus pour les génotypes recombinés en partant de ces fréquences gamétiques et on les compare aux effectifs observés réellement:

GENOTYPE	EFFECTIF OBSERVE	EFFECTIF PREVU par le MODELE
PGI-B1 POX-B4	7	4
PGI-B2 POX-B3	1	4

Les effectifs attendus et les effectifs observés sont de même ordre de grandeur, ce modèle est donc acceptable.

3. FERTILITE POLLINIQUE

Les fertilités polliniques des parents 108 seraient nécessaires ici pour interpréter ce qui se passe: l'augmentation de la stérilité pollinique dans les descendances peut en effet soit provenir du parent 108, qui serait encore plus stérile que le parent 521 ou plus sensible à certains facteurs externes, soit provenir d'un phénomène de stérilité pollinique en F1. Cette seconde hypothèse est tout à fait probable si l'on se réfère au modèle de stérilité pollinique partielle du pollen F1 faisant intervenir les gènes $s1/+1$ et $s2/+2$ qui a été proposé pour expliquer la distorsion de ségrégation au locus POX-B.

4. CARACTERES MORPHOLOGIQUES

Sans connaître exactement le délai d'épiaison des parents 108, on sait que celui-ci est supérieur à 80 jours; tallage et délai d'épiaison présentent donc des situations semblables: les deux parents présentent des performances très différentes pour le caractère étudié, les hybrides ont un statut intermédiaire (sans qu'on puisse remarquer de phénomène d'hétérosis), les descendances des BC 521/108//108 et 521/108//521 récupèrent respectivement les tendances des parents 108 et 521, avec apparition de certaines plantes transgressives (fort tallage ou épiaison très précoce). Ces deux caractères sont donc vraisemblablement soumis à

l'influence d'un ou plusieurs gènes présentant des allèles différents chez les deux parents.

L'hétérogénéité du tallage des F1 par rapport à celui des parents peut s'expliquer par une plus grande sensibilité à l'environnement, phénomène courant chez des hybrides.

5.LIAISONS ENTRE LES CARACTERES ET LES MARQUEURS ENZYMATIQUES ETUDIES (phénomène déjà noté par PHAM (1984) sur d'autres descendances)

Le marqueur PGI-B est fortement lié à un gène influant sur le délai d'épiaison; les comparaisons de moyennes montrent que l'allèle B1 est lié à une épiaison plus précoce que l'allèle B2, les individus hétérozygotes pour ce locus présentant la même épiaison que les homozygotes B1B1.

De façon moins significative le marqueur GOT-B est lié à un gène influant sur la fertilité pollinique; la comparaison des moyennes précise que l'allèle B1 est lié à une fertilité pollinique plus grande que l'allèle B0.

Pour le tallage, les analyses de variances n'ayant pas été significatives, on ne peut conclure à une liaison entre l'un des marqueurs étudiés et un gène codant pour le tallage, mais le fait que trois tests deviennent significatifs lorsqu'on augmente le seuil de signification de 5% indique qu'il n'est pas exclu que les marqueurs CAT-A, PGI-A, POX-B influent sur le tallage (BOUGEROL (1987) avait noté une influence de CAT-A et PGI-A sur le tallage). Il faudrait pour le vérifier recommencer la manipulation à une plus grande échelle, ce qui augmenterait la puissance des tests. Si de telles liaisons existent, cela signifierait que le tallage est au moins sous l'influence de trois "loci de caractères quantitatifs" car CAT-A, PGI-A et POX-B sont génétiquement indépendants deux à deux.

CONCLUSION

DECOURAGEMENT N'EST PAS IVOIRIEN

L'objectif de cette étude était d'observer les descendance issues de croisements entre deux sous-espèces très éloignées de *O.sativa*. Ces sous-espèces présentent en effet des caractéristiques différentes et complémentaires qu'il serait intéressant de combiner chez une même plante.

Quatre types d'observations ont pu être faits:

- de nombreuses barrières reproductives (dus la plupart du temps à des gènes gamétophytiques) existent entre les sous-espèces *indica* et *japonica*, ce qui engendre une forte stérilité dans toutes les descendance étudiées. Il semble cependant que cette stérilité diminue dans la F2 et dans le rétrocroisement par le parent *indica*..

- la transmission des caractères parentaux est en général additive.

- des distorsions de ségrégations apparaissent pour trois marqueurs enzymatiques, entraînant une perte des informations venant du parent *japonica*.

- deux marqueurs enzymatiques de caractères morphologiques ont pu être mis en évidence.

Ainsi les recombinaisons entre génomes éloignés *intra sativa* sont possibles mais on se heurte à des problèmes de stérilité et les résultats obtenus confirment qu'il existe un effet mutagène de l'état hybride: il faudrait donc imaginer des schémas de croisement permettant d'une part de contourner les barrières reproductives pour obtenir des plantes suffisamment fertiles, d'autre part de limiter les pertes d'information causées par l'état hybride.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BEZANCON G, SECOND G (1984)
"Les Riz" in "Gestion des ressources génétiques des plantes cultivées." Tome 1 (PERNES J, Ed ACCT)
- BOUGEROL B (1987)
Rapport de stage de fin d'études d'ingénieur.(ORSTOM)
- DE DATTA,SURAJIT K (1981)
Principles and practices of Rice Production.
- D'HAINAUT L (1975)
Concepts et méthodes de la statistique. Nathan .
- PASTEUR N et al (1987)
Manuel technique de génétique par électrophorèse des protéines.
- PHAM JL (1984)
Hybridations intraspécifiques chez *Oryza sativa* L. : étude de quelques hybrides F1 et descendance F2.
Rapport d'élève ORSTOM.
- PHAM JL (1988)
Isozymic markers for plant height and spikelet fertility in Rice.
Accepté dans Rice Genetics Newsletter.
- SECOND G (1984)
Relations évolutives chez le genre ORYZA et processus de domestication des Riz.
Collection Etudes et Thèses. Editions de l' ORSTOM.
- SECOND G,TROUSLOT P (1980)
Electrophorèse d'enzymes de Riz (ORYZA sp.) .
Travaux et documents de l'ORSTOM.
- SOKAL R, ROHLF F J (1969)
Biometry: the principle and practice of statistics in biological research.
Ed Freeman.

Synthèse in:

BOUGEROL B (1987)

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE: Les croisements entre espèces ou sous-espèces du genre *Oryza* possédant le génome A (groupe *Sativa*):

des travaux suivants:

CLEMENT G, POISSON C (1986)

Les problèmes de la stérilité dans les croisements *indica* par *japonica* pour l'amélioration du riz (*O.sativa* L.)
La recherche de la compatibilité hybride
Agronomie tropicale 41-1: 27-36

MIZUSHIMA U, KONDO A (1960)

Fundamental studies on rice breeding through hybridization between japanese and foreign varieties.
II. Structural difference of chromosomes between a japanese and an indian variety proved by anomalous mode of segregation in apiculus anthocyanin pigmentation in their hybrid.
Japan . J. Breed. 10 : 1-9

NAKAGAHRA M (1972)

Genetic mechanism on the distorted segregation of marker genes belonging to the eleventh linkage group in cultivated rice.
Japan. J. Breed. 22: 232-238

NAKAGAHRA M, OMURA T, IWATA N (1972)

Gametophyte genes and their loci on the eleventh linkage group of cultivated rice.
Japan. J. Breed.22: 305-312

NAKAGAHRA M, OMURA T, IWATA N (1974)

New certation genes on the first linkage group found in inter-subspecific hybridization of cultivated rice.
J.Fac.Agr., Kyushu Univ. 18: 157-167

OKA HI (1953)

Gene analysis of intervarietal hybrid sterility and certation due to certain recombinaisons of gamete-development in rice.
Japan. J. Breed. 2: 217-224

OKA HI (1957)

Complementary lethal genes in rice.
Japan.J. Genetics 37: 24-35

ANNEXE 1: Résultats supplémentaires obtenus pour un huitième marqueur enzymatique, les *phosphatases acides*.

La ségrégation des phosphatases acides (PAC) s'observe par électrophorèse selon les mêmes méthodes que celles utilisées pour les sept marqueurs étudiés précédemment mais l'organe échantillonné est cette fois-ci la feuille paniculaire. Cette étude n'a donc pu être faite qu'après l'épiaison, c'est à dire dans les tout derniers jours du stage, et elle reste incomplète, une partie seulement des plantes ayant épié avant le 27 Août: on l'a donc placé en annexe à titre d'information, l'analyse définitive ne pourra être faite qu'après réception des résultats des dernières manipulations faites en ce moment au laboratoire d'Abidjan.

Materiel et methodes:

On suit exactement le même protocole et on fait les mêmes analyses que pour les autres marqueurs; trois points cependant sont particuliers :

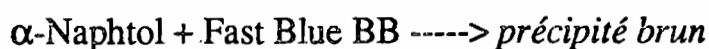
- Deux loci très liés sont en fait étudiés pour ce marqueur: les loci Fa (allèles Fa et 0) et AMC (allèles +9 et -4).

Les génotypes parentaux à ces loci sont (Fa -4) pour le parent 108 et (0 +9) pour le parent 521.

- Le système d'électrophorèse utilisé est un peu modifié:

TAMPON	ORGANE ECHANTILLONNE	PAPIER WHATMAN	MIGRATION	
			voltage	durée
Borate pH 8,0 (système C)	feuille paniculaire + morceau de gaine	n° 1	11	5 h

- Le principe de coloration est le suivant:



Résultats:

a. Ségrégations monocus:

Le tableau a présente les résultats des tests de conformité aux ségrégations mendéliennes. Il apparait une distorsion de ségrégation dans la F2, mais pas dans les rétrocroisements.

Le tableau b donne les fréquences alléliques calculées pour la F2, on voit qu'il y a un excès significatif de l'allèle du parent 108.

Le résultat du test de panmixie dans la F2 est présenté dans le tableau c, il montre que l'association des gamètes au locus PAC se fait au hasard.

b. Relations avec les autres loci:

Les résultats des tableaux de contingence pour les descendances F2 et BC 521/108//108 sont résumés dans le tableau d. Apparemment on ne peut conclure à aucune liaison entre le locus PAC et les six autres loci étudiés.

Tableau a: Test de conformité aux ségrégations mendéliennes

DESCENDANCE	génotype	EFFECTIFS OBSERVES	EFFECTIFS THEORIQUES	TEST	SIGNIFICATION
BC 521/108//108	Fa -4	28	24,5	$X^2=1$	NS
	0 +9	0	0		
	Fa -4+9	21	24,5		
BC 521/108//521	Fa -4	0	0	test binomial: P=0,5	NS
	0 +9	5	5,5		
	Fa -4+9	6	5,5		
BC 521/108//108	Fa -4	23	14,5	$X^2=12,86$	***
	0 +9	4	14,5		
	Fa -4+9	31	29		

Tableau b: Calcul des fréquences alléliques

DESCENDANCE	ALLELE	EFFECTIFS OBSERVES	EFFECTIFS THEORIQUES	TEST	Fréquences alléliques observées
F2	Fa -4	38,5	29	$X^2=6,23$	0,66
	0 +9	19,5	29		*

Tableau c: Test de panmixie dans la F2

GENOTYPE DES F2	DISTRIBUTION ATTENDUE	DISTRIBUTION OBSERVEE	TEST	SIGNIFICATION
Fa -4	21,35	23	$X^2=3,42$ (DL=2)	NS
0 +9	5,66	4		
Fa -4+9	22	31		

Tableau d: Relations avec les autres loci

	CAT-A	EST-E	GOT-B	PGD-A	PGI-A	PGI-B	POX-B
PAC dans la F2	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
PAC dans BC108	NS	-	-	NS	NS	NS	NS

Tableau e: Relations avec les caractères morphologiques

	FERTILITE POLLINIQUE	EPIAISON	TALLAGE
PAC dans la F2	NS	NS	-
PAC dans BC 108	NS	NS	

morphologiques:

Les résultats des ANOVA effectuées entre PAC et les caractères tallage, épiaison, fertilité pour les descendances F2 et BC 521/108//108 sont résumés dans le tableau e. Apparemment PAC n'est pas un marqueur d'un des caractères étudiés, aucun test n'étant significatif.

Discussion-conclusion:

On retrouve le même type de situation que pour le locus POX-B, avec des fréquences alléliques très proches (0,346 et 0,654 contre 0,34 et 0,66), on peut donc appliquer la même hypothèse d'une sélection sur les gamètes mâles.

Les modèles proposés restent:

1^{er} modèle: la liaison du locus PAC à des gènes de certation (différents de ceux liés à POX-B puisque POX-B et PAC sont indépendants génétiquement).

2^{ème} modèle: Une stérilité partielle du pollen portant l'allèle 521.

ANNEXE 2: Organisation des bacs dans la serre

Les plantes sont codées de 01US à 291US comme suit:

- 01US à 07US: parent 108
- 08US à 15US: parent 521
- 16US à 23US: hybrides F1 521/108
- 24US à 145US: BC 521/108//108
- 146US à 156US: BC 521/108//521
- 157US à 291US: F2 521/108

Les plantes 01US à 127US sont placées en randomisation dans des bacs à pots de 6 litres selon le plan indiqué dans le fichier STATVIEW intitulé "PLAN BACS DE 6 LITRES" (en lisant ce fichier de gauche à droite on lit les bacs en partant du fond de la serre); les autres plantes sont rangées dans l'ordre dans deux autres bacs.

40	65	3	67
68	10	70	72
71	73	105	75
76	53	78	79
120	17	82	83
125	108	110	87
88	61	90	114
106	93	127	95
96	97	98	118
77	2	102	103
104	74	92	107
85	109	86	111
58	113	91	115
116	12	99	119
80	6	22	123
124	84	126	94

100	34	101	66
16	121	18	59
25	9	69	46
117	13	57	15
48	81	5	50
20	63	122	23
24	8	26	27
28	54	30	42
37	33	1	35
36	32	49	39
64	41	31	43
44	45	11	47
7	38	19	51
52	100	29	55
56	14	112	4
60	89	62	21

ANNEXE 3: Composition des solutions utilisées

Le tableau 2 indique les références des principaux produits chimiques utilisés.

1°) TAMPONS DE MIGRATION

Système A - Système de BREWER (1970) légèrement modifié. Utilisé avec des gels à 14 g. d'amidon pour 100 ml de tampon.

Tampon "Gel". Histidine HCl 5 mM, NaCl 2,5 mM pH 6,0

Histidine mono HCl	1,92 g
Na Cl M	5 ml

Ajuster à pH 6,0 avec NaOH 2 N et compléter à 200 ml avec H₂O.

Tampon "Bac". Citrate de Na 0,41 M, pH 6,0

Acide citrique	172 g
NaOH en pastilles	86 g
H ₂ O	1.800 ml

Ajuster à pH 6,0 avec NaOH concentrée et compléter à 2.000 ml avec H₂O.

Système B - Système de BREWER (1970) légèrement modifié. Utilisé avec des gels à 14 g. d'amidon pour 100 ml de tampon.

Tampon "Gel". Histidine HCl 5 mM, NaCl 2,5 mM pH 8,0.

Histidine HCl	1,92 g
Na Cl M	5 ml

Ajuster à pH 8,0 avec NaOH 2N et compléter à 2.000 ml

avec H₂O.

Tampon "Bac". Citrate de Na 0,41 M pH 8,0

Acide citrique	172 g
NaOH en pastilles	88 g
H ₂ O distillée	1.800 ml

Ajuster à pH 8,0 avec une solution concentrée de NaOH et compléter à 2.000 avec H₂O.

Remarque : Selon la qualité de l'amidon il est nécessaire d'ajuster le pH du tampon "gel" pour que le mélange amidon + tampon soit au pH correct ; Dans notre cas on ajuste à 8,25 pour 6,0 et 9,2 pour 8,0.

Système C - Système de SMITHIES (1955). Utilisé avec des gels à 11 g. d'amidon pour 100 ml de tampon.

Tampon "Gel". Borate 0,03 M pH 8,5

Acide borique	3,72 g
H ₂ O	1.800 ml

Ajuster à pH 8,5 avec Na OH 2N et compléter à 2.000 ml avec H₂O.

Acide borique
H₂O distillée

27,2 g
1.000 ml

Ajuster à pH 8,0, avec NaOH concentrée et compléter à 2.000 ml avec H₂O.

2°) SOLUTIONS DE REVELATION

1. Tampon Acétate de Na 0,05 M pH 5,0

Acétate de Na, 3H₂O 13,6 g
H₂O 1.900 ml

Ajuster à pH 5,0 avec HCl normal. Compléter à 2.000 ml avec H₂O.

2. Tampon Tris HCl 0,5 M pH 8,5

Tris (Hydroxyméthyl) amino-méthane 121 g
H₂O 1.900 ml

Ajuster à pH 8,5 avec HCl 1/2 concentré. Compléter à 2.000 ml avec H₂O.

3. Tampon Tris-Maléate 0,2 M pH 3,3

Tris 24,2 g
Acide maléique 23,2 g
H₂O q.s.p. 1.000 ml

4. Tampon NaOH 0,2 M

NaOH pastilles 8,0 g
H₂O q.s.p. 1.000 ml

5. Solution Thiosulfate de Na 0,06 M

Thiosulfate de Na, 5 H₂O 1,5 g
H₂O q.s.p. 1.000 ml

6. Solution Iodure de K 0,09 M

Iodure de K 1,5 g
H₂O q.s.p. 1.000 ml

7. Solution H₂O₂ à 1%

H₂O₂ MERCK à 30% 3,3 ml
H₂O q.s.p. 100 ml

8. Solution d'Agar à 2%

Peser 1 g. d'Agar-Agar dans 50 ml H₂O. Porter à ébullition tout en agitant, maintenir à 45-90°C jusqu'à l'emploi.

9. Tampon Phosphate de Na 0,1 M pH 6,5

a) NaH₂PO₄, H₂O 27,6 g dans 1 l H₂O

b) Na₂HPO₄, 2 H₂O 71,2 g dans 2 l H₂O

Mélanger a et b de façon à obtenir le pH 6,5

Diluer au 1/2 avec H₂O

10. Tampon Phosphate 0,1 M pH 7,1

Solution de Phosphate 0,2 M

a) NaH₂PO₄, H₂O 27,6 g dans 1 l H₂O

b) Na₂HPO₄, 2 H₂O 71,2 g dans 2 l H₂O

Mélanger 300 ml de solution a + 600 ml solution b + 900 ml H₂O

11. Tampon Malate de Na 1 M pH 6,0

a) Acide D1 malique : 26,8 g + H₂O q.s.p. 100 ml

b) Na₂CO₃ : 21,2 g + q.s.p. 100 ml

Ajouter doucement b dans a tout en agitant fortement

Contingency Table Analysis
Summary Statistics

DF:	2	
Total Chi-Square:	.916	p = .6325
G Statistic:	.975	
Contingency Coefficient:	.082	
Cramer's V:	.082	

TABLEAU DE CONTINGENCE EST-E/POX-B DANS LA F2

Contingency Table Analysis
Summary Statistics

DF:	2	
Total Chi-Square:	.097	p = .9525
G Statistic:	.09	
Contingency Coefficient:	.029	
Cramer's V:	.029	

TABLEAU DE CONTINGENCE PGI-A/GOT-B DANS LA F2

Contingency Table Analysis
Summary Statistics

DF:	2	
Total Chi-Square:	.715	p = .6975
G Statistic:	.728	
Contingency Coefficient:	.073	
Cramer's V:	.073	

TABLEAU DE CONTINGENCE PGI-B/GOT-B DANS LA F2

Contingency Table Analysis
Summary Statistics

DF:	2	
Total Chi-Square:	17.078	p = .0002
G Statistic:	15.163	
Contingency Coefficient:	.335	
Cramer's V:	.356	

TABLEAU DE CONTINGENCE CAT-A/GOT-B DANS LA F2

Contingency Table Analysis
Summary Statistics

DF:	2	
Total Chi-Square:	.724	p = .6991
G Statistic:	.706	
Contingency Coefficient:	.073	
Cramer's V:	.073	

Contingency Table Analysis
Summary Statistics

DF:	4	
Total Chi-Square:	3.325	p = .505
G Statistic:	3.475	
Contingency Coefficient:	.155	
Cramer's V:	.111	

TABLEAU DE CONTINGENCE CAT-A/PGD-A DANS LA F2

Contingency Table Analysis
Summary Statistics

DF:	4	
Total Chi-Square:	.495	p = .974
G Statistic:	.492	
Contingency Coefficient:	.06	
Cramer's V:	.043	

TABLEAU DE CONTINGENCE CAT-A/POX-B DANS LA F2

Contingency Table Analysis
Summary Statistics

DF:	4	
Total Chi-Square:	.603	p = .9529
G Statistic:	.608	
Contingency Coefficient:	.072	
Cramer's V:	.051	

TABLEAU DE CONTINGENCE CAT/PGI-B DANS LA F2

Contingency Table Analysis
Summary Statistics

DF:	4	
Total Chi-Square:	7.943	p = .0717
G Statistic:	7.985	
Contingency Coefficient:	.239	
Cramer's V:	.172	

TABLEAU DE CONTINGENCE PGD-A/PGI-A DANS LA F2

Contingency Table Analysis
Summary Statistics

DF:	4	
Total Chi-Square:	1.003	p = .9573
G Statistic:	1.005	
Contingency Coefficient:	.117	
Cramer's V:	.084	

TABLEAU DE CONTINGENCE CAT-A/EST-E DANS LA 12

Contingency Table Analysis

Summary Statistics

DF:	2	
Total Chi-Square	4.923	p = 0053
G Statistic	5.076	
Contingency Coefficient	100	
Cramer's V	101	

TABLEAU DE CONTINGENCE PGI-B/PGI-A DANS BC 108

Coded Chi-Square X1: Recode of PGI-B Y1: Recode of PGI-A

Summary Statistics

DF:	1	
Total Chi-Square	4.431	p = 0353
G Statistic	4.527	
Contingency Coefficient	.241	
Phi	.248	
Chi-Square with continuity correction	3.392	p = 0555

TABLEAU DE CONTINGENCE PGI-B/POX-B DANS BC 108

Coded Chi-Square X1: Recode of PGI-B Y1: POX-B

Summary Statistics

DF:	1	
Total Chi-Square	58	p = 445
G Statistic	583	
Contingency Coefficient	.089	
Phi	.09	
Chi-Square with continuity correction	.248	p = 6186

TABLEAU DE CONTINGENCE PGI-B/PGD-A DANS BC 108

Coded Chi-Square X1: Recode of PGI-B Y1: Recode of PGD-A

Summary Statistics

DF:	1	
Total Chi-Square	.937	p = 333
G Statistic	.935	
Contingency Coefficient	.113	
Phi	.114	
Chi-Square with continuity correction	.485	p = 4814

TABLEAU DE CONTINGENCE PGI-B/CAT-A DANS BC 108

Coded Chi-Square X1: Recode of PGI-B Y1: Recode of CAT-A

Summary Statistics

DF:	1	
Total Chi-Square	1.439	p = 2304
G Statistic	1.418	
Contingency Coefficient	.14	
Phi	.141	
Chi-Square with continuity correction	.485	p = 4814

TABLEAU DE CONTINGENCE POX-B/PGI-A

Coded Chi-Square X1: Recode of CAT-A Y1: Recode of PGI-A

Summary Statistics

DF:	1	
Total Chi-Square	72	p = 001
G Statistic	722	
Contingency Coefficient	.098	
Phi	.098	
Chi-Square with continuity correction	376	p = 14

TABLEAU DE CONTINGENCE POX-B/PGI-A DANS BC 109

Coded Chi-Square X1: POX-B Y1: Recode of PGI-A

Summary Statistics

DF:	1	
Total Chi-Square	634	p = 4227
G Statistic	641	
Contingency Coefficient	.092	
Phi	.093	
Chi-Square with continuity correction	326	p = 66

TABLEAU DE CONTINGENCE CAT-A/PGD-A DANS BC 109

Coded Chi-Square X1: Recode of CAT-A Y1: Recode of PGD-A

Summary Statistics

DF:	1	
Total Chi-Square	336	p = 5021
G Statistic	336	
Contingency Coefficient	.062	
Phi	.062	
Chi-Square with continuity correction	132	p = 2162

TABLEAU DE CONTINGENCE POX-B/CAT-A DANS BC 109

Coded Chi-Square X1: POX-B Y1: Recode of CAT-A

Summary Statistics

DF:	1	
Total Chi-Square	.022	p = 8828
G Statistic	.022	
Contingency Coefficient	0.16	
Phi	0.16	
Chi-Square with continuity correction	0.05	p = 8452

TABLEAU DE CONTINGENCE POX-B/PGD-A DANS BC 109

Coded Chi-Square X1: POX-B Y1: Recode of PGD-A

Summary Statistics

DF:	1	
Total Chi-Square	764	p = 3821
G Statistic	775	
Contingency Coefficient	.083	
Phi	.083	
Chi-Square with continuity correction	488	p = 88

TABEAU DE CONTINGENCE PGD-A/GOT-B DANS LA F2

Contingency Table Analysis		
Summary Statistics		
DF:	2	
Total Chi-Square:	6.993	p=.0303
G Statistic:	8.553	
Contingency Coefficient:	.222	
Cramer's V:	.228	

TABEAU DE CONTINGENCE EST-E/PGI-A DANS LA F2

Contingency Table Analysis		
Summary Statistics		
DF:	2	
Total Chi-Square:	2.2	p=.3229
G Statistic:	1.96	
Contingency Coefficient:	.127	
Cramer's V:	.128	

TABEAU DE CONTINGENCE EST-E/PGI-B DANS LA F2

Contingency Table Analysis		
Summary Statistics		
DF:	2	
Total Chi-Square:	26.371	p=.0001
G Statistic:	20.198	
Contingency Coefficient:	.404	
Cramer's V:	.442	

TABEAU DE CONTINGENCE PGI-B/POX-B DANS LA F2

Contingency Table Analysis		
Summary Statistics		
DF:	4	
Total Chi-Square:	11.252	p=.0238
G Statistic:	8.878	
Contingency Coefficient:	.295	
Cramer's V:	.219	

TABEAU DE CONTINGENCE EST-E/GOT-B DANS LA F2

Contingency Table Analysis		
Summary Statistics		
DF:	1	
Total Chi-Square:	3.357	p=.0669
G Statistic:	2.994	
Contingency Coefficient:	.156	
Phi:	.158	
Chi-Square with continuity correction:	2.238	p=.1346

TABEAU DE CONTINGENCE PGI-A/PGI-B DANS LA F2

Contingency Table Analysis		
Summary Statistics		
DF:	4	
Total Chi-Square:	8.492	p=.0751
G Statistic:	9.081	
Contingency Coefficient:	.243	
Cramer's V:	.177	

TABEAU DE CONTINGENCE PGI-A/POX-B DANS LA F2

Contingency Table Analysis		
Summary Statistics		
DF:	4	
Total Chi-Square:	4.447	p=.3489
G Statistic:	4.382	
Contingency Coefficient:	.191	
Cramer's V:	.138	

TABEAU DE CONTINGENCE PGD-A/PGI-B DANS LA F2

Contingency Table Analysis		
Summary Statistics		
DF:	4	
Total Chi-Square:	1.886	p=.7568
G Statistic:	1.857	
Contingency Coefficient:	.117	
Cramer's V:	.084	

TABEAU DE CONTINGENCE PGD-A/POX-B DANS LA F2

Contingency Table Analysis		
Summary Statistics		
DF:	4	
Total Chi-Square:	7.647	p=.1054
G Statistic:	-	
Contingency Coefficient:	.248	
Cramer's V:	.181	

TABEAU DE CONTINGENCE PGD-A/PGI-A DANS BC 108

Coded Chi-Square X1: Recode of PGD-A Y1: Recode of PGI-A		
Summary Statistics		
DF:	1	
Total Chi-Square:	3.021	p=.0822
G Statistic:	3.043	
Contingency Coefficient:	.197	
Phi:	.201	
Chi-Square with continuity correction:	2.271	p=.1318

ANNEXE 5: ANOVA entre marqueurs et caractères morphologiques

ANOVA TALLAGE AU 51° JOUR/CAT-A

One Factor ANOVA X₁: Recode of CAT-A Y₁: TAL51

Analysis of Variance Table

Source	DF	Sum Squares	Mean Square	F-test
Between groups	1	11.823	11.823	3.092
Within groups	R1	309.743	3.824	p = .025
Total	R2	321.566		

Model II estimate of between component variance = 7.999

ANOVA TALLAGE AU 51° JOUR/POX-B

One Factor ANOVA X₁: POX-B Y₁: TAL51

Analysis of Variance Table

Source	DF	Sum Squares	Mean Square	F-test
Between groups	1	13.613	13.613	3.581
Within groups	R1	307.953	3.802	p = .062
Total	R2	321.566		

Model II estimate of between component variance = 9.811

One Factor ANOVA X₁: Recode of CAT-A Y₁: TAL51

Group	Count	Mean	Std. Dev.	Std. Error
1	35	8.514	2.035	.344
2	48	7.75	1.896	.274

One Factor ANOVA X₁: POX-B Y₁: TAL51

Group	Count	Mean	Std. Dev.	Std. Error
Group 1	38	7.632	2.006	.325
Group 2	45	8.244	1.902	.283

One Factor ANOVA X₁: Recode of CAT-A Y₁: TAL51

Comparison	Mean Diff.	Fisher PLSD	Scheffe F-test	Dunnnett I
vs. 2	.764	.865	3.092	1.758

One Factor ANOVA X₁: POX-B Y₁: TAL51

Comparison	Mean Diff.	Fisher PLSD	Scheffe F-test	Dunnnett I
Group 1 vs 2	-.613	.855	3.581	1.892

ANOVA TALLAGE AU 51° JOUR/PGI-A

One Factor ANOVA X₁: Recode of PGI-A Y₁: TAL51

Analysis of Variance Table

Source	DF	Sum Squares	Mean Square	F-test
Between groups	1	9.851	9.851	2.374
Within groups	72	298.811	4.15	p = .1278
Total	73	308.662		

Model II estimate of between component variance = 5.701

ANOVA TALLAGE AU 51° JOUR/PGI-B

One Factor ANOVA X₁: Recode of PGI-B Y₁: TAL51

Analysis of Variance Table

Source	DF	Sum Squares	Mean Square	F-test
Between groups	1	4.67	4.67	1.05
Within groups	69	206.18	2.989	p = .7485
Total	70	210.85		

Model II estimate of between component variance = .397

One Factor ANOVA X₁: Recode of PGI-A Y₁: TAL51

Group	Count	Mean	Std. Dev.	Std. Error
Group 1	37	7.703	1.927	.317
Group 2	37	8.432	2.141	.352

One Factor ANOVA X₁: Recode of PGI-B Y₁: TAL51

Group	Count	Mean	Std. Dev.	Std. Error
Group 1	51	8.02	2.293	.321
Group 2	20	8.2	1.508	.327

One Factor ANOVA X₁: Recode of PGI-A Y₁: TAL51

Comparison	Mean Diff.	Fisher PLSD	Scheffe F-test	Dunnnett I
Group 1 vs 2	-.73	.944	2.374	1.541

One Factor ANOVA X₁: Recode of PGI-B Y₁: TAL51

Comparison	Mean Diff.	Fisher PLSD	Scheffe F-test	Dunnnett I
Group 1 vs 2	-.18	1.109	1.05	.325

ANOVA EPIAISON/POX-B

One Factor ANOVA X1: Recode of POX-B Y1: EPIAISON

Analysis of Variance Table

Source	DF	Sum Squares	Mean Square	F-test
Between groups	1	123.2	123.2	5.604
Within groups	24	202.916	8.455	p = .0242
Total	25	326.116		

Model II estimate of between component variance = 110.262

One Factor ANOVA X1: Recode of POX-A Y1: EPIAISON

Analysis of Variance Table

Source	DF	Sum Squares	Mean Square	F-test
Between groups	1	2.227	2.227	1.177
Within groups	24	367.65	15.32	p = .2888
Total	25	369.877		

Model II estimate of between component variance = .102

One Factor ANOVA X1: Recode of POX-B Y1: EPIAISON

Group	Count	Mean	Std. Dev.	Std. Error
Group 1	15	77.123	1.895	.495
Group 2	11	77.727	4.801	1.464

One Factor ANOVA X1: Recode of POX-A Y1: EPIAISON

Group	Count	Mean	Std. Dev.	Std. Error
Group 1	15	77.200	1.801	.470
Group 2	11	77.636	2.106	.648

One Factor ANOVA X1: Recode of POX-B Y1: EPIAISON

Comparison	Mean Diff.	Fisher PLSD	Scheffe F-test	Dunnnett 1
Group 1 vs 2	4.406	2.882*	9.825*	3.16

* Significant at 95%

One Factor ANOVA X1: Recode of POX-A Y1: EPIAISON

Comparison	Mean Diff.	Fisher PLSD	Scheffe F-test	Dunnnett 1
Group 1 vs 2	4.44	6.66	1.04	1.02

ANOVA EPIAISON/POX-B

One Factor ANOVA X1: POX-B Y1: EPIAISON

Analysis of Variance Table

Source	DF	Sum Squares	Mean Square	F-test
Between groups	1	2.728	2.728	.129
Within groups	21	654.181	31.103	p = .7216
Total	22	656.909		

Model II estimate of between component variance = .18374

ANOVA EPIAISON/CAT-A

One Factor ANOVA X1: Recode of CAT-A Y1: EPIAISON

Analysis of Variance Table

Source	DF	Sum Squares	Mean Square	F-test
Between groups	1	10.509	10.509	5.04
Within groups	21	446.4	21.257	p = .031*
Total	22	456.909		

Model II estimate of between component variance = .10343

One Factor ANOVA X1: POX-B Y1: EPIAISON

Group	Count	Mean	Std. Dev.	Std. Error
Group 1	13	75.538	3.688	1.023
Group 2	20	74.95	5.083	1.137

One Factor ANOVA X1: Recode of CAT-A Y1: EPIAISON

Group	Count	Mean	Std. Dev.	Std. Error
Group 1	15	75.8	3.234	.835
Group 2	18	74.667	5.423	1.278

One Factor ANOVA X1: POX-B Y1: EPIAISON

Comparison	Mean Diff.	Fisher PLSD	Scheffe F-test	Dunnnett 1
Group 1 vs 2	5.88	3.338	.129	.36

One Factor ANOVA X1: Recode of CAT-A Y1: EPIAISON

Comparison	Mean Diff.	Fisher PLSD	Scheffe F-test	Dunnnett 1
Group 1 vs 2	1.133	3.256	5.04	.71

ANOVA EPIAISON/PGI-A

One Factor ANOVA X1: Recode of PGD-A Y1: EPIAISON

Analysis of Variance Table

Source	DF	Sum Squares	Mean Square	F-Test
Between groups	1	4.009	4.009	1.6
Within groups	31	652.9	21.061	p = .6656
Total	32	656.909		

Model II estimate of between component variance = .17052

One Factor ANOVA X1: Recode of PGI-A Y1: EPIAISON

Analysis of Variance Table

Source	DF	Sum Squares	Mean Square	F-Test
Between groups	1	344	344	5.7
Within groups	24	420.721	17.532	p = .0197
Total	25	421.115		

Model II estimate of between component variance = .17198

One Factor ANOVA X1: Recode of PGD-A Y1: EPIAISON

p	Count	Mean	Std. Dev.	Std. Error
p 1	15	74.8	4.648	1.2
p 2	18	75.5	4.541	1.07

One Factor ANOVA X1: Recode of PGI-A Y1: EPIAISON

Group	Count	Mean	Std. Dev.	Std. Error
Group 1	9	75.111	3.296	1.099
Group 2	17	75.353	4.568	1.108

One Factor ANOVA X1: Recode of PGD-A Y1: EPIAISON

Comparison	Mean Diff.	Fisher PLSD	Scheffe F-test	Dunnnett t
p 1 vs 2	-.7	3.273	.19	.436

One Factor ANOVA X1: Recode of PGI-A Y1: EPIAISON

Comparison	Mean Diff.	Fisher PLSD	Scheffe F-test	Dunnnett t
Group 1 vs 2	-.242	3.563	.02	.4

ANOVA EPIAISON/CAT-A DANS F2

One Factor ANOVA X1: Recode of CAT-A Y1: EPIAISON

Analysis of Variance Table

Source	DF	Sum Squares	Mean Square	F-Test
Between groups	2	38.07	19.035	.872
Within groups	61	1331.367	21.826	p = .4237
Total	63	1369.438		

Model II estimate of between component variance = .1395

One Factor ANOVA X1: GOT-B Y1: EPIAISON

Analysis of Variance Table

Source	DF	Sum Squares	Mean Square	F-Test
Between groups	1	25.016	25.016	1.154
Within groups	62	1344.421	21.684	p = .2859
Total	63	1369.438		

Model II estimate of between component variance = 3.332

One Factor ANOVA X1: Recode of CAT-A Y1: EPIAISON

p	Count	Mean	Std. Dev.	Std. Error
p 1	14	73.357	4.5	1.203
p 2	18	71.389	4.448	1.048
p 3	32	72.938	4.859	.859

One Factor ANOVA X1: GOT-B Y1: EPIAISON

Group	Count	Mean	Std. Dev.	Std. Error
Group 1	19	71.632	4.425	1.015
Group 2	45	73	4.748	708

One Factor ANOVA X1: Recode of CAT-A Y1: EPIAISON

Comparison	Mean Diff.	Fisher PLSD	Scheffe F-test	Dunnnett t
1 vs 2	1.968	3.329	.699	1.182
1 vs 3	.42	2.994	.039	.28
2 vs 3	-1.549	2.753	.633	1.125

One Factor ANOVA X1: GOT-B Y1: EPIAISON

Comparison	Mean Diff.	Fisher PLSD	Scheffe F-test	Dunnnett t
Group 1 vs 2	-1.369	2.547	1.154	1.074

One Factor ANOVA X1: Recode of EST-E Y1: EPIAISON

Analysis of Variance Table

Source	DF	Sum Squares	Mean Squares	F-test
Between groups	2	17.266	8.633	26.1
Within groups	61	136.438	2.237	p = .000
Total	63	153.704		

Model II estimate of between component variance = 14.259

One Factor ANOVA X1: EST-E Y1: EPIAISON

Analysis of Variance Table

Source	DF	Sum Squares	Mean Squares	F-test
Between groups	2	17.266	8.633	26.1
Within groups	61	136.438	2.237	p = .000
Total	63	153.704		

Model II estimate of between component variance = 14.259

One Factor ANOVA X1: Recode of EST-E Y1: EPIAISON

Group	Count	Mean	Std. Dev.	Std. Error
Group 1	4	71.25	4.031	2.016
Group 2	60	72.693	4.712	1.09

One Factor ANOVA X1: PGX-B Y1: EPIAISON

Group	Count	Mean	Std. Dev.	Std. Error
Group 1	5	70.8	5.167	2.311
Group 2	27	72.721	4.325	1.527
Group 3	31	72.75	4.025	1.74

One Factor ANOVA X1: Recode of EST-E Y1: EPIAISON

Comparison	Mean Diff.	Fisher PLSD	Scheffe F-test	Dunnnett t
Group 1 vs 2	-1.437	4.838	351	592

One Factor ANOVA X1: PGX-B Y1: EPIAISON

Comparison	Mean Diff.	Fisher PLSD	Scheffe F-test	Dunnnett t
Group 1 vs 2	-1.921	4.594	319	647
Group 1 vs 3	-1.95	4.527	371	601
Group 2 vs 3	0.029	2.46	2.672E-5	0.02

ANOVA EPIAISON/PGI-A DANS F2

ANOVA EPIAISON/PGD-A DANS F2

One Factor ANOVA X1: Recode of PGI-A Y1: EPIAISON

Analysis of Variance Table

Source	DF	Sum Squares	Mean Squares	F-test
Between groups	2	19.392	9.696	43.8
Within groups	61	1350.045	22.132	p = .000
Total	63	1369.438		

Model II estimate of between component variance = 16.218

One Factor ANOVA X1: Recode of PGD-A Y1: EPIAISON

Analysis of Variance Table

Source	DF	Sum Squares	Mean Squares	F-test
Between groups	2	22.806	11.403	51.9
Within groups	61	1346.632	22.076	p = .000
Total	63	1369.438		

Model II estimate of between component variance = 5.314

One Factor ANOVA X1: Recode of PGI-A Y1: EPIAISON

Group	Count	Mean	Std. Dev.	Std. Error
Group 1	11	71.455	5.82	1.755
Group 2	27	72.591	4.584	1.977
Group 3	25	73	4.359	1.783

One Factor ANOVA X1: Recode of PGD-A Y1: EPIAISON

Group	Count	Mean	Std. Dev.	Std. Error
Group 1	17	73.588	4.229	1.025
Group 2	17	72.235	5.286	1.287
Group 3	29	72.223	4.556	1.4

One Factor ANOVA X1: Recode of PGI-A Y1: EPIAISON

Comparison	Mean Diff.	Fisher PLSD	Scheffe F-test	Dunnnett t
Group 1 vs 2	-1.136	3.474	.214	.654
Group 1 vs 3	-1.545	3.302	.438	.936
Group 2 vs 3	-.409	2.623	.049	.312

One Factor ANOVA X1: Recode of PGD-A Y1: EPIAISON

Comparison	Mean Diff.	Fisher PLSD	Scheffe F-test	Dunnnett t
Group 1 vs 2	1.353	3.223	.352	.84
Group 1 vs 3	1.355	2.852	.451	.95
Group 2 vs 3	.002	2.852	9.450E-7	.001

ANOVA FERTILITE POLLINIQUE/GOT-B DANS F2

One Factor ANOVA X₁: GOT-B Y₁: FERTILITE

Analysis of Variance Table

Source	DF	Sum Squares	Mean Square	F-test
Between groups	1	1917.631	1917.631	4.141
Within groups	61	28250.02	463.115	p = 0.042
Total	62	30167.651		

Model II estimate of between component variance = 1454.516

ANOVA EPIAISON PGI-B DANS F2

One Factor ANOVA X₁: Recode of PGI-B Y₁: EPIAISON

Analysis of Variance Table

Source	DF	Sum Squares	Mean Square	F-test
Between groups	2	451.928	225.964	15.073
Within groups	61	917.509	15.041	p = 0.001
Total	63	1369.438		

Model II estimate of between component variance = 105.452

One Factor ANOVA X₁: GOT-B Y₁: FERTILITE

Group	Count	Mean	Std. Dev.	Std. Error
Group 1	20	27.45	21.642	4.839
Group 2	43	39.302	21.465	3.273

One Factor ANOVA X₁: Recode of PGI-B Y₁: EPIAISON

Group	Count	Mean	Std. Dev.	Std. Error
Group 1	14	69.143	4.881	1.305
Group 2	24	75.833	2.297	469
Group 3	25	71.462	4.411	865

One Factor ANOVA X₁: GOT-B Y₁: FERTILITE

Comparison	Mean Diff.	Fisher PLSD	Scheffe F-test	Dunnnett t
Group 1 vs. 2	-11.852	11.648*	4.141*	2.035

Significant at 95%

One Factor ANOVA X₁: Recode of PGI-B Y₁: EPIAISON

Comparison	Mean Diff.	Fisher PLSD	Scheffe F-test	Dunnnett t
Group 1 vs. 2	-6.69	2.608*	13.157*	5.13
Group 1 vs. 3	-2.319	2.571	1.626	1.804
Group 2 vs. 3	4.372	2.195*	7.928*	3.992

* Significant at 95%

ANOVA FERTILITE POLLINIQUE/POX-B DANS F2

One Factor ANOVA X₁: POX-B Y₁: FERTILITE

Analysis of Variance Table

Source	DF	Sum Squares	Mean Square	F-test
Between groups	2	1216.36	608.18	1.26
Within groups	60	28951.29	482.522	p = .2909
Total	62	30167.651		

Model II estimate of between component variance = 62.829

One Factor ANOVA X₁: Recode of CAT-A Y₁: FERTILITE

Analysis of Variance Table

Source	DF	Sum Squares	Mean Square	F-test
Between groups	2	1316.284	658.142	1.359
Within groups	60	28950.767	482.513	p = .2921
Total	62	30167.051		

Model II estimate of between component variance = 88.798

One Factor ANOVA X₁: POX-B Y₁: FERTILITE

Group	Count	Mean	Std. Dev.	Std. Error
Group 1	5	49.8	26.386	11.8
Group 2	26	32.769	20.58	4.036
Group 3	32	35.562	22.417	3.963

One Factor ANOVA X₁: Recode of CAT-A Y₁: FERTILITE

Group	Count	Mean	Std. Dev.	Std. Error
Group 1	15	43.6	25.452	6.572
Group 2	18	34.167	21.686	5.111
Group 3	30	32.333	20.16	3.681

One Factor ANOVA X₁: POX-B Y₁: FERTILITE

Comparison	Mean Diff.	Fisher PLSD	Scheffe F-test	Dunnnett t
Group 1 vs. 2	17.031	21.459	1.26	1.588
Group 1 vs. 3	14.237	21.132	.908	1.348
Group 2 vs. 3	-2.793	11.602	.116	.482

One Factor ANOVA X₁: Recode of CAT-A Y₁: FERTILITE

Comparison	Mean Diff.	Fisher PLSD	Scheffe F-test	Dunnnett t
Group 1 vs. 2	9.433	15.336	.757	1.231
Group 1 vs. 3	11.267	13.872	1.32	1.625
Group 2 vs. 3	1.833	13.079	.039	.28

One Factor ANOVA X₁: Recode of PGD-A Y₁: FERTILITE

Analysis of Variance Table

Source	DF	Sum Squares	Mean Squares	F-test
Between groups	2	222.673	111.336	1.222
Within groups	60	2192.430	36.540	p = .3037
Total	62	2415.103		

Model II estimate of between component variance = 65.581

1

One Factor ANOVA X₁: Recode of EST-E Y₁: FERTILITE

Analysis of Variance Table

Source	DF	Sum Squares	Mean Squares	F-test
Between groups	2	21.667	10.833	1.222
Within groups	60	1074.784	17.913	p = .3037
Total	62	1096.451		

Model II estimate of between component variance = 473.361

1

One Factor ANOVA X₁: Recode of PGD-A Y₁: FERTILITE

Group	Count	Mean	Std. Dev.	Std. Error
Group 1	16	24.5	25.726	6.481
Group 2	18	40.5	24.508	5.776
Group 3	28	25.828	16.82	3.142

2

One Factor ANOVA X₁: Recode of EST-E Y₁: FERTILITE

Group	Count	Mean	Std. Dev.	Std. Error
Group 1	4	37.75	10.56	5.28
Group 2	58	25.26	22.485	2.927

2

One Factor ANOVA X₁: Recode of PGD-A Y₁: FERTILITE

Comparison	Mean Diff.	Fisher PLSD	Scheffe F-test	Dunnnett 1
Group 1 vs 2	2	15.056	025	245
Group 1 vs 3	2.172	13.662	029	1.122
Group 2 vs 3	6.122	13.182	1.077	1.458

3

One Factor ANOVA X₁: Recode of EST-E Y₁: FERTILITE

Comparison	Mean Diff.	Fisher PLSD	Scheffe F-test	Dunnnett 1
Group 1 vs 2	2.27	22.07	042	205

3

ANOVA FERTILITE POLLINIQUE/PGI-A DANS F2

One Factor ANOVA X₁: Recode of PGI-A Y₁: FERTILITE

Analysis of Variance Table

Source	DF	Sum Squares	Mean Squares	F-test
Between groups	2	1254.867	627.433	1.411
Within groups	60	28012.784	466.879	p = .3037
Total	62	29267.651		

Model II estimate of between component variance = 88.61

1

ANOVA FERTILITE POLLINIQUE/PGI-B DANS F2

One Factor ANOVA X₁: Recode of PGI-B Y₁: FERTILITE

Analysis of Variance Table

Source	DF	Sum Squares	Mean Squares	F-test
Between groups	2	542.334	271.167	1.49
Within groups	60	28675.317	477.922	p = .3037
Total	62	29217.651		

Model II estimate of between component variance = 111.254

1

One Factor ANOVA X₁: Recode of PGI-A Y₁: FERTILITE

Group	Count	Mean	Std. Dev.	Std. Error
Group 1	10	31.7	15.212	4.842
Group 2	23	41.652	23.641	4.929
Group 3	20	32.133	22.289	4.069

2

One Factor ANOVA X₁: Recode of PGI-B Y₁: FERTILITE

Group	Count	Mean	Std. Dev.	Std. Error
Group 1	15	34.2	16.044	4.159
Group 2	24	39.208	21.165	4.32
Group 3	24	32.708	25.325	5.172

2

One Factor ANOVA X₁: Recode of PGI-A Y₁: FERTILITE

Comparison	Mean Diff.	Fisher PLSD	Scheffe F-test	Dunnnett 1
Group 1 vs 2	-9.952	16.605	.719	1.199
Group 1 vs 3	-.433	16.008	.001	.054
Group 2 vs 3	9.519	12.15	1.228	1.567

3

One Factor ANOVA X₁: Recode of PGI-B Y₁: FERTILITE

Comparison	Mean Diff.	Fisher PLSD	Scheffe F-test	Dunnnett 1
Group 1 vs 2	-5.008	14.631	.234	.685
Group 1 vs 3	1.492	14.631	.021	.204
Group 2 vs 3	6.5	12.832	5.13	1.013

3

ANOVA FERTILITE POLLINIQUE/PGD-A

One Factor ANOVA X1: Recode of PGD-A Y1: FERT.POL

Analysis of Variance Table

Source	DF	Sum Squares	Mean Square	F-Test
Between groups	1	511.111	511.111	8.13
Within groups	33	20741.632	628.534	p = .3737
Total	34	21252.743		

Model II estimate of between component variance = .117423

One Factor ANOVA X1: Recode of PGD-A Y1: FERT.POL

Group	Count	Mean	Std. Dev.	Std. Error
1	16	45.25	25.878	6.469
2	19	37.579	24.377	5.593

One Factor ANOVA X1: Recode of PGD-A Y1: FERT.POL

Comparison	Mean Diff.	Fisher PLSD	Scheffe F-test	Dunnnett t
1 vs 2	7.671	17.309	.813	.902

ANOVA FERTILITE POLLINIQUE/CAT-A

One Factor ANOVA X1: Recode of CAT-A Y1: FERT.POL

Analysis of Variance Table

Source	DF	Sum Squares	Mean Square	F-Test
Between groups	1	167.479	167.479	25.1
Within groups	33	21952.261	638.16	p = .6196
Total	34	22119.743		

Model II estimate of between component variance = .478691

One Factor ANOVA X1: Recode of CAT-A Y1: FERT.POL

Group	Count	Mean	Std. Dev.	Std. Error
Group 1	18	43.167	25.615	6.038
Group 2	17	38.882	24.922	6.044

One Factor ANOVA X1: Recode of CAT-A Y1: FERT.POL

Comparison	Mean Diff.	Fisher PLSD	Scheffe F-test	Dunnnett t
Group 1 vs 2	4.284	17.297	25.1	5.01

ANOVA FERTILITE POLLINIQUE/POX-B

One Factor ANOVA X1: POX-B Y1: FERT.POL

Analysis of Variance Table

Source	DF	Sum Squares	Mean Square	F-Test
Between groups	1	748.467	748.467	1.205
Within groups	33	20504.276	621.342	p = 2803
Total	34	21252.743		

Model II estimate of between component variance = 127.125

One Factor ANOVA X1: POX-B Y1: FERT.POL

Group	Count	Mean	Std. Dev.	Std. Error
1	16	46.125	25.337	6.334
2	19	36.842	24.578	5.639

One Factor ANOVA X1: POX-B Y1: FERT.POL

Comparison	Mean Diff.	Fisher PLSD	Scheffe F-test	Dunnnett t
1 vs 2	9.283	17.21	1.205	1.098

ANOVA FERTILITE POLLINIQUE/PGI-B

One Factor ANOVA X1: Recode of PGI-B Y1: FERT.POL

Analysis of Variance Table

Source	DF	Sum Squares	Mean Square	F-Test
Between groups	1	1546.679	1546.679	2.897
Within groups	26	13879.178	533.815	p = 1007
Total	27	15425.857		

Model II estimate of between component variance = 1012.865

One Factor ANOVA X1: Recode of PGI-B Y1: FERT.POL

Group	Count	Mean	Std. Dev.	Std. Error
Group 1	18	44.611	22.406	5.281
Group 2	10	29.1	24.37	7.706

One Factor ANOVA X1: Recode of PGI-B Y1: FERT.POL

Comparison	Mean Diff.	Fisher PLSD	Scheffe F-test	Dunnnett t
Group 1 vs 2	15.511	18.733	2.897	1.702

ANOVA FERTILITE POLLINIQUE/PGI-A

One Factor ANOVA X₁: Recode of PGI-A Y₁: FERT.POL

Analysis of Variance Table

Source:	DF:	Sum Squares:	Mean Square:	F-test:
Between groups	1	80.257	80.257	.136
Within groups	26	15345.6	590.215	p = .7153
Total	27	15425.857		

Model II estimate of between component variance = -509.958

1

One Factor ANOVA X₁: Recode of PGI-A Y₁: FERT.POL

Group:	Count:	Mean:	Std. Dev.:	Std. Error:
Group 1	10	36.8	19.753	6.246
Group 2	18	40.333	26.384	6.219

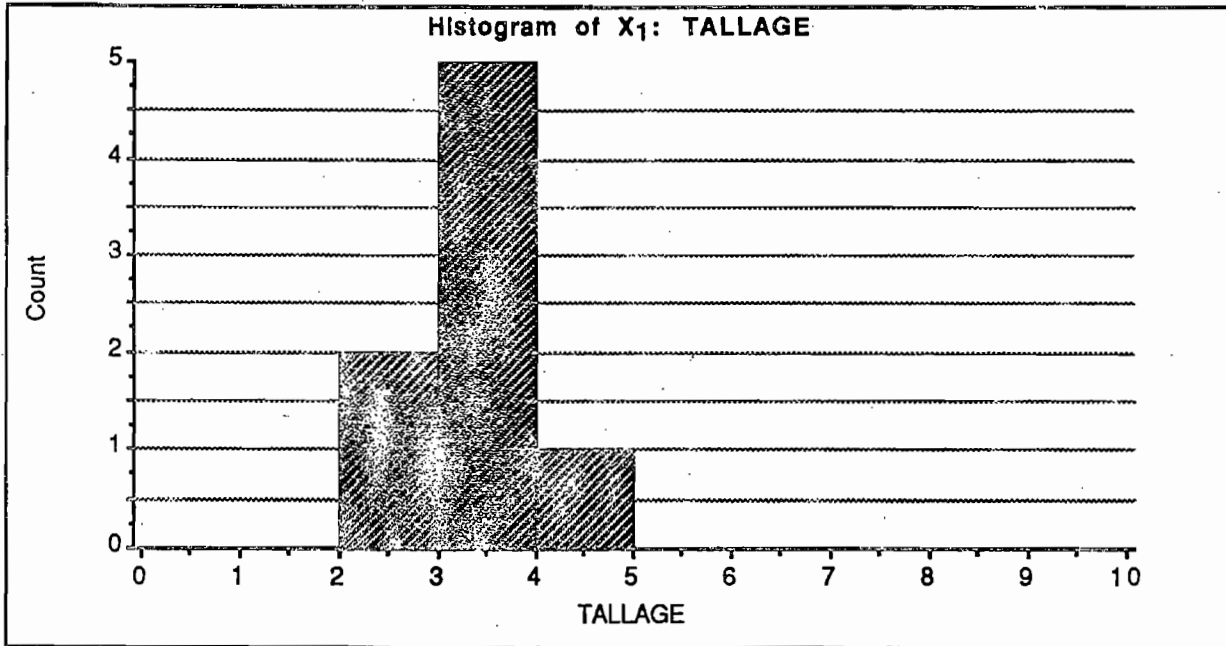
2

One Factor ANOVA X₁: Recode of PGI-A Y₁: FERT.POL

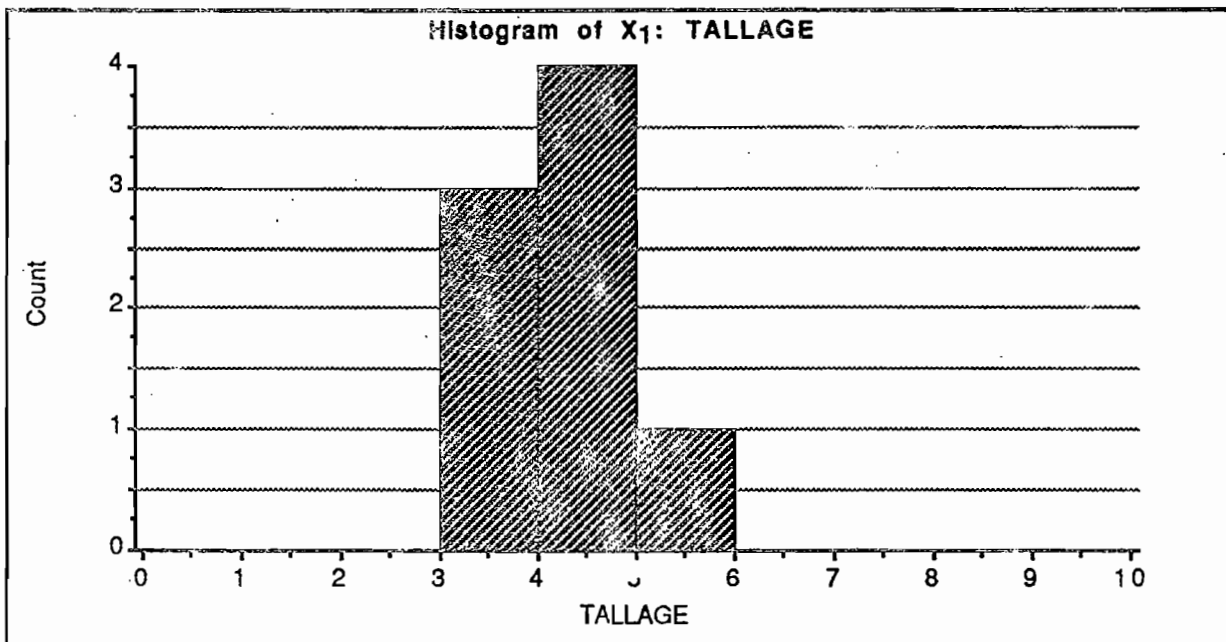
Comparison:	Mean Diff.:	Fisher PLSD:	Scheffe F-test:	Dunnett t:
Group 1 vs. 2	-3.533	19.698	.136	.369

3

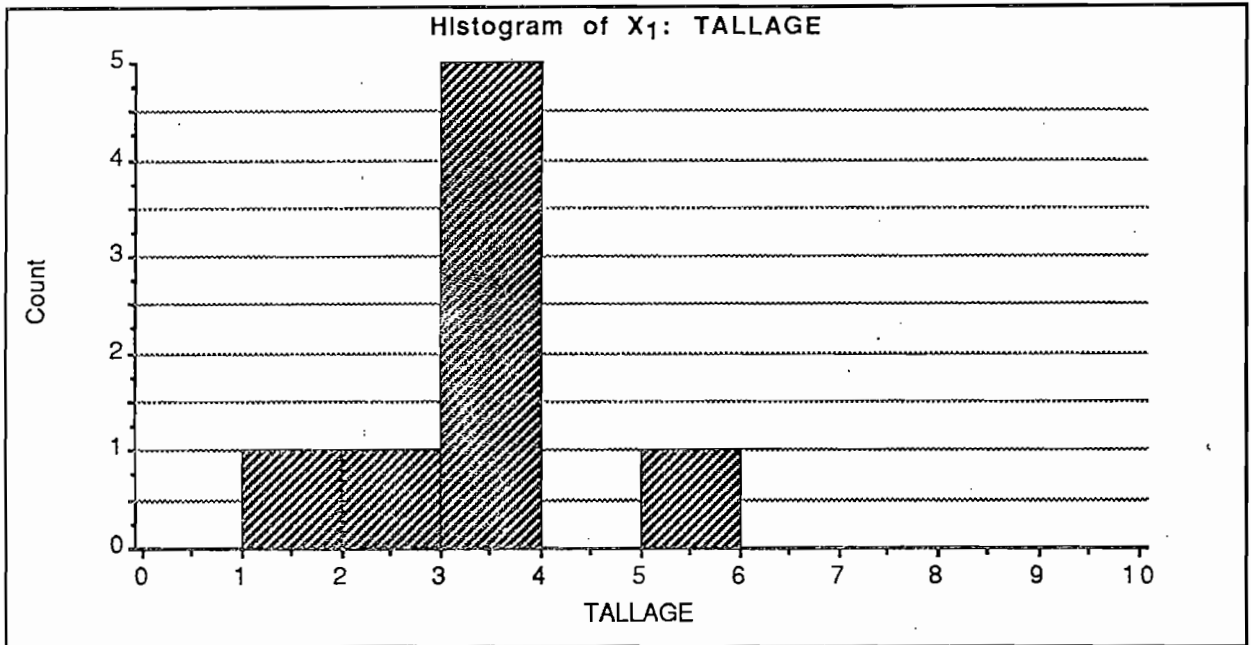
TALLAGE DE 521



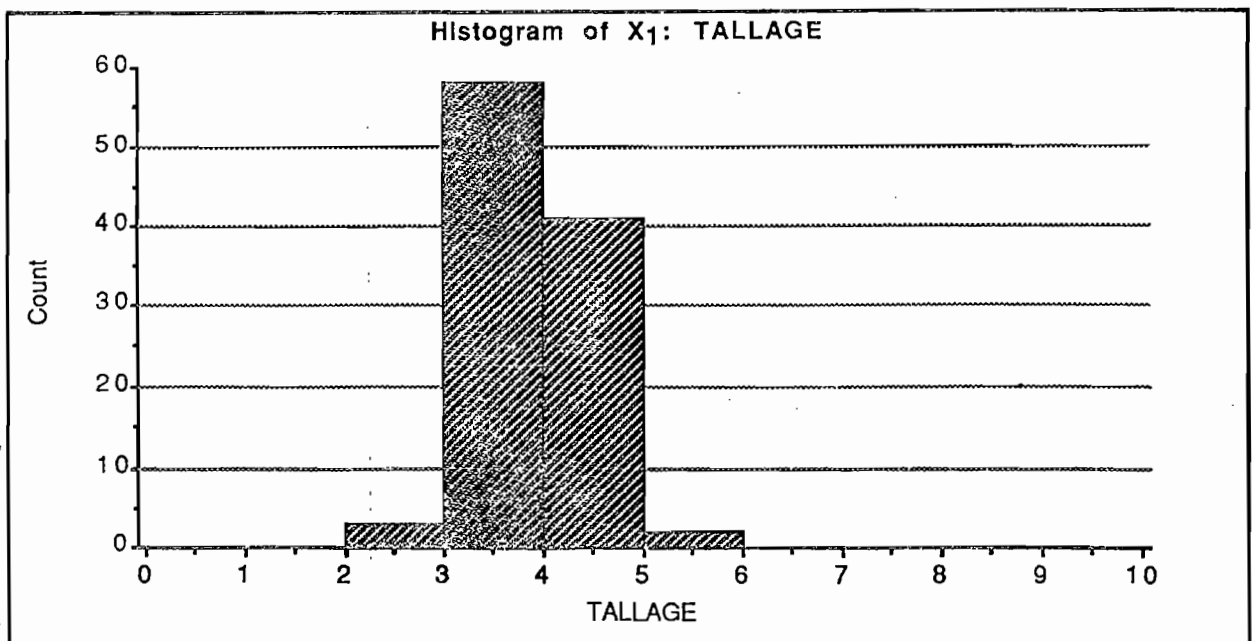
TALLAGE DE 108



TALLAGE DES F1



TALLAGE DES BC



ANNEXE 7: Photographies

Addenda: MISE AU POINT D'UNE TECHNIQUE DE PREPARATION D'ADN MITOCHONDRIAL DE RIZ

Afin de compléter les résultats donnés par la "génétique classique", il est intéressant d'étudier directement l'ADN puisqu'il est le support même de l'hérédité. Un programme de biologie moléculaire est parallèlement mené au laboratoire par A. de KOCHKO.

On s'intéresse, entre autres, à l'ADN mitochondrial: cet ADN est génétiquement actif, il porte des informations indispensables à la survie de la plante (codage de sous-unités d'enzymes intervenant dans la chaîne respiratoire etc...) mais en même temps le génome mitochondrial est suffisamment petit pour que l'on puisse observer, après digestion et électrophorèse en gel d'agarose, des diagrammes de restriction aux bandes nettes (là où l'ADN nucléaire présenterait des traînées illisibles).

D'autre part l'ADN mitochondrial est un marqueur du cytoplasme, à hérédité strictement maternelle (sauf quelques rares cas); il présente de ce fait non seulement un intérêt phylogénique puisqu'on a ainsi accès à la généalogie maternelle directe, mais il permet aussi d'étudier les relations nucléocytoplasmiques. De telles interactions, dont l'existence a été prouvée chez le Maïs, le Sorgho... sont aussi présentes chez le Riz. En particulier des travaux sont actuellement en cours sur le phénomène de stérilité mâle cytoplasmique: celle-ci apparaît lorsqu'un cytoplasme est dans un contexte nucléaire donné alors que la fertilité est restaurée dans un autre contexte nucléaire, et cette stérilité mâle cytoplasmique s'accompagne de modifications du génome mitochondrial.

Nous avons voulu savoir si le cytoplasme (en particulier les mitochondries) n'intervenait pas dans certains de nos croisements car on observe de nettes différences entre des croisements réciproques.

C'est aussi sur ce dernier point que porte le travail d'A. de KOCHKO pour ce qui est de l'étude des ADNmt.

Il était nécessaire avant tout de mettre au point une technique d'extraction de l'ADN mitochondrial à partir de petites quantités de matériel végétal, les descendants des croisements étudiés étant en petit nombre.

On a pu seulement pendant le stage "tester" le protocole de préparation de l'ADN mitochondrial de Riz adapté d'après MIGNOUNA *et al* (1987), tel qu'il est décrit ci-dessous. Les tampons utilisés sont donnés en annexe.

PROTOCOLE DE PREPARATION DE L'ADN MITOCHONDRIAL DE RIZ D'APRES MIGNOUNA *et al.*

(revu et adapté par A. de KOCHKO)

Environ 5 gr de coléoptiles de six à sept jours maximum sont récoltés, mis à tremper 5 min. dans de l'eau de javel du commerce diluée 10 fois puis lavés à l'eau distillée et broyés rapidement en une poudre très fine dans de l'azote liquide.

La poudre est mise en suspension dans du milieu de broyage, passée au Potter puis filtrée sur deux épaisseurs de miracloth. Toutes ces étapes ont lieu dans la glace.

Le filtrat est centrifugé 2 fois à 4.000 tpm (centrifugeuse Sigma) pendant 20 sec.

Le surnageant est centrifugé à 13500 tpm (Sigma) pendant 15 min.

Le culot, constitué par la fraction mitochondriale brute, est resuspendu, à l'aide d'un pinceau, dans 4 ml de tampon B auquel on ajoute 20µg de DNase par gr. de tissu de départ, on potterise et on laisse incuber 30 min. en agitation lente à T° ambiante (ou 1h à 4°C).

On reprend dans 8 ml de tampon D et on centrifuge 15 min. à 13500 tpm (Sigma), à 4°C. Le culot est repris au pinceau dans 2ml de tampon D et est déposé sur un gradient discontinu de sucrose constitué par:

4ml de sucrose à 1,45M

3ml de sucrose à 1,3M

4ml de sucrose à 1,2M

dans un tampon: 10mM Tris

20mM EDTA

0,1% BSA

pH= 7,2

On centrifuge 1h.30 à 20.000 tpm rotor SW2. Les mitochondries intactes qui se trouvent à l'interface 1,3-1,45M sont recueillies et diluées avec 6 ml de milieu B contenant 20 mM EDTA puis centrifugées 10 min. à 18.500 tpm (SS34) ou 13.500 tpm pdt 15 min (Sigma).

Le culot est resuspendu au pinceau dans 6 ml du même milieu et centrifugé une nouvelle fois 15 min. à 13500 tpm (Sigma).

Le culot de mitochondries purifiées est repris dans 4 ml de tampon de lyse auquel on ajoute de la protéinase K à raison de 0,1mg/ml soit 20 microlitres d'une solution à 20 mg/ml pour 4 ml, et on laisse incuber 30 min. à 37°C en agitation modérée (bain marie).

La déprotéinisation se fait au phénol-chloroforme (1/1): on ajoute 4 ml de phénol-chloroforme, on agite longtemps mais pas fortement (5 min. au moins) et on centrifuge 5 min. à 5000 tpm (Sigma): les protéines restent dans la phase

phénol (phase inférieure), on récupère la phase supérieure contenant l'ADN.

Après trois extractions on retire le phénol restant dans la phase aqueuse en ajoutant 4 ml d'ether saturé d'eau: l'ether et le phénol se rassemblent après une courte centrifugation en une phase supérieure que l'on retire; on effectue cette opération deux fois de suite et l'ether restant est évaporé à 60°C pendant 10 min.

Au volume final on ajoute de l'acétate de sodium à concentration finale de 0,3M après mélange, on additionne alors deux volumes d'éthanol absolu froid. On laisse précipiter les Acides Nucléiques au moins deux heures à -20°C. (de façon préférable la nuit, cette étape n'étant pas limitative dans le temps).

On centrifuge alors à 12.000 tpm (SS34) pendant 15 min. ou 13.500 tpm pdt 15min. (Sigma), le culot est séché au dessiccateur puis repris dans 400 µl de TE pH 7,6.

On procède alors à une précipitation au froid avec NaOAc 0,3M et EtOH.

On centrifuge 10 min., le culot est rincé avec EtOH à 70%, on recentrifuge 5 min. puis le culot est séché au dessiccateur pendant au moins 10 min. et enfin repris dans 20 à 30µl de TE. On peut laisser dans la glace pendant 1 heure avant de congeler l'échantillon ceci afin de faciliter la rehydratation de l'ADN.

Pour analyser l'ADN obtenu par cette technique, il faudra en faire un diagramme de restriction: on fait migrer par électrophorèse sur gel d'agarose les fragments d'ADN obtenus après digestion par des enzymes des restrictions.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES:

MIGNOUNA H, VIRMANI SS, BRIQUET M (1987)

Mitochondrial DNA modifications associated with cytoplasmic male sterility in rice.
Mol.Gen.Genet.

KADOWAKI, ISHIGE, SUZUKI, HARADA, SHINIYO (1986)

Differences in the characteristics of Mitochondrial DNA between Normal and Male Sterile Cytoplasms of Japonica Rice.
Japan. J. Breed., 36:333-339

SHIKANAI, YANG, YAMADA (1987)

Properties of the Circular Plasmid-like DNA B1 from Mitochondria of Cytoplasmic Male-sterile Rice.
Plant Cell Physiol. 28(7): 1243-1251

TAMPON D'EXTRACTION :

pour un litre:

0,5 M Mannitol
10 mM Tris
1 mM EGTA
1 mM Dithiothreitol
10 mM Diethyldithiocarbamate de sodium
0,2% BSA (à rajouter juste avant l'emploi)
pH= 7,2 (rajuster avec HCl)

91,8 gr.
10 ml solution à 1M
380 mg.
155 mg.
1,71 gr.

TAMPON GRADIENT:

10 mM Tris
20 mM EDTA
0,1 % BSA (ajouter avant l'emploi)
pH= 7,2

10 ml solution à 1M
6,7 gr.

TAMPON DE LYSE:

2 % Sarkocylate de sodium
0,1 M NaCl
10 mM EDTA
0,1 mg/ml Proteinase K (ajouter avant l'emploi)

20 gr.
5,84 gr.
3,36 gr.

TAMPON TE (Tris-EDTA):

10mM Tris
1mM EDTA

10ml solution Tris 1M
2ml solution EDTA

TAMPON B:

0,5M Mannitol
10 mM Tris pH 7,2
10 mM MgCl₂
0,1% BSA (ajouter juste avant l'emploi)
10 µgr. DNase/gr. de tissu de départ

91,8 gr.
10 ml de solution à 1M
2,03 gr.

TAMPON C:

0,5 M Mannitol
10 mM KH₂PO₄
0,15 M NaCl
20 mM EDTA
0,1% BSA (ajouter juste avant emploi)
pH = 7,2 ajuster avec de la potasse (KOH)

91,8 gr.
1,36 gr.
8,77 gr.
40 ml solution 0,5M

TAMPON D:

0,5 M Mannitol
10 mM Tris pH 7,2
20 mM EDTA
0,1% BSA à ajouter juste avant l'emploi.

91,8 gr.
10 ml solution à 1 M
40 ml solution 0,5M