

GENETICS DISTANCES BETWEEN SUNFLOWER POPULATIONS

O. BAZAN (*), Ph. BLANCHARD (**), D. BRUNEL (**), P. VINCOURT (*)

(*) Institut National de la Recherche Agronomique, Station d'Amélioration des Plantes, 34130 MAUGUIO - FRANCE

(**) Société LOCUS, FORGES, 17290 AIGREFEUILLE D'AUNIS - FRANCE

SUMMARY:

Twenty one sunflower populations from Russia, Morocco, France, were crossed to four male sterile testers in order to draw up any combining ability group. Polymorphism between populations was examined for quantitative traits as well as for isozymic variation. A inter-population structure could be designed, from what new genes pool could be constructed.

RESUME:

Vingt et une populations de Tournesol ont été étudiées du point de vue de leur valeur moyenne en croisement, de leur degré de complémentarité estimé par des croisements avec quatre testeurs mâles stériles, et de la variabilité enzymatique révélée par électrophorèse, afin de mettre en évidence des groupes de combinaison. Une structure de la variation interpopulation est mise en évidence, à partir de laquelle la formation de nouveaux pools génétiques est envisagé.

I. INTRODUCTION

L'utilisation de la stérilité mâle cytoplasmique a conduit les sélectionneurs de Tournesol à structurer la variabilité génétique en deux ensembles - mainteneur de stérilité mâle ou restaurateur de fertilité - alors que, comme chez d'autres espèces allogames telles que le maïs, des groupes d'aptitude à la combinaison sont susceptibles d'exister et de conduire à une meilleure exploitation de la vigueur hybride. Par ailleurs, les variétés hybrides commercialisées au cours des dernières années sont assez fortement apparentées entre elles (Vranceanu, 1985), ceci indiquant une faible exploitation de la variabilité génétique disponible.

La bibliographie fait état d'un nombre réduit d'études visant à apprécier cette variabilité. Yavada et Singh (1985) l'ont analysée au niveau de la valeur propre, tandis qu' Anashenko (1982) a présenté des résultats sur l'évaluation de variétés populations à partir de leurs aptitudes à la combinaison.

L'objet principal de l'étude entreprise est de décrire la variabilité génétique de diverses variétés-populations de tournesol cultivé (*Helianthus annuus L.*) à partir de leurs valeurs en croisement avec différents testeurs, afin de tenter de définir des groupes de combinaison. Ces résultats ont été par ailleurs confrontés à ceux que révèle l'électrophorèse de systèmes enzymatiques, à partir des méthodes décrites par Torres (1973, 1975, 1977), Wain (1983), Kahler et Lay (1985) et Rieseberg et al. (1986).

II. MATERIEL ET METHODES

21 populations de 3 provenances différentes (Maroc, France, Russie) ont chacune été croisées à 4 testeurs lignées pures, mâles stériles, différents par leur origine génétique, leur précocité de floraison et leur cytoplasme (tableau 1).

II.1. Données agronomiques:

Les 84 hybrides ont été implantés à Montpellier (zone méditerranéenne) dans un dispositif expérimental en split-plot à trois répétitions. Les parcelles élémentaires étaient constituées de 4 lignes de 4,70 m espacées entre elles de 60 cm. Le semis a été réalisé le 30 mars 1987, à la densité de 60 000 pieds/ha.

Les caractères suivants ont été enregistrés: date de floraison, maturité physiologique, longueur de la première feuille, nombre de feuilles, hauteur de la plante, humidité à la récolte, teneur en huile, rendement en grain et pourcentage de restauration de la fertilité mâle.

II.2. Données enzymatiques:

Les populations ont été analysées à raison d'une quarantaine d'individus par population pour 13 locus enzymatiques. Les graines, mises à germer pendant 24 heures (25 °C, et à l'obscurité), ont été décortiquées et broyées individuellement dans un tampon d'extraction (pH 7.4).

Après centrifugation, les surnageants ont été déposés sur des mèches de papier Whatman, puis placées dans des gels d'amidon pour les électrophorèses.

Deux solutions de migration électrophorétique ont été utilisées selon les systèmes enzymatiques:

- tampon acide: Phospho-Gluco-Isomérase (PGI), Phospho-Gluco-Deshydrogénase (PGD), Phospho-Gluco-Mutase (PGM), Alcool Deshydrogénase (ADH1, ADH2), Malate Deshydrogénase (MDH1), Aconitase (ACON).

- tampon basique: Estérase (EST), Leucine Amino Peptidase (LAP), Glutamate Oxaloacétate Transaminase (GOT1 et GOT2), Glucose 6-Phosphate Deshydrogénase (G6PDH1), Catalase (CAT).

11.3. Méthodes statistiques:

11.3.1. Variation phénotypique: L'analyse de variance a permis d'estimer les aptitudes à la combinaison générales (AGC) et spécifiques (ASC). Une analyse factorielle discriminante (AFD) a permis une représentation de la structure de la variabilité interpopulation pour chacun de ces deux paramètres. La métrique dans le nouveau repère est la distance de Mahalanobis. Adoptant une démarche analogue à Hanson et Casas (1967) nous avons estimé la distance multivariée entre les populations i et i' , relativement aux ASC par l'expression:

$$d^2_{ASC}(i, i') = \sum_{j|l} (T^l(i, j) - T^l(i', j))^2 \quad (1)$$

où, $T^l(i, j)$ est la valeur de la $l^{\text{ème}}$ composante discriminante relative au couple formé par la $i^{\text{ème}}$ population et le $j^{\text{ème}}$ testeur.

La structure de l'interaction population*testeur, a été mise en évidence par la méthode de Mandel (1971):

$$ASC_{ij} = \sum_m C^m_i D^m_j$$

où, C^m_i (resp D^m_j) est la $m^{\text{ème}}$ composante de Mandel relative à la $i^{\text{ème}}$ (resp. $j^{\text{ème}}$) population (resp. testeur). En appliquant cette analyse sur les composantes discriminantes, l'expression (1) devient:

$$d^2_{ASC}(i, i') = \sum_{l|m} (C^{ml}_i - C^{ml}_{i'})^2.$$

où, C^{ml}_i représente la $m^{\text{ème}}$ composante de Mandel de la $l^{\text{ème}}$ composante discriminante relative à la $i^{\text{ème}}$ population.

11.3.2. Variation enzymatique: La structure de la variabilité interpopulation au niveau enzymatique a été étudiée à partir de l'analyse factorielle des correspondances (AFC) sur le tableau des fréquences géniques. La distance entre populations est donc une distance de type Chi-2.

11.3.3. Comparaison des deux types de variation: Les régressions factorielles (Denis, 1980) des effets d'aptitudes à la combinaison, sur les fréquences géniques des isozymes, ont été réalisées afin de déterminer la part de la variation quantitative dont rend compte la variation enzymatique.

III. RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. Variabilité phénotypique inter-populations:

III.1.1. Analyse de variance: Les effets populations (AGC) sont significatifs au seuil de 1% pour toutes les variables étudiées (tableaux 1 et 2). Les effets d'interaction population * testeur (ASC) sont significatifs au moins au seuil de 5% sauf pour la durée floraison-maturité physiologique et l'humidité à la récolte. Les effets populations (AGC) sont plus importants que les effets d'interaction (ASC).

SOURCE	DDL	L_PREMF	SEM_FLO	NB_FEU	HAUTEUR	MAT_PHY	HUMIDITE	% HUILE	RDT
TEST	3	41.4 **	752.8 **	271.2 **	11321.8 **	227.1	20.0	246.0	77.6
ERR 1	6	2.5	10.9	2.9	1443.6	276.2	14.19	45.64	194.1
AGC	20	1.9 **	24.5 **	22.1 **	679.6 **	28.96 **	1.78 **	170.4 **	28.9 **
ASC	59	0.66 *	1.5 **	2.83 **	95.7 **	5.8	0.89	2.79 **	15.8 **
ERR 2	154	0.45	0.83	0.67	54.6	6.3	0.71	1.34	5.85

Tableau 2: RESULTATS DE L'ANALYSE DE VARIANCE (carré moyen et test de Fisher à 1 et 5 %)

POPULATIONS		Semis- Floraison (jours)	Floraison- Maturité (jours)	Nb Feuilles	Rendement (QX/HA)	Huile	Hauteur (cm)	Long FI (cm)	
MAROC	1 86 DB 1.369	76.9	45.4	25.5	27.4	47.4	145.4	12.5	
	2 R 1875. P2. 1.196	74.8	47.4	23.7	28.9	44.7	132.7	11.3	
	3 S 659.4.373	75.5	44.4	23.8	28.8	47.9	129.2	12.6	
	4 S 13. P3. 1. N. 197	78.1	42.9	26.5	26.7	46.6	135.5	12.8	
	5 SB. P4. 1. 198	77.5	42.5	27.3	28.4	46.8	138.7	12.3	
	6 H 40. 12. A01. N. 115	77.8	43.8	27.8	30.7	44.9	152.7	12.2	
	7 H 112. 122. 235	79.0	43.1	28.5	29.8	44.8	142.6	12.7	
FRANCE	8 GRIS STRIE PROVENCE	78.4	42.3	27.3	31.5	40.2	156.7	11.8	
	9 GRIS STRIE PA. 164	75.8	41.5	26.6	31.1	41.0	147.2	11.6	
	10 NAIN ROUGE	77.8	41.6	27.6	30.8	40.2	154.0	12.6	
URSS	11 ARMAVIR3497. 5. 3. 1. 1. 1345	76.7	41.5	28.6	33.0	52.4	157.4	12.3	
	12 KARKOVSKI . 50. 2088	75.0	44.8	26.6	30.5	51.7	141.4	12.5	
	13 KARKHOV .101	76.1	42.5	26.0	29.4	52.7	141.7	13.0	
	14 NOVINKA 2079	77.4	41.5	27.7	27.2	49.3	150.9	12.4	
	15 PEREDOVIC Krasnodar	77.4	41.5	27.7	27.5	51.2	139.2	12.4	
	16 PRO 1748. 1 + PRO 1752. 2+ PROGRESS 1816	77.2	42.9	27.0	28.3	47.9	144.6	12.0	
	17 RACVIET 2. 1412	78.0	44.0	27.6	30.3	50.8	148.1	12.2	
	18 TCHAKINSKI 269. 433	73.7	44.1	25.7	28.5	50.2	135.5	12.5	
	19 VNIIMK 1646. 2. 1. 1. 2. 1492	75.5	44.0	25.5	29.1	50.7	139.9	12.7	
	20 VNIIMK 8931 .1221	76.3	42.5	28.5	29.4	49.4	143.7	12.6	
	21 VOLGAR Codisol .1695	74.1	44.1	26.1	27.8	50.0	138.8	12.3	
		écart-type d'une moy.	0.3	0.7	0.2	0.7	0.3	2.1	0.2

x ty...

x ty...

TESTEURS	Cytoplasme	Origine
RHA274	Fms	
85A1	Cms	CERNIANKA
XK	Cms	PEREDOVIC
HA89	Cms	VNIIMK 8931

Tableau 1: LISTE DES POPULATIONS ET DES TESTEURS ET APTITUDES GENERALES A LA COMBINAISON

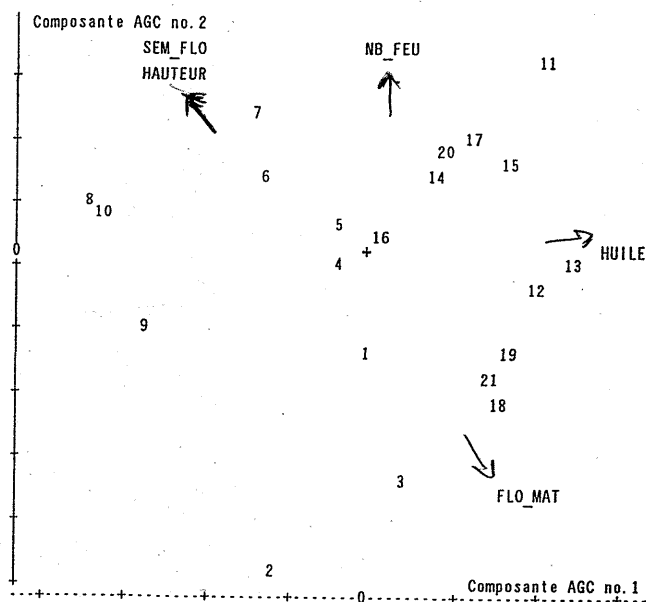


Figure 1: REPRESENTATION DES A. G. C. POPULATIONS DANS LE REPERE DES 2 PREMIERES VARIABLES DISCRIMINANTES:

III.1.2. Analyse discriminante sur AGC: Les deux premières variables expliquent la quasi totalité de la variabilité (85%). Le premier axe discrimine les populations suivant un gradient de teneur en huile. Il oppose le groupe des populations russes à haute teneur en huile au groupe des populations françaises (figure 1).

Le deuxième axe oppose les populations à floraison précoce, à développement végétatif peu important (plantes de petite taille avec peu de feuilles) et mûrissant lentement (longue durée floraison-maturité physiologique) aux populations du type opposé. Ainsi, les populations R 1875.P2.1.196 (2) et H 112.122.235 (7) effectuent leur cycle dans le même temps (durée semis - maturité = 122 jours) mais la première a une floraison plus précoce (durée semis-floraison = 75 pour la population n°2 et 79 pour la n°7).

Le troisième axe classe les populations selon leur rendement rapporté à la durée semis-floraison et pourrait être en relation avec l'indice de récolte.

III.1.3. Analyse des interactions populations * testeurs par la méthode de Mandel: Les axes dégagés par l'analyse sont interprétés en terme d'axe de combinaison orientés par les testeurs. Les populations seront ainsi caractérisées par leur situation par rapport à ces axes orientés.

Le premier axe oppose le comportement des populations, pour le nombre de feuilles (FEU_C11), vis à vis du testeur RHA274 par rapport aux autres testeurs (85A1, HA89, XK). Cet axe oppose les populations russes aux groupes marocain et français. Les populations russes combinent bien avec RHA274 pour le nombre de feuilles et les autres avec HA89 et 85A1.

Le deuxième axe ne dégage pas de structure de groupe. Il décrit une part de la variation intragroupe. Il est lié à la teneur en huile (HUI_C11) auquel il est corrélé négativement, au rendement (RDT_C11) et à la hauteur (HAUT_C11) auquel il est corrélé positivement. HA89 s'oppose, sur cet axe, aux autres testeurs.

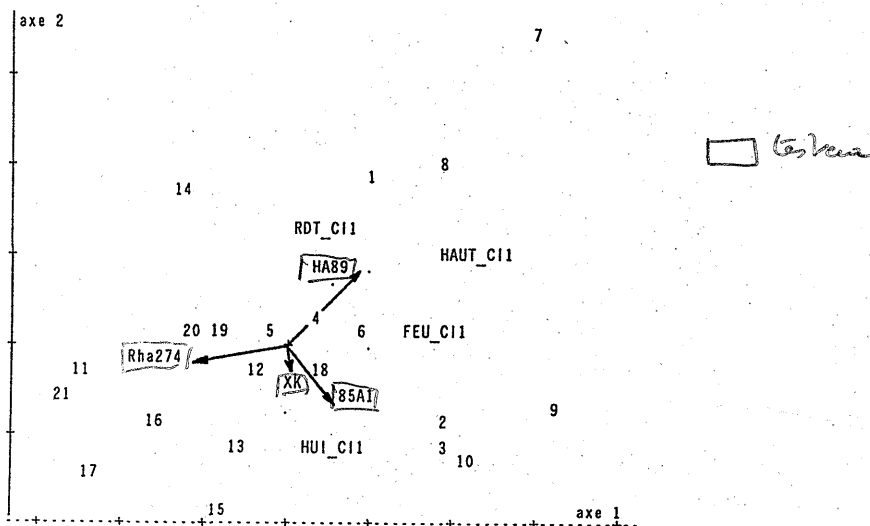


Figure 2: REPRESENTATION DES COMPOSANTES DE LA VARIATION MULTIVARIABLE POUR L'APTITUDE SPECIFIQUE A LA COMBINAISON:

III.1.4. Statut des populations vis à vis des deux cytoplasmes Cms et Fms: Les populations des différentes origines présentent des caractéristiques de groupe: Les populations françaises possèdent des gènes de restauration de fertilité mâle pour les deux cytoplasmes, les marocaines sont restauratrices du cytoplasme *H. Petiolaris Fallax* (Fms) et les russes mainteneuses universelles. Cependant les groupes ne sont pas homogènes. Ainsi les populations marocaines sont en moyenne mainteneuses de Cms mais les populations SB. P4., S13.P3 et H 112. possèdent des gènes de restauration de ce cytoplasme. Les populations dont on sait qu'elles ont subi une introgression de gènes sauvages (Novinka, Progress) possèdent des gènes de restauration des deux cytoplasmes.

III.2. Variabilité enzymatique :

III.2.1. Polymorphisme intra-population: Parmi les 13 systèmes testés, 9 ont montré du polymorphisme. Le degré de fixation des différents allèles d'un même locus est très variable selon les locus et les populations. Pour la majorité des locus, un allèle est prépondérant. C'est le cas de Adh1_a, Pgi_a, Pgm_b, Pgd_b, Lap_b et Mdh1_b dont les fréquences moyennes calculées sur l'ensemble des populations dépassent 70%.

Le pourcentage de locus polymorphes varie de 0 à 60%, avec une valeur moyenne de 41%, le taux d'hétérozygotie moyen calculé sous l'hypothèse panmictique de 0 à 0.24 (moyenne de 0.16). Ces résultats sont tout à fait cohérents avec ceux présentés par les espèces allogames à pollinisation entomophile (Hamrick et al., 1979).

Certains locus présentent un polymorphisme intra-population assez élevé (Estérase et Aconitase) quelque soit la population.

Certains écotypes traités dans le cadre de cette analyse semblent pratiquement fixés: Armavir 3497 et Vniimk 1646.

III.2.2. Variabilité inter-population (AFC): Les deux premiers axes de l'analyse factorielle des correspondances exhibent respectivement 21.5 et 18.2 % de l'inertie totale; ils ne font ressortir aucune structure de groupe très nette et semblent déterminés par la singularité de certaines populations sur certains systèmes.

Sur le premier axe, Volgar (21) et H 112 (7) s'opposent de par leur richesse en Lap_a et dans une moindre mesure pour Got_c et Mdh1_a. Cet axe distingue grossièrement les populations russes des populations françaises et marocaines.

Le deuxième axe oppose SB.P4 (5) au reste des populations. Cette population est la plus riche en Adh1_c qui est très rare dans l'ensemble des populations.

III.3. Variabilité enzymatique et variabilité phénotypique:

III.3.1. Régression factorielle des AGC sur les fréquences géniques: Les variations de fréquence génique moyenne entre populations semblent pouvoir rendre compte des variations de type quantitatif dans deux cas:

Ainsi, la teneur en huile d'une part, et la fréquence de l'allèle "c" au locus LAP d'autre part, structurent l'ensemble des populations selon leur provenance et leur histoire, ce qui conduit à un R2 relativement élevé (0.41). Cependant cette liaison est vraisemblablement dûe aux aléas de la dérive génétique.

En revanche, le modèle associé au nombre de feuilles, qui fait intervenir les locus ADH1 et PGM, pourrait avoir une signification dans la mesure où l'effet groupe est moins marqué; en particulier Vniimk 1646 et Vniimk 8931 qui sont apparentées sont opposées sur la droite de régression. Vniimk 1646 qui donne en moyenne des hybrides avec peu de feuilles, "a" fixé l'allèle Adh1_b, globalement rare dans l'ensemble des populations soviétiques. L'hypothèse d'un lien génétique entre les deux caractères devrait être testée dans une population en disjonction et à l'équilibre panmictique.

III.3.2. Régression factorielle des ASC sur les variables enzymatiques: Les composantes des interactions testeurs * populations peuvent également être mises en relation avec les fréquences géniques observées dans ces populations. Ainsi, les fréquences observées pour Est_a et Pgi_a reflètent correctement la première composante de l'hétérozygotie pour le rendement (RDT_CI1, R2=0.61). De même, le nombre de feuilles (FEU_CI1) est expliqué par Got_a (R2=0.52). Ce dernier résultat peut s'expliquer par le fait que la fréquence de l'allèle "a" de GOT reflète bien une structuration selon l'origine des populations, qui est également mise en évidence par l'hétérozygotie pour le nombre de feuilles (cf § III.1.3).

L'allèle "a" du locus EST semble caractériser les populations qui ont subi une introgression de gènes "sauvages". D'autre part, l'allèle "a" du locus PGI est le plus fréquent dans l'ensemble des populations d'origine soviétique. Ces deux locus rendent compte ensemble d'un éloignement génétique par rapport au matériel soviétique classique. Ceci peut expliquer le résultat relatif à la composante de l'hétérozygotie pour le rendement qui s'exprime surtout par rapport à la lignée HA89.

IV. CONCLUSION

Sur la base des informations recueillies à partir d'un plan de croisement testeurs * populations, une classification des populations prenant en compte leurs aptitudes générales et spécifiques à la combinaison peut être établie (figure 3). Les informations obtenues par électrophorèse d'enzymes permettent de conforter ces conclusions, voire de prendre en compte, dans le calcul de distances génétiques entre écotypes, les fréquences alléliques qui objectivement les discriminent le mieux du point de vue agronomique. En outre cette technique est un moyen très sûr d'appréhender à priori le degré de fixation ou de nouveauté des ressources génétiques.

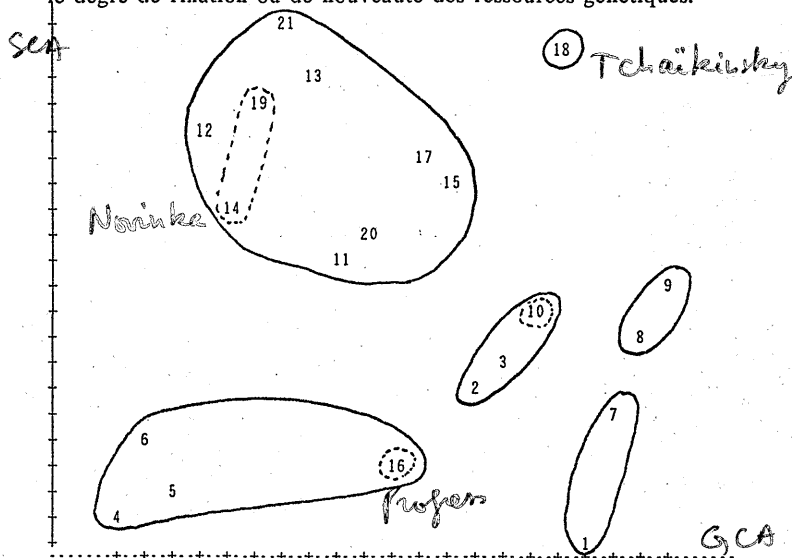


Figure 3: REPRESENTATION DES GROUPES SELON UNE CLASSIFICATION SUR AGC (Ordonnée) ET SUR ASC (Abcisse)

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- * Anashenko A.V. 1972. Evaluation of the sunflower collection for its combining ability. 5th international sunflower conference. Clermont Ferrand. 26-217.
- * Denis J.B. 1980. Analyse de régression factorielle. Biom. Praxim. 20:1-34.
- * Hamrick J.L., Linhart Y.B., Mitton J.B. 1979. Relationships between life history characteristics and electrophoretically detectable genetic variation in plants. Ann. Rev. Ecol. Sys. 10:173-220.
- * Hanson W.D., Casas E. 1968. Spatial relationship among eight populations of *Zea mays* L. utilising diallel mating design. Biometrics. 24:867-880.
- * Kahler A.L. et Lay C.L. 1985. Genetics of electrophoretic variants in the annual sunflower. J. of Heredity 76:335-340.
- * Mandel J, 1971, A new analysis of variance model for non additive data, Technometrics, 13, 1-18,
- * Rieseberg L.H., Douglas E.S, Palmer J.D. 1986. Genetic divergence between *Helianthus annuus* and *H. bolanderi*. Am. J. Botany. 73(5). 783-784.
- * Torres A.M. 1973. ADH in sunflower genetic control and dissociation recombination of ADH1. Genetics 74 (2 pt 2) 278
- * Torres A.M. 1975. Intergenic alcohol deshydrogénase isozymes in sunflowers. Genetics. 80 (3 part 1) 80-81.
- * Torres A.M., Diedenhofen U. 1977. Dissociation recombination of sunflower seed acid phosphatase EC-3.1.3.2. Bioch genet. 15 (9-10) 897-902.
- * Vranceanu V. 1985. Genetic resemblance of sunflower cultivars tested in international trials. Information bulletin of the FAO research network of sunflower. HELIA. 8:9-16.
- * Wain. 1983. Genetic differentiation during speciation in the *Helianthus-Debilis* complex. Evolution. 37 (6) 1119-1127.
- * Yadava T.P., Singh J.V. 1985. Genetic divergence studies in sunflower. XI conference internationale du tournesol. 10-13 mars. Mar del Plata (Argentine).