

Don FEA

POLYMORPHISME ENZYMATIQUE ET ÉVOLUTION D'*Oryza sativa* L. EN AFRIQUE

par A. GHESQUIERE (1) et G. SECOND (2)

Résumé

Une technique d'électrophorèse sur gel d'amidon permettant la révélation de 13 enzymes correspondant à 40 locus a été appliquée à l'étude du polymorphisme enzymatique de 500 souches d'*Oryza sativa* issues des prospections réalisées par l'ORSTOM et l'IRAT dans 14 pays d'Afrique tropicale. Cette étude montre une diversité génétique élevée ($H = 0.216$), proche de celle mesurée sur une collection étendue au monde entier, avec une composante intravariétale relativement importante : en outre, ce travail révèle l'existence d'introgessions naturelles avec une espèce sauvage, *O. longistaminata*. La relation au phénotype des gènes et les fréquences de combinaisons alléliques sur 4 locus permettent d'apprécier l'organisation de la variabilité en deux groupes *japonica* et *indica*. Celle-ci peut se caractériser par un brassage important d'*O. sativa* après son introduction en Afrique et suggère une évolution différente entre l'Afrique de l'Ouest et l'Afrique de l'Est, en relation avec le type de riziculture pratiqué.

Abstract

Enzymatic Variability and the Evolution of Oryza sativa L. in Africa

Five hundreds strains of *O. Sativa* originating in 200 traditional cultivars from 14 different countries in intertropical Africa were studied. An electrophoresis procedure on starch gel allowing the screening of variability at 40 loci was applied.

A genetic diversity ($H = 0.21$) nearly as high as in a world collection of cultivars was found, with a significant within-population component. Besides, evidences of introgression of genes from the wild *O. longistaminata* were observed.

The phenol reaction of spikelets together with the allelic combinations at 4 loci allowed to evidence the classical genetic structure in two main groups : *indica* and *japonica* types. The relatively high proportion of intermediate patterns suggests however a thorough genetic recombination occurring among cultivars in Africa, with a different evolution of *O. sativa* in West and East Africa in relation to rice growing practices.

Un échantillonnage de plus de 500 souches correspondant à environ 200 variétés traditionnelles de riz *Oryza sativa* L. a été constitué à partir des prospections réalisées par l'ORSTOM et l'IRAT dans 14 pays d'Afrique tropicale (BEZANÇON, 1982). Le polymorphisme de cet échantillonnage a été étudié au moyen d'une technique d'électrophorèse sur gel d'amidon grâce

(1) Centre ORSTOM d'Adiopodoumé, BP 1551 Abidjan Côte d'Ivoire
(2) CNRS-CEFE - Route de Mende, BP 5051 - 34033 Montpellier Cedex.



à laquelle 13 enzymes peuvent être révélées et dont l'interprétation génétique des bandes a permis d'identifier 40 locus (SECOND et TROUSLOR, 1980). Les systèmes enzymatiques étudiés, les locus concernés et les tampons utilisés ont été résumés en annexe. D'une manière générale, des extraits bruts d'organes végétatifs ont été utilisés, et suivant les enzymes révélées, un système discontinu "histidine-citrate" à pH 6 ou pH 8 a été adopté : (Histidine HCl 5 mM, 2,5 mM NaCl pour les gels, Citrate 0,4 M pour les cuves). En ce qui concerne les Phosphatases acides, des extraits de feuilles paniculaires et de gaines foliaires ont été utilisés avec le système décrit par PAI (1975). Les migrations sont réalisées en chambre froide, pendant 5 à 6 heures, avec une tension constante de 8,5 V/cm.

KATO (1928) fut le premier à distinguer deux sous-espèces *indica* et *japonica* parmi *O. sativa*. Cette distinction fut ensuite trop souvent basée sur la forme des épillets ou d'autres caractères morphologiques simples, directement soumis à la sélection humaine. OKA (1958) montra que la classification obtenue sur la base de nombreux caractères morphologiques et physiologiques pouvait être retrouvée avec une faible erreur par le caractère simple de la réaction au phénol. Deux types de réaction sont observés : une réaction positive définit le type *indica* et se caractérise par un noircissement des glumelles dans une solution de phénol ; l'absence de réaction permet d'identifier le type *japonica*.

Très tôt, la technique d'électrophorèse d'isozymes fut appliquée à l'étude de ce problème. En particulier, les formes alléliques +9 et -4 du locus Acp-1 apparaissent très discriminantes pour classer les riz cultivés asiatiques (SHAHN *et al.*, 1969 ; PAI et FU, 1979 ; INOUE et HAIGWARA, 1980). L'étude du polymorphisme enzymatique étendu à 40 locus et à un échantillonnage mondial ne distingue également que deux groupes principaux manifestant à de rares exceptions près chacun un type de réaction au phénol (SECOND, 1982).

L'étude de la fertilité pollinique d'hybrides F1 permet une autre approche du problème (OKA, 1958). Il est possible de choisir des lignées testeurs *indica* ou *japonica* selon le niveau de fertilité différentiel de leurs hybrides avec les lignées testées. Il a été constaté qu'un petit nombre de lignées d'origines différentes ont le même type de relation de stérilité hybride que les testeurs : celles-ci présentent des combinaisons d'isozymes complémentaires, ce qui permet de les considérer comme les types *indica* et *japonica* ancestraux. Au contraire, une grande diversité de combinaisons d'isozymes est rencontrée parmi la majorité des lignées manifestant des relations de stérilité intermédiaires : ces lignées résulteraient alors d'introgessions réciproques entre les types ancestraux (SECOND, 1982). Pour des raisons de commodité, la détection des combinaisons ancestrales ou introgressées peut être ramenée à l'étude des 4 locus Pgi-A, Pgi-B, Cat-A, Est-E.

L'étude de la structure génétique du genre *Oryza* conforte l'hypothèse de la domestication indépendante des types *indica* et *japonica* en Asie du Sud et en Chine respectivement (SECOND, 1985). Cette communication se propose de décrire la différenciation *indica-japonica* parmi les variétés traditionnelles africaines au vu des résultats obtenus sur l'origine des riz cultivés et den dégager la signification évolutive depuis l'introduction de cette espèce en Afrique.

RÉSULTATS

Les résultats obtenus sur 146 souches africaines montrent une variabilité enzymatique très importante, proche de celle estimée par SECOND (1982) sur une collection étendue au monde entier (Tab. I). Seuls quelques électromorphes très rares : Gdh-A₂, Idh-A₂, Pox-D₂, Est I₁ et I₂ semblent être absents d'Afrique. En revanche, l'observation dans 2% de ces souches d'électromorphes spécifiques d'*O. longistaminata* A. Chev. et Roehr qui est une espèce sauvage, allogame développant de vigoureux rhizomes, suggère des phénomènes d'introgessions naturelles de cette espèce dans *O. sativa*.

La réaction au phénol et l'analyse des allèles +9 et -4 du locus Acp-1 permettent également de distinguer deux groupes parmi les variétés traditionnelles de riz en Afrique avec une prédominance du type *indica* (Tab. II). D'autre part, on constate que les souches manifestant des isozymes introgressés d'*O. longistaminata* sont observées dans les classes minoritaires et ne montrent donc pas la réaction au phénol attendue au vu de leur polymorphisme enzymatique.

TABLEAU I
Polymorphisme enzymatique d'*Oryza sativa* estimé sur 40 locus.

	% de locus polymorphes	Nombre d'allèles moyen par locus	Diversité génétique moyenne
SECOND (1982)	60 %	1,85	0,23
146 souches africaines	60 %	1,75	0,216

TABLEAU II
Type de réaction au phénol et formes alléliques
au locus Acp-1 de 146 souches africaines d'*Oryza sativa*.

	Pac-1+9	Pac-1-4
Phénol +	2	100
Phénol -	39	5

L'étude des combinaisons au niveau des 4 locus discriminants Pgi-A, Pgi-B, Cat-A, Est-E, indique (Tab. III) :

- 1) la faible fréquence relative des formes ancestrales
- 2) la bonne représentation des formes *indica* hybrides
- 3) l'importance d'autres combinaisons hybrides qui constitue près de 50% des souches analysées.

Afin de mieux cerner l'importance de ces combinaisons hybrides, la totalité de celles-ci ont été représentées et des scores ont été établis en affectant arbitrairement la valeur - 1 à un allèle "japonica" et + 1 à un allèle « *indica* » (Tab. IV). Huit des 16 combinaisons possibles sont observées, avec une bonne corrélation de ces formules avec un type de réaction au phénol ; cependant l'une de ces combinaisons (211+), est la seule à pouvoir montrer en fréquence élevée des réactions au phénol positive ou négative en association avec les formes alléliques Acp-1 — 4 et Acp-1 + 9. La figure 1 illustre l'importance des souches de score nulle ou intermédiaire et témoigne de l'importance du brassage opéré au sein des variétés traditionnelles d'Afrique.

La diversité génétique peut être décomposée en plusieurs niveaux hiérarchiques afin d'apprécier les différentes composantes de cette diversité (Néi, 1975). La diversité intravariétale est mesurée par le polymorphisme d'un échantillonnage de familles collectées dans un même champ au cours des prospections. C'est ainsi que 45 variétés traditionnelles de Guinée et de Côte d'Ivoire ont été étudiées sur une dizaine de familles chacune. On constate que si les variétés sont toujours homogènes pour la réaction au phénol, celles-ci sont loin d'être des lignées pures et il existe une part non négligeable de variabilité intravariétale (Tab. V). L'estimation des composantes de diversité génétique effectuée seulement sur les 4 locus ayant défini les différentes combinaisons est assez semblable à celle réalisée sur l'ensemble des 40 locus. Ceci suggère la même organisation de la variabilité dans les variétés traditionnelles que dans le groupe auquel elles appartiennent.

TABLEAU III
Fréquence relative de 5 types d'association entre les électromorphes observés sur 4 locus.

Type d'association	Électromorphes				115 lignées (SECOND, 1982)	146 souches africaines
	Pgi-A	Pgi-B	Cat-A	Est-E		
1. <i>japonica</i> "parentale"	2	1	2	0	0,41	0,02
2. <i>japonica</i> "hybride"	2	1	2	+	0,06	0,08
3. <i>indica</i> "hybride"	1	1	1	+	0,07	0,28
4. <i>indica</i> "parentale"	1	2	1	+	0,21	0,17
5. autres hybrides	autres combinaisons possibles entre les types d'association 1 et 4				0,25	0,45

En Afrique de l'Ouest, la situation apparaît très différente. A la suite de l'introduction beaucoup plus récente du riz par les Portugais, il y a eu un développement d'une riziculture pluviale dans toute la zone forestière associée à une forme manifestant une réaction au phénol négative. L'allèle Est-Do que l'on rencontre fréquemment en Asie dans la forme tropicale de *Japonica*, appelée aussi *Javanica* (NAKAGHARA, 1978) caractérisée également les riz pluviaux d'Afrique de l'Ouest et permet de les considérer comme tels. Cependant l'importance des formes hybrides et la fréquence élevée de certaines combinaisons peut traduire également un brassage important du matériel après son introduction, avec une valeur sélective de certaines associations permettant le maintien d'une diversité génétique élevée. Enfin, *O. longistaminata*, bien que séparé des autres espèces du complexe *Sativa* par une forte barrière reproductrice, semble avoir joué un rôle secondaire, mais non négligeable : compte tenu du temps limité depuis lequel les deux espèces sont en présence en Afrique il s'est néanmoins réalisé des introgressions performantes avec *O. sativa*.

BIBLIOGRAPHIE

- Bezanson G. 1982. — Synthèse sur les prospections des riz réalisées en Afrique par l'ORSTOM et l'IRAT. Séminaire ORSTOM-IRAT. Paris, 1-3 sept. 1981.
- Inouye J. et Hagiwara T. 1980. — Classification of floating rice varieties by acid phosphatases and Peroxidases zymograms. *Japan J. Trop. Agr.*, 24 (4), 159-164.
- Kato S. et al. 1928. — On the affinity of rice varieties as shown by the fertility of hybrid plants. *Bull. Sci. Fac. Agric.*, Kyushu Imp. Univ., 3, 132-147.
- Miezan K. et Second G. 1979. — Prospections des variétés traditionnelles et des espèces sauvages de riz en Tanzanie. ORSTOM (Adiopodoumé), rapport multigr., 27 p.
- Nakagahra M. 1978. — The differentiation, classification and center of genetic diversity of cultivated rice (*Oryza Sativa* L.) by isozyme analysis. *Trop. Agr. Res. Series* n° 11, Japan.
- Nei M. 1975. — Molecular population genetics and evolution — North Holland, Amsterdam.
- Oka H.-I. 1958. — Intervarietal variation and classification of cultivated rice. *Ind. J. Genet. Pl. Breed.*, 18, 79-89.
- Pai C. et al. 1975. — Genic analysis for acid phosphatase isozymes in *Oryza perennis* and *O. sativa*. *Can. J. Genet. Cytol.*, 14, 637-650.
- Pai C. et Fu P.-Y. 1979. — Genetic studies on isozymes in rice plant : Classification and geographical distribution of cultivated rice through isozyme studies. *Jour. Agric. Assoc. China*. New series. n° 117.
- Second G. et Troustot P. 1980. — Polymorphisme de treize zymogrammes observés parmi diverses espèces sauvages et cultivées du genre *Oryza*. Travaux et Documents n° 120, 50-88. ORSTOM, Paris.
- Second G. 1982. — Origin of the genic diversity of cultivated rice (*Oryza* spp.) : study of the polymorphism scored at 40 isozym loci. *Jpn. J. Genet.*, 57, 25-57.
- Second G. 1985. — Evolutionary relationships in the *Sativa* group of *Oryza* based on isozyme data. *Genet. Sel. Evol.* 17, 1, 89-114.
- Shahi, B.-B. et al. 1969. — A survey of variations in peroxidase, phosphatase, and esterase isozymes of wild and cultivated *Oryza* species. *Jpn. J. Genet.*, 44, 303-319.

Électrophorèse et taxonomie

Sous la direction de
Max GOYFFON et Jean-Loup d'HONDT

060067



26 AVR. 1985

Mémoire n° 42 de la Société Zoologique de France

Volume publié avec le concours du Centre National de la Recherche Scientifique

1985

18.149

Centre National de la Recherche Scientifique

O.R.S.T.O.M.	
Dpt: DHS	UR: G4
Cde DOC n° 2528 de 89	