

ÉTUDE DE LA LOCALISATION CHROMOSOMIQUE DU GÈNE *ms₃* DE STÉRILITÉ POLLINIQUE DU COTONNIER

par

P. KAMMACHER, Ch. POISSON et J. SCHWENDIMAN

(Laboratoire de Botanique
de la Faculté des Sciences d'Abidjan
et Station I.R.C.T. de BOUAKÉ - Côte d'Ivoire)

INTRODUCTION

Il serait souhaitable, en vue de bâtir une technique d'utilisation de l'hétérosis dans la culture du cotonnier, de disposer d'un gène de stérilité pollinique situé très près d'un gène marqueur à morphisme décelable à un stade juvénile du développement de la plante. Des recherches préliminaires nous ont permis de mettre en évidence une liaison entre le gène récessif *ms₃* (4) qui détermine chez l'espèce de cotonnier *Gossypium hirsutum* un avortement prononcé du pollen sans altérer la fécondité des ovules, et un gène dominant *R₁* (3) agissant sur la pigmentation anthocyanique de cette plante (5). Cette liaison a été confirmée par plusieurs expériences réalisées dans notre laboratoire et portant sur l'analyse de la ségrégation subie par l'hétérozygote double *Ms₃ R₁/ms₃ r₁* dans des rétrocroisements par des souches homozygotes récessives pour les deux gènes. Ces expériences nous ont fourni des résultats homogènes qui peuvent se résumer par la ségrégation globale suivante, portant sur un effectif de 1 014 individus.

Phénotypes	Fréquences
<i>Ms₃ R₁</i> (parental)	443
<i>Ms₃ r₁</i> (recombiné)	121
<i>ms₃ R₁</i> (recombiné)	89
<i>ms₃ r₁</i> (parental)	361

On déduit de ces chiffres, qui traduisent du reste un déficit dans la transmission par rétrocroisement du gène de stérilité pollinique, que les loci *Ms₃* et *R₁* sont portés par le même chromosome et distants d'environ 21 unités Morgan.

Divers travaux avaient déjà permis d'établir pour ce chromosome de *G. hirsutum*, désigné par le numéro 16, une carte factorielle dont les éléments connus sont les suivants : *ch₁* (raccourcissement des sympodes), *R₁* (pigmentation anthocyanique), *yg₁* (déficience chlorophyllienne), *Dw* (fibre brune). Les distances entre ces loci données par les auteurs sont les suivantes : (1, 2, 6, 7, 8, 9, 10).

<i>ch₁ R₁</i>	= 15 à 17 unités Morgan
<i>R₁ yg₁</i>	= 13,5 à 18,5 unités Morgan
<i>yg₁ Dw</i>	= 29,4 unités Morgan

Il était intéressant de préciser la localisation de *ms₃* par rapport à ces gènes, non seulement pour ajouter un élément à la carte factorielle du chromosome 16, mais aussi pour rechercher un marqueur situé plus près encore de *ms₃* que *R₁*. Pour ce faire, nous avons repris l'étude des relations de linkage de *ms₃* en utilisant d'une part le marqueur *R₁* et d'autre part le marqueur *ch₁*, de manière à réaliser des expériences de ségrégation portant simultanément sur trois loci distincts.

Nous avons fabriqué un homozygote *R₁R₁ ch₁ ch₁* à pollen fertile, que nous avons croisé par une souche *ms₃ms₃* homozygote pour les allèles sauvages de *R₁* et *ch₁*, c'est-à-dire *r₁* (coloration verte de la plante) et *Ch₁* (sympodes normaux). Par autofécondation de la *F₁* de ce triple hétérozygote, nous avons obtenu une *F₂* de 250 individus, dont la ségrégation a été étudiée (tableau I), et qui nous a fourni le génotype récessif triple (*ms₃ms₃ r₁r₁ ch₁ch₁*). Ce dernier fut croisé par le triple dominant, ce qui nous a permis d'analyser sur une *F₂* abondante de 2 204 individus la ségrégation subie par l'hétérozygote *Ms₃R₁Ch₁/ms₃r₁ch₁*. Les résultats de ces observations sont décrits ci-dessous.

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

Le tableau I récapitule les observations faites sur la descendance obtenue par autofécondation de la F_1 du croisement :

$Ms_2 Ms_2 R_1 R_1 ch_1 ch_1 \times ms_2 ms_2 r_1 r_1 Ch_1 Ch_1$

Comme on pouvait s'y attendre, la ségrégation de cette F_2 a fait apparaître à côté des deux phénotypes parentaux ($Ms_2 R_1 ch_1$) et ($ms_2 r_1 Ch_1$), six phénotypes recombinés ($Ms_2 R_1 Ch_1$), ($ms_2 r_1 ch_1$), ($Ms_2 r_1 ch_1$), ($ms_2 R_1 Ch_1$), ($Ms_2 r_1 Ch_1$) et ($ms_2 R_1 ch_1$). L'analyse statistique des fréquences observées montre que les couples d'allèles à l'étude, qui se séparent effectivement dans le rapport 3 : 1, ne sont pas indépendants les uns des autres. La méthode du maximum de vraisemblance appliquée à cette F_2 conduit à l'estimation des distances suivantes entre les loci étudiés :

$ms_2 R_1 = 20,7$ unités Morgan
 $ms_2 ch_1 = 31,3$ unités Morgan
 $R_1 ch_1 = 16,6$ unités Morgan

La distance trouvée ici entre ms_2 et R_1 est très voisine de celle qui avait été estimée à partir des rétrocroisements dont les résultats ont été signalés plus haut. Outre cette confirmation, l'expérience résumée dans le tableau I apporte une information supplémentaire en situant R_1 entre ms_2 et ch_1 .

Comme la précision d'une étude de linkage de 3 points basée sur une F_2 de 250 individus seulement est nécessairement faible, il était utile de confirmer les résultats précédents par une nouvelle expérience. La F_2 étudiée dans le tableau I comportait un individu récessif triple $ms_2 ms_2 r_1 r_1 ch_1 ch_1$ que nous avons croisé par l'homozygote $Ms_2 Ms_2 R_1 R_1 Ch_1 Ch_1$.

Nous avons obtenu par autofécondation de cette F_1 , où toutes les associations de gènes sont en couplage, une F_2 d'effectif beaucoup plus important que la précédente dont la ségrégation est décrite dans le tableau II.

On retrouve ici une disjonction mendélienne pour tous les couples d'allèles et l'existence d'une liaison entre les trois loci à l'étude est confirmée statistiquement.

Une nouvelle estimation des distances, toujours fondée sur la méthode du maximum de vraisemblance, conduit aux chiffres suivants :

$ms_2 R_1 = 20,1$ unités Morgan
 $ms_2 ch_1 = 32,1$ unités Morgan
 $R_1 ch_1 = 17,1$ unités Morgan

CONCLUSION

La distance de l'intervalle $ms_2 R_1$, obtenue par l'étude de rétrocroisements a été précisée par les analyses de ségrégation en F_2 . De plus, les deux F_2 étudiées ici donnent malgré la grande disparité de leurs effectifs des résultats très concordants en ce qui concerne la disposition des trois loci ms_2 , R_1 et ch_1 . La carte factorielle que ces expériences permettent de construire s'écrira donc de la manière suivante :

$ms_2 - 20,4 - R_1 - 16,8 - ch_1$

On est ainsi parvenu à placer un nouveau gène sur un chromosome connu du cotonnier. Ce résultat a de l'intérêt du point de vue théorique, car la structure génétique de *G. hirsutum* est encore insuffisamment connue et, malgré de nombreuses recherches, les généticiens ne sont encore parvenus qu'à identifier six groupes de linkage chez cette espèce (6, 9), ce qui est peu pour un organisme à $2n = 52$ chromosomes. Les expériences rapportées ici permettent donc de porter à cinq le nombre des loci identifiés et localisés sur le chromosome 16 des cotonniers amphidiploïdes.

Du point de vue de l'application, il conviendra maintenant de s'intéresser à la liaison entre ms_2 et le gène yg_1 . En raison de sa localisation par rapport à R_1 et ch_1 , yg_1 est nécessairement peu éloigné (au maximum de 7,5 unités Morgan) de ms_2 . Du fait de cette proximité, yg_1 constituerait un marqueur plus utile que R_1 pour la détection de plantes à pollen déficient dans les populations ségrégantes. Le gène yg_1 possède par ailleurs l'avantage d'avoir un morphisme décelable au stade plantule. Il détermine en effet une déficience chlorophyllienne très visible dès le stade cotylédonaire. Ainsi, en pratiquant un démarrage sélectif dans un champ semencier issu du croisement d'un hétérozygote double $Yg_1 ms_2 / yg_1 Ms_2$ par l'homozygote récessif, de manière à supprimer dès la levée toutes les plantules jaunâtres, on pourrait obtenir une population composée en grande partie de plantes à pollen déficient. Cette proportion pourra être précisée lorsqu'on disposera d'une estimation directe de la distance qui sépare yg_1 de ms_2 . Des expériences sont organisées actuellement pour obtenir des précisions sur ce problème.

RÉSUMÉ

Le gène de stérilité pollinique ms_2 de *Gossypium hirsutum* est situé sur le chromosome 16 à une distance de 20 unités de R_1 et du côté opposé à ch_1 . On en déduit que ms_2 est proche de yg_1 , ce qui demande à être vérifié par des expériences complémen-

taires. La connaissance de ces liaisons présente de l'intérêt par la possibilité qu'elle offre de multiplier à peu de frais des plantes mâle-stériles en vue de la réalisation de croisements industriels chez le cotonnier.

TABLEAU I. — Recombinaison dans la descendance obtenue par autofécondation de l'hétérozygote $Ms_2 ms_2 R_1 r_1 Cl_1 cl_1$ (couplage pour $ms_2 R_1$, répulsion pour $R_1 cl_1$ et $ms_2 cl_1$).

A - Disjonctions observées (classes parentales indiquées par le signe *).

1 - Ségrégation d'ensemble

$Ms R Cl$	$ms r cl$	$Ms R cl^*$	$ms r Cl^*$
99	1	63	40
$Ms r cl$	$ms R Cl$	$Ms r Cl$	$ms R cl$
1	21	22	3

2 - Ségrégation des couples d'allèles

Ms	ms	R	r	Cl	cl
185	65	186	64	182	68

3 - Etude des liaisons

a-entre ms_2 et R_1	$Ms R^*$	$Ms r$	$ms R$	$ms r^*$
	162	23	24	41
b-entre ms_2 et Cl_1	$Ms Cl$	$Ms cl^*$	$ms Cl^*$	$ms cl$
	121	64	61	4
c-entre R_1 et cl_1	$R Cl$	$R cl^*$	$r Cl^*$	$r cl$
	120	66	62	2

B - Analyse statistique

Hypothèse testée	χ^2 partiels	Degrés de liberté	Probabilité
Disjonction $Ms_2 ms_2$..	0,133	1	0,70-0,80
Disjonction $R_1 r_1$	0,048	1	0,80-0,90
Disjonction $Cl_1 cl_1$	0,645	1	0,50-0,70
Indépendance entre ms_2 et R_1	67,600	1	très faible
Indépendance entre ms_2 et Cl_1	21,122	1	très faible
Indépendance entre R_1 et cl_1	26,896	1	très faible
Total	116,444	6	très faible

TABLEAU II. — Recombinaison dans la descendance obtenue par autofécondation de l'hétérozygote

$Ms_2 R_1 Cl_1$
 $ms_2 r_1 cl_1$

A - Disjonctions observées (classes parentales indiquées par le signe *).

1 - Ségrégation d'ensemble

$Ms R Cl^*$	$ms r cl^*$	$Ms R cl$	$ms r Cl$
1306	233	149	118
$Ms r cl$	$ms R Cl$	$Ms r Cl$	$ms R cl$
130	196	52	20

2 - Ségrégation des couples d'allèles

Ms	ms	R	r	Cl	cl
1637	567	1671	533	1672	532

3 - Etude des liaisons

a-entre ms_2 et R_1	$Ms R^*$	$Ms r$	$ms R$	$ms r^*$
	1455	182	216	351
b-entre ms_2 et Cl_1	$Ms Cl^*$	$Ms cl$	$ms Cl$	$ms cl^*$
	1358	279	314	253
c-entre R_1 et cl_1	$R Cl^*$	$R cl$	$r Cl$	$r cl^*$
	1502	169	170	363

B - Analyse statistique

Hypothèse testée	χ^2 partiels	Degrés de liberté	Probabilité
Disjonction $Ms_2 ms_2$..	0,619	1	0,30-0,50
Disjonction $R_1 r_1$	0,784	1	0,30-0,50
Disjonction $Cl_1 cl_1$	0,876	1	0,30-0,50
Indépendance entre ms_2 et R_1	589,655	1	très faible
Indépendance entre ms_2 et cl_1	173,661	1	très faible
Indépendance entre R_1 et Cl_1	709,695	1	très faible
Total	1475,290	6	très faible

BIBLIOGRAPHIE

1. ENDRIZZI J.E. et M.S. BROWN. — Identification of monosomes for six chromosomes in *Gossypium hirsutum*. - *Amer. J. Botany*, 1964, LI, 117-120.
2. ENDRIZZI J.E. et R.J. KOHEL. — Use of telosomes in mapping three chromosomes in cotton. - *Genetics*, 1966, LIV, 555-560.
3. HUTCHINSON J.B. et R.A. SILOW. — Gene symbols for use in cotton genetics. - *J. Hered.*, 1939, XXX, 461-464.
4. JUSTUS N., J.R. MEYER et J.B. ROUX. — A partially male sterile character in Upland cotton. - *Crop Sci.*, 1963, III, 428-429.

5. KAMMACHER P., Ch. POISSON et J. SCHWENDIMAN. — Note préliminaire sur la localisation chromosomique d'un gène de stérilité pollinique chez le cotonnier. *Cot. Fib. trop.*, 1966, XXI, 233-234.
6. KOHEL R.J., C.F. LEWIS et T.R. RICHMON. — Linkage tests in Upland cotton. *Crop Sci.*, 1965, V, 332-335.
7. RHYNE C.L. — Duplicated linkage groups in cotton as indicated by the Yg_1 and Dw loci. - *J. Hered.*, 1957, XLVIII, 59-62.
8. RHYNE C.L. — Linkage studies in *Gossypium*. *Genetics* 1953, XLIII, 822-834.
9. STEPHENS S.G. — Linkage in Upland cotton. *Genetics* 1955, XL, 903-917.
10. WHITE T.G. et J.E. ENDRIZZI. — Tests for the association of marker loci in *Gossypium hirsutum* by the use of aneuploids. - *Genetics*, 1965, LI, 605-612.

SUMMARY

Gossypium hirsutum gene of pollinic sterility ms_1 is located on chromosome 16 at a distance of 20 units from R_1 and on the opposite side of cl_1 . It is inferred therefrom that ms_1 is near yg_1 , which must be veri-

fied by further experiments. The knowledge of these linkages offers some interest owing to the possibility that it gives to propagate sterile male plants in view of carrying out industrial crosses in cotton.

RESUMEN

El genes de esterilidad polínica ms_1 del *Gossypium hirsutum* se encuentra situado en el cromosoma 16 a una distancia de 20 unidades de R_1 y del lado opuesto del cl_1 . De ello se deduce que ms_1 está próximo del yg_1 , lo que debe ser verificado por experiencias

complementarias. El conocimiento de esos enlaces es interesante por la posibilidad que ofrece de multiplicar con pocos gastos plantas machoestériles para la realización de cruces industriales relativos al algodón.