

OFFICE DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE OUTRE-MER
CENTRE D'ADIOPODOUME (Côte d'Ivoire)

Laboratoire de Génétique

ANALYSE GENETIQUE DES DESCENDANTS DE CROISEMENTS
SEXUES x APOMICTIQUES CHEZ PANICUM MAXIMUM

III. Embryologie des descendants tétraploïdes F1, F2 et F3

par

Yves SAVIDAN

document de travail

Mai 1978

Fonds Documentaire ORSTOM



010008993

Fonds Documentaire ORSTOM

Cote: B * 8993 Ex: 1

Ce document fait la somme des résultats acquis (les dernières analyses, de 77/78, sont notées par un astérisque). La discussion reprend une interprétation déjà proposée et introduit les expérimentations qui seront effectuées en 78/79.

RESULTATS

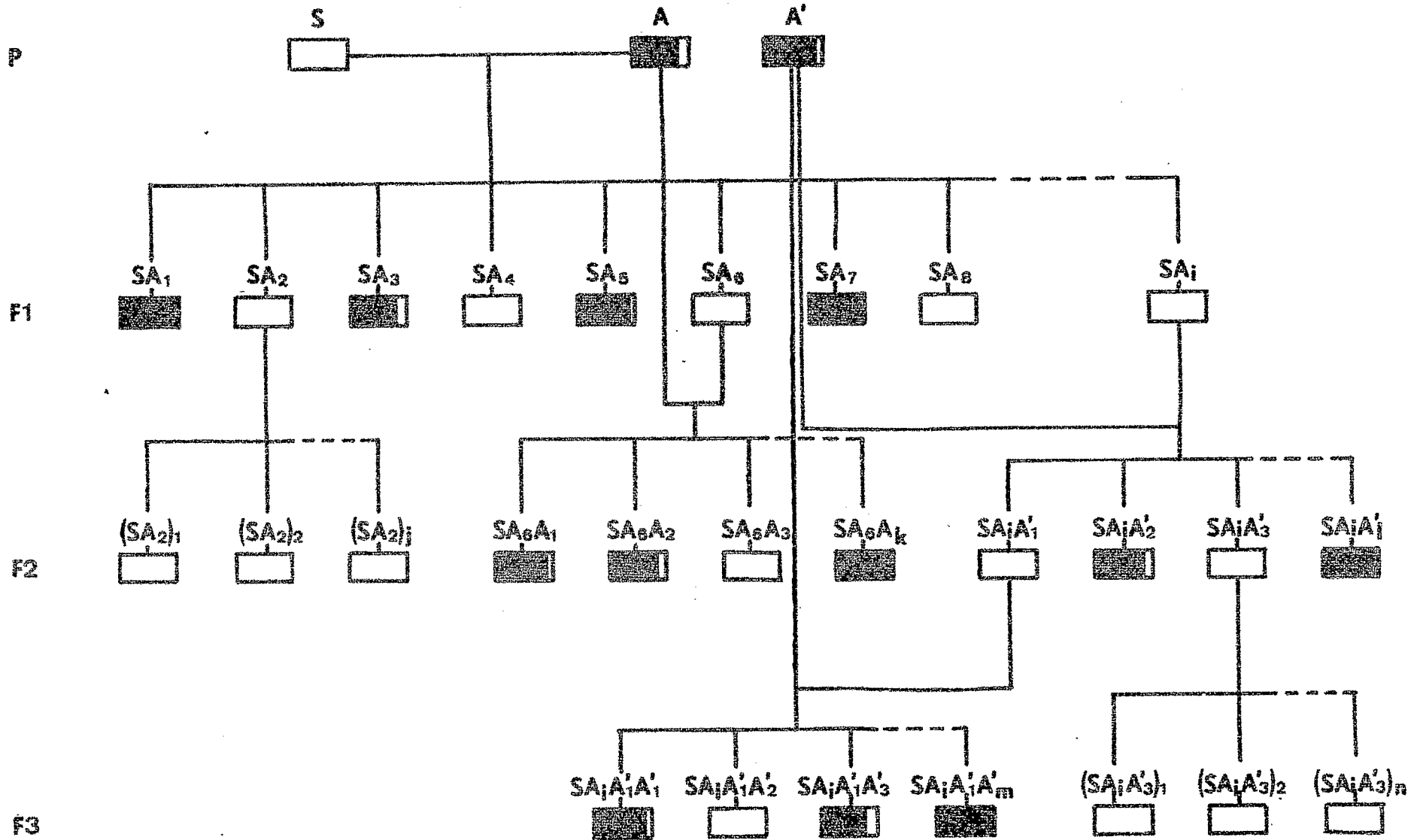
Les résultats mentionnés ici portent sur 850 plantes, le mode de reproduction de chacune d'entre elles ayant été déterminé par l'observation de 20 ovules. Il est intéressant de souligner une nouvelle fois l'importance de ces descendance : la mise en évidence de la nature monogénique du déterminisme de l'aposporie des renoncules par l'équipe suisse (RUTISHAUSER puis NOGLER) repose sur l'analyse de quelques dizaines de plantes (dont 6 hybrides F1 seulement !). Le schéma (page suivante) dresse le bilan des descendance étudiées dans le présent document. Les rectangles blancs y figurent les plantes sexuées, le noir figurant l'aposporie.

1. Rappel des résultats obtenus en F1

Les croisements entre sexués tétraploïdes issus du doublement des diploïdes naturels par la colchicine (tétraploïdes duplex) et apomictiques naturels, donnent des descendance où les hybrides sexués et apomictiques ségrègent dans le rapport 1:1 (Tableau 1).

- TABLEAU 1. Mode de reproduction des descendants de croisements entre sexués duplex et apomictiques naturels.

	nb APO	nb SEX	total
K189.T x apo nat.	34	36	70
S1.T x apo nat.	3	4	7
S2.T x apo nat.	23	13	36
T44.T x apo nat.	6	3	9
T34.T x apo nat.	4	2	6
T35.T x apo nat.	1	0	1
total général	71	58	129



2. Génération F2

2.1. Autofécondations [¶]

Sauf exception, l'autofécondation des sexués hybrides F1 ne donne pas de descendants apomictiques (Tableau 2).

- TABLEAU 2. Mode de reproduction des descendants d'autofécondation d'hybrides sexués F1.

	nb APO	nb SEX	total
(K189T x G3)1	0	18	18
(K189T x K4)1	0	29	29
(K189T x K26)1	0	46	46
(S2T x C1)1	0	5	5
(S2T x C1)2	1	2	3
(K189T x K26)2	0	21	21°
total général	1	121	122

° Deux plantes de cette descendance ont été notées apomictiques, mais elles sont mortes avant d'avoir pu être l'objet d'une vérification.

2.2. Backcrosses [¶]

Les observations morphologiques au champ (variabilité d'ensemble, existence d'un type dominant), l'analyse en composantes principales qui en a été tirée (voir en annexe) et les résultats de nos analyses cytologiques, mettent en évidence une forte "pollution" des descendance par suite de l'autocompatibilité des parents sexués.

Ce phénomène, inexistant ou de faible importance chez les sexués naturels diploïdes et les tétraploïdes artificiels qui en sont issus, doit nous amener à revoir notre technique d'hybridation, les ensachages doubles qui réunissent une inflorescence sexuée et une inflorescence apomictique ne constituant pas une solution optimale pour la compétition en faveur de l'allopollen. Le tableau 3 donne les ségrégations observées dans ces premiers backcrosses, réalisés par ensachage double.

- TABLEAU 3. Mode de reproduction des descendants issus du backcross des hybrides sexués F1 par leurs parents apomictiques.

	nb APO	nb SEX	total
(K189T x K4)1 x K4	1	39	40
(K189T x K26)1 x K26	9	42	51
(S2T x C1)1 x C1	11	10	21
(K189T x G3)2 x G3	12	2	14
(K189T x G3)3 x G3	23	2	25

1^{ère} notation : 6 sacs multiples, 8S, 7 trop jeunes

2^{ème} notation : 12S, 6 TJ, 4 ?

Contrôle : 51S, 2(2S), 39TJ et 8 ?

Les aberrants (?) sont des ovules trop vieux (multiplicité des noyaux qui rend la détermination difficile). Les ovules sexués ont souvent le sac embryonnaire à l'envers ce qui peut le faire confondre avec un sac multiple (les subtiles étant prises pour des sacs apof).

On peut trouver dans ce tableau trois types de ségrégation : (1) S très supérieur à A, (2) S = A, et (3) A très supérieur à S.

2.3. Recroisements

Certains sexués F1 ont été recroisés par un deuxième apomictique naturel. Le tableau 4 rappelle les acquis. Les ségrégations observées sont du type 1:1 comme dans les F1.

- TABLEAU 4. Mode de reproduction des descendants de recroisements des sexués hybrides F1 par un nouvel apomictique naturel

	nb APO	nb SEX	total
P2° x apo nat.	56	56	112
IS3°° x apo nat.	32	42	74
IS4°° x apo nat.	47	46	93
total général	135	144	279

° hybride K189T x G23, °° hybrides frères K189T x G3.

3. Génération F3

3.1. Autofécondations [⊠]

Quelques hybrides R1 issus du recroisement de sexués hybrides F1 par un nouvel apomictique naturel ont été autofécondés (Tableau 5).

- TABLEAU 5. Mode de reproduction des descendants d'autofécondation d'hybrides sexués de type R1.

	nb APO	nb SEX	total
(P2 x C1)1	0	8	8
(IS4 x T25)1	0	29	29
(IS4 x T25)2	10 °	18 19	19
total général	10	55 56	56

Ces résultats sont comparables à ceux du Tableau 2, concernant les autofécondations d'hybrides sexués F1.

3.2. Backcrosses [⊠]

Les remarques faites pour les backcrosses d'hybrides sexués F1 restent valables (biais dû à l'autocompatibilité). Dans

le backcross de (IS4 x T25)2, la ségrégation observée s'accorde avec un rapport 3A:1S (Tableau 6).

- TABLEAU 6. Mode de reproduction des descendants issus du backcross des hybrides sexués R1 par leur dernier parent apomictique naturel.

	nb APO	nb SEX	total
(IS4 x T25)1 x T25	3	38	41
(P2 x C1)1 x C1	12	8	20
(IS4 x T25)2 x T25	36	16	52

Trois types de ségrégation bien différents apparaissent, comme dans le tableau 3 (§2.2.).

DISCUSSION-INTERPRETATION

1. Génération F1

Les résultats obtenus permettent d'envisager un déterminisme de nature monogénique à deux allèles :

A⁺, allèle sauvage,

A⁻, allèle conduisant à un sac embryonnaire aposporique.

Les sexués duplex issus du doublement par la colchicine des diploïdes naturels ont alors une structure A⁺A⁺A⁺A⁺. Une ségrégation de type 1:1 peut être observée en F1 si les apomictiques naturels ont la structure :

a. A⁺A⁻A⁻A⁻, ce qui donne des sexués F1 de type A⁺A⁺A⁺A⁻,
des apomictiques F1 A⁺A⁺A⁻A⁻.

b. A⁺A⁺A⁺A⁻, ce qui donne des sexués F1 de type A⁺A⁺A⁺A⁺,
des apomictiques F1 A⁺A⁺A⁺A⁻.

2. Génération F2

La structure apomictique 'b' ne permet pas d'expliquer que des ségrégations très différentes de 1:1 puissent être obtenues dans les backcrosses. Elle suppose d'une manière générale une homogénéité et une fixité des structures respectivement sexuée et apomictique qui ne s'accorde pas avec l'ensemble de nos résultats.

Si l'on conserve la structure A⁺A⁻A⁻A⁻ aux apomictiques naturels, peut-on alors expliquer ces résultats ?

2.1. Autofécondations

Un hybride sexué F1 de structure A⁺A⁺A⁺A⁻ donne théoriquement 1/4 de formes A⁺A⁺A⁻A⁻ dans ses descendance issues d'auto-

fécondation. Et les résultats de la F1 indiquent qu'une telle structure conduit à un phénotype apomictique.

L'absence d'apomixie peut provenir d'une sélection au niveau pollinique, comme celle que NOGLER (1978) a observée dans son matériel. Chez Ranunculus les pollens A^-A^- sont désavantagés par rapport aux hétérozygotes A^+A^- . On pourrait faire ici l'hypothèse que les pollens A^+A^+ sont favorisés par rapport aux hétérozygotes.

Mais l'hypothèse d'une sélection au stade sporophytique n'est pas non plus à écarter, comme en témoignent les différences observées entre les taux de germination des graines issues d'autofécondation et de backcrosses ramassées sur une même plante, à la même date (Tableau 7).

- TABLEAU 7. Germination des graines issues d'autofécondations et de backcrosses (somme de cinq hybrides)

	nb graines	nb plantes	%
Autofécondations	527	128	24
Backcrosses	300	121	40

Encore ce résultat est-il biaisé par l'autocompatibilité relative de certains hybrides sexués, qui fait que de nombreuses graines supposées issues de backcrosses proviennent en fait d'autofécondation.

La structure $A^+A^+A^+A^-$ de nos hybrides sexués F1 doit pouvoir être confirmée par l'étude des produits sexués de l'autofécondation. Un recroisement par le parent apomictique doit en effet mettre en évidence deux types sexués différents :

- des $A^+A^+A^+A^+$, qui croisés par APO donnent une ségrégation 1S:1A,
- des $A^+A^+A^+A^-$, qui croisés par APO donnent une ségrégation 1S:3A.

Il est également intéressant de vérifier la structure de la seule plante apomictique obtenue, après que celle-ci ait fait l'objet d'une analyse électrophorétique pour vérifier sa parenté. D'après le modèle, cet apomictique a une structure $A^+A^+A^-A^-$. Un test-cross par un sexué duplex doit conduire à une ségrégation de type 5S:1A : 1 $A^+A^+A^+A^+$, 4 $A^+A^+A^+A^-$ et 1 $A^+A^+A^-A^-$.

Les différents croisements-tests proposés au cours de cette discussion sont repris dans un tableau résumé à la fin de ce document.

2.2. Backcrosses

Les ségrégations de type 1:1 sont en faveur de l'hypothèse apomictique naturel = $A^+A^+A^+A^-$, mais l'observation de ségrégations où les apomictiques sont beaucoup plus nombreux que les sexués ne permet pas de la conserver. Dans tous les cas où les apomictiques ne sont pas prédominants, l'autocompatibilité peut être évoquée (voir en annexe). Cette prédominance, cette déviation par rapport à la ségrégation 1:1 observée en F1 démontre la nature hétérozygote des sexués hybrides. D'où l'intérêt de l'étude des produits de l'autofécondation déjà mentionnée, afin d'expliquer le biais observé par rapport à la ségrégation 3S:1A attendue.

- $A^+A^+A^+A^- \times A^+A^-A^-A^-$ (backcross) donne théoriquement :
- 1/4 $A^+A^+A^+A^-$ sexués du type hybride F1,
- 1/2 $A^+A^+A^-A^-$ apomictiques du type hybride F1,
- 1/4 $A^+A^-A^-A^-$ apomictique du type naturel.

La nature hétérozygote des sexués hybrides F1 peut être vérifiée par les backcrosses et aussi par l'analyse des descendants issus d'autofécondation. Autre preuve indirecte : la vérification de la nature de la structure des apomictiques hybrides F1.

- $A^+A^+A^+A^+ \times A^+A^+A^-A^-$ (test-cross) donne théoriquement :
- 1/6 $A^+A^+A^+A^+$ sexués du type parental duplex,
- 4/6 $A^+A^+A^+A^-$ sexués du type hybride F1,
- 1/6 $A^+A^+A^-A^-$ apomictiques du type hybride F1.

2.3. Recroisements

D'après la modélisation proposée, ce type de croisement doit conduire au même résultat qu'un backcross. Ce qui n'est pas le cas. Les apomictiques naturels ne seraient donc pas tous identiques quant à leur déterminisme :

- a. parce qu'ils présentent des structures différentes :
 $A^+A^+A^-A^-$, $A^+A^-A^-A^-$ et $A^-A^-A^-A^-$;
- b. parce qu'il y a pluriallélisme.

L'hypothèse 'a' ne semble pas pouvoir être conservée : Les apomictiques utilisés pour l'obtention des F1 et des R1 sont souvent les mêmes. Un exemple : T25, utilisé pour la réalisation d'hybrides F1 a donné 14 descendants, 7 apomictiques et 7 sexués. Utilisé pour donner des hybrides R1, il a donné 30 descendants ségrégeant encore suivant un rapport non significativement différent de 1:1 : 13 apomictiques et 17 sexués.

L'hypothèse de l'allelisme peut également être vérifiée par l'étude des ségrégations dans les hors-types d'apomictiques R1 hypersexués. Celui que nous étudions actuellement est d'origine $1S4 \times G17$. Il peut donc avoir pour structure :

a. $A^+A^+A_2^-A_2^-$

ou b. $A^+A^-A_2^-A_2^-$

Les hors-types observés résultent d'une autofécondation ou d'un croisement entre plantes frères-sœurs sur une parcelle où toutes les plantes sont identiques.

Dans le cas de la structure 'a' on attend 1S:3A
 - - - - - 'b' - - - - - OS:1A si

L'hypothèse de l'allelisme est fautive, 1S:8A si elle se confirme.

Dans l'hypothèse pluri-allélisme (b), on peut envisager des phénomènes d'antagonisme - ou de complémentarité - entre deux allèles différents.

$A^+A^+A_1^-$ x $A^+A_2^-A_2^-$ donne théoriquement :

- $1/4 A^+A^+A_2^-$ sexués de type hybride F1,
- $1/4 A^+A^+A_2^-$ apomictiques de type hybride F1,
- $1/4 A^+A_1^-A_2^-$ apomictiques de type nouveau,
- $1/4 A^+A^+A_1^-A_2^-$ classe de descendants qui existerait - non létaux, puisque nos résultats ne s'accordent pas avec une ségrégation 2A:1S (χ^2 supérieur à 5 pour le croisement P2 x 57) et aurait pour conséquence un phénotype sexué.

Pour tester cette hypothèse pluri-allélisme, on peut réaliser un croisement entre un sexué hybride F1 issu d'un apomictique A1 et un apomictique hybride F1 issu d'un apomictique différent A2 :

$A^+A^+A_1^-$ x $A^+A_2^-A_2^-$ donne théoriquement :

- $1/12 A^+A_1^-A_2^-$ apomictiques,
- $1/12 A^+A^+A_2^-$ apomictiques de type hybride F1,
- $4/12 A^+A^+A_1^-A_2^-$ apo ou sex suivant hypothèse,
- $4/12 A^+A^+A_2^-$ sexués de type hybride F1,
- $1/12 A^+A^+A_1^-$ sexués de type hybride F1,
- $1/12 A^+A^+A^+$ sexués de type parental.

Soit une ségrégation 5S:1A si l'hypothèse se confirme, et 1:1 dans le cas contraire.

Ce croisement peut toutefois être biaisé par une différence dans les compétitivités polliniques dues à la présence de l'allèle A^- . S'il se confirme, comme sembleraient le montrer les hybrides F1 et leurs autofécondations que :

$$A^+A^+ \gg A^+A^- = A^-A^-,$$

alors le croisement précédant donnerait une descendance entièrement sexuée, comme les descendance issues d'autofécondation.

3. Génération F3

3.1. Autofécondations

D'après l'hypothèse précédente, les sexués R1 ont deux structures possibles : $A^+A^+A_2^-$ ou $A^+A^+A_1^-A_2^-$.

Dans le premier cas, la structure est du même type que celle des sexués hybrides F1, ce qui s'accorde avec le résultat obtenu. Dans le second cas, on attend une proportion importante de descendants apomictiques (37.5%), ce qui n'est observé dans aucun des trois exemples analysés.

3.2. Backcrosses

Les résultats obtenus avec (IS4 x T25)₂ s'accordent avec une ségrégation 3A:1S et donc avec une structure $A^+A^+A^+A_2^-$ du sexué.

- TABLEAU 8. Liste des croisements d'Octobre 78

F1. a. diploïdes sex x apo naturels :	
T40 x C1, T40 x K26	
T41 x C1, T41 x K26	
T44 x C1, T44 x K26, T44 x G3	(1)
T49 x C1, T49 x K26	
b. tétraploïdes sex duplex x apo naturels :	
T44T x C1, T44T x K26 et T44T x G3	(2)
Backcrosses :	
(K189T x K26) ₁ x K26	
(P2 x C1) ₁ x C1	(3)
Frères-soeurs :	
(K189T x G17)sex1 x sex2,	
(K189T x G17)sex1 x apo1,	
(P2 x C1)sex1 x sex2,	
(P2 x C1)sex1 x apo1,	(4)
(IS4 x T25)sex2 x sex1,	
(IS4 x T25)sex2 x apo1.	
Test-crosses :	
K189T x (K189T x G17)apo1,	
" x (K189T x K4)apo1,	
" x (K189T x K4)apo2,	
" x (K189T x K26)apo1,	(5)
" x (K189T x K26)apo2,	
S2T x (S2T x C1)apo1,	
" x (S2T x C1)apo2,	
S2T x autof.apo1,	(6)
" x autof.apo2.	
Hybrides sex x apo non frères-soeurs :	
(K189T x G17)sex1 x (S2T x C1)apo1,	
(K189T x G17)sex1 x (S2T x C1)apo2,	
(S2T x C1)sex1 x (K189T x G17)apo1,	(7)
(S2T x C1)sex1 x (K189T x G17)apo2.	
Autofécondations sexuées x apo parental :	
((S2T x C1) ₁)sex1,2,3,4,5 et 6 x C1	(8)

CROISEMENTS 78

Les croisements (1) visent à estimer les possibilités de tétraploïdisation récurrente chez Panicum maximum. 14 des 17 descendants de T44T dans le diallèle de groupe étaient issus de non réduction gamétique. Les croisements (2) comparés aux croisements réalisés avec T44, doivent permettre la mise en évidence d'un éventuel effet de la polyploïdie sur le fonctionnement de ces gamètes non réduits. Les croisements (1) et (2) sont installés sous forme de parcelles : les pieds femelles sont entourés d'une parcelle entièrement apomictique.

Deux backcrosses sont recommencés (3) en utilisant également les parcelles de croisement. On espère faire dévier les ségrégations observées en réalisant une situation plus favorable à l'allopollen.

Les croisements (4) et (7) qui utilisent des sexués hybrides, ont aussi été implantés par parcelles, alors que les croisements (5) et (6) qui utilisent des sexués duplex dont les autofécondations sont facilement décelables ont été implantés en ligne, en alternant pieds mâles et pieds femelles. Les croisements (8) qui utilisent tous C1 sont implantés sur une même parcelle.

Il y a donc trente neuf descendances à analyser, dans l'hypothèse la plus favorable. Les douze premières (croisements 1 et 2) pourraient être analysées par un stagiaire dans le cadre d'un travail de six mois ou un an sur la polyploïdisation chez Panicum maximum. Les effectifs de ces descendances doivent être les plus grands possible.

Si un effectif de 30 descendants est un minimum pour chacun des autres croisements mis en place, cela signifie que plus de 800 plantes seront à analyser en 79.

Références

- NOGLER G.A., 1978. Zur Zytogenetik der Apomixis bei Ranunculus auricomus. 56pp (sous presse).
- SAVIDAN Y., 1978. Analyse génétique des descendants de croisements sexués x apomictiques chez Panicum maximum. II. Nombres chromosomiques et modes de reproduction. D.F.PETROV Ed., Moscou (en russe).

ANNEXE

BACKCROSSES ET AUTOCOMPATIBILITE

Pour certains des hybrides étudiés, nous avons récolté beaucoup plus de graines en autofécondation que dans les backcrosses (Tableau A).

- TABLEAU A. Graines récoltées dans les autofécondations et les backcrosses des hybrides sexués du diallèle de groupes, et modes de reproduction des produits obtenus

		nb graines récoltées	nb pl.	S	A
(K189T x K4)1	BC	96	40	39	1
	AF	190	29	29	0
(K189T x K26)1	BC	1446	51	42	9
	AF	2028	46	46	0
(S2T x C1)1	BC	71	21	10	11
	AF	56	5	5	0
(P2 x C1)1	BC	42	20	8	12
	AF	20	8	8	0
(IS4 x T25)1	BC	443	41	38	3
	AF	1503	29	29	0
(IS4 x T25)2	BC	261	52	16	36
	AF	307	19	19	0

Il est intéressant de comparer le nombre moyen de graines obtenues dans un sac en bon état, selon qu'il s'agit de backcross ou d'autofécondation (Tableau B).

- TABLEAU B. Graines récoltées dans chaque sac (moyenne) selon qu'il s'agit de backcross ou d'autofécondation.

(K189T x K4)1	:	14	graines BC	pour	16	graines AF
(K189T x K26)1	:	111	- BC	-	119	- AF
(IS4 x T25)1	:	49	- BC	-	150	- AF
(S2T x C1)1	:	9	- BC	-	4	- AF
(P2 x C1)1	:	7	- BC	-	2	- AF
(IS4 x T25)2	:	29	- BC	-	20	- AF

Les données de ces deux tableaux sont à rapprocher des résultats des analyses cytologiques et morphologiques. Dans les trois cas où il y a eu beaucoup plus de graines récoltées en autofécondation qu'en backcrosses, les ségrégations S:A obtenues dans les deux situations ne sont pas significativement différentes. Elles le sont dans les trois autres cas.

Quatre couples de descendance - celles qui étaient numériquement les plus importantes - ont fait l'objet d'une analyse en composantes principales, portant sur les caractères classiques (au nombre de 7) utilisés par R. CHAUME. Les observations au champ nous ont montré que dans trois cas la variabilité des descendance issues d'autofécondation paraissait semblable à celle des descendance supposées issues de backcrosses. Dans un cas, (IS⁴ x T25)₂, la descendance autofécondée semblait plus variable. L'analyse mathématique confirme ces observations. Une remarque s'impose tout de même concernant les parents : les mesures ont été faites sur une parcelle différente de celle des descendants et sur des plantes beaucoup plus âgées. L'observation au champ a montré que le type dominant chez les backcrosses de (IS⁴ x T25)₂ est beaucoup plus proche du parent T25 que ne l'indique la figure 4.

Les analyses concordent donc pour mettre en évidence une certaine autocompatibilité des sexués hybrides chez Panicum. Si la ségrégation théorique attendue dans un backcross est du type 3A:1S, il est même possible d'estimer les taux d'autogamie des hybrides utilisés (Tableau C).

- TABLEAU C. Estimation du taux d'autogamie des hybrides sexués F1 et R1 chez Panicum maximum.

(IS ⁴ x T25) ₂	7.7 %
(P2 x C1) ₁	20.0 %
(S2T x C1) ₁	30.2 %
(K189T x K26) ₁	76.5 %
(IS ⁴ x T25) ₁	90.2 %
(K189T x K4) ₁	96.7 %

ANALYSE EN COMPOSANTES PRINCIPALES -
Légende des figures

- Fig.1 - Descendances AF et BC de (K189T x K4)1
- Fig.2 - Descendances AF et BC de (K189T x K26)1
- Fig.3 - Descendances AF et BC de (IS4 x T25)1
- Fig.4 - Descendances AF et BC de (IS4 x T25)2...

Les ronds figurent les descendants issus de backcross (BC) et les triangles les produits de l'autofécondation (AF).

H : parent hybride sexué, A : apomictique par lequel il est recroisé dans le backcross.

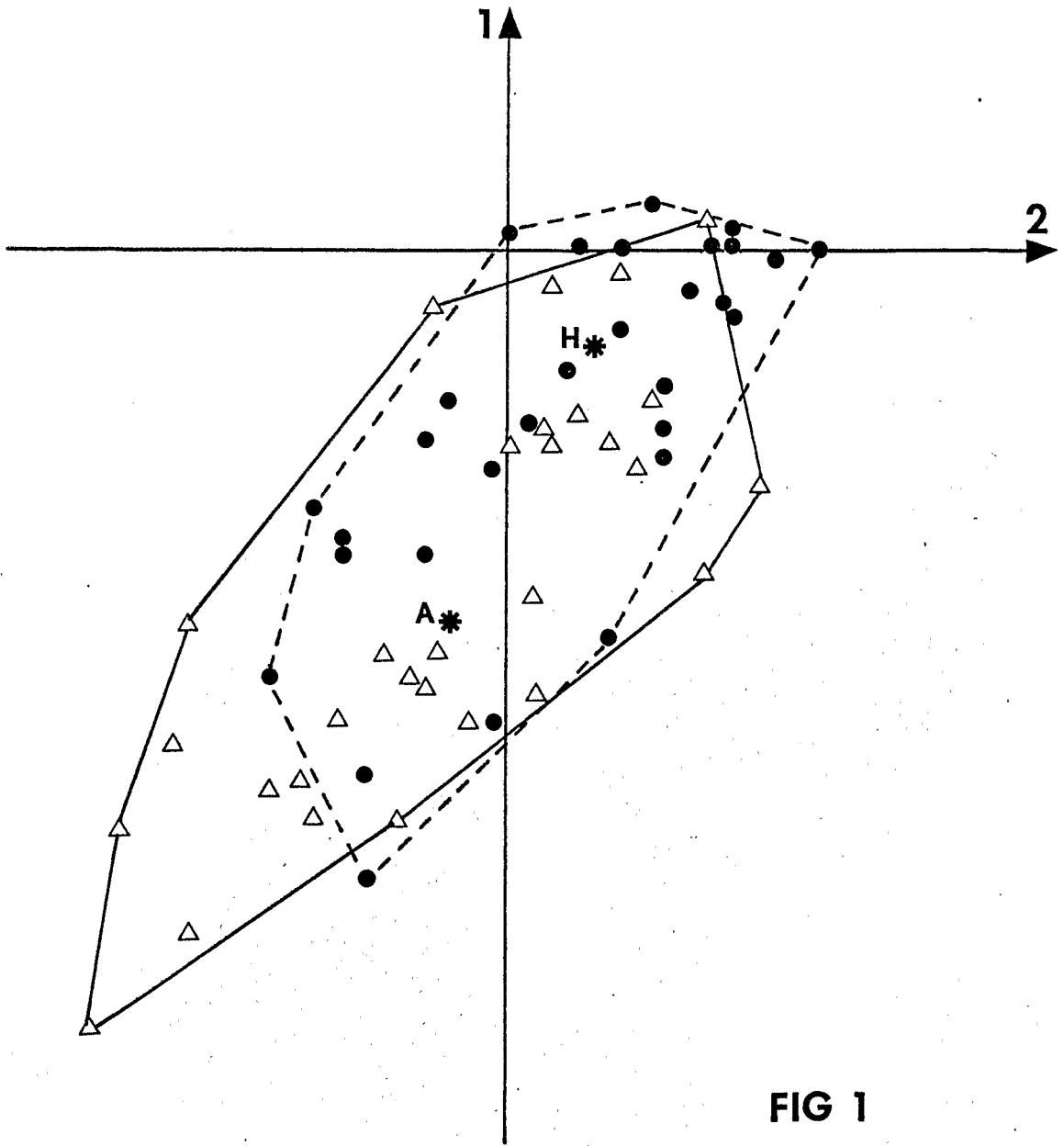


FIG 1

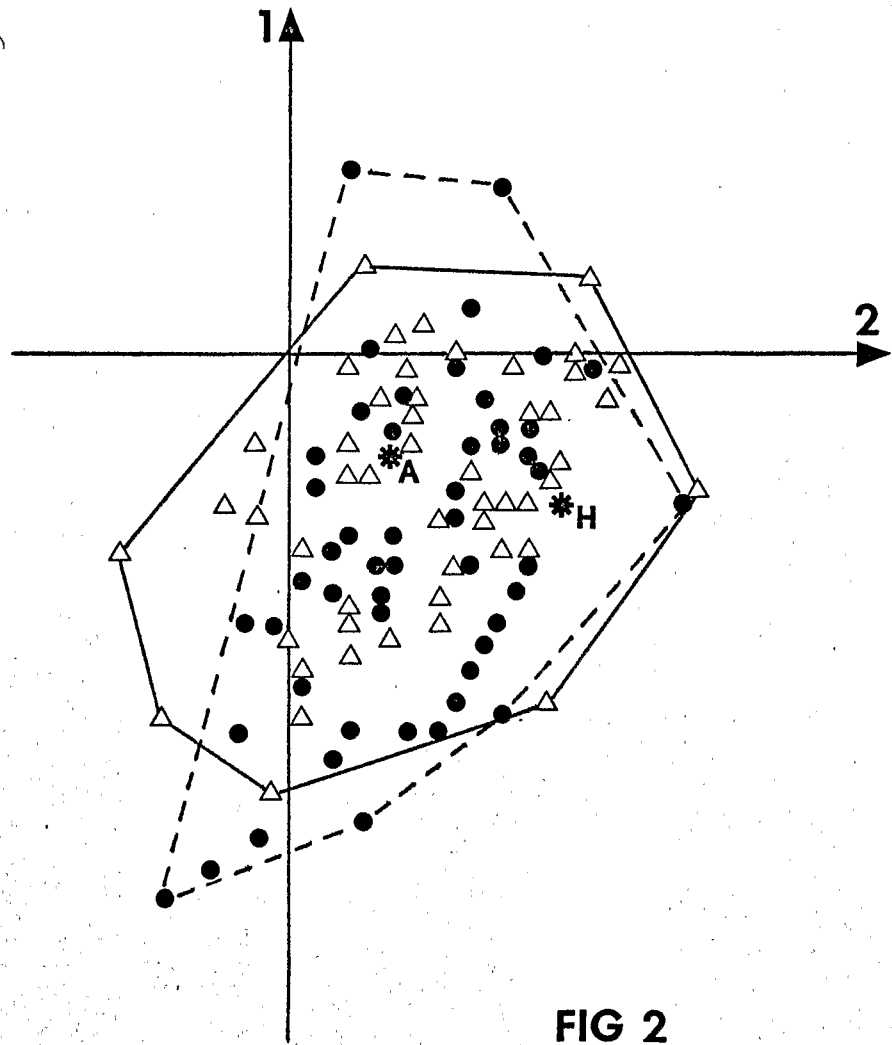


FIG 2

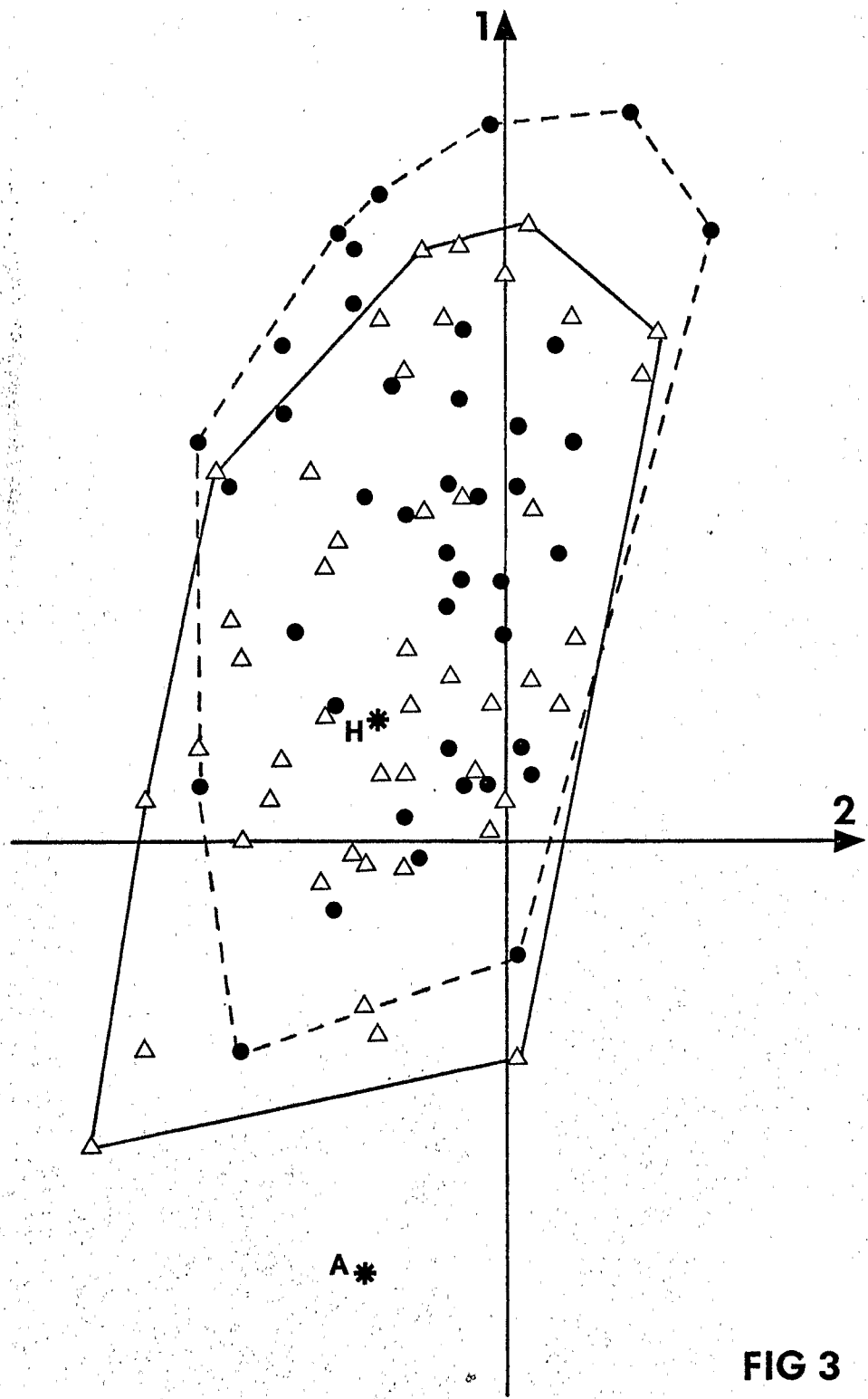


FIG 3

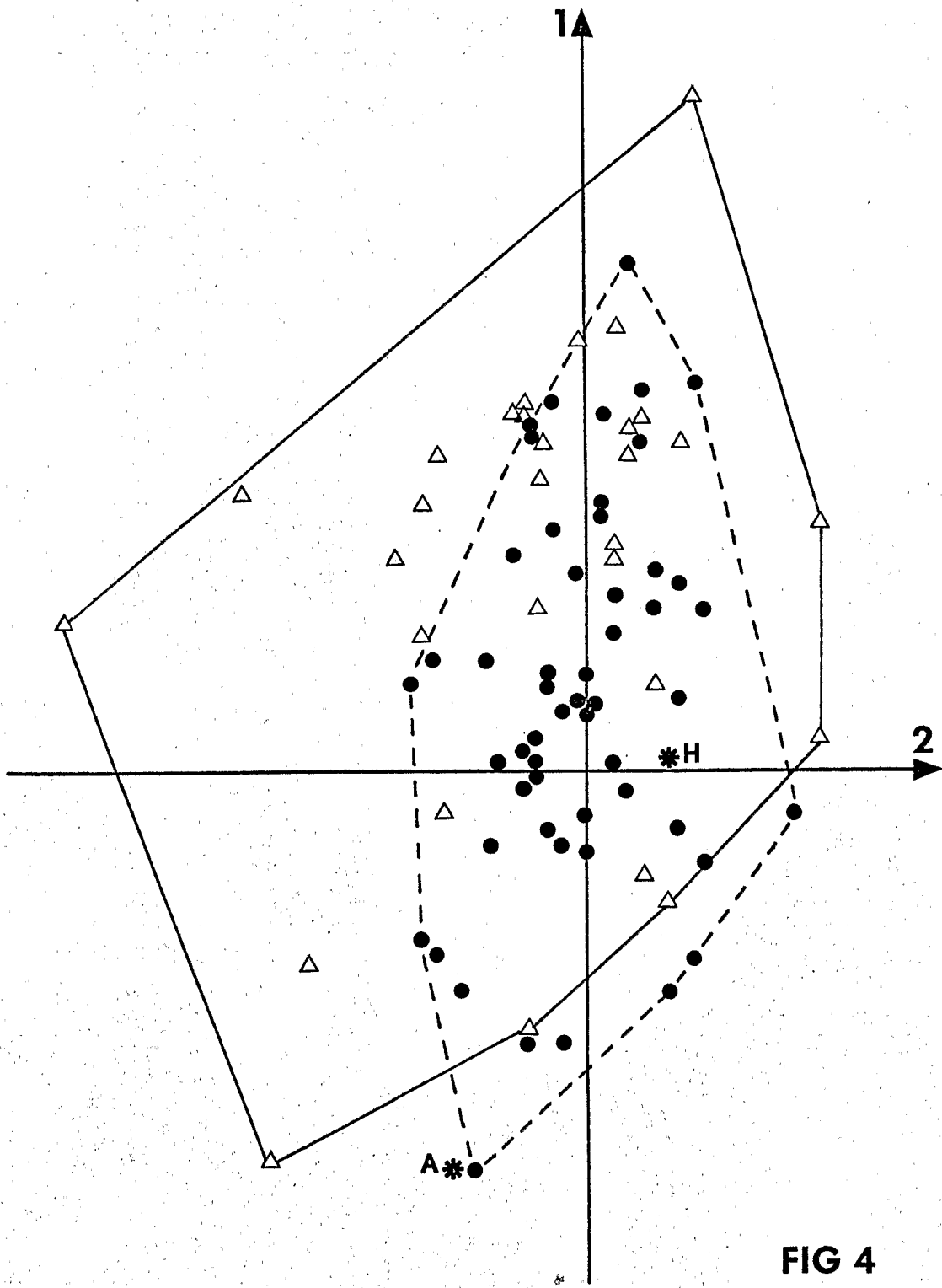


FIG 4