

Complexe d'espèces et régime de reproduction dans la section des Intertextae : *Medicago ciliaris*, *Medicago intertexta*

Abdelkefi A., Boussaid M., Marrakchi M.

in

Delgado I. (ed.), Lloveras J. (ed.).
Quality in lucerne and medics for animal production

Zaragoza : CIHEAM
Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens; n. 45

2001
pages 107-110

Article available on line / Article disponible en ligne à l'adresse :

<http://om.ciheam.org/article.php?IDPDF=1600067>

To cite this article / Pour citer cet article

Abdelkefi A., Boussaid M., Marrakchi M. **Complexe d'espèces et régime de reproduction dans la section des Intertextae : *Medicago ciliaris*, *Medicago intertexta***. In : Delgado I. (ed.), Lloveras J. (ed.). *Quality in lucerne and medics for animal production* . Zaragoza : CIHEAM, 2001. p. 107-110 (Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens; n. 45)



<http://www.ciheam.org/>
<http://om.ciheam.org/>

Complexe d'espèces et régime de reproduction dans la section des *Intertextae*: *Medicago ciliaris*, *Medicago intertexta*

A. Abdelkefi, M. Boussaid et M. Marrakchi

Laboratoire de Génétique, Faculté des Sciences de Tunis, 1060 Tunis, Tunisie

RESUME – L'étude du polymorphisme isoenzymatique de deux populations naturelles sympatriques de *Medicago ciliaris* et *Medicago intertexta*, révélé par électrophorèse sur gel d'amidon, a permis d'établir le contrôle génétique de quatre systèmes enzymatiques : GOT, 6PGD, PGI et PGM. Les cinq *loci* polymorphes mis en évidence, montrent que ces deux taxa botaniques sont fortement apparentés. Ils semblent constituer un complexe d'espèces subdivisé en deux compartiments, l'un à régime préférentiellement autogame (*M. ciliaris*) et l'autre à tendance allogame (*M. intertexta*).

Mots-clés : Isoenzyme, autogame, allogame, complexe d'espèces, *Medicago*, *Intertextae*.

SUMMARY – "Species complex and reproduction system in the *Intertextae* section: *Medicago ciliaris*, *Medicago intertexta*". Using starch gel electrophoresis, the genetic control of four enzymatic systems was investigated in a sympatric population of *Medicago ciliaris* and *Medicago intertexta*: GOT, 6PGD, PGI and PGM. The identified five loci suggested that the two taxa are closely related. They seem to form a species complex subdivided into two compartments. The former was predominantly autogamous (*M. ciliaris*), the latter shows an allogamous tendency (*M. intertexta*).

Key words: Isozyme, autogamous, allogamous, species complex, *Medicago*, *Intertextae*.

Introduction

Bien que les espèces annuelles du genre *Medicago* soient réputées généralement comme étant autogames, leur biologie de la reproduction reste encore insuffisamment, ou même, mal connue (Heyn, 1963 ; Lesins et Lesins, 1979). *Medicago ciliaris* (L.) Krock et *Medicago intertexta* (L.) Miller, espèces annuelles appartenant à la section des *Intertextae*, représentent un potentiel pastoral dont l'intérêt est indéniable dans les régions à climat méditerranéen de type semi-aride. L'électrophorèse d'enzymes, en révélant des marqueurs génétiques, constitue un des outils du criblage du polymorphisme ; la mise en évidence de *loci* polymorphes autorise la connaissance précise du régime de reproduction naturel de ces deux taxa botaniques et facilite ainsi la gestion de ces ressources phytogénétiques.

Matériel et méthodes

Matériel biologique

Les espèces de la section des *Intertextae* présentent des caractères typiques : forme de la gousse, couleur et taille de la graine, forme des grains de pollen. Elles constituent un ensemble bien défini par rapport aux autres espèces annuelles du genre *Medicago*. Sur la base d'une détermination à partir du fruit, un échantillon de gousses, collecté sur un même site, a été classé en deux catégories.

Le premier lot est formé par des gousses typiques de *Medicago ciliaris* dont le fruit est velu, cilié et à épines hérissées droites par rapport au corps de la gousse. La seconde catégorie, constituée de fruits glabres dont les épines sont plaquées contre le corps de la gousse, répond aux critères botaniques retenus pour définir *Medicago intertexta*.

La couleur noire et les dimensions des graines extraites des différentes gousses, ainsi que la forme pyramidale à base triangulaire des grains de pollen observée chez tous les individus sont caractéristiques des *Intertextae* (Lesins, 1963).

Les gousses, appartenant à chacune de ces catégories, sont écosées, les graines scarifiées sont mises à germer et les plantules obtenues sont repiquées en pots : soixante-six (66) plantes de *Medicago ciliaris* et quarante-sept (47) plantes de *Medicago intertexta* sont soumises à une analyse électrophorétique.

Electrophorèse

De jeunes feuilles non complètement étalées sont prélevées sur les rameaux des plantes âgées de deux mois. Pour chaque individu, 50 mg de feuilles fraîches sont broyées dans un tampon à 8,3% d'ascorbate de sodium à 0,4 molaire et à pH = 8,4. Sur un gel d'amidon à 13%, jusqu'à 26 extraits sont déposés et soumis à une électrophorèse horizontale dans un tampon L. Histidine citrate à pH = 6,5 (Cardy *et al.*, 1980). Après une migration, sous un voltage de 320 V et à ampérage constant de 50 mA, durant 6 heures, la partie anodique du gel est débitée en tranches dans le sens de l'épaisseur. Chacune des tranches est mise à incuber dans une solution de coloration spécifique pour révéler un isozyme donné.

Etude mendélienne (méthode de choix des individus retenus pour subir les autofécondations contrôlées)

Si la structure quaternaire d'un isoenzyme est connue, la lecture comparative des zymogrammes permet d'émettre une hypothèse sur le contrôle génétique et de cibler, sous cette hypothèse, des individus hétérozygotes pour un ou plusieurs *loci*. Des individus présumés ainsi hétérozygotes sont soumis à des autofécondations contrôlées et leur descendance respective est analysée pour éprouver l'hypothèse du déterminisme proposé pour chacun des systèmes isoenzymatiques étudiés.

Analyse des données

Pour une zone électrophorétique définie et un système enzymatique déterminé, l'hypothèse d'un *locus* biallélique à effet codominant est énoncée. La descendance d'autofécondation des individus hétérozygotes est vérifiée par rapport à une ségrégation du type "1-2-1" grâce à un test χ^2 à 2ddl au seuil de 0,05.

La structure génotypique de la population naturelle pour un *locus* donné est éprouvée par rapport à l'équilibre panmictique grâce à un test χ^2 à 1ddl au seuil de 0,05. Quelquefois le χ^2 de conformité usuel pour tester l'écart à la panmixie n'est pas réalisable à cause de l'insuffisance de l'effectif attendu de certaines classes. Dans de tels cas, il est admis de regrouper en une seule classe les homozygotes (Levène, 1949) et de faire un χ^2 (à 1ddl au seuil de 0,05) de conformité par rapport à l'hypothèse de l'équilibre panmictique.

Résultats

Enzymes monomorphes

Aussi bien chez *M. intertexta* que chez *M. ciliaris*, aucun polymorphisme n'est détecté pour deux systèmes isoenzymatiques : l'isocitrate déshydrogénase (ICD) et la malate déshydrogénase (MDH).

Enzymes polymorphes

(i) Glutamate oxaloacétate transaminase (GOT EC 2.6.1.1.). Deux zones d'activité de la GOT sont mises en évidence sur le gel. Une zone de migration lente présente toujours une bande, elle correspond à un locus monomorphe GOT2. Une zone de migration rapide GOT1 compatible avec l'hypothèse d'un *locus* GOT1 biallélique (A et B) à effet codominant. La population naturelle de *M. ciliaris* se caractérise par son homozygotie, alors que celle de *M. intertexta* présente une structure génotypique conforme à une distribution panmictique. Les distributions de fréquences alléliques sont nettement différentes entre ces deux populations naturelles (Fig. 1).

(ii) Phosphogluconate déshydrogénase (6PGD EC 1.1.1.43.). Les trois zymogrammes révélés possèdent toujours en commun une bande rapide. Cette zone répond à un locus monomorphe 6PGD1. Alors que le contrôle génétique de la zone de migration lente est conforme à l'hypothèse d'un gène 6PGD2 à deux allèles (A et B) codominants. *M. ciliaris* apparaît comme strictement homozygote et monomorphe pour l'allèle 6PGD2A. Après le regroupement des classes homozygotes, l'hypothèse de l'équilibre panmictique semble être vraisemblable pour le locus 6PGD2 dans la population naturelle de *M. intertexta* (Fig. 1).

(iii) Phosphoglucose isomérase (PGI EC 5.3.1.9.). L'unique zone d'activité enzymatique notée répond à un contrôle monogénique PGI avec deux allèles (A et B) à effet codominant. *M. ciliaris* présente un seul zymogramme, témoin de l'homozygotie et de la monomorphie pour l'allèle PGI.A de cet échantillon. Par contre la population naturelle de *M. intertexta*, après le regroupement des homozygotes en une classe, semble révéler une structure génotypique pour le locus PGI conforme à celle de l'équilibre panmictique (Fig. 1).

(iv) Phosphoglucomutase (PGM EC 2.7.5.1.). Deux zones d'activité variables sont révélées sur le gel. La zone de migration rapide PGM1 est sous le contrôle d'un locus PGM1 bi-allélique (A et B) à effet codominant. La zone de migration lente PGM2 présente un déterminisme génétique compatible avec l'hypothèse d'un locus PGM2 à deux allèles codominants (A et B). *M. ciliaris* se distingue par l'homozygotie de tous les individus de l'échantillon étudié pour les deux *loci* PGM1 et PGM2, tandis que la structure génotypique de la population naturelle de *M. intertexta* est compatible avec une situation d'équilibre panmictique pour les deux gènes PGM1 et PGM2 (Fig. 1).

Enzymes	GOT1			6PGD2			PGI			PGM1			PGM2		
	AA	AB	BB	AA	AB	BB	AA	AB	BB	AA	AB	BB	AA	AB	BB
Profils électrophorétiques	—	—	—	—m	—m	—	—	—	—	—	—	—	—m	—m	—
<i>M. ciliaris</i> : Ob	61	0	5	66	0	0	66	0	0	64	0	2	4	0	62
Fréquences alléliques	GOT1A = 0,92 ± 0,05 GOT1B = 0,08 ± 0,05			6PGD2A = 1			PGI.A = 1			PGM1A = 0,97 ± 0,03 PGM1B = 0,03 ± 0,03			PGM2A = 0,06 ± 0,04 PGM2B = 0,94 ± 0,04		
<i>M. intertexta</i> : Ob	8	21	18	28	13	6	32	13	2	9	21	17	36	9	2
Th	7,3	22,4	17,3	25,3	18,4	3,3	31,5	13,8	1,5	8,1	22,8	16,1	34,9	11,2	0,9
CHI 2	$\chi^2 = 0,19$			$\chi^2 = 2,56$			$\chi^2 = 0,07$			$\chi^2 = 0,3$			$\chi^2 = 0,56$		
Fréquences alléliques	GOT1A = 0,39 ± 0,1 GOT1B = 0,61 ± 0,1			6PGD2A = 0,73 ± 0,09 6PGD2B = 0,27 ± 0,09			PGI.A = 0,82 ± 0,08 PGI.B = 0,18 ± 0,08			PGM1A = 0,42 ± 0,1 PGM1B = 0,58 ± 0,1			PGM2A = 0,86 ± 0,07 PGM2B = 0,14 ± 0,07		

Fig. 1. Distribution des fréquences des profils électrophorétiques des différents isozymes polymorphes au sein des populations naturelles de *M. ciliaris* et *M. intertexta*.

Discussion

Sur six systèmes isoenzymatiques, *M. ciliaris* répond par quatre systèmes monomorphes (ICD, MDH, 6PGD et PGI), seuls deux enzymes (GOT et PGM) révèlent une variabilité électrophorétique et permettent ainsi d'identifier trois *loci* polymorphes (GOT1, PGM1 et PGM2). *M. ciliaris* se caractérise par une homozygotie nette rencontrée dans l'ensemble des *loci* identifiés. Ce premier constat permet d'indiquer le régime autogame prononcé de *M. ciliaris*.

A partir de quatre systèmes isoenzymatiques variables, cinq *loci* polymorphes sont définis chez *M. intertexta*. La structure génotypique de l'échantillon représentant la population naturelle de *M. intertexta* est compatible avec l'hypothèse de l'équilibre panmictique pour chacun des cinq *loci* mis en évidence. L'hétérozygotie constatée au sein de la population naturelle de *M. intertexta* est le témoin d'une aptitude

à l'allopollinisation ; ce système de reproduction peut même atteindre, sous certaines conditions, une situation d'équilibre panmictique.

Plusieurs espèces annuelles du genre *Medicago* placées dans une serre en l'absence d'agents pollinisateurs produisent des gousses et des graines à l'exception de *M. intertexta* (Heyn, 1963). Cette observation indiquerait la nécessaire intervention d'un agent de déclenchement de la fleur dans le processus de la pollinisation de *M. intertexta* et suggérerait pour ce taxon une certaine tendance à l'allogamie établie par les résultats de cette étude.

Dans le cas présent, la sympatrie de ces deux taxa constitue non seulement une situation de proximité entre individus appartenant à *M. ciliaris* et *M. intertexta*, mais aussi une exposition comparable aux différents facteurs biotiques et abiotiques qui définissent le milieu environnant. Ainsi le vecteur de déclenchement des fleurs devrait, dans une telle situation de proximité, visiter aussi bien les fleurs de *M. ciliaris* que celles de *M. intertexta*. Il ne semble pas que ce facteur, favorable aux déclenchements des fleurs, puisse influencer le régime préférentiel de reproduction de *M. ciliaris* qui reste essentiellement autogame, mais il n'est pas inutile de signaler, par ailleurs, que la taille de l'échantillon étudié ne permet pas d'identifier des événements dont la probabilité de réalisation est extrêmement faible comme de légers flux géniques dus à une allopollinisation résiduelle. Par contre *M. intertexta*, placée dans les mêmes conditions de milieu et exposée au vecteur de déclenchement des fleurs se reproduit sous un régime panmictique.

La réussite, sans difficulté aucune, de l'hybridation artificielle entre *M. ciliaris* et *M. intertexta* (Lesins *et al.*, 1971) indiquerait que, dans la nature, ces deux formes botaniques pourraient échanger des gènes lorsque les conditions favorables sont réunies : sympatrie, floraison synchrone et présence du vecteur de pollinisation. Il existerait donc de fortes présomptions quant à la possibilité de l'hybridation naturelle entre *M. ciliaris* et *M. intertexta*.

Conclusion

Deux plantes appartiendraient au même complexe d'espèces, si dans les conditions naturelles, elles peuvent échanger des gènes avec une probabilité non nulle (Pernès, 1984). Ainsi, ces deux taxa botaniques, *M. ciliaris* et *M. intertexta*, formeraient un complexe d'espèces subdivisé en compartiments définis respectivement par leur régime de reproduction naturel préférentiel.

Le premier compartiment est formé par *M. ciliaris* où l'autogamie apparaît comme le régime de reproduction dominant sans qu'elle soit un obstacle majeur et total à la réussite des allofécondations.

M. intertexta, dont le régime de reproduction est réputé classiquement autogame, constitue le second compartiment. Ce compartiment spécifique semble, à l'évidence, accepter les allofécondations et peut même évoluer sous un régime panmictique si les conditions du milieu sont favorables et en particulier lorsque le vecteur de déclenchement des fleurs et donc d'allopollinisation est présent.

Références

- Cardy, B.J., Stuber, C.W. et Goodman, M.M. (1980). *Techniques for Starch Gel Electrophoresis of Enzymes from Maize (Zea mays L.)*. Institute of Statistics, Mimeograph Series No. 1317. North Carolina State University, Raleigh, North Carolina, 31 pp.
- Heyn, C.C. (1963). *The Annual Species of Medicago*. Scripta Hierosolymina, The Hebrew University, Jerusalem, 154 pp.
- Lesins, K. (1963). Pollen morphology and species relationship in *Medicago* L. *Can. J. Genet. Cytol.*, 5 : 270-280.
- Lesins, K. et Lesins, I. (1979). *Genus Medicago (Leguminosae), A Taxogenetic Study*. Dr. W. Junk, The Hague, Boston, London, 228 pp.
- Lesins, K., Sing, S.M. et Erac, A. (1971). Relationship of taxa in the genus *Medicago* as revealed by hybridization. V. Section *intertextae*. *Can. J. Genet. Cytol.*, 13 : 335- 346.
- Levène, H. (1949). On a matching problem arising in genetics. *Ann. Math. Stat.*, 20 : 91-94.
- Pernès, J. (1984). *Gestion des Ressources Génétiques des Plantes*, Tome 2. Lavoisier, Paris, 346 pp.