

Reçu le : 28 10 86

OFFICE DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE OUTRE-MER
CENTRE D'ADIPODOUME
BP. V-51 - ABIDJAN (Côte d'Ivoire)
Laboratoire de Génétique

pos de 40

L'AUTOINCOMPATIBILITÉ CHEZ LES GRAMINÉES
APPLICATION À L'ÉTUDE DE L'ESPÈCE
ORYZA LONGISTAMINATA

par

Alain BORGEL

Mars 1980

Fonds Documentaire ORSTOM



010005681

Fonds Documentaire ORSTOM

Cote : **B * 5681** Ex : 1

DONNÉES GÉNÉRALES SUR L'AUTOINCOMPATIBILITÉ

I. GÉNÉRALITÉS

1. INTRODUCTION

L'autoincompatibilité est un phénomène très répandu ; on le rencontre dans 3000 espèces regroupées en 250 genres et 70 familles (De NETTANCOURT 72 d'après BREWBAKER, LINSKENS et KROH).

Le tableau 1 donne quelques exemples de systèmes d'autoincompatibilité rencontrés chez des plantes cultivées.

Ce tableau montre qu'il y a au moins trois critères pour classer le système d'autoincompatibilité chez une plante. Nous nous attacherons dans ce premier chapitre à définir et expliciter ces critères.

minuscule
C'est ~~KOLREUTER~~ KOLREUTER qui cité par DARWIN 1876 le premier, dès 1764 a fait état d'autoincompatibilité chez VERBASCUM- De NETTANCOURT 77- Ce phénomène a été reconnu comme étant héritable et se traduisant par une reconnaissance entre le grain de pollen et le pistil. Cette reconnaissance entraînant une réaction de rejet de l'identité entre les deux parties.

La conséquence est que l'autoincompatibilité entretient un niveau d'hétérozygotie élevé dans une espèce donnée en favorisant le brassage génique par rapport à l'inbreeding. La limite supérieure au brassage génique étant l'incompatibilité interspécifique empêchant la panmixie entre les espèces et favorisant la spéciation.

Après sa mise en évidence il a fallu cerner le problème en le définissant de manière précise. Cela a posé un certain nombre de problèmes.

Les premières définitions étaient très vagues. "L'impossibilité pour le pollen de féconder l'ovaire" (EAST et PARK 1917) dans De NETTANCOURT 1977. "L'échec à la fécondation"... (LEWIS 1949) dans De NETTANCOURT. Ces définitions englobent l'autoincompatibilité et l'incompatibilité inter-spécifique et de plus elles passent sous silence les cas de stérilité gamétiques.

BREWBAKER en 1958 cité par De NETTANCOURT 1977 apporte quelques précisions :

"inaptitude pour une plante produisant des gamètes fonctionnels à produire des graines quand elle est autofécondée"... Une des critiques que l'on peut apporter à cette définition est qu'elle inclu la léthalité embryonnaire précoce ou tout autre phénomène post zygotique empêchant la formation de la graine.

C'est finalement LUNDQUIST qui en 1964 a cerné le problème de manière presque parfaite .

"...L'inaptitude d'une plante hermaphrodite fertile à produire un zygote après autofécondation"...
Il y est entendu que les gamètes mâles et femelles sont viables, que la plante porte des fleurs hermaphrodites ce qui exclu les plantes dioïques et monoïques. Cette définition restant l'autoincompatibilité à un phénomène compris entre l'autopollinisation et la formation du zygote ce qui exclu les phénomènes post-zygotique.

Elle restreint aussi l'autoincompatibilité à la seule autofécondation ce qui signifie la pollinisation de la partie femelle d'une plante hermaphrodite (ou monoïque) par le pollen de la même plante. Pourtant l'autoincompatibilité s'étend sans ambiguïté aux fécondations croisées dans la même espèce ; en particulier aux croisements en retour et aux croisements frères, soeurs. Quant au fait de limiter l'autoincompatibilité aux phénomènes prézygotiques, il souffre d'une exception connue chez *Borago officinalis* où la réaction se produit quand le tube pollinique a atteint le sac embryonnaire et même initié la fusion gamétique. Cité par De NETTANCOURT 1977.

En résumé, si après autofécondation ou pollinisation intraspécifique par un gamétophyte mâle fonctionnel il n'y a pas fécondation et formation du zygote alors que le gamétophyte femelle est lui aussi fonctionnel c'est qu'il y a en interaction entre le gamétophyte mâle (grain de pollen ou tube pollinique) et le pistil (stigmate, style ou ovaire) se traduisant par une reconnaissance de l'identité entre les deux parties et conduisant au rejet de cette identité.

2. NATURE DE L'IDENTITE, MECANISMES DE L'AIC.

L'autoincompatibilité étant un caractère héritable, on peut dire qu'il y a reconnaissance des produits de gènes identiques dans la partie mâle et dans la partie femelle.

Dans chaque partie de la plante il y a donc dans l'ordre activité des gènes d'autoincompatibilité conduisant à l'expression du phénotype dans la partie concernée (mâle ou femelle).

Activité des produits des gènes quand la partie mâle et la partie femelle sont en contact, conduisant à l'expression de l'autoincompatibilité par rejet de l'identité.
Il est donc intéressant de chercher à savoir à quel moment dans le développement de la fleur et dans quel type de tissu se détermine le phénotype du grain de pollen et celui du pistil.

a - Dans le pistil

Le Déterminisme coïncide le plus souvent avec la maturation de la fleur. Il s'exprime lors de l'anthèse, quand les stigmates sont mûres. En effet on est arrivé dans certains cas à transgresser l'autoincompatibilité en pollinisant artificiellement des boutons floraux. De même, le phénotype ne s'exprime plus sur la fleur senescente (De NETTANCOURT 1977). Dans les cas il n'y a que trois possibilités quand à la localisation: stigmate, style ou ovaire.

Dans la majorité des cas la réaction d'autoincompatibilité se situe au niveau du stigmate ou style c'est à dire dans le sporophyte (2n).

Donc en présence de au moins 2 allèles (diploidie) de chaque gène d'autoincompatibilité, avec les relations de dominance éventuelle qui peuvent exister entre ces allèles.

Dans certains cas, en particulier quand le style est caverneux donc quand le tube pollinique peut croître sans contact intime avec le tissu du style la réaction de rejet se situe au niveau de l'ovaire (2n) ou même parfois à l'intérieur de l'ovaire du niveau du sac embryonnaire (n).

En resumé, du côté femelle la règle est presque générale le phénotype de la plante pour ses gènes d'autoincompatibilité s'exprime dans le sporophyte et au moment où la fleur est mature.

b - Dans l'Etamine

Le déterminisme du phénotype du gamétophyte mâle ne suit pas la même voie dans toutes les familles de plantes. Cela a permis de faire deux catégories suivant le moment auquel le grain de pollen reçoit l'information nécessaire.

L'action du ou des gènes d'autoincompatibilité est prémeiotique dans la cellule mère des grains de pollen (2n) ou bien cette action a lieu dans le tissu adjacent aux microspores en formation (le tapetum 2n), couche cellulaire qui est encore en relation avec le futur grain de pollen en particulier par l'intermédiaire de substances (messages) envoyées par le tapetum et se logeant dans l'exine.

Dans ces cas le phénotype du grain de pollen est déterminé par le génotype du sporophyte (2n) de la plante. On parle alors de contrôle sporophytique de l'autoincompatibilité.

La principale conséquence de ce système est que tous les grains de pollen produits par une plante ont le même phénotype résultant de l'interaction éventuelle entre les allèles du gène présents dans le sporophyte : Dominance, interaction, indépendance.

Remarque : dans ce cas le phénotype du pistil est fixé par les mêmes relations entre les allèles.

Le phénotype du gamétophyte mâle est déterminé postérieurement à la méiose c'est alors le génotype du gamétophyte^(*) qui détermine directement son phénotype. On parle alors de contrôle gamétophytique de l'autoincompatibilité.

La principale conséquence de ce système est que tous les grains de pollen d'une plante n'ont pas le même phénotype car ils n'ont pas le même génotype du fait de la ségrégation lors de la méiose des allèles présents dans le sporophyte.

Remarque : dans ce cas les allèles présents dans le pistil sont indépendants.

3 - LES CARACTERES LIES

Dans certains cas d'autoincompatibilité à (contrôle sporophytique, des caractères de la morphologie florale renforcent le phénomène en s'ajoutant à l'inaptitude qu'à l'autopollen à germer. (déterminisme

C'est le schéma bien connu de l'hétérostylie décrit par DARWIN en 1880 rapportant les travaux de HILDEBRAND sur *Primula sinensis*. On parle dans ce cas d'hétéromorphisme par opposition à l'homomorphisme quand la plante ne possède pas de caractère de polyporphisme floral lié à l'autoincompatibilité.

4 - NOMBRE DE GENES MIS EN JEUX, NOMBRE D'ALLELES PAR GENE

Le déterminisme génétique de l'autoincompatibilité recensé à l'heure actuelle recouvre différents systèmes faisant intervenir un, deux ou rarement plus de deux gènes ayant chacun deux ou plusieurs allèles.

Un système à 1 gène appelé S se rencontre dans beaucoup d'espèces de Solanacées et de Légumineuses, l'exemple type est *Nicotiana* très utilisé dans les études sur l'autoincompatibilité.

Chez beaucoup de graminées a été mis en évidence un système à deux gènes appelés S et Z indépendants et à action complémentaire.

Chez *Ranunculus acris* ont été recensés au minimum trois gènes S, et chez *Beta vulgaris* on suppose qu'il pourrait y en avoir au moins 4. En fait, vue la complexité des ségrégations après croisements l'incertitude sur le nombre de gènes mis en jeu croît très vite dès qu'un modèle à 1 ou 2 gènes ne concorde pas avec les données expérimentales.

5 - CLASSIFICATION DES DIFFERENTS MECANISMES CONNUS

Nous venons de voir que l'autoincompatibilité chez les angiospermes peut être classée de plusieurs manières en groupes dis-

tincts. Il se trouve que les différents types de classements ne sont pas tous indépendants. Ce qui a conduit De NETTANCOURT (1972) à construire un tableau original de classification des systèmes d'autoincompatibilité donnant une image claire, à défaut d'être rigoureusement exacte, des connaissances actuelles sur les corrélations entre les différents mécanismes mis en jeu. Tableau n° 2.

II. AUTOINCOMPATIBILITÉ CHEZ LES GRAMINÉES

1 - INTRODUCTION

Les études concernant l'autoincompatibilité chez les graminées ont commencé en 1954 quand LUNDQUIST s'est penché sur le problème chez le seigle (*Secale cereale*).

Depuis, d'autres plantes ont été étudiées :

<i>Festuca pratensis</i>	HAYMAN	1956
<i>Hordeum bulbosum</i>	LUNDQUIST	1962
<i>Dactylis aschersoniana</i>	LUNDQUIST	1965
<i>Briza media</i>	MURRAY	1974
<i>Lolium perenne</i>	CORNISH et ALL	1979

2 - PREMIERE METHODE D'ETUDE (1954)

Il s'agit pour LUNDQUIST d'analyser du point de vue génétique le mécanisme de l'autosterilité rencontrée chez le seigle (*Secale cereale*). Il dispose pour cela d'une variété connue pour ne donner en moyenne que 3 % de graine par épis en autofécondation. Un certain nombre de plantes de cette variété ont été clônées et sur chaque clone P ont été faites les opérations suivantes :

- . Autofécondation avec 2 à 3 % de réussite. Chaque clone a donné une famille S_1
- . Back-crosses réciproques $S_1 \times P$ et $P \times S_1$
- . Croisements frères-soeurs $S_1 \times S_1$.

Sur ces croisements ont été dénombrés les combinaisons fertiles (produisant des graines) parmi lesquelles il y a les combinaisons autocompatibles ;

- Chez cette plante autostérile à 97 % on trouve lors des croisements frères-soeurs une ségrégation du caractère avec 59 % des combinaisons fertiles
- Si les back-crosses $P \times S_1$ ne donnent jamais de combinaison fertile, par contre les back-crosses réciproque $S_1 \times P$ permet de regrouper la famille S_1 en deux sous-ensembles :

l'un avec 23 % des plantes de S_1 ne donnent aucune combinaison fertile dans le Back-crosse $P \times S_1$:
c'est BC-

l'autre avec les 77 % des plantes de S_1 donnent toujours des combinaisons fertiles dans le back-crosses $P \times S_1$:
c'est BC+

Ces ségrégations montrent l'hétérozygotie de P pour le caractère que l'auteur a appelé autoincompatibilité.

Il reste à déterminer le nombre de gènes mis en jeu ainsi que le mode de contrôle de l'expression du ou des gènes d'autoincompatibilité. Pour cela l'auteur dispose de deux modèles simples connus chez d'autres plantes.

Le premier est un système à un locus et plusieurs allèles avec détermination sporophytique du phénotype du pollen

le deuxième est aussi un système à un locus et plusieurs allèles mais le contrôle du phénotype du grain de pollen est gamétophytique.

Dans un système sporophytique, puisque tous les grains de pollen ont le même phénotype, les back-crosses $S_1 \times P$ et $P \times S_1$ sont équivalents. Cela permet d'éliminer ce système puisqu'on trouve expérimentalement

$S_1 \times P$	77 %	combinaisons fertiles
$P \times S_1$	0 %	combinaisons fertiles.

Ces (back-crosses (croisements testés contre un modèle gamétophytique à 1 locus donnent en théorie respectivement 50 % combinaisons fertiles et 0 % combinaisons fertiles. La concordance avec les valeurs observées n'étant pas très satisfaisante l'auteur a complété ses croisements avec $S_1 \times BC+$ et $BC+ \times S_1$ ainsi que $S_1 \times BC-$ et $BC- \times S_1$

et il a construit un modèle théorique faisant intervenir 2 loci indépendants S et Z et à action complémentaire avec déterminisme gamétophytique du phénotype du grain de pollen ; c'est à dire :

l'allèle de S et l'allèle de Z présents dans le grain de pollen doivent être présents dans le pistil pour qu'il ait autoincompatibilité. Voir tableau 3 et 4 donnant les pourcentages de combinaisons fertiles dans les différents types de croisements possibles suivant un modèle gamétophytique à 1 ou à 2 loci.

Après avoir testé les valeurs observées lors des différents croisements contre les valeurs théorique des deux modèles (Tableau 5). L'auteur a conclu que le système d'autoincompatibilité chez le seigle était gouverné par 2 gènes S et Z indépendant et à action complémentaire.

Le déterminisme du phénotype du grain de pollen est gamétophytique et il n'y a pas d'interaction entre les 2 allèles d'un même gène dans le pistil (sporophyte femelle).

3 - CRITIQUE DE LA METHODE

. L'auteur prend comme hypothèse de départ que l'autostérilité rencontrée chez le seigle est de l'autoincompatibilité sans faire état d'éventuelles stérilités gamétique qu'on est obligé de considérer comme négligeable.

. L'autoincompatibilité est mesurée en prenant en considération les graines produites par les épis ; soit pour les autofécondations en comptant le nombre de graines produites par épis par rapport au nombre total de fleurs sur l'épis soit pour les back-crosses et les croisements frères-soeurs en comptant le nombre de combinaisons ayant donné une descendance par rapport au nombre total de combinaison par type de croisement.

Il en ressort deux choses : . Les phénomènes de létalité post-zygotique éventuels peuvent venir biaiser les résultats en augmentant les effectifs des classes autoincompatibles.

. La pseudo-compatibilité observée sur les autofécondations peut augmenter le nombre de combinaisons "compatibles". On doit supposer que l'auteur a considéré comme incompatible toute combinaison produisant moins de 3 % de graines par épis.

De plus le déterminisme génétique de leur pseudo-compatibilité n'est pas connu. L'auteur ne peut pas prévoir comment (à la suite d'une autofécondation, suivie de Back-crosses et de crst F₂) risque de ségréger ce caractère dans la descendance :

il y a possibilité pour certaines classes d'avoir une pseudo-compatibilité importante, indépendamment ou de manière liée avec les classes d'autoincompatibilité. L'utilisation de descendance issue d'autofécondation pour l'étude de l'autoincompatibilité, mis à part l'inconvénient cité plus haut et qui peut être rédhibitoire a un avantage qui a sans doute motivé l'auteur. Le nombre d'allèles par gène S ou Z mis en jeu pour cette étude est minimisé : 2 allèles par gène puisque la plante est diploïde et hétérozygote. Il s'ensuit que le nombre de classes incompatibles est quant à lui (maximisé ; ce qui permet d'avoir des ségrégations interprétables (maximum du caractère d'autoincompatibilité. En effet, plus le nombre d'allèle mis en jeu par gène augmente et plus le nombre de classes intercompatibles augmentent rendant l'analyse difficile, voire impossible à interpréter par cette méthode.

On sait que la consanguinité introduite par autofécondation chez une plante habituellement allogame déséquilibre sa bonne balance de relation ; cela se traduit par un effet d'inbreeding marqué (tarés, chetivité) sur une bonne proportion de plantes dans une descendance d'autofécondation.

L'auteur ne fait pas état de ce fait. On suppose qu'il a éliminé dans ses familles S₁ les plantes tarées ou chétives.

En résumé il apparait que la pseudo-compatibilité et la consanguinité sont 2 inconvénients majeurs lors de l'utilisation de l'autoincompatibilité. On s'attachera à ne pas y avoir recours.

4 - CONNAISSANCES ACTUELLES

Depuis cette époque, d'autres tests sur d'autres graminées ainsi que des observations cytologiques ont permis de confirmer le modèle à 2 gènes S et Z indépendants, à action complémentaire et ayant chacun plusieurs allèles. La reconnaissance de l'identité entre les deux allèles du grain de pollen et deux des quatre allèles de S et Z du pistil se fait au niveau du stigmate.

HAYMAN (1956) sur	<i>Phalaris coerulescens</i>
LUNDQUIST (1961)	<i>Festuca poratensis</i>
KNOX et HESLOP-HARRISON (1971) sur	<i>Phalaris</i>
HESLOP-HARRISON (1976) sur	<i>Gaudinia fragilis</i>
	<i>Secale cereale</i>
	<i>Hordeum bulbosum</i>
	<i>Alopecurus pratensis</i>

Plus précisément il apparait : que la réaction d'incompatibilité a lieu entre l'extrémité du tube pollinique et la cuticule du stigmate et non pas entre l'exine du grain de pollen et le stigmate. La réaction peut être rapide : moins de 5' après pollinisation chez le seigle. L'arrêt de croissance du tube pollinique précède l'accumulation de callose dans le tube. A part ces données cytologiques, rien de précis n'est connu sur la biochimie de la réaction d'autoincompatibilité chez les graminées. De même on en est réduit à faire des hypothèses sur la structure des gènes S et Z.

5 - LES METHODES D'ETUDE PLUS MODERNES

Puisque la réaction d'autoincompatibilité se situe chez les graminées au niveau du contact tube pollinique-stigmate on a en général lors des observations cytologiques une situation assez claire. Si on peut observer des tubes polliniques bien développés dans le stigmate ou dans le style c'est qu'il y a compatibilité entre ce pollen et le pistil.

Dans le cas contraire : grains de pollen à peine germés avec arrêt de la croissance du tube au niveau de la cuticule du stigmate, la réaction d'autoincompatibilité est indubitable.

MARTIN (1958) a proposé une technique de coloration permettant d'observer les tubes polliniques in situ ; accumulations caractéristiques d'une croissance ralentie ou de l'arrêt de croissance du tube donc de la réaction d'autoincompatibilité. Cette technique est suffisamment fine pour permettre aux chercheurs travaillant sur des systèmes avec ralentissement et/ou arrêt de la croissance du tube dans le style de reconnaître le phénomène. Sur les graminées elle est amplement suffisante pour observer, un certain temps après la pollinisation si oui ou non le tube pollinique a atteint le style, voire l'ovaire. Ce test est malgré tout assez délicat sur les graminées, eu égard à la petitesse du matériel à observer.

C'est encore LUNDQUIST qui en 1961 a proposé une méthode plus précise et plus rapide pour l'observation de l'autoincompatibilité chez les graminées que le comptage des graines produites lors d'un croisement ou d'une autofécondation.

En effet, entre une pollinisation compatible et la récolte de la graine, un grand nombre d'événement peuvent arriver, empêchant la formation ou le développement de la graine. La conséquence est que le caractère lu n'est pas représentatif du phénomène étudié. LUNDQUIST propose l'observation cytologique du pollen in situ, environ 24 heures après la pollinisation, par coloration spécifique. Ainsi l'observation est en prise directe sur le phénomène d'autoincompatibilité. On peut apprécier la proportion de pollen compatible par rapport à la quantité totale de pollen déposé sur les stigmates et ainsi on peut séparer les combinaisons en plusieurs classes entre 0 % et 100 % compatible au lieu des seules deux classes de l'ancienne méthode.

Et enfin ce test peut être mené entièrement in vitro sur pistil excisés frais et déposés sur un milieu nutritif gelosé. On peut ainsi faire les pollinisations au laboratoire, et supprimer tous les aléas dus aux conditions extérieures : vent, pluie, accidents de tous ordres, dispersion de pollen parasite etc...

Toutefois cette méthode ne peut être valable qu'à deux conditions :

- /La stérilité pollinique des plantes utilisées doit être mesurée avec précision.
- /La bonne corrélation entre la lecture directe "in vitro" et le phénomène réel "in vivo" doit être établie.

Exemple de LOLIUM PERENNE CORNISH et ALL (1979)

Le but des auteurs est d'établir le modèle génétique (à 1 ou 2 gènes) qui gouverne l'autoincompatibilité chez le raygrass, et aussi d'affecter un génotype aux différentes plantes étudiées.

Pour cela le point de départ a été les croisements réciproques entre deux plantes issues de populations très éloignées, avec comme hypothèse que les deux plantes de départ n'ont en commun aucun allèles du ou des gènes d'autoincompatibilité. Chaque croisement donne une famille d'une trentaine de plantes qui sont ensuite croisées entre elles : croisements frères-soeurs. La ségrégation du caractère d'autoincompatibilité est étudiée sur ces croisements frères-soeurs.

Les croisements sont faits selon la méthode de LUNDQUIST (1961) décrite plus haut, et les stigmates sont colorés au bleu d'aniline par la méthode de MARITN (1958) ce qui permet de séparer sur un même stigmate le pollen compatible du pollen incompatible. Une fois le taux de stérilité pollinique connu. Pour ne pas avoir à faire pour chaque famille le diallèle complet (environ 30 x 30) l'auteur estime, qu'un diallèle 6 x 6 suivi de la pollinisation par ces 6 plantes des autres plantes de la famille, est suffisant pour déterminer le génotype de chaque plante de la famille.

La 1ère observation faite est que tous les croisements effectués peuvent être regroupés en 4 classes seulement :

0, 50, 75 et 100 % compatible quand on compte la proportion de pollen germé par rapport à la quantité totale de pollen déposé. L'auteur a testé ce resultat contre les deux modèles envisageables et suivant son hypothèse de départ.

1 Modèle à 1 loci

Il y a en tout par hypothèse 4 allèles du gène S en jeu le croisement de départ est $S_{12} \times S_{34}$ qui donne quatre types de plante dans sa descendance.

La ségrégation de l'autoincompatibilité lors du diallèle des croisements frères-soeurs est regroupée dans le tableau suivant

♂	S ₁₂		S ₁₃		S ₂₃		S ₂₄		Génotype du sporophyte
	S ₁	S ₂	S ₁	S ₃	S ₂	S ₃	S ₂	S ₄	
♀ S ₁₂	0		50		50		50		Génotype du gamétophyte
♀ S ₁₃	50		0		50		100		
♀ S ₂₃	50		50		0		50		
♀ S ₂₄	50		100		50		0		Pourcentage de pollen germé

1/2 de pollen — Compatible sur le stigmate pour chaque combinaison. Il y a donc seulement trois cas possibles suivant le nombre d'allèles en commun.

2 Modèle à deux loci

C'est en fait le modèle des graminées qui est examiné c'est à dire deux gènes indépendants à action complémentaire S et Z. Le croisement de départ est du type $S_{12} Z_{ab} \times S_{34} Z_{cd}$ qui donne 16 types de plantes possibles dans la descendance et quand on fait le diallele entre les freres-soeurs les 256 combinaisons possibles se resument en seulement 6 situations en tout :

- a - 4 allèles en commun exemple $S_{12} Z_{ab} \times S_{12} Z_{ab}$
on observe sur le stigma 0 % de pollen compatible
- b - 3 allèles en commun ex : $S_{12} Z_{ab} \times S_{12} Z_{ac}$
on observe sur le stigma 50 % de pollen compatible
- c - 2 allèles en commun 1 à chaque locus
ex : $S_{12} Z_{ab} \times S_{13} Z_{ac}$
on observe sur stigma 75 % de pollen compatible
- d - 2 allèles en commun sur un seul locus
ex : $S_{12} Z_{ab} \times S_{12} Z_{cd}$
on observe sur le stigma 100 % de pollen compatible
- e - 1 seul allèle en commun ex : $S_{12} Z_{ab} \times S_{13} Z_{cd}$
on observe sur le stigma 100 % de pollen compatible
- f - 0 allèle en commun ex : $S_{12} Z_{ab} \times S_{34} Z_{cd}$
on observe sur le stigma 100 % de pollen compatible

Ces 6 situations permettent d'observer quatre cas. (a), (b), (c) et (d,e,f,) avec respectivement 0, 50, 75 et 100 % de pollen compatible sur le stigma.

La présence de la classe (c) dans les observations a permis aux auteurs d'opter pour le modèle à deux gènes indépendants à action complémentaire comme pour les autres graminées connues. Les classes (a), (b) et (c) donnent une information précise sur la proximité génotypique des 2 plantes concernées lors d'une combinaison. Cela a permis aux auteurs d'affecter un génotype à chaque plante de la famille et de vérifier la présence des 16 types de plantes issues de chaque croisement de départ

Cette méthode est beaucoup plus délicate à appliquer que celle de LUNDQUIST (1954) sur Secale cereale parce qu'elle implique des dissections et des manipulations de matériel végétal très petit ainsi que des comptages précis au microscope.

Mais d'autre part, dès que les plantes fleurissent, elle ne demande pas de longs délais d'attente avant de connaître les résultats des croisements. Et surtout le phénomène observé est réellement l'auto-incompatibilité, une fois déduite la stérilité-pollinique que l'on doit dénombrer parallèlement.

De plus elle évite l'écueil de l'utilisation de l'autofécondation pour l'étude de l'autoincompatibilité, les plantes de départ peuvent être choisies pour être très fortement autoincompatibles. La germination de pollen sur le stigmate ne peut ainsi pas être imputable à de la pseudo-compatibilité.

Enfin elle permet d'identifier les allèles portés par les plantes de départ et ainsi, en multipliant les combinaisons, d'avoir une idée de la proximité de 2 populations par la proportion d'allèles qu'elles ont en commun.

6 L'AUTOINCOMPATIBILITE EVENTUELLE CHEZ *ORYZA LONGISTAMINATA*

Oryza longistaminata est l'une des espèces sauvages de génome A du genre *Oryza*. On la rencontre dans toute la zone intertropicale d'Afrique. Elle se distingue des autres espèces par ses modes de reproduction alliant la pérennité (multiplication végétative par rhizome) à l'allogamie presque stricte.

Les observations faites sur le terrain lors des prospections dans différentes régions d'Afrique ont montré que cette espèce est d'une fertilité normale quand elle occupe de larges ^{espaces} comme par exemple les immenses populations du delta intérieur du Niger au Mali.

Par contre quand elle est rencontrée dans de petites mares ou dans des bas fonds de petites dimensions où la population ne s'étend que sur quelques dizaines de mètres carrés, il est bien rare de trouver des épillets remplis (des graines) sur les panicules.

De plus des autofécondations forcées ont été pratiquées lors d'une prospection sur une population naturelle normalement fertile en fécondation libre.

Cette population s'est avérée très fortement autostérile (BEZANCON-SECOND 1976).

C'est en 1967 que ^N MAYAR a le 1er rassemblé des données sur les différences de fertilité en autofécondation entre les espèces annuelles et les espèces pérennes de riz en utilisant comme caractères:

- les comptages de stérilité pollinique par coloration
 - la proportion de graines produites par panicules par rapport au nombre total d'épillets
- . en fécondation libre
 - . en autofécondation

Les résultats sont très variables suivant les espèces considérées. Le cas extrême est une population d'*O. longistaminata* du Soudan produisant 0 % de graines en autofécondation 40 % " " " fécondation libre et dont 80 % du pollen est colorable

Mais le plus souvent l'autostérilité est partielle. Citant les travaux de YEH et ^{AKI} (1961) l'auteur fait état pour 20 populations

all.

de *O. longistaminata* :

2 populations	0 % graines en autofécondation
10 "	0 \bar{a} 13 % "
8 "	13 \bar{a} 31 % "
0 "	31 \bar{a} 100 % "

Mais c'est surtout l'équipe Japonaise de OKA (1969) qui a caractérisé le phénomène de manière plus précise en croisant trois plantes de *O. longistaminata* entre elles l'une originaire de Guinée, les deux autres provenant de la même population de la région de Tombouctou.

La variable est le pourcentage du grains produits par panicule par rapport au nombre total d'épillets sur la panicule.

Le nombre total de panicules observées dans les croisements direct et reciproques est 54, ce qui est plutôt faible.

La fertilité des grains de pollen et celle des sacs embryonnaires a été vérifiée.

Les résultats montrent que la production de graines est plus faible en autofécondation qu'en croisement mais il n'y a pas, et de beaucoup, une autostérilité complète.

De plus le pollen a un bon taux de germination sur les stigmate, d'après les observations cytologiques, mais la croissance du tube pollinique s'arrête très rapidement.

Et enfin les sacs embryonnaires sont normaux. Les auteurs en concluent qu'il s'agit d'un phénomène d'autoincompatibilité partielle.

Cette affirmation peut être exacte ; elle demande cependant à être vérifiée sur des effectifs plus importants. Les problèmes suivants se posent :

- 1 - l'autostérilité mise en évidence et observée souvent chez *O. longistaminata* est-elle de l'autoincompatibilité
- 2 si oui quel en est le mécanisme et le déterminisme génétique.
- 3 quelle est la signification du caractère partiel de cette autostérilité.

Le matériel disponible est une collection de plus de 250 population d'*O. longistaminata* originaires de pratiquement toute la zone intertropicale d'Afrique. Prospections ORSTOM IRAT -1974-1975-197-1977-1978-1979.

a - Caractérisation du phénomène :

Pour répondre à la question 1, environ 700 panicules ont été autofécondées en deux saisons de floraisons. Une bonne partie de la collection a pu ainsi être testé pour son autostérilité. Le résultat global est que 80 % des panicules n'ont donné aucune graine malgré une bonne fertilité pollinique (la plupart du temps supérieure à 75 %).

héma

mesurée par coloration à l'~~heura~~ ^{héma}atoxyline ou au carmin acétique. De plus les 200 croisements intra-spécifiques effectués dans le même temps n'ont montré que 20 % de combinaisons totalement stériles.

Toutefois cette manière de mesurer n'est pas très satisfaisante car, même dans les croisements fertiles ou les fécondations libres le pourcentage de graines produites reste faible, alors les gamètes sont viables dans une très large proportion. Le biais introduit par les aléas liés à la pose du sachet enlève de la précision aux valeurs des résultats en augmentant dans les autofécondations et les croisements le nombre de combinaisons stériles. Mais le phénomène est suffisamment marqué et mis en évidence sur assez de mesures pour ne pas être mis en doute.

Des observations de pollen in situ par la coloration de MARTIN (1958) montrent que dans une autofécondation le pollen commence à germer mais que sa croissance s'arrête dès que l'extrémité du tube atteint la cuticule du stigmate.

En résumé, les observations faites sur *O. longistaminata* montrent que :
• les gamétophytes mâle et femelle sont en général viables.
• la tendance qu'a cette espèce à ne pas produire de graines en autofécondation est très forte
• l'accident conduisant à la non formation de la graine a lieu au cours des premiers stades de l'élongation du tube pollinique.
Ces observations concordent avec la définition connue de l'autoincompatibilité, et qui ressemble dans son expression cytologique à celle qu'on rencontre chez d'autres graminées.

Mais, cette autoincompatibilité n'est pas stricte : comme chez le seigle on rencontre de la pseudo-compatibilité qui est très variable suivant les populations étudiées dans les limites de presque 0 % à plus de 30 % de graines par panicule, produites en autofécondation.

b - L'autoincompatibilité chez *O. longistaminata*, méthode d'étude

Les deux saisons d'autofécondations ont permis de sélectionner dans la collection quelques populations très autoincompatibles. C'est à partir de quelques plantes de ces populations que sera mis en évidence le déterminisme génétique de l'autoincompatibilité chez *O. longistaminata*.

Le point de départ est, aux répétitions près, le croisement entre deux clones issus de populations très éloignées dont on supposera dans un premier temps qu'elles n'ont pas d'allèle du ou des gènes d'autoincompatibilité en commun.

La méthode de "croisements" in vitro de LUNDQUIST (1961) semble bien adaptée à ce matériel végétal.

De même la coloration de MARITN (1958) éventuellement simplifiée permet de bonnes observations de la germination du pollen compatible/incompatible sur le stigmate.

La technique utilisée pour les comptages de stérilité pollinique doit être plus précise pour cette étude que celle utilisée jusqu'à présent.

L'hématoxyline et le carmin acétique colorent les grains de pollen remplis de cytoplasme quelque soit leur faculté germinative

D'autres colorants (Tetrazolium) mettent en évidence une activité enzymatique à l'intérieur du grain de pollen et permettent ainsi de séparer parmi le pollen colorable à l'hématoxyline la proportion de pollen viable. Cela donne tout de même une valeur surestimée de la fertilité pollinique.

Enfin le test de germination du pollen in vitro sur milieu nutritif gélosé apporte une indication sous estimée de la faculté germinative du pollen in vivo.

On aura une indication précise de la stérilité pollinique en utilisant simultanément les deux dernières techniques.

c - La Pseudo compatibilité chez *O. longistaminata*

Dans bien des populations la pseudo-compatibilité n'est pas négligeable et on peut même mettre doute l'existence d'autoincompatibilité pour quelques populations d'*O. longistaminata* produisant plus de 30 % de graines par panicule en autofécondation.

Cela justifie l'intérêt que présente le problème de la part génétique et environnementale dans la pseudo-compatibilité.

L'observation sur plusieurs années de clones partiellement compatible pour y étudier la stabilité du phénomène d'une part, et d'autre part l'étude de descendance de croisements entre clones auto-incompatible et clones partiellement compatible pour suivre la ségrégation du caractère nous apporteront des précisions sur la question.

BIBLIOGRAPHIE

- ASCHER (P.D)
Self-incompatibility systems in floriculture crops
Acta horticulturae 63 (1976)
- ASCHER (P.D)
A gene action model to explain gametophytic self-incompatibility
Euphytica 15 (1966)
- BREWBAKER (J.L.)
Pollen cytology and self incompatibility systems in plants.
Journal of Heredity 48 (1957)
- CORNISH, HAYWARD, LAWRENCE
self-incompatibility in rye-grass (I)
Heredity 43 (1979)
- CHU-MORISHIMA-OKA
Partial self-incompatibility found in *Oryza perennis* subsp. *barthii*
Japanese Journal of Genetics 44 (1969)
- LINSKENS (H.F.)
Incompatibility reaction during the flowering period of several *Petunia* clones
Acta Bot Neerl 26 (1977).
- LUNQUIST (A)
Studies on self-sterility in rye, *Secale cereale*
Hereditas 40 (1954)
- LUNDQUIST (A)
Self-incompatibility in rye D genetic control in the diploid
Hereditas 42 (1956)
- LUNDQUIST (A)
A rapid method for the analyses of incompatibility in grasses
Hereditas (1961)
- MARTIN (F.W)
Staining and observing pollen tubes in the style by means of fluorescence
Stain Technology (1958)
- NAYAR
Prevalence of self-incompatibility in *Oryza barthii* cheval. It's bearing on the evolution of rice and related taxa
genetica 38 (1967)

- NETTANCOURT (D.de)
Self incompatibility in basic and applied researches with
higher plants
genetica Agraria 26 (1972)

- NETTANCOURT (D.de)
Incompatibility in angiosperms
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New-York (1977)

GENRE	FLEURS	NOMBRE DE LOCI	DETERMINISME SUR LA PARTIE
Fagopyrum	Hétéromorphiques	I	Sporophytique
Brassica	Homomorphiques	I	Sporophytique
Nicotiana	"	I	Gamétophytique
Coffea	"	I	Gamétophytique
Salanium	"	II	Gamétophytique
Theobroma	"	I	Gamétophytique
Hordeum	"		Sporophytique

TABLEAU : 1 Quelques systèmes d'autoincompatibilité.

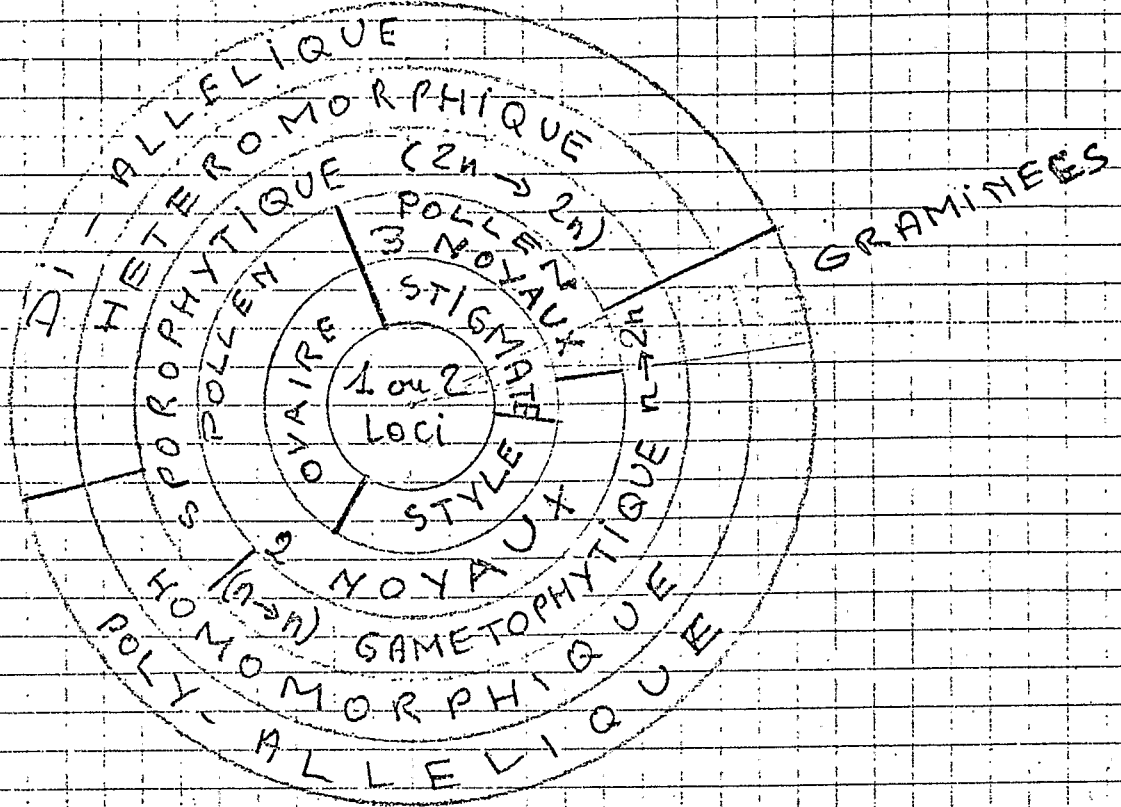


TABLEAU 2: D'après De Nettancourt (1972)

Clône P. de Génotype S₁₂

Autofécondation

Famille S₁

		"poids" de la Classe		
		1	1	2
		Génotypes		
		S ₁₁	S ₂₂	S ₁₂
1	S ₁₁	1 ⁵	1 ^f	2 ^f
1	S ₂₂	1 ^r	1	2 ^f
2	S ₁₂	2 ^f	2 ^f	4 ^s

"poids" de la Classe

Génotypes

75 % (a)

0 % (f,g)

25 %

(e) (b,c)

0 = combinaisons incompatibles

TABLEAU 3 d'après LUNDQUIST (1954)

37,5 %
(d)

Proportion de combinaisons compatibles par type de croisements (a,b,c,d,e,f,g,) dans un modèle à un locus

Clône P de génotype S₁₂ Z₃₄

Autofécondation

Famille S₁

		"Poids" de la classe								
		1	1	1	1	2	2	2	2	4
		genotypes								
		S ₁₁ Z ₃₃	S ₁₁ Z ₄₄	S ₂₂ Z ₃₃	S ₂₂ Z ₄₄	S ₁₁ Z ₃₄	S ₂₂ Z ₃₄	S ₁₂ Z ₃₃	S ₁₂ Z ₄₄	S ₁₂ Z ₃₄
1	S ₁₁ Z ₃₃	1	1	1	1	2	2	2	2	4
1	S ₁₁ Z ₄₄	1	1	1	1	2	2	2	2	4
1	S ₂₂ Z ₃₃	1	1	1	1	2	2	2	2	4
1	S ₂₂ Z ₄₄	1	1	1	1	2	2	2	2	4
2	S ₁₁ Z ₃₄	2	2	2	2	4	4	4	4	8
2	S ₂₂ Z ₃₄	2	2	2	2	4	4	4	4	8
2	S ₁₂ Z ₃₃	2	2	2	2	4	4	4	4	8
2	S ₁₂ Z ₄₄	2	2	2	2	4	4	4	4	8
4	S ₁₂ Z ₃₄	2	2	2	2	8	8	8	8	16

"Poids" de la classe

genotypes

81,25 % (a)

0 % (f,g)

56,3 %
(e)

75 %
(b,c)

0 = combinaisons incompatibles

60,9 %
(d)

CROISEMENTS	MODELE		VALEURS OBSERVEES
	1 LOCUS	2 LOCI	
a BC ₊ X S ₁	75*	81,25	82
b S ₁ X P	50	75	77
c S ₁ X BC-	50	75	74
d S ₁ X S ₁	37,5	60,9	59
e S ₁ X BC+	25	56,3	54
f BC- X S ₁	0	0	11
g P X S ₁	0	0	0

* en pourcentage de combinaisons fertiles

TABLEAU 5 d'après LUNDQUIST (1954)

TABLEAU 4 d'après

LUNDQUIST (1954)

Proportions de combinaisons compatibles par type
de croisement (a,b,c,d,e,f,g) dans un modèle à
deux loci.