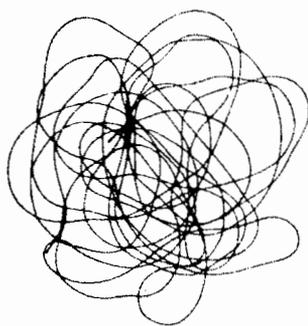


Y. SAVIDAN

ETUDE DES SACS EMBRYONNAIRES
DE Panicum maximum Jacq.
HYBRIDES ET NATURELS



OFFICE DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE OUTRE-MER

CENTRE O.R.S.T.O.M. D'ADIOPODOUMÉ - CÔTE D'IVOIRE

- ABIDJAN



Juin 1973

OFFICE DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE OUTRE-MER
CENTRE D'ADIPODOUME

Laboratoire de Génétique

ETUDE DES SACS EMBRYONNAIRES DE FANICUM
MAXIMUM JACQ. HYBRIDES ET NATURELS.

par

Y. S A V I D A N

Etude des sacs embryonnaires de Panicum maximum Jacq.
hybrides et naturels.

	Page
I - Introduction	1
II - Mise au point technique	2
1° - Comparaison de trois méthodes	2
2° - Nouvelle technique pour l'observation des sacs embryonnaires	3
III - Premiers résultats	4
1° - Descendance K 189.T x G 3	4
2° - Descendance (K 189.T x G 23) P2 x 57	6
3° - Descendance apomictique x sexué	6
IV - Interprétations et Conclusions	8
V - Résumé - Summary	11
VI - Bibliographie	12

I. Introduction.

Le maximum de variabilité dont nous disposons pour l'amélioration du *Fanicum* se situe au niveau des tétraploïdes apomictiques. Le brassage de génotypes fixés par l'apomixie peut se faire au moyen d'intermédiaires sexués, issus d'hybrides sexué x apomictique. Les caractères agronomiques sélectionnés, regroupés dans un hybride sexué, il est ensuite intéressant de fixer ce nouveau génotype par l'apomixie, ce qui suppose possible un retour au type apomictique classique à 3 % de hors-types.

Un schéma général d'amélioration génétique du *Fanicum maximum* est proposé par FERNES et al., (1973). Certaines options de son utilisation pratique supposent que soient connues les règles de l'héritabilité des deux modes de reproduction.

Le premier croisement réalisé, entre un tétraploïde sexué, variété K 189.T, et un apomictique, variété G 23, a donné deux types de descendants (J. FERNES, D. COMBES et RENE-CHAUME, 1972) : des hybrides sexués (P1 et P2) et des hybrides apomictiques (P3, P4 et P6).

La descendance (supposée issue d'autofécondation) de P2, très hétérogène phénotypiquement, se compose de plantes sexuées et de plantes apomictiques. Enfin, les apomictiques issus du croisement K 189.T x G 23 ont un taux de hors-types (*) différent de celui de G 23 (les apomictiques naturels ont en moyenne 3 % de hors-types).

* Nous distinguerons S = taux d'ovaires à sac embryonnaire unique, sexué (8 noyaux).

HT = taux de hors-types dans la descendance de cette plante.

α = taux de sexualité de la même plante = % de hors-types à $2n = 32$, issus de reproduction sexuée

$S > HT > \alpha$ (FERNES et al., 1973).

TABLEAU I - Taux de hors-types des descendance autofécondées des hybrides (K 189.T x G 23) P apomictiques.

Nomenclature	Nb plantes TOTAL	Nb plantes H.T	H T (%)
(K 189.T x G 23) (P3) x	140	41	29,3
(K 189.T x G 23) (P4) x	150	37	24,7
(K 189.T x G 23) (P6) x	205	76	37,1
Σ	495	154	31,1

L'analyse des modes d'héritabilité de l'apomixie suppose que puissent être analysées des descendance d'effectifs plus importants, le facteur jusqu'ici limitant étant la technique cytologique utilisée pour différencier les sacs embryonnaires sexués (3 noyaux) des sacs embryonnaires apomictiques (4 noyaux).

II. Mise au point technique.

1° - Comparaison de trois méthodes.

D. COMBES (1970, 1972), utilisant la classique inclusion dans la paraffine, coupe au microtome et coloration à l'hématoxyline, différencie les deux types de sacs embryonnaires sur le critère présence ou absence d'antipodes. Sa technique a l'avantage de laisser les structures en place, mais les noyaux polaires sont souvent éliminés par la coupe.

L'équipe de MARLAN et DE WET (1964) utilise une technique d'écrasement (BRADLEY, 1948) qui, modifiée par D'CRUZ et REDDY (1967, 1971) semble avoir donné de bons résultats chez *Panicum*. Cette technique est beaucoup plus rapide que la précédente, donnant un très bon contraste entre noyaux et cytoplasme, mais les structures ne sont pas conservées en place et le sac embryonnaire est souvent endommagé.

Une technique plus récente, proposée par HELL (1971) utilise le contraste de phase. Elle n'a été utilisée par l'auteur que sur deux plantes, une légumineuse et une Onagracée.

C'est de beaucoup la technique la plus rapide. Elle n'altère pas les structures (ni coupe, ni écrasement), noyaux polaires et antipodes sont toujours parfaitement visibles.

2° - Nouvelle technique pour l'observation des sacs embryonnaires.

La technique de EBBI (1971), avec quelques légères modifications, est la suivante :

a. Les épillets, prélevés le matin, stigmates apparents, sont placés 24 heures, pour fixation, dans un mélange Navaschin, acide propionique, ethanol à 50 % (5 : 5 : 90, en volumes). Le Navaschin utilisé est lui même un mélange 1 : 1 des deux solutions suivantes :

- Solution A	anhydride chromique	1 g
	acide acétique	7 cc
	eau distillée	92 cc

- Solution B	formoldehyde 40 %	30 cc
	eau distillée	70 cc

b. Les épillets sont ensuite conservés dans de l'éthanol à 70° pendant 24 heures minimum. Cette conservation peut être assurée, au froid, pendant plusieurs mois.

c. Les épillets sont enfin placés, pendant 24 heures minimum, dans un mélange éclaircissant dont la composition est la suivante :

acide lactique	35 %
hydrate de chloral	
phenol	
eugénol	
xylène	

en proportions 2 : 2 : 2 : 2 : 1 (en poids). Une conservation au froid, dans ce mélange, est possible pendant plusieurs jours.

d. Deux lamelles - support, espacées de 1,5 cm environ, sont fixées sur la lame au moyen de baume du Canada, et séchées, à l'etuve à 50°C, pendant un minimum de trois jours.

Une goutte de mélange éclaircissant est placée entre les deux lamelles, et on y dépose de vingt à trente ovaires. Une troisième lamelle couvre-objet est ensuite placée sur les deux précédentes qui évitent tout écrasement. En déplaçant légèrement la lamelle couvre-objet, on modifie l'orientation de l'ovaire, ce qui permet une observation dans tous les plans.

III. PREMIERS RESULTATS

1° - Descendance K 189.T x G 3.

28 plantes issues du croisement K 189.T sexué par G 3 apomictique ont été analysées au moyen de la technique de HERR. Quatorze n'ont que des sacs embryonnaires sexués. Les autres possèdent des sacs apomictiques et des sacs sexués (TABLEAU II).

TABLEAU II - Sacs embryonnaires des hybrides (K 189.T x G 3) x apomictiques.

N° de l'hybride	Nb d'ovules à sacs multiples	Nb d'ovules à sac unique apomictique	Total apomictiques	Nombre ovules à sac unique sexué	Total
1,4	10	9	19	6	25
1,7	6	4	10	2	12
1,10	16	9	25	5	30
2,3	8	5	13	5	18
4,2	6	2	8	2	10
4,7	7	5	12	4	16
5,8	4	4	8	3	11
5,10	5	7	12	5	17
6,7	2	4	6	1	7
7,2	3	4	7	0	7
10,1	2	7	9	4	13
11,3	4	9	13	4	17
13,1	3	10	13	3	16
16,3	8	9	17	8	25
Σ			172	52	224

$$\underline{S \% = 23,2}$$

TABLEAU III - Sacs embryonnaires des hybrides ((K 139.T x G 23)
P2 x 57)x apomictiques

N° de l'hybride	Nb d'ovules à sacs multiples	Nb d'ovules à sac unique apomictique	Total apomictiques	Nombre d'ovules à sac unique sexué	Total
1,10	6	15	21	8	29
2,6	2	6	8	1	9
3,2	3	13	16	2	18
3,9	4	8	12	1	13
4,3	5	2	7	2	9
4,4	4	19	23	5	28
4,8	5	8	13	3	16
5,1	8	10	18	5	23
5,3	3	7	10	1	11
5,9	7	9	16	4	20
5,10	4	15	19	3	22
7,4	5	5	10	1	11
10,6	13	8	21	1	22
11,1	6	4	10	6	16
12,4	8	14	22	7	29
13,2	21	9	30	0	30
13,3	5	10	15	3	18
13,6	8	5	13	0	13
13,9	18	8	26	4	30
13,10	20	7	27	3	30
14,3	3	8	11	3	14
14,6	3	15	18	4	22
14,7	8	8	16	7	23
16,2	7	2	9	2	11
16,5	5	8	13	2	15
16,6	14	7	21	2	23
16,8	12	13	25	5	30
16,9	11	3	14	2	16
16,10	10	3	13	2	15
17,4	4	6	10	4	14
17,5	3	7	10	2	12
17,8	12	2	14	2	16
18,1	5	5	10	4	14
18,8	6	8	14	2	16
18,10	9	10	19	1	20
19,7	4	8	12	4	16
19,9	11	2	13	3	16
20,10	6	3	9	2	11
22,3	8	5	13	6	19
23,6	5	14	19	5	24
			620	124	744

S % = 16,7

2° - Descendance (K 189.T x G 23) P2 x 57.

74 plantes issues du recroisement de l'hybride sexué P2 par la variété apomictique 57 (très peu différente de G 3) ont été analysées. 34 n'ont que des sacs embryonnaires sexués. Le rapport plantes sexuées : plantes apomictiques n'est pas significativement différent de 1 : 1. Le tableau III donne la répartition des sacs sexués et apomictiques chez les 40 individus apomictiques. Le taux moyen de sacs sexués est significativement différent de 25 %.

3° - Descendance apomictique x sexué.

Parmi les apomictiques, certaines plantes de type C - descendant vraisemblablement d'hybrides interspécifiques *F. maximum* x *F. infestum* (pour argumentation, voir COMBES, 1972) - donnent des descendance à haut taux de hors-types (H T variant de 4 à plus de 50 %). T 19 36,5 semble de ce point de vue la plante donnant la descendance la plus variable, et elle a été utilisée comme parent femelle dans des croisements apomictique x sexué (4 variétés utilisées comme parent mâle : K 189.T, P2, T 35.T et S2.T). D'après leur phénotype, les plantes F 1 peuvent être classées en trois catégories :
type C parental, hors-types de type C et hors-types hybrides (TABLEAU IV).

TABLEAU IV - Taux de hors-types des descendance
(T 19 36,5 x sexuée)

Parent sexué =	Types C (parentaux)	HORS-TYPES		Total H T	Total	H T (%)
		Types C	Hybrides			
K 189.T	11	3	11	14	25	56,0
P2	13	11	15	26	39	66,7
T 35.T	11	7	7	14	25	56,0
S 2.T	11	6	8	14	25	56,0
Σ	46	27	41	68	114	
%	40,4	23,7	36,0	59,6	-	-

L'analyse de la méiose a pu être effectuée sur 31 plantes, parmi les 114 du tableau IV, dont 35 seulement sont de phénotype hors-type. Ceux-ci comprennent 7 hexaploïdes ($2n = 48$) et 3 dihaploïdes ($2n = 16$). Le pourcentage de sexualité calculé sur cet échantillon est de 30,9 %.

Les sacs embryonnaires d'un certain nombre de plantes de type C parental ont été observés (TABLEAU V).

TABLEAU V - Sacs embryonnaires des types C parentaux

Parent sexué =	Nb plantes analysées	Nb ovules apomictiques	Nb ovules sexués	Total	S %
K 189.T	10	13	44	57	77,2
P2	12	11	40	51	78,4
T 35.T	8	21	54	75	72,0
S 2.T	8	17	75	92	81,5
Σ	38	62	213	275	77,5

Enfin, le taux de sacs sexués a été mesuré chez 9 plantes de phénotype hybride (TABLEAU VI).

TABLEAU VI - Sacs embryonnaires des hybrides
(T 19 36,5 x sexué) x

	$2n$	Nb ovules apomictiques	Nb ovules sexués	Total	S %
(T 19 x P2) 1,2	32	0	33	33	100
(T 19 x P2) 1,4	32	9	26	35	74,3
(T 19 x P2) 1,7	48	8	21	29	72,4
(T 19 x P2) 1,10	32	0	28	28	100
(T 19 x P2) 2,4	32	10	52	62	83,9
(T 19 x P2) 3,3	32	13	7	20	35,0
(T 19 x P2) 3,7	32	0	25	25	100
(T 19 x P2) 4,1	32	0	20	20	100
(T 19 x T35.T) 3,1	48	1	29	30	96,7

IV. INTERPRÉTATIONS ET CONCLUSIONS.

Le caractère présence ou absence d'apomixie est probablement à déterminisme simple, sans doute oligogénique.

Les résultats du croisement P2 x 57 peuvent remettre en cause l'autofécondation de P2 (possibilité d'allopollinisation illégitime), et on doit reconsidérer alors l'éventualité d'une apomixie dominante à un locus (voir propositions de J. PERNES, D. COMBES et R. RENÉ-CHAUME, 1972).

La figure 1 montre l'importance de l'étude des hors-types chez les apomictiques, dans une telle éventualité.

Le caractère taux de sexualité est à déterminisme complexe. Il existe une variation naturelle (COMBES, 1972), principalement chez les types C. Les taux de sexualité des hybrides mentionnés plus haut, varient eux mêmes de 16 à 97 %.

Fig. 1 - Interprétation Apomixie dominante à un locus
K 189 ($2n = 16$) sexué = aa, K 189.T ($2n = 32$) sexué = aaaa

On obtient une ségrégation 1 : 1 si l'apomictique est
triplex.

1/ APO = AAAa

(sex) aaaa x AAAa (apo)

- a. F 1 Aaaa (sex)
 AAAa (apo)
dans le rapport 1 : 1
- b. autofécondation des
sexués : descendance
partiellement apomictique
- c. recroisement des sexués
par un apomictique
naturel :
ségrégation 3 APO : 1 SEX
- d. autofécondation des
apomictiques hybrides :
5/16 des H.T. sont sexués

2/ APO = Aaaa

(sex) aaaa x Aaaa (apo)

- a. F 1 aaaa (sex)
 Aaaa (apo)
dans le rapport 1 : 1
- b. autofécondation des
sexués : descendance
entièrement sexuée
- c. recroisement des sexués par
un apomictique naturel :
nouvelle ségrégation 1 : 1
- d. autofécondation des
apomictiques hybrides :
1/4 des H.T. sont sexués

EXPERIMENTATION

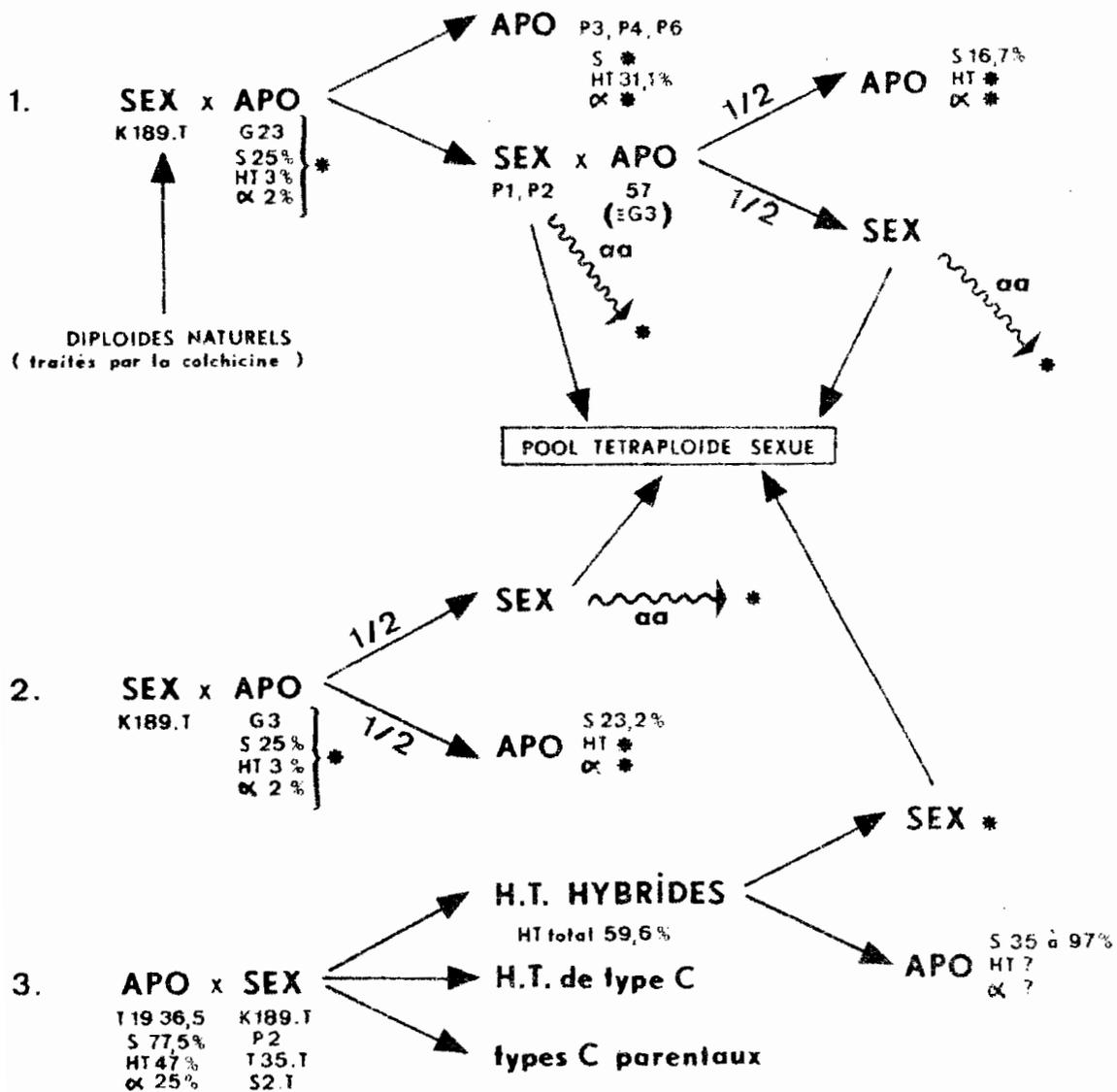
- | | | | |
|----|---------------|----|-------------------|
| a. | vérifié | a. | vérifié |
| b. | vérifié (P2) | b. | non vérifié |
| c. | non vérifié | c. | vérifié (P2 x 57) |
| d. | non vérifié * | d. | non vérifié * |

* Jusqu'ici aucun hors-type sexué n'a pu être observé chez les
apomictiques, naturels ou hybrides, en collection à
Adiopodoumé. SMITH (1972) signale 4 % de plantes sexuées
dans sa population de hors-types.

La figure 2 résume les résultats acquis. Les développements envisagés doivent permettre de répondre aux questions suivantes :

1° Existe-t-il une variabilité pour la structure génotypique des apomictiques ? G 23, G 3, 57 (■ G 3) pourraient être du type Aaaa, par exemple (voir figure 1), et d'autres du type AAaa, etc. Plusieurs croisements du type 2 sont en cours de réalisation (diallèle de groupe, avec 8 parents sexués et 8 parents apomictiques ; croisements de 9 sexués par la variété K 211, apomictique).

2° Existe-t-il une variabilité pour le taux de hors-types chez les apomictiques hybrides ? Les taux de sacs embryonnaires sexués sont significativement différents dans les croisements K 189.T x G3 et P2 x 57. Un certain nombre de descendance d'apomictiques issus de ces deux croisements doivent être analysées prochainement.



▲ Fig.2 - Etat actuel des travaux et études en cours (*)
 aa, autofécondations ; s, taux de sacs embryonnaires uniques
 sexués ; HT, taux de hors-types ; α, taux de sexualité.

R E S U M E

L'hybridation entre une plante tétraploïde sexuée et un apomictique naturel donne une descendance où plantes sexuées et plantes apomictiques ségrègent dans leur rapport 1 : 1.

Le recroisement d'une plante sexuée hybride, par un apomictique, redonne le même type de ségrégation.

Il existe, une grande variabilité pour le taux de sexualité, chez les apomictiques hybrides.

La technique cytologique utilisée pour l'étude des sacs embryonnaires est détaillée.

S U M M A R Y

Hybridization between an artificial sexual tetraploid and a natural apomict gave a progeny with sexual and apomict types in a 1 : 1 ratio.

The backcross of a sexual hybrid type with an apomict gave the same ratio.

We found a great variability for sexuality rate between apomictic hybrids.

The cytological technique for the observation of embryo sacs is detailed.

B I B L I O G R A P H I E

- BRADLEY M. V., 1948 - An acetocarmine squash technique for mature embryo sacs. *Stain Techn.*, 23 : 29 - 40.
- COMBES D., 1970 - Essai d'analyse de la variabilité des populations diploïdes du Panicum maximum Jacq. en Afrique de l'Est. Rapport CRSTOM mult.
- COMBES D., 1972 - Polymorphisme et modes de reproduction dans la section des maximae du genre Panicum (Graminées) en Afrique. Thèse Doct. d'état. Univ. Paris Sud.
- D'CRUZ R., and REDDY P.S., 1967 - A modified Bradley's squash technique for studying embryo sacs in Gramineae. *Stain Techn.*, 42 : 237 - 240.
- D'CRUZ R., and REDDY P.S., 1971 - Inheritance of apomixis In Dichanthium. *Ind. J. Gen. Pl. Breed.*, 31 : 451 - 460.
- HARLAN J. R., and al., 1964 - Nature and inheritance of apomixis in Bothriochloa and Dichanthium. *Bot. Gaz.*, 125 : 41 - 46.
- HERR J. M., 1971 - A new clearing - Squash technique for the study of ovule development in Angiosperms. *Amer. J. Bot.*, 58 : 785 - 790.
- PERNES J., COMBES D. et RENÉ-CHAUME R., 1972 - Données préliminaires concernant la génétique des formes sexuées du Panicum maximum Jacq. Rapport CRSTOM mult.
- PERNES J., RENÉ-CHAUME R., RENÉ J. et SAVIDAN Y., 1973 - Schéma d'amélioration génétique des complexes agamiques du type Panicum. Rapport CRSTOM mult.
- PERNES J., RENÉ-CHAUME R., and SAVIDAN Y., 1973 - Genetic analysis of sexual and apomict Panicum maximum (communication to the XIII th Congress of Genetics, Berkeley), en préparation.
- SMITH R. L., 1972 - Sexual reproduction in Panicum maximum Jacq. *Crop. Sci*, 12 : 624 - 627.