50

Nº d'ordre : 312

50376 1974 **95**

UNIVERSITÉ DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE

THÈSE

présentée à

L'UNIVERSITÉ DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE

pour obtenir le grade de

DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

par

Raymond JEAN



LA LÉTALITÉ POLLINIQUE dans le système génétique du sous-genre Eu-Oenothera

Soutenue de 27 Septembre 1974, devant la COMMISSION D'EXAMEN

Membres du Jury :

M. R. LINDER
Mme A. GAGNIEU
M. M. DURCHON
M. K. ESSER
M. J. LOSFELD

Président

Examinateurs

111.00

Monsieur le professeur Robert LINDER m'a confié ce sujet, pris dans la systématique et la génétique des Oenothères qu'il a introduites dans la recherche française. Je le remercie pour cet honneur, pour sa direc = tion et pour l'esprit de précision et de finition qu'il m'a apportés.

J'ai trouvé auprès de Madame le professeur A. GAGNIEU l'appui du biologiste et du généticien. Je la remercie pour cette aide précieuse.

J'adresse tous mes remerciements à Messieurs les professeurs Maurice DURCHON et Karl ESSER qui, en acceptant de critiquer ce travail, m'apportent leur expérience de chercheur et de biologiste.

Monsieur Joseph LOSFELD, Maître-Assistant Docteur, m'avait accordé l'aide de ses connaissances en statistique. Je le remercie de juger mes résultats.

Mademoiselle Anne-Marie LAMBERT, Maître-Assistant Docteur, a collaboré au travail d'analyse cytogénétique des espèces. Je la remercie vivement.

Je remercie les chercheurs qui m'ont apporté leurs conseils: Monsieur le docteur Joseph DIETRICH; Messieurs les professeurs Ernest BONNOT, André DHAINAUT; l'équipe des assistants du laboratoire, Bernard BRIS, Jean DELAY, Daniel PETIT et Paul TOMBAL; Messieurs les Maîtres-Assistants Roland BLONDEAU, Gérard PRENSIER et Gérard VIDAL.

J'exprime toute ma gratitude à ceux et à celles qui par leur compétence et leur travail ont participé à ma recherche: Madame Madeleine BAEHL, à qui je dois une reconnaissance particulière pour sa précision à confectionner les préparations cytologiques et à reproduire les lots expéri= mentaux; Madame A. REMY, ingénieur analyste programmeur au C.I.T.I.; le per= sonnel du Laboratoire, Mesdames L. AMEEL et G. LECOCQ, Messieurs A. CONVAIN et R. MAERTEN; les jardiniers, Messieurs J. ACKER et B. PLANCQ.

Je remercie Mademoiselle Maryse AGUS, Messieurs DOMAS, D. LAZARECKI et J.P. PROUVOST qui ont mis tous leurs soins à la mise en page et à l'illustration du mémoire.

PLAN du MEMOIRE

INTRODUCTION	Pages
Les systèmes génétiques du sous-genre Eu-Oenothera	7
Le Matériel	16
Historique des recherches sur le pollen des Oenothères	
hétérozygotes	22
Les Oenothères du continent américain	32
1° Partie : MORPHOLOGIE ET DEVELOPPEMENT DU POLLEN	36
I - Les techniques	36
II - Le pollen à l'anthèse	
A - Le grain de pollen normal	40
1) La morphologie externe du grain	40
2) La stratification du sporoderme	41
3) La cellule végétative et la cellule reproductrice	44
4) L'ultrastructure du protoplasme de la cellule	
végétative	46
B - Le grain vide comparé au grain normal	48
1) Morphologie du grain	
2) Le sporoderme	48
3) Ressemblance et différences entre grain normal	
et grain vide	51
C - Le grain inactif	
1) Morphologie	51
2) Etat physiologique	52

1

,

	Pages
III - Le développement du gamétophyte mâle	54
A - De la tétrade à la mitose pollinique	55
1) La disposition des 4 micros p opes dans la	
tétrade	55
2) La po pulation des tétrades	56
3) La structure de la microspore	57
4) La 1ère mitose pollinique	58
B - Le jeune gamétophyte binucléé	59
C - Le gamétophyte vacuolisé	60
D - Le stade de maturation	61
1) Le grain préadulte	61
2) Les transformations de l'image pollinique	62
Conclusion	63
2° Partie : ANALYSE STATISTIQUE DE LA POPULATION POLLINIQUE	65
I - Le dénombrement de la population pollinique	67
A - Fixation et observation de la population	
pollinique	67
B - L'échantillon de la population pollinique	68
II - Démonstration statistique de la ségrégation des allèles	
+/p dans le pollen d'Oe. purpurata	
A - Méthode	69
B - Résultats	71
C - Interprétation de la valeur de l'écart-type	
expérimental	72
Conclusion	74

III - La ségrégation "grains actifs / grains inactifs/	Pages
grains vides"	75
A - Analyse de la distribution des pourcentages	
à l'intérieur d'une classe de grains	75
1) Aperçu d'ensemble	75
2) L'homogénéité des sous-populations	78
3) La normalité de la fonction fréquence des	
pourcentages	81
Conclusion	
B - La liaison entre les pourcentages des 3 classes	
de grains	84
1) La méthode statistique	84
2) Les résultats statistiques	104
3) Interprétation : l'organisation des tétrades	108
Conclusion : la signification génétique de l'organisation	
des tétrades	113
Conclusion à l'analyse génétique de la population pollinique	115
Annexe statistique	117
3° Partie : L'HEREDITE DE L'IMAGE POLLINIQUE	138
I - La transmission du facteur de létalité p.	139
A - Description de la descendance de la plante	
hétérozygote +/p	141
B - Interprétation génétique de la descendance de	
la plante hétérozygote +/p	142
1) les facteurs de létalité p ₁ et p ₂	142
2) Signification de la proportion de ségrégation	
sporophytique de +/+ et +/p	143
C - Répartition du facteur p dans la population de	
purpurata	146
Conclusion	148

Pages II - Le mécanisme génétique du maintien de la létalité pollinique des hétérozygotes de complexes 149 149 A - Méthode d'étude 1) Le raisonnement génétique 149 149 2) L'analyse pollinique 3) La descendance d'hybrides 150 B - Les résultats de croisements entre hétérozygotes de complexes 151 1) ersteinensis x lamarckiana 151 151 2) Vue d'ensemble sur les hybrides F_1 d'ersteinensis 3) Descendance des hybrides de lère génération 152 Conclusion 153 C - Descendance de croisements hétérozygotes x homozygotes 154 1) Vue d'ensemble 2) Descendance de l'hybride : Blandina x nuda 156

III - L'apparition de la létalité pollinique dans les croisements entre homozygotes. Conclusion

- Discussion et conclusion générales 175
- 4° <u>Partie annexe</u> : la méthode taxonomique dans le sous-genre la *Eu-Oenothera* (Plan au verso)

LA METHODE TAXONOMIQUE

DANS LE SOUS-GENRE EU-OENOTHERA

PLAN

Pages

I - Les données de référence	2
A - La reconnaissance des complexes standard	2
B - La formule chromosomique des complexes standard	5
C - Les relations génome-plastome	7
II - Analyse cytogénétique de species novae	11
.Oenothera ersteinensis Linder R. et Jean R. (1969)	11
A - L'analyse factorielle des complexes	15
1 - Le complexe mâle virens	15
2 - Le complexe femelle cruens	17
3 - La comparaison des hybrides <i>cruenta</i> et <i>virida</i> et l'hétérogamie relative d' <i>ersteinensis</i>	18
4 - Les réactions génome-plastome	22
B - L'analyse structurale des complexes	23
1 - Le complexe virens	23
2 - Le complexe <i>cruens</i>	26
C - Relation entre la formule chromosomique et le génome	29
Conclusion	30
. <i>Oenothera nuda</i> Renner (1956)	32
A - L'analyse factorielle des complexes	33
B - L'analyse structurale des complexes	33
Conclusion	34
Conclusion à la méthode taxonomique	35

INTRODUCTION

_ • • _ • • _ • • _

Lorsqu'on observe le pollen d'une Oenothère de la flore française, on y voit des grains pleins, des grains vides et des grains plus ou moins régressés. La planche I donne l'image pollinique de quelques espèces : Oenothera biennis, espèce très commune, pionnière sur tous les terrains en voie de colonisation, en particulier sur les terrils, présente une population pollinique nettement divisée en 3 classes de grains, des grains pleins homogènes, des grains ratatinés, de plus petite taille, et des grains vides transparents. Oenothera syrticola dont nous avons prospecté une station dans la région méridionale de la plaine d'Alsace, présente également 3 classes de grains ; dans les grains régressés apparaissent des amyloplastes sphériques. Oenothera ersteinensis, espèce des alluvions du Rhin et de l'III, dans la région de Strasbourg, montre à première vue 2 classes de grains, des grains pleins et des grains vides ; mais les grains pleins sont hétérogènes, certains grains sont plus ramassés, moins turgescents, ils forment une classe distincte. Enfin Oenothera lamarckiana, espèce répendue sur les dunes du littoral de la Manche, montre 2 types de grains, des grains pleins et des grains vides.

Cette image pollinique hétérogène s'oppose bien à celle de certaines Oenothères américaines de l'espèce collective *hookeri*, dont l'image figure sur la planche I : tout le pollen est plein et homogène, les grains vides apparaissent accidentellement. Il faut ajouter un groupe d'espèces appelées mutants de translocation qui ont également une image pollinique dépourvue de grains létaux ; *Oenothera blandina* fait partie de ce groupe.

Planche I : Images polliniques (x 90)

A. Homozygotes



hoo keri



blandina

B. Heterozygotes



biennis



syrticola



ersteinensis



lamarckiana

B. Hétérozygotes

L'objet de notre travail est de rechercher l'origine génétique de la létalité pollinique et, par voie de conséquence, de connaître la raison pour laquelle certaines espèces ont du pollen normal, et d'autres du pollen normal et létal.

La présence des grains létaux a toujours intrigué les chercheurs qui se sont occupés d'Oenothères, et jusqu'à présent aucune interprétation satisfaisante n'a été fournie. Depuis 1910, les travaux se sont accumulés et ont abordé tous les aspects de la létalité. En les résumant nous nous proposons de rechercher l'idée-guide du problème de la létalité pollinique.

Mais avant d'aborder le problème de la létalité pollinique, nous nous sommes initiés à la génétique des Oenothères en faisant l'analyse cytogénétique de deux espèces nouvelles : *nuda* et *ersteinensis*. Ce travail est présenté dans la partie annexe en fin du mémoire.

LES SYSTEMES GENETIQUES DU SOUS-GENRE EU-OENOTHERA

_00_00_00_00_00_

Nous nous proposons de donner l'état des connaissances sur la génétique des Oenothères. Lorsque nous avons commencé notre travail, nous avons été guidé par les aperçus caryosystématiques de R. LINDER (1957, 1959 et 1962).

On distingue dans le sous-genre *Eu-Oenothera* deux systèmes génétiques, celui des plantes homozygotes et celui des plantes hétérozygotes.

I. - LE SYSTEME GENETIQUE DES HOMOZYGOTES.

Les Oenothères homozygotes sont représentées dans la flore du continent américain par les espèces *hookeri*, *elata*, *grandiflora* et *argillicola*, dans la flore européenne par une seule espèce, purpurata.

Ces espèces ont en commun les caractères cytogénétiques suivants : - les cellules-mères, en diacinèse, montrent 7 bivalents, très rarement des petits anneaux de 4 chromosomes;

- l'image pollinique est homogène, composée uniquement de grains pleins, fertiles. Les grains vides apparaissent accidentellement;

- dans les croisements entre espèces homozygotes, la morphologie de l'hybride F_1 est indépendante du sens du croisement : les hybrides réciproques sont identiques.

Ces trois caractéristiques se retrouvent dans la majorité des espèces d'Angiospermes, mais dans le sous-genre *Eu-Oenothera* elles prennent un relief particulier à cause de la comparaison que l'on peut faire avec les espèces hétérozygotes. La présence de bivalent en diacinèse montre qu'entre 2 chromosomes appariés, l'homologie s'étend sur toute la longueur du chromosome, et ceci pour les 7 paires de chromosomes homologues. On dit alors que la plante est homozygote de structure.

Comme le montre la figure de diacinèse de *purpurata*⁺(Pl. II), tous les bivalents sont identiques. Le centromère est médian et les 2 bras de chromosomes égaux. On voit nettement l'hétérochromaticité du chromosome : les portions proximales du centromère de chaque bras sont intensément colorées par le carmin, les portions distales sont faiblement colorées, plus fines et elles s'atténuent progressivement par l'effet de terminalisation des chiasmas.

En métaphase I, toutes les interpolations des 7 bivalents sont possibles sans que la vie du gamétophyte mâle soit atteinte. En effet les 4 microspores d'une tétrade évoluent en un grain normal.

Les croisements interspécifiques démontrent que tous les grains transmettent le même génome, ce qui signifie que les 7 paires de chromosomes homologues portent des couples d'allèles identiques.

En définitive, l'Oenothère homozygote est un homozygote génétique et structural.

II. - LE SYSTEME GENETIQUE DES HETEROZYGOTES.

Les espèces hétérozygotes se reconnaissent aux caractères cytogénétiques suivants:

1 - un anneau de translocation en diacinèse de la méiose. Cet anneau peut être composé de 14 chromosomes, ou être plus petit et accompagné de bivalents, ou bien la figure de diacinèse peut montrer plusieurs anneaux, par exemple un anneau de 8 et un anneau de 6 chromosomes.

Le travail portant uniquement sur le genre Oenothera, la seule indication du nom d'espèce sera dorénavant utilisée sans répétition du nom du genre, ni de son abréviation.

2 - l'image pollinique à grains régressés et à grains vides.

3 - la capsule contenant une certaine proportion de graines vides.

4 - les hybrides réciproques interspécifiques différents par leur morphologie, leur figure de diacinèse et l'image pollinique.

La juxtaposition de ces caractères détermine un système génétique original et rare en biologie, dont l'aboutissement est la lignée pure d'hétérozygotes.

La progression des connaissances de ce système s'est faite comme en génétique mendélienne : on a d'abord décrit les phénomènes génétiques, puis on en a recherché l'interprétation cytologique.

A. LES EVENEMENTS GENETIQUES.

L'espèce est une combinaison de 2 complexes qui se maintient grâce à la létalité compensée gamétophytique et à la létalité des combinaisons homozygotes.

1-L'espèce est la combinaison de 2 complexes :

La première observation qui nous éloigne apparemment de la génétique mendélienne est que 2 espèces hétérozygotes croisées entre elles donnent un phénotype F_1 différent suivant le sens du croisement.

Prenons l'exemple du croisement interspécifique

biennis x syrticola

Avec biennis, comme plante femelle, et **syrticola** apportant le pollen, la plante F₁ présente la tige verte non ponctuée, faiblement pubescente, les feuilles lancéolées, longues à nervure incolore, l'inflorescence nutante avec des boutons floraux courts aux pointes divergentes, et des fleurs petites (pétale 20 mm).

Dans le croisement réciproque où *biennis* apporte le pollen, la plante F_1 présente la tige ponctuée, pubescente, la feuille large, obtuse, vert-foncé, gaufrée, l'inflorescence droite-érigée avec des boutons floraux aux pointes accolées et des fleurs de taille moyenne (pétale de 25 à 30 mm). Si l'on croise une même espèce avec une série d'autres espèces, les hybrides d'un sens du croisement ont des caractères communs qui s'opposent bien à ceux de l'autre sens du croisement. Prenons l'exemple de syrticola croisé avec d'autres espèces : quand syrticola apporte le pollen, toutes les F_1 ont l'inflorescence nutante, les boutons floraux petits aux pointes divergentes ; quand syrticola est la plantemère, toutes les F_1 ont une inflorescence érigée, les boutons floraux aux pointes appliquées, la tige finement ponctuée. Dans l'un ou l'autre groupe d'hybrides se retrouve toujours le même ensemble de caractères et jamais un mélange des deux, par exemple aucun hybride n'a à la fois l'inflorescence nutante et des boutons floraux aux pointes appliquées. De là, on déduit que l'ovule et le pollen transmettent chacun un ensemble de caractères solidaires.

Ce bloc de caractères est appelé complexe. DE VRIES et,à sa suite,RENNER ont dénommé les complexes par le caractère marquant. Pour syrticola, le complexe femelle est appelé rigens car il transmet le caractère tige érigée, et le complexe mâle est appelé curvans, car il transmet le caractère tige nutante. Les généticiens américains, confrontés avec un éventail d'espèces beaucoup plus important qu'en Europe, ont pris l'habitude de désigner le complexe femelle par α et le complexe mâle par β .

L'hétérozygotie de l'Oenothère hétérozygote résulte donc de la combinaison de 2 complexes. Le phénotype de l'espèce est généralement celui du complexe dominant. Ainsi pour *biennis*, le complexe *rubens* détermine le phénotype de l'espèce.

2-La létalité gamétophytique balancée :

Les résultats observés dans les croisements interspécifiques mettent en évidence 2 complexes chez une espèce, l'un est fonctionnel (ou actif selon RENNER) du côté mâle, l'autre du côté femelle. Par exemple pour syrticola, le pollen transmet uniquement curvans et l'ovule le complexe rigens ; Il en découle qu'entre gamétophyte mâle et gamétophyte femelle, il y a une inactivation compensée des complexes que les auteurs ont appelée létalité balancée. Ainsi pour syrticola, curvans est inactif dans l'ovule, rigens dans le pollen ; par autofécondation on obtient toujours la combinaison spécifique rigens / curvans. La plante est dite hétérogamétique.

3-La létalité des combinaisons homozygotes :

Le maintien de la lignée pure hétérozygote est parfaitement assuré si la plante est strictement hétérogamétique, comme c'est le cas pour syrticola et nuda. Pour d'autres espèces, le complexe fonctionnel n'est pas toujours lié au pollen ou à l'ovule. Par exemple, dans les croisements interspécifiques où coronifera est la plante-mère, 60 % des hybrides F_1 ont reçu le complexe velans et 40 % le complexe quaerens, dans le croisement réciproque les F_1 portent toutes le complexe velans. Cette espèce se révèle strictement hétérogamétique du côté mâle, et relativement hétérogamétique du côté femelle. Chez biennis 25 % des F_1 portent le complexe rubens et 75 % le complexe albicans. Nous verrons plus loin que ersteinensis transmet dans le pollen virens et cruens, dans l'ovule uniquement cruens. Enfin certaines espèces transmettent les 2 complexes à la fois dans le pollen et dans l'ovule. Elles sont dites isogamétiques. Lamarckiana en est l'espèce type.

Si on tient compte de l'activité des complexes observée dans les croisements interspécifiques, il faut admettre que lors de l'autofécondation de l'espèce se réalisent des combinaisons homozygotes de complexes. Or, celles-ci n'apparaissent pas dans la descendance d'une plante isogamétique. Elles doivent donc être éliminées dans les graines. Théoriquement il faut s'attendre à 50 % de graines vides : c'est ce que RENNER observe dans les capsules de *lamarckiana*. Il déduit que ces graines vides correspondent aux combinaisons homozygotes de complexes qui sont devenues létales.

La lignée pure d'hétérozygotes peut donc se maintenir par deux mécanismes : la létalité compensée au niveau du gamétophyte et la létalité des combinaisons homozygotes. Ces deux mécanismes sont schématisés dans les échiquiers suivants :

or Q	<i>rigens</i> inactif	curvons actif	0	velans	gaudens
<i>rigens</i> actif	_	rigens/ curvans	velans	v/v létal	v/g
<i>curvans</i> inactif	_	-	gaudens	v/g	<i>g/g</i> létal

La létalité compensée chez syrticola = rigens/curvans la létalité des combinaisons homozygotes chez *lamarckiana* = gaudens/velans (g/v). Le complexe suppose sur le plan cytologique 2 conditions:

<u>lère condition</u>: Le lot haploïde de 7 chromosomes doit toujours être composé des 7 mêmes chromosomes; cela veut dire qu'à un pôle anaphasique de la cellule-mère migrent toujours les mêmes 7 chromosomes. Cette situation est à l'inverse d'une méiose normale où les bivalents s'interpolent au hasard. Elle suppose que le complexe est supporté par une structure chromosomique.

<u>2ème condition</u>: Les chiasmas du pachytène ne doivent pas faire apparaître des recombinaisons génétiques entre complexes.

Le complexe est la conséquence de deux phénomènes cytologiques:

1 - Le système de translocation réciproque étendu aux 14 chromosomes;

2 - la disposition alternée en métaphase I.

1 - translocation

Une figure de caténation de 14 chromosomes, comme celle d'ersteinensis (Pl. II) indique que les 14 chromosomes ont échangé entre eux des bras non homologues. Mais la grande originalité des Oenothères est que le chromosome après translocation est analogue au chromosome des plantes homozygotes: les 14 chromosomes ont la même taille, le centromère est médian, les bras sont égaux, la région proximale du centromère est hétérochromatique. On en déduit que le lieu de translocation est la région du centromère. Les deux bras du chromosome proviennent à l'origine de deux chromosomes différents non homologues.

Au pachytène, l'appariement se réalise entre bras homologues de chromosomes; il aboutit à une figure hypothétique en étoile, imaginée par DARLINGTON C.D. (1931) et reprise par CATCHESIDE D.G. (1939). Les extrémités des 2 bras s'apparient, mais la région proximale des centromères ne peut s'apparier (Fig. 1).

Cette disposition suggère aux auteurs une nouvelle hypothèse: la région proximale non appariée porte les caractères spécifiques PLANCHE II : Figures de diacinèse dans le genre Eu-Oenothera.



1. Espèce homozygote : Oe. purpurata (x 1.700) : 7 bivalents

 Espèce hétérozygote: Oe. ersteinensis (x 2.000) : un anneau de translocation de 14 chromosomes. - Coloration au Carmin acétique ferrique.

Figure 1 : Déroulement de la Méiose chez les Enothères

permettant d'expliquer la réalisation d'une « lignée pure d'Hétérozygotes ».



Schéma de l'appariement au Pachytène



Caténation en Diacinèse



Disposition alternée en Métaphase 1



Schéma de distribution

Extrait de "Les Oenothères et leurs particularités".

(R. LINDER, 1959).



du complexe. Elle est appelée segment différentiel. Par contre sur les extrémités de bras sont situés les loci d'allèles homozygotes : c'est le segment distal homozygote. Entre les deux segments se situe une région intermédiaire, où suivant les complexes appariés, des échanges peuvent se réaliser.

Durant le diplotène, les centromères se repoussent, les chiasmas terminalisent, la figure en étoile se transforme en une figure en anneau dans laquelle les chromosomes restent reliés par une fine traînée chromatique due au dernier chiasma. C'est la figure caractéristique de la diacinèse.

2 - disposition alternée en métaphase I.

En métaphase I, les chromosomes provenant de l'anneau diacinétique alternent régulièrement par rapport au plan équatorial de la cellule-mère. Cela veut dire que dans la suite des chromosomes de l'anneau, un centromère est tiré vers un pôle, le centromère du chromosome adjacent vers l'autre pôle, et ainsi de suite (Fig. 1).

Cette disposition a deux conséquences importantes : - la disjonction se fait entre les 14 paires de bras homologues. La méiose est donc équilibrée ;

- les 7 chromosomes migrant vers un pôle anaphasique sont toujours les mêmes. Ils sont solidaires entre eux. De même deviennent solidaires les facteurs portés par ces 7 chromosomes. La méiose sépare ainsi 2 types de gamètes en proportion égale, identiques aux 2 types de gamètes parentaux.

Le complexe est donc à la fois génétique et structural.

En conclusion, le système génétique des Oenothères hétérozygotes est basé sur des particularités cytologiques et génétiques :

- la caténation durant la prophase de méiose ;

- la létalité compensée des gamètes ;

- l'élimination des combinaisons homozygotes de complexes.

(Dans la partie annexe est présenté un glossaire qui reprend les termes génétiques propres aux Oenothères).

Il découle de cette description qu'un travail sur les Oenothères doit être basé sur des espèces analysées sur le plan cytogénétique. Nous avons pu utiliser la collection de Renner à la fois pour l'analyse cytogénétique des nouvelles espèces et pour la recherche sur le pollen.

LE MATERIEL

_ • • _ • • • _ • • _ -

La collection de RENNER constitue un fond commun à tous les auteurs qui travaillent sur les Oenothères. Pour la constituer, RENNER était parti des espèces mises en culture par DE VRIES. Il l'a augmentée de nouvelles espèces, dont lui-même ou ses élèves ont fait l'analyse cytogénétique. Monsieur LINDER l'a obtenue de RENNER en 1957.

La liste des espèces avec leurs caractères cytogénétiques figure dans le tableau l (pour les questions de systématique, nous renvoyons à la partie annexe). Cette liste demande quelques précisions.

Comme les espèces présentent des formes stationnelles, il faut tenir compte de la détermination donnée par les auteurs généticiens.

Hookeri est la souche isolée par DE VRIES dont l'arrangement des bras de chromosomes est défini comme l'arrangement de référence.

Franciscana est la souche qu'EMERSON et STURTEVANT ont analysée cytologiquement (1931).

Blandina a été appelée initialement lamarckiana, mutation velutina. C'est un mutant de translocation isolé par DE VRIES (1917, 1923).

Pour *lamarckiana*, le nom spécifique le plus ancien est erythrosepala Borbas, 1903 (Flora Europaea, T. II), mais nous conservons l'ancien nom *lamarckiana* donné par DE VRIES. Car nous utilisons la souche que DE VRIES a isolé dans la région d'Hilversum. Grandiflora l'Héritier est la plante que DE VRIES a ramenée d'un voyage aux Etats-Unis et qu'il a déterminée sous ce nom spécifique. Elle est hétérozygote de complexes truncans - neoacuens et appartient à l'espèce collective biennis II (CLELAND, 1950 et 1972). Cette espèce est totalement différente de la grandiflora de la flore américaine, qui est homozygote.

Suaveolens Desfontaines, appelée par RENNER suaveolens standard, est la souche que DE VRIES a obtenue à partir de graines récoltées par BLARINGHEM dans la forêt de Fontainebleau. La souche suaveolens de Friedrichshaden (région orientale de Berlin) donne une forte proportion de la variété sulfurea (s/s) (STUBBE W., 1953).

		Origine : Collection	RENNER, Müni	ch).	
Espèces	Differenciation gamétique	Complexes actifs	Génome/ Plastome	Diacinèse	Pollen
I. <u>Espèces du groupe <i>Hookeri-Strigosae.</i> Oe. <i>cockerelli</i> Bartlett</u>	hétérogamétique	q : curtans or : elongans	AA/I	14	3 classes
0e. franciscana Bartlett	homogamétique	4 : ^h franciscana • : ^h franciscana	AA/I	7 x 2	Homogène
<i>Oe. hookeri</i> Torrey et Gray	homogamétique	<mark>q</mark> : ^h hookeri o r : ^h hookeri	AA/I	7 x 2	Homogène
0e. hungarica Borbas	hétérogaméti que	p : lazzans or : undans	ÅÅ/I	1 4	3 classes
II. <u>Espèces du groupe <i>Strictae</i> (selon l</u> 0e. <i>biennis</i> L.	R <u>ENNER) = <i>Biennis</i> (s</u> e hétérogamétique	plon CLELAND.) P : albicans ou mubens(25 k) o [*] : rubens	AB/II	8,6	3 classes
0e. biennis L.var.sulfurea	hétérogamétique	<pre>p : s-albicans ou s-rubens(25 %) o : s-rubens</pre>	AB/II	8,6	3 classes

TABLEAU 1 : Liste des espèces standard d'Eu-Denotherra utilisées pour notre travail.

•

Le symbole "h" (= haploïde) signifie que le nom s'applique au génome haploïde.

898 (1115

+

<i>Oe. biennis</i> L. var. <i>cruciata</i> Klebahn	hétérogamétique	• : cr-albicans ou cr-rubens(25 %) of : cr-rubens	AB/II	8,6	3 classes
<i>Oe. blandina</i> De Vries	homogemétique	♀ : ^h blandina √ : ^h blandina	AA/III	7 x 2	Homogène
<i>Oe. chicaginensis</i> De Vries	hétérogamétique	<pre> • : excellens (rarement punctulans) • : punctulans</pre>	BA/III	12,2	3 classes
0e. conferta Renner	isogamétique	 eemulans ou convelans eemulans ou convelans 	BA/II	12,2	3 classes
<i>Oe. coronifer</i> a R e nner	relativement	 quaerens ou paravelans(20- 40 %) paravelans 	BA/II	12,2	3 classes
0e. coronifera Renner var. rubrisepala Renner	relativement hétérogamétique	 	BA/II	4,5 x 2	3 classes
0e. grandiflora L'Héritier	relativement hétérogamétique	• : truncans ou neoacuens(25%) • : neoacuens ou truncans (20%)	AB/II	12,2	3 classes

r De Vries
hétéroga
hétéroga
relativen hétérogan
relativem hétérogam
Renner) = Pa. hétérogami

BUS

,

:

<i>Oe. atrovirens</i> Shull et Bartlett (souche de Lake George, N.Y., U.S.A.)	hétérogaméti que	a : pingens o : flectens	BC/IV	14	2 classes
0e. issleri-r Renner	hétérogamétique	supers : t	BC/IV	, 14	3 classes
<i>Oe. parviflora</i> L. (souche de Waldenburg)	hétérogamétique	or : subcurvans or : subcurvans	BC/IV	14	3 classes
0e. rubricuspis Renner	hétérogamétique	or : praenepingens or : praecurvans	BC/IV	14	3 classes
0e. silesiaca Renner	hétérogamétique	que : subcurvans	BC/IV	14	3 classes
0e. syrticola Bartl.	hétérogamétique	q : rigens o : curvans	AC/ IV	41	3 classes
IV. <u>Espèce du groupe Argillicolae</u> Oe. argillicola Mackenzie	homogamétique	2 : ^h dilatans o : ^h dilatans	cc/v	7 x 2	Homogène



HISTORIQUE DES RECHERCHES SUR LE POLLEN DES OENOTHERES HETEROZYGOTES.

_ • • _ • • _ • • _

L'interprétation de l'image pollinique des Oenothères hétérozygotes a progressé en même temps que la découverte de leur système génétique. La période De Vries, jusque vers 1917, est une période d'inventaire. On y découvre l'originalité de la génétique des Oenothères. La période Renner de 1917 à 1955 est marquée par l'introduction de la notion d'hétérozygote de complexe. La période actuelle, depuis 1955, approfondit la notion de complexe actif et inactif.

I. - LA PERIODE DE VRIES

GEERTS J.M. (1908) présente les caractères de l'image pollinique des Onagraceae. Il constate que la morphologie de la population pollinique suit la systématique en tribus de cette famille : les Jussieuae, Epilobiae et Lopeziae ont un pollen normal fertile ; les Oenotherinae avec le genre Oenothera et Anogra, les Xylopleurinae avec les genres Kneiffia, Xylopleurum et Lavauxia et les Gaurae avec le genre Gaura ont tous du pollen létal dans la proportion moyenne de 50 %. En étudiant la microsporogénèse de lamarckiana, GEERTS observe des tétrades à 2 cellules dégénérescentes, et il rapproche ce fait de la macrosporogénèse où 3 macrospores sur 4 sont létales.

DAVIS B.M. (1911) lie la létalité pollinique au système génétique particulier des Oenothères. **Pour** lui les Oenothères sont des hybrides puisqu'ils transmettent deux génomes haploïdes différents et la stérilité pollinique est la conséquence de cet état hybride.

DE VRIES H. (1911) considère les Oenothères comme de véritables espèces qui sont hétérogames, à la différence des autres espèces qui sont isogames. Les deux types de gamètes se transmettent de manière particulière dans les croisements entre espèces : un gamète est transmis quand la plante fournit le pollen, l'autre gamète est transmis quand la plante est la plante-mère. La transmission des deux types de gamètes fonctionne comme une létalité balancée de gamètes entre les deux sexes. C'est elle qui serait la cause de la stérilité partielle du pollen. Dans cette hypothèse, le pourcentage théorique de grains fonctionnels est de 50 %. En faisant des dénombrements, DE VRIES est étonné par la variation très forte de pourcentage de pollen létal qui chez *biennis* se situe entre 25 et 75 %.

Ces auteurs contribuent à la découverte de la génétique des Oenothères. Ils soupçonnent un lien entre la létalité du pollen et la ségrégation gamétique mais ils ne peuvent préciser sa nature. Il revient à Otto RENNER de comprendre génétiquement le gamétophyte mâle.

II. - LA PERIODE RENNER (de 1917 vers 1955).

RENNER explique d'abord l'origine des deux types de gamètes. Chez les Oenothères, les caractères reçus par la plante-mère et ceux reçus par le père forment chacun un bloc de caractères qui ne s'échangent pas, ils sont transmis inchangés à la génération suivante. RENNER appelle ce bloc de caractères liés un complexe (RENNER, 1917). Les deux complexes se reconnaissent bien dans les croisements réciproques parce qu'ils portent des caractères différents. L'Oenothère est un hétérozygote de complexe. RENNER développe cette notion de complexe en analysant la morphologie de la population pollinique dans sa première grande publication de jeunesse, en 1919 (il avait 31 ans) : "Zur Biologie und Morphologie der mönnlichen Haplonten einiger Oenotheren".

Le matériel expérimental est composé des espèces *biennis*, *syrticola*, *lamarckiana* et leurs hybrides. RENNER donne la première description en 3 classes de grains (*biennis*, *syrticola*) et en 2 classes de grains (*lamarckiana*). Il en donne ensuite la signification génétique, en raisonnant de la manière suivante :

biennis et *syrticola* transmettent un seul complexe dans le pollen, elles ont trois classes de grains ; souvent dans certaines plages la proportion des pleins et celle des ratatinés sont rigoureusement égales. *Lamarckiana* transmet les deux complexes dans le pollen et la classe des grains ratatinés est absente dans le pollen.

La relation entre la morphologie de la population pollinique et la génétique de la plante est remarquable. Dans le pollen à 3 classes, les grains pleins sont les seuls fertiles, ils transmettent le complexe actif dans le pollen ; les grains ratatinés incapables de germer portent le complexe qui ne se manifeste pas et qui est appelé le complexe inactif. Le cas de *lamarckiana* corrobore bien cette conclusion, puisque la classe des grains ratatinés étant absente, le pollen transmet les deux complexes. En conséquence, RENNER dénomme les grains par leur caractère génétique : les grains pleins sont les grains actifs et les grains ratatinés les grains inactifs.

RENNER découvre la même logique dans le pollen de certains hybrides, en particulier l'hybride gaudens-curvans issu du croisement lamarckiana x syrticola ; cet hybride est composé de deux complexes qui, chacun dans l'espèce parentale, est actif dans le pollen (gaudens chez lamarckiana, curvans chez syrticola). Le pollen est à trois classes de grains, un seul complexe doit être actif. Le croisement avec biennis démontre que le complexe actif est curvans ; gaudens est devenu inactif. A la lumière de ces résultats si concordants, RENNER énonce la loi génétique suivante : si, dans un croisement, apparaît un seul phénotype d'hybride, le pollen comporte des grains actifs et des grains inactifs ; ces derniers éliminent un complexe ; s'il apparaît deux phénotypes d'hybrides, le pollen comporte uniquement des grains actifs à côté des grains vides. RENNER conclut en ces termes : "Hétérogamie et isogamie sont devenues des réalités empiriques non seulement au sens expérimental, mais aussi au sens morphologique", (p. 372).

Mais, dans cette démonstration, la classe des grains vides ne trouve pas d'explication. RENNER manifeste son incertitude en écrivant : "La signification des grains totalement vides n'est pas encore claire, on peut cependant supposer qu'ils représentent une combinaison mixte entre types actif et inactif", (p. 371). Cette hypothèse lui est suggérée par l'anomalie suivante : l'analyse des hybrides entre biennis et lamarckiana montre

que le complexe *rubens* peut recevoir le facteur P (ponctuation de la tige) du complexe *velans*, mais on ne voit jamais apparaître de p-*velans* qui doit se réaliser ; il doit être éliminé dans les grains vides. Dans ses travaux ultérieurs, RENNER n'abordera plus ce problème de l'origine génétique des grains vides. La raison en est peut-être dans le fait que son schéma génétique sur le pollen se heurtera à de nombreuses exceptions au fur et à mesure que progresseront les connaissances cytogénétiques des espèces.

En effet, vers l'époque 1920, RENNER ne disposait pas d'un éventail suffisant d'espèces qui réunisse tous les cas particuliers apparus ultérieurement. Si nous considérons la collection d'espèces européennes que Monsieur LINDER a obtenue de RENNER vers les années 1950, nous y trouvons les situations pouvant mettre en parallèle l'activité des complexes dans le pollen et l'image pollinique (tableau 2) : lamarckiana est isogamétique, le pollen est à deux classes de grains. Chicaginensis est hétérogamétique stricte et pourtant le pollen est à 2 classes de grains. Biennis, syrticola sont des hétérogamétiques strictes, le pollen est à 3 classes de grains, mais conferta est isogamétique avec 3 classes de grains. Ersteinensis est relativement hétérogamétique, le grain inactif est très proche des grains pleins. On peut admettre que ce grain peut germer. Mais grandiflora l'Héritier est également hétérogamétique relative, le pollen est à 3 classes de grains nettes. Donc, l'inactivité d'un complexe peut être liée à un pollen à 3 classes de grains ou non ; inversement deux complexes sont actifs aussi bien dans une population pollinique à 3 classes que dans celle à 2 classes.

<u>Tableau 2</u>: Activité des complexes et morphologie de la population pollinique chez quelques espèces d'Oenothères.

	Activité des complexes	Pollen	Espèces
1° cas	Hétérogamie stricte	gr. inactifs présents	biennis syrticola
2° cas	hétérogamie stricte	gr. inactifs absents	chicaginensis
3° cas	hétérogamie relative	gr. inactifs pro- ches des grains actifs.	ersteinensis
4° cas	hétérogamie relative	gr. inactifs pro- ches des grains vides	grandiflora l'Héritie r
5° cas	Isogamie	grains vides absents	larmarckiana
6° cas	Isogamie	gr. inactifs	conferta

Le problème de l'inactivité des complexes n'est donc pas résolu par le schéma de RENNER. Aussi a-t-il suscité l'intérêt de la recherche récente.

III. - LA PERIODE ACTUELLE (à partir de 1955)

Nous y distinguons trois groupes d'auteurs :

1 - LINDER R. émet une hypothèse sur l'origine des grains vides ;

2 - STEINER et STUBBE mettent en évidence la stérilité pollinique qui est un aspect particulier de l'inactivité des complexes ;

3 - HARTE C. reprend chez les Oenothères le problème de la concurrence pollinique.

1-LINDER R. : L'hypothèse d'un facteur mendélien de létalité :

LINDER R. justifie la formation des grains vides par l'hypothèse d'un facteur de létalité qui s'intègre parfaitement dans le schéma de RENNER (LINDER R., 1961). Il avait démontré précédemment, par l'analyse statistique, l'existence d'un facteur de létalité gamétophytique dans le pollen d'Oe. fruticosa (1954) et dans le pollen des pommiers et poiriers (1953, 1959a). En parcourant de bamême manière le pollen des Oenothères hétérozygotes, il dégage pour chaque classe de grains des pourcentages théoriques simples qui peuvent prendre valeur de pourcentage de ségrégation : 25 🖇 de grains actifs, 25 % de grains inactifs et 50 % de grains vides pour le pollen à 3 classes de grains ; 50 % de grains actifs, 50 % de grains vides pour la population à 2 classes de grains. L'interprétation est la suivante (schéma 1) : A la ségrégation des complexes dans les proportions 1/1 se superpose celle des allèles +/p. Ces allèles sont supposés être indépendants des complexes, de sorte que chaque complexe les transmet dans les proportions 1/1. Dans ces conditions se réalisent les pourcentages théoriques de chaque classe. Les grains vides correspondent aux deux complexes qui portent le facteur de létalité p.

Le facteur de létalité ne peut être transmis que par l'ovule. Il apparaît donc dans la descendance d'une Oenothère 50 % d'individus +/+, à pollen dépourvu de grains vides, et 50 % d'individus +/p, à pollen comprenant des grains vides. Comme l'image pollinique est identique parmi tous les individus, l'auteur suppose que l'homozygote +/+ est inviable, comme est inviable l'individu R/R, homozygote pour la coloration de la nervure.

ségrégation des allèles +/p ségrégation des complexes	+ 50 %	p 50 %
complexe o r 50 %	grains actifs 25 %	grains vides
complexe q 50 %	grains inactifs 25 %	50 %

<u>Schéma 1</u> : Hypothèse de ségrégation gamétophytique des complexes et des allèles +/p dans le pollen à 3 classes de grains.

Ce schéma a servi de point de départ à notre recherche sur le déterminisme génétique de la létalité pollinique. Deux données étaient à vérifier :

- par une étude statistique étendue, il fallait tester si les pourcentages théoriques étaient représentatifs de la population pollinique ;

- il fallait démontrer si la transmission de la létalité était en accord avec l'existence d'un facteur mendélien.

2-Les travaux de STEINER : l'inactivité des complexes due à un système d'incompatibilité :

Cet auteur analyse le pollen sous son aspect de fertilité ou de stérilité, sans tenir compte de l'image pollinique.

STEINER E. découvre que sous la létalité balancée se cache un système d'incompatibilité gamétophytique. Au départ de ses recherches il isole un hybride issu d'un croisement entre plantes de populations de *biennis I*. Cet hybride a les deux complexes actifs dans le pollen, le complexe α (complexe femelle) et le complexe β (complexe mâle). S'il est utilisé comme plante pollinisatrice sur une plante d'une autre population biennis I, de complexes α_x , β_x il apparaît un hybride $\alpha_x \alpha$. C'est ce type d'hybride qui attire l'attention de STEINER (1956), car il est autostérile. Le pollen ne réussit pas à germer sur son propre style. Mais cet hybride, recroisé avec l'une ou l'autre plante parentale, devient fertile. L'autostérilité est donc une réaction d'incompatibilité.

STEINER (1964) poursuit son expérimentation en croisant entre eux des hybrides $\alpha_{x_1}^{\alpha}$ a obtenus à partir de différents individus d'une même population ($\alpha_{x_1}^{\alpha}$, $\alpha_{x_2}^{\alpha}$, $\alpha_{x_3}^{\alpha}$, etc...), et il établit un bel échiquier de croisement sur lequel se distinguent très bien deux groupes de compatibilité, A et B. Les plantes du groupe A croisées avec celles du groupe B sont compatibles, les plantes d'un même groupe croisées entre elles sont incompatibles. Le complexe femelle transmet donc un facteur d'incompatibilité S. Les deux types de croisement s'écrivent :

- croisement intra-groupe :

a-S a-S x a-S a-S: croisement incompatible

- croisement inter-groupe :

 α -S_b α -S x α -S_c α -S : croisement compatible.

Un élève de STEINER, SADIQ D. (1970) fait un inventaire plus vaste de populations *biennis I*. Il isole 8 groupes de compatibilité.

De l'ensemble de ces résultats,STEINER extrapole pour l'espèce un schéma de fécondation qui réalise l'hétérozygotie permanente. Un des complexes transmet un facteur d'incompatibilité S_I , et l'autre un facteur de compatibilité S_C . Le génotype de la plante est α - S_I , β - S_C . Dans l'autofécondation, le pollen au complexe α - S_I est éliminé ou rendu inactif, selon la terminologie de RENNER, par incompatibilité gamétique, de sorte que l'homozygote $\alpha\alpha$ n'apparaît pas.

Cette mise en évidence d'un système d'incompatibilité démontre que ce phénomène existe dans le groupe des Oenothères, mais il n'apparaît pas d'éléments instructifs au problème de la létalité pollinique.

3-Les travaux de STUBBE W. : La stérilité pollinique d'origine cytoplasmique :

Pour démontrer l'interaction génome-plastome dans la plante, STUBBE W. (1960) a constitué un vaste éventail d'hybrides dans lequel les combinaisons de complexes diploïdes sont placées dans des plastomes différents. Pour conserver son lot expérimental, il fait des autofécondations et il constate que certains hybrides sont stériles en analysant le contenu des capsules. En voici quelques exemples (prélevés dans la liste p. 313) :

Combinaisons de complexes	Fertiles dans le plastome	stériles dans le plastom e
albicans – flavens	11	IV
albicans – gaudens	II	IV
flavens – flavens	11	IV
albicans - curvans	II	111

Les complexes *flavens*, *gaudens* et *curvans*, normalement actifs dans le pollen, deviennent inactifs, comme le complexe femelle, en changeant de plastome. Entre l'hybride fertile et l'hybride stérile, l'auteur ne note aucune différence dans la morphologie de la population pollinique. En particulier la proportion des grains vides n'augmente pas dans l'hybride stérile.

ARNOLD C.G. (1963) observe le même résultat sur l'homozygote *flavens/flavens* dans le plastome II et IV. Ultérieurement (1970), il attribue l'origine de la stérilité à tout le cytoplasme et non uniquement au plastome.

GÖPEL G. (1967, 1970), élève de STUBBE, définit la stérilité pollinique comme une incapacité de germination du pollen. Ces expériences sont intéressantes à notre point de vue, car elles montrent qu'un complexe peut devenir inactif dans le pollen sans que cela se traduise dans la morphologie de la population pollinique.

4-Les travaux de HARTE C. : La concurrence pollinique :

HARTE C. aborde un autre problème du gamétophyte mâle des Oenothères hétérozygotes : la concurrence pollinique entre complexes. Dès ses premières recherches, RENNER (1917) guidé par les travaux de CORRENS, mettait en évidence ce phénomène biologique chez *lamarckiana*, où le pollen transmettant le complexe *velans* croît plus vite que celui qui transmet le complexe gaudens. HERIBERT-NILSSON N. (1920) montre que la concurrence pollinique existe également entre les gamètes qui transmettent les facteurs R et r (coloration de la nervure de la feuille), en faveur des gamètes R. Il dénomme la concurrence pollinique "certation". HARTE (1967) accumule des expériences qui démontrent que la certation est sous l'influence du type de style qui reçoit le pollen. L'auteur (1969 a et b) centre son attention sur un croisement : *hookeri* x *(hookeri* x suaveolens).

L'hybride pollinisateur possède la combinaison de complexe ^hhookeri/flavens (diacinèse : 4,5 x 2). La descendance du croisement est composée de deux types d'hybrides, déterminés par la figure de diacinèse : 142 homozygotes ^hhookeri/^hhookeri, 16 hétérozygotes ^hhookeri/ flavens (résultat extrait du tableau 8, p. 169, 1969 a). Dans la population pollinique, où il est supposé que la ségrégation ^hhookeri/flavens est 1/1, le pollen flavens est défavorisé par rapport au pollen ^hhookeri. Les expériences de certation (1969 b) (pollinisation abondante ou parcimonieuse, ablation des stigmates à des temps variés après la pollinisation) ne modifient pas la composition de la descendance. L'avantage pour le complexe ^hhookeri n'est donc pas dû à une croissance plus rapide du tube pollinique, mais à une aptitude à la fécondation des tubes polliniques ^hhookeri qui fécondent plus facilement que ceux de type flavens.

De ces résultats nous dégageons une autre conclusion : l'hybride pollinisateur présente un pollen à 3 classes (l'auteur ne le précise pas, mais cet hybride a été observé dans nos cultures). Pourtant les deux complexes sont actifs.

IV. - CONCLUSION

A l'exception de l'hypothèse du facteur de létalité, tous ces travaux publiés pendant notre travail de recherche, ne donnent aucune indication sur l'origine génétique de la létalité. Par contre ils situent bien l'inactivité du complexe par rapport à la létalité pollinique.

En mettant en parallèle l'image pollinique et l'activité des complexes, trois situations apparaissent :

1 - le pollen est à 3 classes de grains, dont les grains pleins aptes à germer, la plante est autostérile ;

2 - le pollen est partagé en 3 classes de grains, un seul complexe est actif, il est transmis par les grains pleins. Cette situation a été généralisée par RENNER ;

3 - le pollen est partagé en 3 classes de grains, les deux complexes sont actifs. La classe des grains ratatinés perd dans ce cas sa signification génétique qui reste à déterminer.

Il devient évident qu'il faut considérer séparément l'activité des complexes dans le pollen et la létalité pollinique. Le fait qu'un complexe apparaîsse génétiquement inactif n'implique pas que ce complexe détermine la létalité. Dans notre travail, nous considérons la létalité pollinique dans ses limites les plus larges : le grain létal est aussi bien le grain ratatiné, dit inactif, que le grain vide.

Cette revue des travaux serait largement incomplète, si nous ne considérions pas la situation pollinique dans les Oenothères du continent américain. C'est là que le genre Oenothera est apparu, s'est diversifié et que le système génétique en hétérozygotes de complexes s'est élaboré.
LES OENOTHERES DU CONTINENT AMERICAIN :

LA LETALITE POLLINIQUE EN RAPPORT AVEC L'HETEROZYGOTIE DE COMPLEXES

_ • • _ • • _ • • _

La connaissance des Oenothères américaines a sérieusement progréssé grâce aux travaux de CLELAND pour le sous-genre *Eu-Oenothera*, et de HECHT pour le sous-genre *Raimannia*. Plus récemment, des prospections génétiques ont commencé pour les sous-genres *Anogra* et *Hartmannia* du genre *Oenothera* et pour le genre *Gayophytum*, voisin des Oenothères. L'éventail des espèces analysées est si étendu que nous allons y découvrir l'idée-guide pour nos recherches sur la létalité pollinique.

I. - LE POLLEN DES EU-OENOTHERA

CLELAND R.E. (1950, 1958, 1962 et 1972) distingue plusieurs espèces collectives qui peuvent être séparées en deux groupes par leur image pollinique et leur génétique.

1° groupe : les espèces stigosa, biennis I, biennis II, biennis III, parviflora I et parviflora II (cf. en appendice, la systématique des Oenothères) ont un pollen létal et des "semences" létales. Dans les croisements, elles se montrent hétérozygotes de complexes. En diacinèse, l'anneau de caténation s'étend généralement aux 14 chromosomes. La situation complexe actif/ complexe inactif est très variée :strigosa, biennis II, biennis III, parviflora I et parviflora II sont strictement hétérogamétiques. Biennis I est, suivant les stations, hétérogamétique, ou isogamétique ou relativement hétérogamétique.

2° groupe : les espèces *elata*, *hookeri*, *grandiflora* et *argillicola* ont un pollen "alétal" et une semence viable. Dans les croisements elles se montrent homozygotes de complexes. Elles sont également homozygotes de structure : elles présentent en diacinèse 7 bivalents.

Ces résultats sont basés sur l'analyse de 438 complexes (CLELAND, 1973, p. 330-340). Le pollen létal apparaît chaque fois que la plante se révèle hétérozygote de complexes.

En plus, ces 2 groupes d'espèces collectives sont bien séparés géographiquement. Le 1er groupe s'étend sur toute la plaine américaine, des confins de la Californie à la côte atlantique. Les espèces collectives ont des aires distinctes mais se recouvrent à leur limite. Dans le 2ème groupe, les espèces collectives *elata* et *hookeri* ont les aires les plus étendues : *elata* forme la population des Oenothères du Mexique ; *hookeri* est endémique du plateau californien. *Grandiflora* forme une petite population dans l'état d'Alabama. *Argillicola* est localisée sur les terrains schisteux des Appalaches.

La répartition des Oenothères justifie donc bien la séparation des 2 systèmes génétiques, l'un de plante homozygote dépourvue de pollen létal, et l'autre de plante hétérozygote à pollen létal.

II. - POLLEN DU SOUS-GENRE RAIMANNIA

Dans le sous-genre Raimannia SCHWEMMLE J. (1938) découvre les mêmes propriétés génétiques que dans le sous-genre Eu-Oenothera. Oe. berteriana et Oe. odorata sont des hétérozygotes de complexes, isogames, à anneau de 14 en diacinèse, et à pollen létal. L'année suivante le même auteur décrit une espèce homozygote à 7 bivalents et à pollen homogène, Oe. argentinea. Cette dernière espèce est utilisée par HAUSTIEN (1952) comme espèce de référence pour la numérotation des bras de chromosomes dans le sous-genre Raimannia. HECHT (1950) fait le premier inventaire des 14 espèces américaines. Il attire l'attention sur le système de létalité balancée qui existe chez toutes les Oenothères à anneau de 14 (il ne précise malheureusement pas l'image pollinique de ces espèces).

CLELAND (1968) fait la synthèse de tous ces travaux et pose le principe suivant : les espèces à 7 bivalents sont dépourvues de "létaux" à savoir pollen et graines. Les espèces à anneau de caténation sont hétérozygotes de complexes et possèdent des "létaux".

III. - LE SOUS-GENRE HARTMANNIA

Les espèces analysées par RAVEN P. (1970) présentent les caractères cytogénétiques des Eu-Oenothères. La majorité des espèces ont 7 bivalents avec un pollen à 95 % de grains pleins. Les trois espèces *multicaulis, rosea* et *kunthiana* sont des hétérozygotes de complexes, à anneau de 14 en diacinèse, et à pollen létal variant entre 40 et 60 %.

IV. - LE SOUS-GENRE ANOGRA

La première étude cytogénétique est réalisée par KLEIN W.M. (1970) Les Anogra colonisent l'ouest du continent nord-Américain et appartiennent à 3 espèces : avita, deltoîdes et wigginsii. Toutes les populations de wigginsii ont 7 bivalents. Pour les deux autres espèces, la majorité des plantes ont 7 bivalents. Environ 20 % des plantes montrent 1 ou 2 anneaux de caténation. Ce sont des hétérozygotes de structure sans différenciation de complexes. L'auteur ne signale pas l'image pollinique des espèces, mais le pollen létal apparaît chez les hybrides F₁ interspécifiques. L'importance de la létalité est fonction de l'éloignement géographique des espèces.

Les espèces du sous-genre Anogra se comportent donc comme des homozygotes. L'apparition des anneaux de caténation pourrait indiquer la première étape vers l'hétérozygotie de complexe.

V. - LES OENOTHERES SUD-AMERICAINES

En prospectant les Oenothères sud-américaines, HAGEN C.W. (1950) rencontre des espèces du sous-genre RAIMANNIA, HARTMANNIA et ANOGRA, déjà citées plus haut. Il y a ajouté l'analyse d'espèces du sous-genre Lavauxia, l'une possède un anneau de 14 et est hétérozygote de complexes, les 4 autres ont 7 bivalents et sont homozygotes. Une espèce du sous-genre Salpingia a 7 bivalents. Ici encore l'image pollinique n'est pas analysée.

Nous terminons cette revue des espèces du genre Oenothera par les espèces fruticosa (sous-genre Kneiffia) et missouriensis (sous-genre Megapterium), bien connues dans notre laboratoire. La première a servi de base pour illustrer la létalité pollinique factorielle chez une espèce tétraploïde, la deuxième pour illustrer le système d'incompatibilité gamétophytique. Ces deux espèces ont une diacinèse de 7 ou 14 bivalents, sont homozygotes et le pollen est normal (si on fait abstraction de l'apparition du facteur p).

VI. - LE GENRE GAYOPHYTUM

Gayophytum est un genre endémique de l'ouest du continent nord-Américain. THIEN L.B. (1969) donne l'analyse cytogénétique de 3 espèces diploïdes : G. oligospermum présente 7 bivalents en diacinèse, le pollen est normal. Les populations de l'espèce eriospermum sont composées de plantes aux figures de diacinèse diverses, soit 7 bivalents (24 % des plantes), soit des anneaux de 4 (38 % des plantes), de 6 ou 8 chromosomes. Ce sont des hétérozygotes de structure sans différenciation de complexes. Enfin G. heterozygum présente des populations homogènes, toutes les plantes ont un anneau de 14, le pollen comprend 50 % de grains vides et les capsules 50 % de graines vides. L'auteur suppose un mécanisme de létalité balancée comme chez les Eu-Oenothères. Les résultats des croisements sont encore insuffisants pour démontrer l'existence de complexes.

Une loi se dégage de la description cytogénétique des Oenothères du continent américain : si une plante est hétérozygote de complexe, la létalité apparaît dans le pollen et les graines. La létalité pollinique est donc en rapport avec l'état hétérozygote.

Ce qui est remarquable, c'est l'apparition simultanée de la létalité dans le pollen et les graines. Une telle situation du "létal" dans le cycle de reproduction des Oenothères hétérozygotes, l'un qui sélectionne le gamétophyte, l'autre le sporophyte, suggère que la létalité a un rôle à jouer dans le système génétique de la plante hétérozygote de complexe. Pour les graines, nous savons que les embryons avortés des graines vides (RENNER, 1917) sont les homozygotes de complexes. Pour le pollen le problème à résoudre est le suivant : Comment l'hétérozygotie de complexe peut-elle engendrer de la létalité pollinique ? Cette question devient plus précise en la posant sous la forme suivante : quels génétypes sont éliminés sous les grains létaux ?

La réponse à cette question est donnée par une prospection systématique du pollen des Oenothères sur le plan morphologique, statistique et génétique.

La première partie traite de la morphologie du pollen et de l'apparition de la létalité durant la maturation du pollen.

La deuxième partie décrit les caractères statistiques de la population pollinique de l'espèce.

La troisième partie étudie de quelle manière se transmet l'image pollinique chez les hybrides interspécifiques.

1° PARTIE:

MORPHOLOGIE ET DEVELOPPEMENT DU POLLEN

Nous donnons en premier lieu une description morphologique et cytologique des 3 types de grains de l'image pollinique des Oenothères hétérozygotes, puis nous analysons le développement du gamétophyte mâle de la tétrade au pollen mûr. Au préalable sont présentées les techniques cytologiques.

I. LES TECHNIQUES.

_ • • _ • • _ • • _

Nous avons utilisé trois modes d'observation : la microscopie photonique, électronique et à balayage.

- Préparation du matériel pour la microscopie photonique :

Les anthères sont fixées dans le mélange : éthanol 70°, acide acétique et formol pendant 24 heures ; elles sont déshydratées dans la série éthanol butanol III et incluses dans la paraffine suivant la méthode de JOHANSEN (1940, p. 130-132 et 134-138). Deux colorations sont pratiquées :

. l'hématoxyline ferrique de Regaud (selon la méthode préconisée par LANGERON, 1949, p. 569-570). L'hématoxyline révèle bien les structures nucléaires, mais colore intensément le sporoderme ;

. le mélange safrinane - "fast-green" (vert-malachite), selon la méthode décrite par JOHANSEN (1940, p. 80-82). Cette coloration combinée différencie l'exine, rouge-foncé, de l'intine sous-jacente vert-bleuâtre. Le noyau reproducteur apparaît doloré en rouge de manière dense. Le noyau végétatif présente une structure granuleuse rougeâtre.

- Préparation du matériel pour la microscopie électronique :

Les anthères sont fixées au glutaraldéhyde à 3 %, tamponné par le tampon phosphate 0,2 M/l, à pH 7,1, à 4°C. Au départ, la fixation est faite sous vide, mais la sortie de l'air des interstices de la loge pollinique est plus ou moins bonne. Plusieurs durées de fixation sont pratiquées, 2 heures, 6 heures ou 24 heures. Mais la fixation ne s'améliore pas, car le sporoderme, épais de 2 à 3 μ forme une barrière imperméable qui empêche la pénétration rapide du fixateur, condition essentielle à une bonne fixation. Les territoires cellulaires toujours fixés sont ceux des apertures, car l'exine est absente au niveau du pore germinatif.

Le tampon au caccodylate de sodium, 0,2 M/l à pH = 7,1, utilisé pour une série de fixations, s'est montré favorable à la conservation des ribosomes.

Après fixation les anthères sont lavées dans le tampon et découpées en fragments de 2 à 3 mm, puis post-fixées dans le tétroxyde d'osmium à 1 %, pendant 6 heures à 4°C.

Nous avons également fixé directement les grains de pollen, agglomérés par la viscine et prélevés dans la loge pollinique. Mais ce matériel se prête ensuite plus difficilement à la préparation des blocs de résine et à la coupe.

Le matériel est déshydraté dans la série éthanol-oxyde de propylène et inclus dans l'araldite ou l'épon 812. L'épon pénètre mieux que l'araldite, mais à l'observation au microscope, elle donne un fond granuleux. L'araldite en coupe est homogène. Sa pénétration est améliorée en laissant séjourner le matériel dans le mélange araldite-oxyde de propylène, dans la proportion 3/1, en agitation continue, durant une nuit.

Les coupes sont réalisées à l'ultramicrotome Reichert Om U₂ avec des couteaux de verre. Les coupes sont prélevées sur grilles toujours recouvertes d'une membrane de formvar (1,4 % de formvar dans le dichloréthane).

Les coupes semi-fines, colorées au bleu de méthylène, sont souvent utilisées pour l'observation en microscopie photonique, à côté des coupes incluses dans la paraffine. Les coupes ultrafines sont colorées par le citrate de plomb préparé selon la méthode de REYNOLDS E.S. (1963) et ensuite par l'acétate d'uranyle en solution aqueuse à 2 %.

Les préparations sont observées au microscope Hitachi H.S. 7 S et quelques-unes au Siemens Elmiscop IA.

- Préparation du matériel pour la microscopie à balayage :

Le pollen, prélevé dans les loges polliniques, est fixé au glutaraldéhyde et au tétroxyde d'osmium selon la même technique que pour la microscopie électronique. Après passage à l'azote liquide, il est lyophilisé. La métallisation est faite à l'or-palladium. Les grains sont observés au Stereoscan M 2 de Cambridge. Les images donnent une vue d'ensemble du grain, de la surface de l'exine, en particulier la densité des globules de sporopollénine, et la morphologie du pore germinatif.

II. LE POLLEN A L'ANTHESE.

RENNER (1919) décrit le sporoderme du grain normal et du grain vide et montre la différence entre les amyloplastes des grains actifs et inactifs.

Les palynologues ne s'intéressent qu'au grain normal. ERDIMAN (1952), dans son traité de taxonomie pollinique, rassemble tous les travaux sur le pollen des Oenotheraceae (p. 291-294) et donne un schéma partiel du sporoderme d'*Oenothera biennis*. Ces analyses sont faites sur matériel acétolysé, observé en microscopie photonique. TING W.S. (1966), par la même méthode, décrit la stratification du sporoderme des Oenotheraceae à partir d'*Oenothera caespitosa*, du sous-genre *Pachylophys* (MUNZ P.A., 1931). Les observations de ces auteurs sont limitées à cause du grossissement insuffisant. La microscopie électronique permet de surmonter cet écueil.

Plusieurs travaux sur l'ultrastructure du sporoderme sont consacrés au pollen des Oenotheraceae. AFZELIUS B.M. donne une image de l'exine d'Oenothera biennis. DIERS (1963), étudie le pollen d'Oenothera hookeri du







A-C : Grain normal :

A : Vue polaire ; B : Vue équatoriale (x 270) ; C : Coupe suivant un plan méridien de l'aperture (x 2500. Les rectangles localisent les régions correspondant aux planches photos).

B-E: Grain vide (x 270):

D: Vue polaire; E: Vue équatoriale (x 270).

Abréviations : E. : axe équatorial ; P. : axe polaire ; l. : longueur du lobe apertural ; b. : base du lobe apertural.



point de vue cytologique. LEPOUSE J. et ROMAIN M.F. (1967) donnent une topographie complète du pollen normal d'*Oenothera biennis*. DUNBAR A. (1967 et 1968), ROWLEY J. et DUNBAR A. (1968) et ROWLEY (1970), portent leur attention sur le système membranaire de l'exine en étudiant le pollen d'*Hippuris* et de *Chamaenerion*.

On voit qu'à part RENNER, tous ces auteurs ne tiennent pas compte de la ségrégation en 3 classes de grains du pollen des Oenothères hétérozygotes.

Les espèces suivantes sont choisies pour cette analyse morphologique : le pollen de *lamarchiana* sert de matériel pour décrire le grain normal et le grain vide ; une partie de ce travail est présentée dans une de nos publications (R. JEAN, 1971). Ensuite, sur le pollen de *biennis* est analysé le grain inactif. Nous utilisons également quelques images du pollen d'ersteinensis, de syrticola et de suaveolens.

A. - LE GRAIN DE POLLEN NORMAL

La description du grain normal aborde les aspects suivants : la morphologie externe du grain, la stratification du sporoderme, la cytologie du grain.

1-Morphologie externe du grain :

Nous distinguons deux parties (Pl. III, 1) : le corps du grain et les trois apertures (grain triporé) sous la forme de trois lobes.

Le corps du grain forme approximativement une sphère de 100 μ de diamètre. La position des apertures détermine le plan équatorial de cette sphère. Elles sont à égale distance l'une de l'autre, de sorte que les lignes reliant les trois apertures ébauchent un triangle équilatéral. De part et d'autre du plan équatorial, les deux demi-sphères sont équivalentes (Pl. IV, 3) : le grain est isopolaire, symétrique avec un plan de symétrie horizontal (le plan équatorial) et trois plans de symétrie méridiens passant par une aperture. Dans un plan méridien, l'axe équatorial forme le grand axe de 140 μ de long et l'axe polaire est le petit axe de 100 μ (Fig. 2, A et B) ; dans une telle section le rapport axe polaire sur axe équatorial :

$$P/E = \frac{100}{140} = \frac{5}{7} = 71\%$$

Planche III : Pollen de lamarckiana, vu au microscope à balayage.

- 1 4 : Grain normal.
 - 1 : vue polaire (x 360), grain tripororate.
 - 2 : voûte de l'aperture (x 1.400), l'exine limite l'aire germinative où affleure l'intine piquetée de globules de sporopollénine.
 - 3 : face externe de l'ectexine (x 3.750), recouverte d'un filament de viscine.
 - 4 : détail de la surface de l'ectexine (x 9.200).

5 - 7 : Grain vide.

5 : vue polaire (x 360)
6 : aperture (x 1.400)
7 : sommet de la voûte de l'aperture (x 2.700)

Planche III: Pollen de lamarchiana, vu au microscope à balayage





correspond, selon la définition d'ERDIMAN (1952, p. 16) à la forme "oblate" c'est-à-dire de sphère plus ou moins aplatie. Par conséquent, une section passant par une aperture est circulaire à ovale. Une section tangentielle peut être dissymétrique (Pl. IV, 4) La plus grande longueur du grain, de 180 μ environ, va d'une aperture à l'autre. Le pollen d'*Oenothera lamarckia*na appartient ainsi à la classe des pollens très grands. Dans une préparation microscopique qui donne un échantillon de la population pollinique, la plupart des grains se présentent en vue polaire (c'est le cas de toutes les images polliniques de la Planche I). Quelques grains peuvent se présenter avec deux apertures, la 3ème étant cachée, ce qui correspond à une vue équatoriale.

L'aperture (Fig. 2) est un lobe obtus de 40 μ de long dont la base circulaire, 63 μ de diamètre, est marquée par un anneau qui est un épaississement du sporoderme (Pl. VIII, 1). Le côté opposé s'atténue en une voûte ample dont le sommet est occupé par le pore germinatif (Pl. III, 2). Celui-ci est plus ou moins circulaire, piqueté d'exine et limité par le rebord du sporoderme. Le pore a ainsi une limite interne et externe ; c'est un grain pororate.

La surface du grain est lisse. A fort grossissement apparaît l'élément unitaire de l'exime, le globule de sporopollénine qui donne une surface uniformément bosselée au sporoderme (Pl. III, 3 et 4).

Au niveau du corps du grain, le sporoderme est plissé en sillons plus ou moins radiaires. Par contre, sur les flancs du lobe apertural, il est bien tendu. Cet aspect est lié à la structure da sporoderme.

Du pourtour du pore germinatif partent des filaments de viscine qui sont un chapelet de globules de sporopollénine accolés un à un.

En résumé, le pollen d'*Oenothera lamarckiana* est isopolaire, symétrique, sphérique à subsphérique, tripororate et de très grande taille.

2-La stratification du sporoderme :

Elle varie suivant la région du grain : a) au niveau du corps du grain (Pl. V, 1) nous observons la stratification fondamentale du sporoderme. L'exine est composée de la sexine (ou l'ectexine) à structure discontinue et de la nexine (ou l'endexine), à structure continue. L'ensemble est fortement osmiophile.

Planche IV : Morphologie du grain de pollen.

- Oe. lamarckiana, pollen à 2 classes de grains.
 - 1 2 : Coupe longitudinale dans la loge pollinique; coloration à l'hématoxyline ferrique de Régaud (x 65).
 - 1 : Zone d'anthère à pollen plein prépondérant.
 - 2 : Zone d'anthère à pollen vide prépondérant.
 - 3 4 : Grain normal; coupe semi-fine dans l'araldite observée en contraste de phase (x 410).
 - 3 : Coupe suivant un plan méridien comprenant une aperture.
 - 4 : Coupe tangentielle, perpendiculaire à un plan méridien.
 - 5 6 : Grain vide; coloration à l'hématoxyline ferrique (x 570).
 - 5 : Coupe méridienne passant par une aperture.
 - 6 : Coupe tangentielle passant par 2 apertures.

Oe. biennis, pollen à 3 classes de grains; coupes semi-fines dans l'araldite colorées au bleu de méthylène.

- 7 : Les 3 types de grains in situ dans la loge pollinique (x 420).
- 8 : Grain inactif (x 630) : coupe méridienne passant par la cellule reproductrice.
- 9 : Grain vide (x 840); coupe méridienne passant par une aperture.
- <u>Abréviations</u> : A : grain actif an : anneau apr : aperture cg : corps du grain - ec : ectexine - en : endexine -IA : grain inactif - V : grain vide.

Planche IV: Morphologie du grain de pollen *Ce. lamarckiana*, pollen à 2 classes de grains



Ce. biennis, pollen à 3 classes de grains



la sexier est composée du toit continu, épais (0,5 à 1 μ) et de piliers courts (0,3 à 0,5 μ), en disposition perpendiculaire ou oblique, qui s'appuient sur la nexine sans devenir solidaires de la nexine. Les différents piliers ménagent entre eux des chambres polliniques au contour irrégulier qui, de-ci de-là, contiennent de la tryphine (résidu du tapis). La sexine est faite de globules de sporopollénine juxtaposés ou anastomosés, de 0,1 à 0,13 μ de diamètre. A la périphérie, ils sont plus grands ou soudés par deux, de 0,2 à 0,25 μ de diamètre.

La sexine est sillonnée de membranes d'aspect varié : à la surface externe du toit, une membrane s'applique étroitement au globule de sporopollénine ; elle est recouverte d'une pellicule irrégulière osmiophile, qui pourrait correspondre à celle décrite par ROWLEY J. (1970). Dans l'épaisseur du toit ou des piliers, entre les globules de sporopollénine, on distingue des membranes formant vésicule ; enfin, un système membranaire traverse les loges polliniques ou tapisse irrégulièrement la surface externe de la nexine. DUNBAR A. (1968) et ROWLEY J. (1970) observent des images analogues dans l'exine du pollen de *Chaemaenerion angustifolium*, et ils considèrent ces membranes comme édificatrices de l'exine.

La nexine forme une lame continue, épaisse en moyenne de 0,4 μ , astructurée, à bords parallèles, qui enveloppe tout le grain.

L'intine est une lame festonnée du côté interne à épaisseur moyenne de $0,2\mu$ (Pl. V, 2). Par endroits, elle est réduite à une fine pellicule de $0,02\mu$. Dans les régions **d**e forte épaisseur, on peut y distinguer deux niveaux (Fig. 5) : au contact de la nexine, l'intine est parcourue de membranes superposées, parallèles à la nexine (marquées par une flèche), ressemblant à celles montrées par DUNBAR A. (1967) dans l'intine d'*Hippuris*. Le reste de l'intine est homogène. Elle est tapissée intérieurement par le plasmalemme.

b) au niveau de l'aperture : L'aperture forme une coupole arrondie, symétrique, insérée par sa base circulaire sur le corps du grain. Les coupes méridiennes de l'aperture comprennent le pore germinatif et la coupe symétrique de l'anneau. Les coupes tangentielles sont parallèles ou obliques à un plan méridien. La coupe de l'aperture reconstituée à partir de plusieure photos, passant par un plan parallèle à un plan méridien, est présentée sur la planche VII. A partir de cette image et de coupes observées au microscope photonique est dessiné le schéma de l'aperture. (Fig. 2, C).



1. le sporoderme (x 32.500)

2. le cytoplasme pariétal (x 53.000)

abréviations : ch.p. : chambre pollinique _ dy : di ctyosome _ In : intine _ m: mitochondrie _ mb : membranes _ p: pilier _ N: nexine _ pl : plasmalemme _ R: ribosome _ t: toit _ v: vésicules golgiennes

Le sporoderme se différencie à la base de l'aperture, sur les flancs de l'aperture et à proximité du port germinatif.

La base de l'aperture (Pl. VII) forme une zone de transition entre le sporoderme du corps du grain et l'aperture. En microscopie photonique (Pl. VIII,1) on note un épaississement en croissant de l'exine qui correspond à un anneau ceinturant la base de l'aperture. Cet anneau correspond à la transformation de la nexine (Pl. VIII,2) : Dans la partie proximale de l'anneau (du côté du corps du grain), la sexine et la nexine sont organisées comme dans le corps du grain, mais la nexine est doublée intérieurement de sporopollénine granuleuse qui est le début de l'anneau. En avançant vers le cylindre apertural, la lame de nexine perd son aspect homogène, prend la structure ornementée de la sexine, et se confond avec la strate de nexine supplémentaire interne. Celle-ci est découpée en forme de croissant et constitue l'anneau. Les globules de sporopollénine y sont anastomosés, laissant entre eux des interstices irréguliers (Pl. VIII, 3). A l'intérieur des amas de sporopollénine se distingue un système de double membrane d'origine endoplasmique que LEPOUSE J. et ROMAIN M.F. (1967) ont décrit pour Oe. biennis.

L'intine épaisse (2μ) contourne le croissant de nexine. Elle présente la structure de l'intine de l'aperture. Une coupe transversale de l'anneau (Pl. IX, 2) perpendiculaire à la coupe présentée dans la planche VIII, 2, montre les auréoles concentriques des strates du sporoderme.

Sur les flancs de l'aperture (P1. VII), l'exine de l'aperture est stratifiée comme celle du corps du grain. La sexine est plus élevée, grâce aux piliers plus longs (jusqu'à 1 μ) qui sont continus avec la nexine ornementée comme la sexine. Par endroits, la nexine devient homogène comme dans le corps du grain, ce qui prouverait que la nexine homogène pourrait dériver d'une structure granulaire très tassée de la sporopollénine. Comme sexine et nexine sont fortement solidaires, l'exine est bien charpentée, de sorte que l'aperture forme une voûte régulière non plissée. Dans les chambres polliniques, la tryphine est relativement abondante. La planche IX, 1 donne une coupe transversale dans l'aperture.

Le système membranaire de la sexine est identique à celui décrit pour la sexine du corps du grain.

<u>Planche VI</u> : Oe. ersteinensis, cytoplasme du corps du grain (x 48.000)

<u>Abréviations</u>: ay : amyloplaste - m : mitochondrie d : dictyosome - v.e. : vésicules ergastoplasmiques v.g. : vésicules golgiennes.



المنابع المالية <u>Planche VII</u>: Oe. lamarckiana, l'aperture (x 8.000) Coupe longitudinale passant à côté du pore germinatif.

.

<u>Abréviations</u>: A : anneau - ay : amyloplaste - ex : exine unistrate en : endexine discontinue - In : intine - p : pilier t : toit - flèche : bord du pore germinatif. Planche VII: *Ce. lamarckiana,* l'aperture (x 8.000) Coupe longitudinale passant à côté du pore germinatif



Planche VIII: *Oe. lamarckiana,* l'anneau à la base de l'aperture



- 1. coupe méridienne dans l'aperture (x 380), coupe semi-fine en contraste de phase 2. coupe transversale dans l'anneau (x 4.400)
- 3. détail de l'anneau (x12.700)

En se rapprochant du pore germinatif, les piliers s'estompent, toit et nexine se rejoignent pour former un revêtement unistratifié. Celui-ci s'amincit progressivement (Pl. X, 2) et limite le pore germinatif où l'intine affleure directement.

L'intine est très épaisse $(2,5 \mu)$. Elle est sillonnée de canalicules cytoplasmiques limités par le plasmalemme (Pl.VII). Ces canalicules sont perpendiculaires à la surface de l'aperture, plus ou moins ramifiés à la base de l'intine. Vers la périphérie, ils s'incurvent et deviennent parallèles à la surface de l'aperture. La zone occupée par les canalicules cytoplasmiques est large d'environ 2 μ . Elles est enveloppée d'une zone très blanche, libre de toute vésicule, qui forme la partie externe de l'intine. Des canalicules cytoplasmiques parcourent donc l'intine de l'aperture : ils constituent le stade initial de la formation du tube pollinique.

Au pore germinatif, l'intine constitue le sommet de la voûte de l'aperture et la paroi externe du corps cellulaire (Pl. X, 2). Cette surface est libre d'exine en couche continue. De-ci de-là, quelques globules de sporopollénine ornementent la surface du pore.

Le sporoderme a une structure simple au niveau du corps du grain, qui se complique dans l'aperture. Les trois apertures en position équatoriale avec leur anneau basal maintiennent la forme sphérique du grain. Ainsi s'explique l'absence de gonflement du grain lorsqu'il est plongé dans un milieu aqueux (cf. FREYTAG K., 1968 et 1970).

L'ultrastructure du sporoderme d'Oenothera lamarckiana est identique à celle décrite par LEPOUSE J. et ROMAIN M.F. (1967) pour Oe. biennis.

3-La cellule végétative et la cellule génératrice :

Pour la cytologie, nous réunissons des observations sur le pollen de *lamarckiana*, *biennis*, *ersteinensis*, *syrticola* et *purpurata*. Les deux unités cellulaires se présentent rarement sur une même coupe en microscopie photonique, au stade du pollen à l'anthèse. Elles peuvent être comparées plus facilement sur des coupes de pollen plus jeune, au stade de la différenciation qui sera défini plus loin. La cellule génératrice se détache bien du protoplacme de la cellule végétative par son cytoplasme transparent et son noyau arrondi fortement coloré. Aucun organite n'y est discernable (P1. XIV, 7 et 8).

Chez *lamarckiana*, la cellule génératrice mesure dans sa plus grande longueur de 30 à 35 μ . Le noyau reproducteur a un diamètre de 17 μ . Ces dimensions ne varient pas jasqu'au stade du pollen mûr.

La position de la cellule génératrice n'est pas constante d'un grain à l'autre ; elle est soit au centre du corps du grain, soit à la base d'une aperture, ou déjà à l'intérieur de l'aperture. Le noyau végétatif reste proche de la cellule génératrice, mais en retrait par rapport à l'aperture.

Le protoplasme de la cellule végétative est abondamment parsemé d'amyloplastes. En forme de bâtonnets, longs de 4 à 6 μ et larges de 1 à 2 μ , les amyloplastes occupent tout le volume du corps du grain, mais ils n'y sont pas répartis de manière uniforme (Pl. IV, 3, 4 et 7). En contraste de phase, par leur forte réfringence, ils se détachent bien sur le fond cytoplasmique (Pl. IV, 3 et 4). Dans le pollen de *lamarckiana*, on estime que les régions les plus denses ont 10 amyloplastes par 100 μ^2 et les moins denses de 0 à 3 amyloplastes par 100 μ^2 . Dans l'aperture, la densité est faible (Pl. VII et Pl. IX, 1) et, au sommet de l'aperture, les amyloplastes sont absents.

Si nous comparons ces images avec celles du pollen de Beta (HOEFERT L., 1969), de Crocus albiflorus (JALOUZOT R., 1969), d' Helleborus foetidus(ECHLIN P., 1968), d'Haemanthus katherinae (SANGER J., 1971), du lin (HEITZ B., 1972 et VAZART B., 1969) de Lobelia erinus (DEXHEIMER J., 1972) et de Luzula albida(LAMBERT A.M., 1974), on s'aperçoit que le pollen des Oenothères appartient au type de grains le plus fourni en amyloplastes.

('') Si l'on admet que les coupes semi-fines ont une épaisseur de 1 μ , on peut dire que par 100 μ^3 il y a 10 amyloplastes, donc par 10 μ^3 1 amyloplaste. En réduisant le grain de pollen de *lamarckiana* à une sphère de 100 μ^3 de diamètre, son volume est de 500.000 μ^3 , ce qui donne un total de 50.000 amyloplastes contenus dans le grain de pollen.

Cette richesse en amyloplastes prouve que le grain létal est particulièrement inapte à la synthèse des glucides. Cette constatation concorde avec les réactions d'harmonie et disharmonie qui peuvent apparaître entre plastome et génome dans la plante verte (STUBBE W., 1963). Le plastome revêt donc une importance génétique à la fois dans le sporophyte et le gamétophyte.

4-<u>L'Ultrastructure du protoplasme de la cellule végé-</u> tative⁽⁺⁾:

Dans le corps du grain, on distingue deux régions : le protoplasme pariétal et le protoplasme central. Enfin, le protoplasme de l'aperture présente des caractères particuliers.

a) Le protoplasme pariétal (Pl. V, 2) est parsemé de vésicules qu'on considère d'origine golgienne (DEXHEIMER J., 1965 ; HEITZ B., 1973). Leur diamètre varie entre 0,05 μ et 0,1 μ . Elles correspondraient aux vésicules de type. 3 observées par HEITZ B. (1973, p. 43) dans le pollen de *Linum austriacum*. Elles sont limitées par une membrane simple de 50 Å d'épaisseur. Sur certaines vésicules (marquées d'une flèche) les 3 feuillets de la membrane unitaire sont résolus. Ces vésicules forment l'organite prédominant du protoplasme.

La mitochondrie, de section circulaire en coupe transversale, présente des crêtes élargies au sommet. En section longitudinale, elle apparaît comme un cylindre au contour légèrement ondulé pouvant atteindre jusqu'à 2 µ de long.

De-ci de-là, les ribosomes groupés en paquets semblent former des polysomes. Le diamètre du grain unitaire est de 0,02 μ .

Le dictyosome est composé de 5 à 7 saccules superposés ; les vésicules latérales ne sont pas apparentes. Il est probable que l'aire claire, proche du plasmalemme (partie droite de la Fig. 2, Pl. V) corresponde à une coupe tangentielle au niveau des vésicules golgiennes.

b) Le protoplasme central (Pl. VI) est décrit à partir d'une image du pollen d'ersteinensis. Outre les petites vésicules (vg) observées plus

(+) Pour l'ultrastructure en Cytologie végétale, nous prenons comme ouvrages de référence : Plant Cells par CLOWES F. et JUNIPERUS (1968) ; et Introduction to the fine structure of plant cells par LEDBETTER-PORTER (1970). Planche IX : Oe. lamarchiana, l'aperture

1. Coupe transversale dans l'aperture (x 5.700)

2. Coupe transversale dans l'anneau (x 6.700)

<u>Abréviations</u>: an : anneau - ay : amyloplaste - In : intine striée - N : nexine - S : sexine



(BUS)

haut, il est parsemé de grandes vésicules (ve) de 0,3 à 0,4 μ , à contour souvent lobé. Le contenu est granuleux. Certaines vésicules ne sont pas fermées (marquées par une flèche) ; elles peuvent donc être considérées comme des diverticules du reticulum.

Dans l'amyloplaste, le grain d'amidon occupe pratiquement tout le volume. L'enveloppe du plaste est sinueuse. Par endroits on discerne le tracé des lamelles.

Le dictyosome, coupé en section transversale présente latéralement des vésicules qui ont le même aspect que les petites vésicules (vg) du protoplasme.

c) Le protoplasme de l'aperture (Pl. X). La structure de la base de l'aperture est identique à celle du corps du grain. L'organite prédominant est la petite vésicule de 0,05 à 0,07 μ (Pl. X, 1). Le centre de la vésicule est souvent occupé par un grain analogue à un ribosome. Sur certaines vésicules, les 2 feuillets foncés de la membrane unitaire paraissent particulièrement écartés, le diamètre de la membrane atteint 0,01 μ . Les amyloplastes sont plus petits, soit ovales de 3 μ de long soit sphériques de 1 μ de diamètre. Certains apparaissent opaques aux électrons.

Sous l'intine du pore germinatif (Pl. X, 2), le fond du cytoplasme est plus dense, il est éclairci par les petites vésicules d'origine golgienne. Les amyloplastes dont on discerne difficilement l'enveloppe contiennent un grain d'amidon au contour irrégulier et opaque aux électrons. Cet aspect est probablement dû à la première phase de la digestion de l'amidon. La mitochondrie se présente en section longitudinale de 1 μ de long. Sur d'autres images, on observe une densité élevée de mitochondries : sur une surface de 16 μ^2 , on a dénombré 10 mitochondries plus ou moins contigües.

Le plasmalemme envoie des diverticules dans l'intine qui se prolongent en fins canalicules cytoplasmiques, larges de 0,02 μ à 0,03 μ . Ces canalicules sinueux, d'abord perpendiculaires au pore germinatif se replient dans la partie périphérique de l'intine et deviennent parallèles à la surface du pore.

Cet ensemble de caractères cytologiques indique que le protoplasme de l'aperture est dans l'état physiologique de la germination.

Planche X : Oe. lamarchiana, l'aperture

1. Sporoderme et protoplasme pariétal de l'aperture (x 42.000)

2. Le pore genninatif (x 40.800)

Abréviations :

ag : aire germinative - ay : amyloplaste cpl : canalicule du plasmalemme - In : intine m : mitochondrie - plme : plasmalemme sp : globule de sporopollénine.



En résumé le grain normal du pollen des Oenothères est caractérisé :

- par un sporoderme épais à 3 strates qui sont solidaires au niveau de l'anneau ;

- par une architecture particulière de l'aperture ;

- par la grande surface des membranes qu'apportent les vésicules golgiennes ;

- enfin, par la richesse en amyloplastes.

B. - LE GRAIN VIDE COMPARE AU GRAIN NORMAL

Toutes les images sont prises dans le pollen de *lamarckiana*. Dans le tableau 2 sont comparés les deux types de grains pour les caractères quantitatifs auxquels s'ajoutent des caractères de structure distinctifs.

1-Morphologie du grain :

Le grain vide est aplati, écrasé même (Pl. III, 5 et Pl. IV, 5 et 6), suivant l'axe polaire. En vue équatoriale, les deux parois des demi-sphères sont contiguës (Fig. 2, E), à cause du vide laissé par le contenu cellulaire. Sa taille est plus petite suivant les axes polaire et équatorial (Fig. 2, D). Mais si le sporoderme pouvait être régulièrement tendu, le grain vide pourrait atteindre le même volume que le grain normal. Il est remarquable de constater que les proéminences aperturales conservent une forme assez régulière, à cause de l'organisation du sporoderme (Pl. III, 6). Le pore germinatif est fortement affaissé (Pl. III, 7).

2-Le sporoderme (Pl. XI et XII) :

A tous les niveaux, le sporoderme est tel que nous l'avons décrit pour le grain normal. Au niveau du corps du grain, la sexine (Pl. X, 2 et 3) forme un manteau très plissé, flottant autour de la nexine (Pl. IV, 6). Les piliers sont très courts, se détachent à peine du toit, et ne s'appuient que par endroits sur la nexine. Entre sexine et nexine, les chambres polliniques, compartimentées dans le grain normal, sont continues et peuvent être occupées par des plaques assez importantes de tryphine.

La nexine est plus épaisse (jusqu'à deux fois la nexine normale, cf. Tableau 2, 2) parce qu'elle n'est pas tendue. Elle est donc une lame élastique qui enveloppe le grain.

Planche XI : Oe. lamarchiana, le grain vide.

- 1. L'aperture (x 5.000)
- 2. Le corps du grain (x 10.200)
- 3. La lumière du corps du grain (x 13.800).

<u>Abréviations</u> : a : anneau - n : nexine - p : pilier po : emplacement du pore germinatif rc : résidu cytoplasmique - t : toit



L'anneau basal de l'aperture est très développé en largeur et occupe toute la lumière de la base de l'aperture, également à cause de l'affaissement des parois (Pl. XI, 1 et XII, 1).

Comme à partir de l'anneau, la sexine est continue avec la nexine, c'est à ce niveau que la sexine fait corps avec le grain. Autour de l'aperture les piliers et les chambres polliniques sont régulièrement développés, comme dans le grain normal (pl. XI, 1).

A l'emplacement du pore germinatif, l'exime est unistratifiée et continue. L'augmentation du volume de l'aperture fait donc apparaître le pore germinatif

La sporopollénine est organisée en globules de même diamètre que le grain normal (Tableau 2, 3). En périphérie de la sexine, ces globules se détachent bien, de sorte qu'en surface, le grain vide est identique au grain normal. Seule, la densité des globules par μ^2 les distingue (Tableau 2, 4) : elle est plus forte chez le grain vide à cause de l'absence de tension dans le sporoderme. Dans la trame de la sexine de l'aperture (Pl. X, 1), les globules sont régulièrs ou s'empâtent, leur contour étant plus ou moins discernable.

Le système membranaire du sporoderme et de l'anneau dans le grain normal est conservé dans le grain vide (Pl. XII, 1). Ceci n'est possible que si la membrane d'origine est enveloppée par la sporopollénine imputrescible qui s'est déposée à sa surface. La "membrane" est donc en réalité son moule externe dans le sporoderme du grain normal et du grain vide.

Dans certains grains vides, la sporopollénine est abondamment développée : elle remplit toute la lumière du grain vide (Pl. XII 2). En outre, la nexime au niveau de l'aperture montre du côté interne des crêtes qui n'existent pas dans le grain normal (Pl. XII, 1) Il semble qu'il y ait excès de sporopollénine dans le grain vide.

L'intine est absente à tous les niveaux. Elle n'était probablement pas développée au moment où la létalité s'est déclenchée dans le pollen.

Planche XII : Oe. lamarckiana, le grain vide

1. Le sporoderme au niveau de l'anneau (x 13.300)

2. La surcharge de sporopollénine dans la lumière du corps du grain (x 11.700)

<u>abréviations</u>: a : anneau - en : endexine discontinue - mb : membrane - n = nexine - p : pilier - s : sexine - v : viscine.


TABLEAU :2DIMENSIONS COMPAREES DU GRAIN DE POLLEN NORMAL ET VIDE

	Ахе	Axe	Aper	Diamètre du		
	équatorial polaire Longu		Longueur	Base	germinatif	
Grain normal.	140	140 100 40		63	15	
Grain vide	95-100	50	25-27	45-50	absent	

2. Epaisseur des strates du sporoderme (en µ)

1. Taille du grain (en μ)

		Sexine	e					
	Pilier		Ch. poll.	Nexin e	Intine	An	neau	
Toit	L	1	1	•		1	h	
0,5-1	1,2-1,5	0,3-0,5	0,8-1,2	0,6-1	0,02 0,8	-	_	
0,8-1	1	0,3	0,3	1,5-1,7	absente	-	-	
0,3-1	1 -1,5	0,4-1	0,5-2	0,8-1,2	0,6-3,5	9	3,5-4	
0,5-0,8	1 -1,2	0,5	0,5-2	1,5-2	absente	10-12	2 6 -10	
	Toit 0,5-1 0,8-1 0,3-1 0,5-0,8	Pil Toit L 0,5-1 1,2-1,5 0,8-1 1 0,3-1 1 0,5-0,8 1	Sexing Pilier L 1 0,5-1 1,2-1,5 0,3-0,5 0,8-1 1 0,3 0,3-1 1 -1,5 0,4-1 0,5-0,8 1 -1,2 0,5	Sexine Pilier Ch. poll. Toit L 1 1 0,5-1 1,2-1,5 0,3-0,5 0,8-1,2 0,3 0,8-1 1 0,3 0,3 0,3 0,3-1 1 -1,5 0,4-1 0,5-2 0,5-0,8 1 -1,2 0,5 0,5-2	Sexine Pilier Ch. poll. Nexine Toit L 1 1 0,5-1 1,2-1,5 0,3-0,5 0,8-1,2 0,6-1 0,8-1 1 0,3 0,3 1,5-1,7 0,3-1 1 -1,5 0,4-1 0,5-2 0,8-1,2 0,5-0,8 1 -1,2 0,5 0,5-2 1,5-2	Sexine Nexine Intine Pilier Ch. poll. Nexine Intine Toit L 1 1 0.5-1 0.3-0.5 0.8-1.2 0.6-1 0.02 0.8 0,5-1 1.2-1.5 0.3-0.5 0.8-1.2 0.6-1 0.02 0.8 absente 0,3-1 1 -1.5 0.4-1 0.5-2 0.8-1.2 0.6-3.5 absente 0,3-1 1 -1.2 0.5 0.5-2 1.5-2 absente	$\begin{array}{c c c c c c c c c c c c c c c c c c c $	

Abréviations : L. : Longueur ; l. : largeur ; h. : hauteur ; Ch. poll. : Chambre pollinique.

3. Taille des globules de sporopollénine (en nm)

	Corps d	lu grain	Aperture			
	Globule	Globule	Globule	Globule		
	superficiel	interne	superficiel	interne		
Grain normal.	200-250	100-130	220	100		
Grain vide	200-250	100-160	200-250	100-150		

4. Nombre de globules de sporopollénine par surface de 1 μ^2

	Corps du grain	Aperture
Grain normal	9	5
Grain vide	13	7

Certaines coupes révèlent encore quelques résidus cellulaires, sous forme de traînées astructurées (Pl. XI, 3)

3-<u>Ressemblance et différences entre grain normal et</u> grain vide :

La stratification du sporoderme du grain vide est complète et identique à celle du grain à l'anthèse. Lorsque les phénomènes de létalité se déclenchent dans la microspore, le sporoderme est totalement différencié. Alors que le développement du grain létal est stoppé, le grain normal évolue et croît en volume : la sexine se déplisse, la nexine s'étire, la voûte aperturale se fend et laisse apparaître le pore germinatif. Le grain vide est un grain juvénile.

Si la létalité n'atteint pas l'organisation du sporoderme, elle perturbe la synthèse de la sporopollénine par un excès de sporopollénine sous la nexine dans l'aperture et plus rarement dans le corps du grain.

C. - LE GRAIN INACTIF (PLANCHES IV ET XIII)

Nous considérons successivement la morphologie du grain et son état physiologique à l'anthèse.

1-Morphologie :

Sur un étalement (Pl. I) le grain inactif a une morphologie spécifique. Chez ersteinensis et nuda, il est très proche du grain actif. Chez biennis, coronifera, suaveolens, rubricaulis, grandiflora, hungarica, cockerelli et toutes les espèces du groupe parviflora, il a un aspect bien typique : le corps du grain est plus ramassé, les apertures forment des lobes souvent aplatis au sommet. La coloration au carmin est plus foncée, certaines apertures apparaîssent transparentes.

Sur coupe, le pollen de *biennis* est analysé (Pl. IV, 7 et 8). La distinction entre grain actif et inactif est difficile, parfois même impossible. C'est la raison pour laquelle les auteurs cités plus haut (ERDIMAN et LEPOUSE) n'en tiennent pas compte.

Si dans l'étalement, la taille du grain est le bon caractère, celui-ci n'est plus utilisable sur une coupe, puisque les différents grains d'une préparation sont coupés à des niveaux différents. Les caractères suivants sont retenus : - l'ectexine du sporoderme est plissée, car le volume du cytoplasme étant plus faible, le sporoderme est moins tendu. Ce caractère est apparu le meilleur ;

 les grains d'amidon sont moins abondants et irrégulièrement répartis dans le corps du grain. Pour 100 μ², leur nombre varie de 0 à 6.
 Dans les apertures, ils peuvent être totalement absents.

Le grain inactif comprend la cellule génératrice (Pl. IV, 8). Le grain inactif est donc un gamétophyte normal, composé de deux unités cellulaires, mais l'élaboration de ses réserves glucidiques est inhibée. Il apparaît comme un individu chétif dont il faut tester l'état physiologique.

2-Etat physiologique (Pl. XIII) :

La population pollinique est soumise à deux tests : - par une réaction fluorescente, le grain inactif est testé pour sa viabilité ;

- par la mise en germination sur milieu de culture, le grain inactif est testé pour son aptitude à la germination.

a) La viabilité :

Elle est mise en évidence par la réaction de fluochromasia du diacétate de fluorescéine au contact des membranes, et en particulier du plasmalemme (technique décrite par HESLOP-HARRISON J. et H.H.Y, 1970). L'analyse est faite sur le pollen de *suaveolens* (Pl. XIII, 1). La source lumineuse en rayons ultraviolets est la lampe à vapeur de Mercure, Binolux II (Reichert).

Les grains normaux sont fluorescents sur toute la surface, et surtout au niveau des apertures, probablement à cause de la meilleure pénétration du liquide fluorescent.

Les grains inactifs ne se comportent pas de manière homogène : certains sont légèrement fluorescents au niveau du corps du grain et nettement au niveau des apertures ; d'autres ne montrent pratiquement aucune luminescence.

b) l'aptitude à la germination :

Le milieu utilisé est celui mis au point spécialement pour les Oenothères par GLENK H.O. (1960). Il est composé de 5 % de

<u>Planche XIII</u> : Tests de vitalité du grain inactif

A. Test de l'intégrité du plasmalemme :

1. pollen de suaveolens (x 210)

B. Test du pouvoir de germination :

- 2. lamarchiana (x 63)
- 3. ersteinensis (x 90)
- 4. coronifera (x 120)
- 5. (blandina x nuda) (x 60)





gélatine, de 8 % de saccharose, de 0,01 % d'acide borique et de 0,1 % d'extrait de levure. Comme le milieu est solidifié par la gélatine, la germination est faite en chambre conditionnée à 18°C. En 3 heures, tous les grains germent, et au bout de 6 heures la germination est pratiquement achevée. Certains tubes atteignent la taille de 2 cm.

Le pollen normal de *lamarckiana* est pris comme témoin. Tout le pollen germe (Pl. XIII, 2). Le grain en germination prend un aspect plasmolysé et ressemble à un grain inactif.

Dans le pollen d'*ersteinensis* (Pl. XIII, 3) tous les grains germent. Il est probable qu'il se trouve parmi ces grains un grain de type inactif qu'il est impossible de reconnaître sur une préparation de milieu de culture.

Dans la population pollinique où le grain inactif a une morphologie bien nette de grain ratatiné, la difficulté est de séparer après germination le grain actif du grain inactif qui ont germé, car tous les deux ont le même aspect. Sur les préparations où l'on reconnaît de manière sûre les deux types de grains, on constate que tous les grains actifs germent, et que parmi les grains inactifs, certains germent et d'autres ne germent pas. Sur l'image pollinique de *coronifera* (Pl. XIII, 4) on reconnaît par sa taille le grain inactif qui a donné deux tubes polliniques. Sur l'image pollinique d'un hybride à 3 classes de grains (Pl. XIII, 5) deux grains inactifs ont germé et un grain n'a pas germé. Sur le pollen de *suaveolens* et d'*Issleri*, on a observé également des grains inactifs en germination.

Les deux tests démontrent que la population des grains inactifs est hétérogène, certains se comportent comme des grains normaux et d'autres comme des grains létaux qui n'ont pas d'avenir génétique.

Cet aperçu morphologique et cytologique démontre que les trois types de grains sont des individus génétiques distincts. La population des grains normaux est remarquablement homogène.

La population des grains inactifs est hétérogène. Le grain inactif réalise la première mitose pollinique, comme le grain actif, mais durant le dernier stade de maturation, il est incapable de synthétiser son stock

de réserves glucidiques. Dans certains grains, à l'anthèse, le fonctionnement du système membranaire est arrêté, de sorte que la germination est impossible. On peut faire l'hypothèse que l'hétérogénéité de la population des grains inactifs se superpose à une hétérogénéité génétique : les grains inactifs ne porteraient pas tous le même génome.

La population des grains vides est homogène. Le grain vide est un grain juvénile qui est stoppé dans son développement au stade où le sporoderme est complètement élaboré. Il s'agit de déterminer le stade pendant lequel la létalité se déclenche dans le futur grain vide.

III. - LE DEVELOPPEMENT DU GAMETOPHYTE MALE.

_ • • _ • • _ • • _

BEER R. (1906) donne la première description du développement de la microspore chez les Onagraceae en prenant comme matériel les espèces *biennis, longiflora* et *Gaura lindheimeri*. Il s'attache en particulier à la formation de l'aperture durant laquelle une digitation cytoplasmique envahit le lobe apertural initialement creux. C'est, à notre connaissance, le seul travail qui traîte du jeune gamétophyte mâle des Oenothères. EREWBACKER J. L. (1967) qui fait une prospection systématique du nombre de mitoses polliniques dans le pollen des Angiospermes, note que le pollen des Onagraceae est binucléé.

De la tétrade à l'anthèse, le gamétophyte mâle est en évolution constante. Une fleur de *lamarckiana*, marquée au stade de tétrade le 8 août, est arrivée à l'anthèse le 21 août. 15 jours se sont déroulés. Sur ce laps de temps, nous ne présentons que quelques instantanés qui nous permettront de donner les faits essentiels sur la construction du pollen adulte. Le but de l'analyse est de situer le stade où se déclenchent les processus de létalité dans certains grains. Lamarckiana est choisi comme principal matériel d'illustration, car au départ ce pollen à 2 classes de grains nous paraissait plus simple à analyser qu'un pollen à 3 classes. Des images prises chez d'autres espèces, biennis, syrticola, chicaginensis, grandiflora l'Héritier complètent la description.

HESLOP-HARRISON J. (1970), réunissant les documents d'une dizaine d'espèces d'Angiospermes, distingue dans le gamétophyte mâle 4 stades : la tétrade avec la formation de la primexine, la lère mitose pollinique, le stade de vacuolisation et le stade de maturation. Le gamétophyte des Oenothères parcourt ces étapes. A la taille des anthères, nous avons repéré chez *lamarckiana* les stades de la manière suivante :

	Stades	Longueur en		d'anthèr mm		
De	la tétrade à la 1ère mitose pollinique	4	-		6	
Le	pollen jeune	6				
Le	stade de vacuolisation	7	~	-	9	
Le	stade de maturation	10	-		16	

A. - DE LA TETRADE A LA MITOSE POLLINIQUE

Nous considérons successivement la tétrade, la population de tétrades, la structure de la microspore et enfin la microspore en mitose pollinique.

1-La disposition des 4 microspores dans la tétrade :

Elle détermine l'architecture du futur grain de pollen (TAMMES P.L.L., 1930, donne une vue d'ensemble sur la morphologie de la microspore chez les Angiospermes). La microspore ébauche la forme tétraédrique. Sur la figure 3 les ⁴ microspores sont schématisées par les tétraèdres : A M N P ; B M N Q ; C M Q P et D N Q P. Chaque tétraèdre est en contact avec les 3 autres tétraèdres par les 3 arêtes d'une même base M N P. Chaque tétraèdre possède un sommet libre, A, B, C ou D. Ces ⁴ sommets correspondent aux 2 pôles des 2 fuseaux d'anaphase II (par exemple A et C pour le 1er fuseau, B et D pour le 2ème fuseau). Aux extrémités des arêtes communes, c'est à dire aux angles M, N et P se forment les 3 apertures de chaque

Planche XIV : Evolution du gamétophyte mâle.

- Oe. lamarckiana : coupe transversale dans l'anthère (longueur 7 mm) au stade de microspore libre (x 600).
- Oe. lamarckiana : détail du sac pollinique au stade de microspore libre (x 1.125).
- 3 6. Etalement de microspores en première mitose pollinique.
 - 3 : Oe. grandiflora L'Héritier : plage de microspore en métaphase (x 870).
 - 4 : Oe. suaveolens : microspore en prophase (x 1.380).
 - 5 : Oe. suaveolens : microspore en métaphase (x 870).
 - 6 : Oe. grandiflora : microspore en métaphase (x 1.380).
 - 7. Oe. lamarckiana : coupe méridienne dans le pollen au stade de la différenciation (x 360).
 - 8. Oe. biennis : coupe tangentielle passant par deux apertures et la cellule reproductrice dans le pollen au stade de la différenciation (x 575).

La coloration : 1, 2, 7 : hématoxyline 3, 4, 5, 6 : carmin acétique 8 : coupe semi-fine dans l'araldite colorée au bleu de méthylène.

<u>Abréviations</u> : am : assise mécanique - c : connectif - cr : cellule reproductrice - ec : ectexine - en : endexine ep : épiderme - ia : zone initiale de l'aperture ls : logette sporale - nv : noyau végétatif pex : primexine - se : sac pollinique externe si : sac pollinique interne - T : tapis fonctionnel -Td : tapis dégénéré - tp : tissu pariétal - V : vacuole.

Planche XIV : Evolution du gamétophyte mâle





<u>Figure 3</u>: Schéma de la disposition des 4 microspores dans une tétrade.

microspore. On distingue ainsi deux faces sur la microspore :

- la face proximale tournée vers le centre de la tétrade, plane avec les 3 apertures ;

- la face distale dirigée vers l'extérieur de la tétrade, bombée. Cette forme est bien reproduite sur la coupe de la microspore figurée sur la planche XVII, 1. Initialement la microspore est donc hétéropolaire. La face proximale va progressivement devenir sphérique au cours du développement, de sorte qu'à maturité le grain apparaît isopolaire.

2-La population des tétrades :

Elle est remarquablement homogène. Les 4 microspores de toutes les tétrades sont normalement développées (Pl. XV, 1). Tous les noyaux sont en interphase. Le développement du gamétophyte est donc assuré au départ pour toutes les microspores. Aucun signe de létalité n'est décelable. Il apparaîtra au cours de la vie du gamétophyte. La létalité est bien d'origine gamétophytique. <u>Planche XV</u> : Evolution du gamétophyte mâle de la tétrade au stade de maturation.

- Oe. biennis : coupe longitudinale dans le sac pollinique au stade de la tétrade (x 475) - coloration à l'hématoxyline.
- 2. Oe. chicaginensis : fluorescence au bleu d'aniline d'un étalement de tétrades (x 200).
- 3 6. Morphologie externe du gamétophyte.
 - 3 : au stade de la logette microsporale (x 450)
 - 4 : au stade de la mitose pollinique (anthère, 6 mm) (x 280)
 - 5 : au stade de la vacuolisation (anthère, 8 mm) (x 280)
 - 6 : au stade de maturation dans la population homogène (anthère, 12 mm) (x 250)

Photo 3 : chez biennis

Photos 4-6 : chez lamarchiana.

<u>Abréviations</u>: Ia : région initiale de l'anneau (a,b,c, :voir Pl.XVIII, 2) - ls : logette sporale - N : noyau de **la** microspore en prophase - pex : primexine - ps : paroi sporocytaire - sp : lumière du sac pollinique - T : tapis fonctionnel - Tr : tétrade. Planche XV : De la tétrade au premier stade de maturation



La population de tétrades



Les parois callosiques dans la tétrade



Morphologie externe du gamétophyte

3-La structure de la microspore :

La microspore est enveloppée par une paroi callosique, appelée logette sporale par WATERKEYN L. (1968), bien visible sur les photos des planches XIV, 3 et 6 et planche XV, 3. Elle est finement fluorescente au bleu d'aniline en même temps que la paroi sporocytaire (Pl. XV, 2, selon la technique d'ESCHRICH W., 1964).

WATERKEYN L. (1970) met en évidence l'anisotropie de la paroi sporale qui est liée à la structure du sporoderme. Il conclut qu'elle sert de moule externe à la primexine.

Cette paroi est transitoire et va se résorber (la microspore planche XIV, 5 et planche XV, 4 est bordée d'un résidu de la paroi sporale).

La primexine forme la véritable paroi de la microspore (Pl. XVI, 2). On y discerne les futures strates du sporoderme, vers l'extérieur la sexine striée, vers l'intérieur la nexine homogène. A deux niveaux, la paroi callosique est continue avec la primexine.

A l'emplacement des futures apertures, défini plus haut, la primexine s'épaissit en un disque plein convexe vers l'extérieur et concave vers l'intérieur (Pl. XIV, 2). Si la microspore est étalée, la zone initiale de l'aperture prend la forme d'un disque biconvexe (Pl. XIV, 6) par la pression due à l'étalement.

La primexine et le plasmalemme limitent un interstice de largeur variable. Il est occupé par du matériel filamenteux ou granuleux qui enrobe des membranes (épaisseur de la membrane : 80 Å) formant vésicule. Par endroits (marqués d'une flèche, Pl. XVI, 2), le plasmalemme est doublé extérieurement de membranes anastomosées qui sont probablement à l'origine des vésicules. Cette structure est analogue à celle que nous décrivons plus loin à la base de l'aperture.

Le noyau sphérique de la microspore est à l'état prophasique (Pl. XVI, 1). La chromatine apparaît nettement et dessine le trajet de chromosomes. L'enveloppe nucléaire a un tracé légèrement ondulé. L'espace intermembranaire est occupé à intervalles réguliers par des bouchons opaques qui révèlent l'activité enzymatique du noyau.

Le cytoplasme (Pl. XVI, 2) est optiquement dense par l'abondance des ribosomes libres. De-ci, de-là transparaissent les doubles membranes du reticulum endoplasmique. Elles forment un système tubulaire large d'environ 0,02 μ (la membrane est épaisse de 70 Å et l'interstice entre les deux membranes est large de 60 Å).

Sur cet ensemble granuleux et membraneux se détachent les vacuoles et les amyloplastes. La majorité des vacuoles ont un aspect réticulé, comme dans les cellules méristématiques. Leur contenu est, soit parfaitement transparent, soit légèrement opaque. Les amyloplastes sont circulaires (1 à 1,5 μ de diamètre) ou allongés (3 μ de long). Le plaste est occupé par 1 à 4 grains d'amidon dont certains sont creux en leur centre. Le grain est entouré d'une zone claire ou de stroma granuleux. En bordure du plaste, on discerne les membranes thylakoïdes.

L'évolution de la microspore est visible au niveau de l'aperture. A la base du disque se détache progressivement une zone sombre annulaire ; c'est la région du futur anneau (Pl. XV, 3). L'aperture prend la forme d'un lobe court aplati au sommet. Elle est très fragile, puisque l'étalement peut la déchirer et la séparer du corps du grain (Pl. XIV, 3 et 4). Les microspores d'une tétrade ne sont plus solidaires car la paroi sporocytaire a disparu ; la paroi sporale est en voie de résorption (Pl. XIV, 4). C'est à ce moment qu'intervient la lère mitose pollinique.

4-La lère mitose pollinique :

Elle se déroule au stade où la zone initiale de l'aperture est bien visible. Chez grandiflora, elle s'observe sur des microspores dont la logette callosique est bien conservée (Pl. XIV, 3 et 6). Chez suaveolens, la lère mitose pollinique se situe au moment où l'anneau apparaît à la base de l'aperture (Pl. XIV, 4 et 5). Chez lamarckiana et syrticola, il en est de même.

Des dénombrements de microspores en mitose ont pu être faits sur des populations de microspores de syrticola, en métaphase. Les résultats sur 3 plages sont les suivants :

	Microspores en métaphase	Microspores sans chromosomes visibles	Total
	8	7	15
	7	2	9
	6	7	13
Total	21	16 (44 %)	37

<u>Planche XVI</u>: Oe. lamarckiana, la microspore au stade de la tétrade (anthère, 4 mm).

- 1. Noyau et protoplasme périnucléaire (x 20.000)
- 2. Protoplasme pariétal (x 17.400).

<u>Abréviations</u>: ay : amyloplaste - Ch : chromatine dy : dictyosome - en : enveloppe nucléaire - N : noyau de la microspore - p : pore nucléaire - p.c. : paroi callosique - pm : plasmalemme - re : reticulum endoplasmique -V : vacuole.





Le pourcentage de grains vides à l'anthèse de syrticola : 47 ± 11 % (cf. tableau 5 p.77) se superpose assez bien au pourcentage de microspores non entrées en mitose.

De ces résultats, il n'est pas possible de conclure que <u>tous les grains</u> potentiellement létaux sont stoppés dans leur développement au moment de la mitose pollinique. Mais on peut affirmer avec certitude qu'une grande partie des grains vides n'ont pas franchi le cycle mitotique complet.

Durant toute cette période allant de la tétrade à la mitose pollinique, le tapis se trouve dans son optimum d'activité sécrétrice (Pl. XIV, 1 et 2). Les microspores baignent dans un milieu qui contient en suspension du matériel granuleux proche de la sporopollénine.

B. - LE JEUNE GAMETOPHYTE BINUCLEE

Les planches XVII, 1 et XVIII présentent une coupe dans un très jeune grain de pollen, quelque temps après la mitose pollinique. Ce stade est reconnaissable à la morphologie du noyau : son contour fortement lobé et la chromatine concentrée sur le pourtour de l'enveloppe nucléaire caractérisent un noyau au repos. Il est entouré d'une couronne d'amyloplastes dont le grain d'amidon occupe tout le volume. Mais de nombreux jeunes amyloplastes sont dispersés dans le cytoplasme. Les granas forment des anneaux concentriques et anastomosés entre lesquels se dépose l'amidon. Par rapport au protoplasme de la tétrade, le volume occupé par les vacuoles est beaucoup plus important. Certaines vacuoles contiennent un précipité dispersé.

Le sporoderme (Pl. XVIII, 1) est différencié en 3 strates. Les piliers limitent les chambres polliniques de l'ectexine. Celles-ci contiennent un matériel granuleux qui est de la sporopollénine non organisée en globule.

L'interstice endexine - plasmalemme est réduit. L'intine n'est pas encore présente.

L'aperture (Pl. XVII, 1) forme un lobe ovale, long de 12µ. Elle est limitée sur les 2/3 de sa longueur par le sporoderme tri-stratifié. La strate de l'endexine est bien marquée en contraste de phase sur un grain

Planche XVII : Oe. lamarchiana, le jeune grain de pollen

- Coupe tangentielle passant par 2 apertures (anthère, 6 mm) (x 5.000).
- <u>Abréviations</u>: a : aperture creuse an : anneau en voie de différenciation - c.g. corps du grain - ec : ectexine en : endexine - t : produit de sécrétion du tapis.
- L'aperture avec la digitation protoplasmique (anthère, 10 mm) (x 3.500).

<u>Abréviations</u>: A : anneau différencié - dp : digitation protoplasmique - ex : exine de l'aperture - In : intine p : emplacement du pore germinatif - tr : tryphine.



Planche XVII: *Q. lamarckiana*, le jeune grain de pollen



Planche XVIII : Oe. Lamarckiana, le jeune grain de pollen.

- 1. Le corps du grain : coupe passant par le noyau végétatif et à la base de l'aperture (x 6.000).
- 2. Les zones de l'anneau en voie de différenciation (x 28.000) détail de la photo 1.
- <u>Abréviations</u> : a : région proximale de l'anneau ay : amyloplaste - ay**j** : jeune amyloplaste - en : endexine nv : noyau végétatif - p : pilier + t : toit - v : vacuole vi : viscine.

Photo 2 :

- a : zone à doubles membranes anastomosées
- b : le stroma réticulé
- c : zone à doubles membranes anastomosées avec globules de sporopollénine.



č

Ъ́

a

étalé (Pl. XV, 4). Au sommet du lobe apertural, le sporoderme est uni-strate. La lumière de l'aperture est occupée par un stroma réticulé et discontinu (Pl. XX, 1). Pratiquement l'aperture est creuse.

A la base de l'aperture, l'anneau est différencié en 3 zones (P1. XVIII, 2) :

- la zone a, au contact du plasmalemme, est formée d'un réseau de membranes qui prolonge l'interstice pla**sm**alemme - endexine dans le corps du grain ;

la zone b est un stroma filamenteux, réticulé ;
la zone c est un réseau anastomosé de doubles membranes. Ce réseau est d'abord lâche, puis serré, ensuite de nouveau lâche. Il forme la charpente de l'anneau. Vu dans l'espace, il forme un empilement de vésicules aplaties et anastomosées, dont la lumière ne dépasse pas les 80 Å. Au niveau du réseau serré, 2 ou 3 doubles membranes deviennent adjacentes. Sur les 2 faces extérieures, la double membrane est recouverte d'un dépôt irrégulier de même aspect que le stroma réticulé qui occupe les interstices du réseau. Ce stroma peut s'agglomérer en paquets de microglobules. Dans la partie lâche du réseau, la double membrane est enrobée dans une chaîne de globules de sporopollénine.

A partir de ces images, on peut se représenter l'évolution de la zone initiale de l'aperture : le disque de primexine se différencie en périphérie en un sporoderme pluristrate et au sommet uni-strate. Au centre, il se transforme en un stroma réticulé. Le plasmalemme au contact du disque donne extérieurement des diverticules membre membre membre la stroma réticulé, et enfin un nouveau système de diverticules.

L'édification de l'anneau démontre le rôle primordial du plasmalemme pour la formation de tout le sporoderme.

C. - LE GAMETOPHYTE VACUOLISE

Extérieurement, le grain a l'aspect de la photo 5, Planche XV. Par transparence on voit au niveau des apertures la limite du plasmalemme, le stroma réticulé et l'anneau. Planche XIX : Oe. Lamarckiana, pollen au stade de la vacuolisation

Ségrégation morphologique "grain normal, grain létal" (anthère 8 mm).

1. Grain normal (x 5.600)

<u>Abréviations</u>: ay : amyloplaste - Ch : chromatine - en : endexine mi : mitochondrie - N : noyau végétatif - nu : nucléole pl. : plasmalemme - V : vacuole - ve : vésicule ergastoplasmique.

2. Futur grain vide (x 5.600)

Planche XIX : *Ce. lamarckiana*, pollen au stade de la vacuolisation Ségrégation "grain normal, grain létal " (anthère 8mm)





Planche XX : Oe. lamarchiana, pollen au stade de la vacuolisation (anthère, 8 mm).

- 1. Détail de la région nucléaire de la photo planche XIX, 1 (x 15.000).
- 2. La zone des doubles membranes anastomosées de l'anneau (x 85.000)
- 3. Sommet de l'aperture (x 23.000)

<u>Abréviations</u>: ay : amyloplaste - en : enveloppe nucléaire ex : exine - M : mitochondrie - me : double membrane ergastoplasmique - msp : microglobules de sporopollénine - N : noyau végétatif - nu : nucléole - p : emplacement du futur pore germinatif - r : ribosomes libres - sp : globule de sporopollénine - sr : stroma réticulé - V : vacuole.

Planche XX: *Oe. lamarckiana*, pollen au stade de la vacuolisation (anthère 8 mm)



Dans le protoplasme, les nombreuses vacuoles augmentant de volume deviennent coalescentes. La cellule végétative prend l'aspect d'une cellule adulte : elle est composée d'un ensemble de grandes vacuoles séparées par des tractus cytoplasmiques (Pl. XIX, 1).

Le noyau végétatif est très lobé, dans son plus grand diamètre, il atteint 11 μ . La chromatine borde intérieurement l'enveloppe nucléaire.

Le système mitochondrial est très développé. Les crêtes des mitochondries sont larges, le stroma est opaque. Certaines mitochondries atteignent jusqu'à 6 μ de long et elles se replient sur elles-mêmes (Pl. XX, 1).

A ce stade, on distingue les vésicules ergastoplasmiques de formes variées.Certaines présentent une ou deux membranes inscrites, qui correspondent à une invagination.

Dans la région de différenciation de l'anneau, la zone c montre une charge plus importante de sporopollénine entre le réseau de doubles membranes (Pl. XX, 2). Les microglobules de 0,05 à 0,1 μ entre les mailles du réseau deviendront coalescents pour former des plaques de sporopollénine de 1 μ .

Au stade de la vacuolisation, on reconnaît avec certitude le grain viable du futur grain vide (Pl. XIX, 2). Celui-ci est en réalité resté au stade de microspore, reconnaissable au noyau sphérique plus petit que le noyau du pollen-normal (diamètre : 6μ). Il rappelle la morphologie du noyau observé au stade de tétrade (Pl. XVI, 1). Le protoplasme est entièrement vacuolisé. Par endroits, les petites vacuoles prolifèrent. Les amyloplastes à amidon formé sont plus petits que dans le grain normal. Beaucoup d'amyloplastes sont restés à un stade juvénile. Le fond du cytoplasme est transparent. La cellule est dégénérescente.

D. - LE STADE DE MATURATION

Nous décrivons d'abord les transformations cytologiques et ensuite les différents aspects de l'image pollinique.

1-Le grain préadulte :

Les grandes vacuoles sont progressivement résorbées. La multiplication des amyloplastes et surtout leur accroissement en volume

<u>Planche XXI</u> : Oe. lamarckiana, pollen au stade de maturation (x 3150).

<u>Abréviations</u> : A : anneau - Ap : aperture - ay : amyloplaste ec : ectexine - en : endexine - In : intine -N : noyau végétatif - n : nucléole - V : vacuole.



étendent le protoplasme de la cellule végétative.

A la base de l'aperture, l'anneau est complètement formé (Pl. XVII, 2). Il dérive de la zone c de la région initiale de l'aperture. La sporopollénine remplit les interstices du réseau de doubles membranes. Le stroma réticulé de la zone b et de la lumière de l'aperture est effacé.

La cellule végétative s'évagine à travers l'anneau dans la lumière de l'aperture. Ce diverticule protoplasmique remplira progressivement tout le volume de l'aperture. Il est limité par l'intine et son axe est occupé par une grande vacuole. A ce stade, en étalement dans le carmin acétique, le grain de pollen apparaît transparent. La structure du sporoderme est bien visible (Pl. XV, 6 et Pl.XXII, 1 et 4).

L'évolution du gamétophyte conduit ainsi au pollen préadulte représenté en coupe méridienne sur la planche XXI. Cette coupe correspond en microscopie photonique aux coupes représentées par les photos 7 et 8 de la planche XIV. Quelques grandes vacuoles subsistent. Tous les amyloplastes ont atteint leur développement maximum. Le sporoderme n'est pas encore totalement distendu. L'ectexine reste très plissée et forme un manteau flottant autour du grain. Cet état du sporoderme donne au grain l'aspect externe de grain "plasmolysé" (Pl. XXII, 2 et 5).

Le grain vide est réduit au sporoderme. Le protoplasme du corps du grain a disparu. La coupe du grain vide de la planche XI, 1 est prise dans une population pollinique où le grain normal est au stade préadulte.

A ce stade le tapis a cessé d'être fonctionnel; il est formé de cellules vides aplaties (Pl. XIV, 7).

2-Les transformations de l'image pollinique :

Au début du stade de maturation, l'image pollinique est homogène (Pl. XXII, 1 et 4). Le grain normal et le grain létal ne se séparent pas extérieurement, alors qu'ils se séparent nettement sur une coupe (Pl. XIX).

En analysant l'image pollinique de boutons floraux de plus en plus âgés, on atteint à un moment donné le bouton floral dans lequel la ségrégation "grain normal, grain vide" est apparente sur l'image pollinique. Le grain normal est le grain préadulte décrit plus haut. Entre ce stade et l'anthèse s'écoulent environ 8 jours. Durant cette période le grain de pollen atteint sa taille définitive.

<u>Planche XXII</u> : Le pollen durant le stade de maturation (x 90) Coloration au carmin acétique ferrique.

0e. lamarckiana

- 1. Pollen homogène (anthère 14 mm)
- Ségrégation morphologique "pollen normal, pollen vide" (anthère 16 mm)
- Pollen composé de grains normaux et de grains vides,
 8 jours avant l'anthèse (anthère 16 mm).

0e. coronife**r**a

- 4. Pollen homogène (anthère : 10 mm)
- 5. Ségrégation morphologique "pollen normal, pollen vide" (anthère 11 mm)
- Ségrégation morphologique grains actifs et grains inactifs, 8 jours avant l'anthèse (anthère 12 mm).

Planche XXII: Le pollen durant le stade de maturation (x90)



0e. lamarckiana

0e.coronifera



Pour une espèce à 3 classes de grains (*coronifera*), on distingue très vite dans la population des grains normaux le futur grain inactif (Pl. XXII, 6) : sa croissance est plus lente, le corps du grain est plus ramassé et les lobes aperturaux sont plus courts.

CONCLUSION

Les étapes les plus importantes du gamétophyte se situent entre la tétrade et la mitose pollinique. Après la mitose pollinique, l'architecture du grain adulte est complètement dessinée.

Le grain vide apparaît comme un grain juvénile qui atteint le stade de la vacuolisation; mais la potentialité de grain génétiquement létal se révèle durant le ler cycle mitotique.

On peut considérer que, jusqu'à la mitose pollinique, le gamétophyte vit grâce aux structures cytologiques de la cellule-mère, c'est à dire du sporophyte. Durant la phase prémitotique, où se réalise la duplication de l'A D N, l'individu haploïde normal montre son aptitude à s'autoreproduire. Le grain génétiquement létal est incapable de s'auto-reproduire: c'est le génome haploïde qui induit la létalité.

Par contre, le sporoderme participe à la fois du jeune gamétophyte et du sporophyte. Le fait qu'il soit complètement formé dans le grain vide prouve que son information est réalisée dans la tétrade et peut-être dans la cellule-mère.

Pour les espèces que nous avons analysées : biennis, coronifera, ersteinensis et suaveolens, le grain inactif est un grain dont le développement est inhibé durant les dernières phases de maturation. Il n'y a pas de caractères structuraux essentiels qui distinguent le grain inactif du grain actif. Le phénotype des grains inactifs n'est pas homogène à l'intérieur de l'espèce : les grains peuvent atteindre différents degrés de maturation. Entre espèces, le phénotype des grains inactifs n'est pas comparable : tous les grains inactifs d'ersteinensis germent, aucun grain inactif de syrticola ne germe.

De l'étude cytologique, nous tirons les enseignements génétiques suivants :

. le grain vide est un individu génétique totalement distinct des grains actifs et inactifs;

. les grains actifs et les grains inactifs peuvent être des individus génétiques différents mais ils doivent avoir des caractères communs.

Nous nous proposons de développer ces deux conclusions par l'analyse statistique de la population pollinique (2ème partie) et par le mode de transmission de l'image pollinique (3ème partie).

2° PARTIE :

ANALYSE STATISTIQUE DE LA POPULATION POLLINIQUE

Il est certain que si dans la tétrade nous pouvions observer la ségrégation entre les microspores normales et létales encore liées par la paroi spéciale, nous aurions en main le résultat de la méiose et nous disposerions d'éléments instructifs sur le mécanisme génétique de la létalité. Or le phénotype "microspore létale" se manifeste après la mitose pollinique lorsque tout lien entre les 4 microspores d'une tétrade est déjà effacé. Il faut donc remonter à la composition de la tétrade par voie indirecte : l'analyse statistique de la population pollinique lors de l'anthèse.

Pour aborder cette analyse nous disposons d'une population pollinique de référence : le pollen dans lequel ségrège le facteur mendélien de létalité, p. L'existence de ce facteur a été mise en évidence dans le pollen des pommiers et poiriers (GAGNIEU A., 1951 ; LINDER R., 1959), et dans le pollen d'*Oe. fructicosa* (LINDER R., 1954). Par une coïncidence heureuse, un mutant +/p a été isolé dans nos cultures d'*Oe. purpurata*, espèce homozygote normalement dépourvue de pollen létal d'origine génétique (JEAN R., 1970). Le pollen de ce mutant a l'intérêt de montrer un ensemble de caractères statistiques qui traduisent une ségrégation simple 1/1 entre les 4 microspores d'une tétrade.

Grâce à cet exemple il sera possible de conférer aux paramètres statistiques chez les Oenothères à complexes une valeur plus démonstrative. Le plan d'étude est ainsi tout tracé :

1 - définir l'échantillon qui sert de base aux calculs statistiques ;
2 - montrer comment on peut lire la composition de la tétrade dans la population témoin à l'anthèse ;

3 - montrer comment se répartissent dans la tétrade les futurs grains actifs / inactifs / vides.

Pour des raisons de continuité dans la démonstration, l'exposé des méthodes statistiques utilisées et certains résultats sont reportés en annexe, p. : 117.

I. LE DENOMBREMENT DE LA POPULATION POLLINIQUE

_ • • _ • • _ • • _ • • _

Le déroulement des opérations est le suivant : fixation et observation du pollen, puis constitution de l'échantillon.

A. - FIXATION ET OBSERVATION DE LA POPULATION POLLINIQUE

L'androcée (fleur débarrassée du périanthe, de l'hypanthium et de l'ovaire) est conservé dans l'éthanol à 70°. Pour un dénombrement qui est basé sur l'aspect du grain, la fixation à l'alcool s'est montrée suffisante au moins pour une année. Les grains de pollen conservés plus longtemps ont tendance à se gonfler d'alcool dans les chambres polliniques du sporoderme : le sporoderme augmente de volume et se détache du contenu cytoplasmique. Cet artéfact ne s'est pas montré génant pour les dénombrements.

Pour la confection de la préparation, l'anthère, détachée de son filet, est posée sur une lame et recouverte de quelques gouttes d'éthanol. Sous la loupe binoculaire nous écartons la fente de déhiscence d'une loge pollinique et avec une pince nous saisissons un amas de pollen aggloméré en pelote par la viscine. L'anthère est enlevée, les grains sont écartés ; une goutte de carmin est ajoutée à l'alcool, une lamelle est déposée et déplacée latéralement pour bien séparer les grains. Le prélèvement et l'étalement sont faits soigneusement pour maintenir autant que possible la po sition initiale des grains entre eux.

Le pollen est coloré au carmin acétique ferrique. Ce colorant nous a paru le meilleur : le contenu cytoplasmique, en particulier les amyloplastes, se détachent nettement rendant aisée la distinction entre grain inactif et grain vide. Nous préférons le carmin au réactif iodo-ioduré qui colore bien les grains mais rétracte le contenu cytoplasmique, et au bleu lactique dont la viscosité ne facilite pas un bon étalement.

La population pollinique est observée au grossissement 12,5 x 10. L'effectif d'une plage varie entre 30 et 70 grains. La population reste bien assemblée ; les grains vides ne glissent pas vers le bord de la préparation, car la viscine relie les grains entre eux.

B. - L'ECHANTILLON DE LA POPULATION POLLINIQUE

Pour que la valeur du pourcentage soit très proche de la quantité réelle des types de grains dans la population, l'effectif doit comporter une centaine de grains. Suivant les cas, 2 ou plusieurs plages sont additionnées ; cet ensemble constitue l'échantillon de population. Son effectif varie entre 80 et 130 grains. N est l'effectif moyen de l'échantillon. n représente le nombre d'échantillons qui constitue la population pollinique analysée. Le produit N x n donne le nombre de grains dénombrés de la population pollinique.

Dans deux cas, une variante est introduite. Pour *purpurata* +/p l'effectif moyen de l'échantillon est 225 grains, carré parfait, pratique dans le calcul de l'écart-type théorique. Pour *lamarckiana*, l'échantillon est la plage de pollen observée au microscope, dont l'effectif **m**oyen est N = 60 (les grains sont plus grands).

Dans l'ensemble, chez les espèces hétérozygotes la population pollinique est constituée au minimum de 20 échantillons. 4 espèces sont prospectées plus largement : *biennis*, n = 150 ; *syrticola*, n = 100, toutes deux sont hétérogamétiques ; *ersteinensis*, n = 195, espèce imparfaitement hétérogamétique et *lamarckiana*, n = 233, espèce isogamétique à 2 classes de grains.

Le pourcentage d'un type de grains par échantillon est la variable x_i . Le nombre d'échantillons présentant le même pourcentage d'un type de grain est la fréquence f_i de la variable x_i .

II. DEMONSTRATION STATISTIQUE DE LA SEGREGATION

DES ALLELES +/p DANS LE POLLEN D'Oenothera purpurata

_ • • _ • • _ • • _ • • _ • • _

A. - METHODE

Les tétrades d'une plante de génotype +/p sont composées de 2 microspores qui évoluent en grains normaux fertiles et de deux microspores qui évoluent en grains vides. Durant la microsporogénèse, la coque callosique de la cellule-mère et la paroi spéciale callosique des microspores disparaissent et les 4 microspores d'une cellule-mère deviennent indépendantes, mais restent contiguës dans la loge pollinique. La composition de la population pollinique est exactement 50 % de grains pleins, 50 % de grains vides.

En prélevant le pollen dans les loges polliniques, les positions entre les grains sont dérangées, de sorte que les grains normaux et les grains vides sont dispersés au hasard dans la préparation microscopique. Supposons que nous prélevions 100 grains, qui représentent l'effectif de l'échantillon. Théoriquement toutes les combinaisons de 0 à 100 grains pleins (0 grain plein, 100 grains vides ; 1 grain plein, 99 grains vides, etc....) peuvent apparaître parmi les différents échantillons. Les combinaisons proches de 50 % de grains pleins et 50 % de grains vides sont les plus probables, car elles correspondent à la composition de la loge pollinique. De part et d'autre de ces combinaisons, les fréquences sont d'autant plus faibles que la combinaison est plus dissymétrique. Le modèle mathématique qui correspond à la distribution des fréquences d'un pourcentage, est la loi binomiale. Comme N est très grand, les combinaisons **extrêmes** n'ont pratiquement aucune chance d'apparaître. La loi binomiale se réduit à la loi normale, formulée dans l'équation de Gauss :

 $y = \frac{1}{\sqrt{2\pi N pq}} e^{-(r - Nq)^2/2 N pq}$



r représente le nombre de grains vides observés, y donne la probabilité correspondante de ce nombre en fonction de la proportion de grains vides, q, dans la population pollinique considérée comme infinie. Par exemple, un échantillon de 225 grains (N) comprenant 100 grains vides (ce qui équivaut à environ 45 % de grains vides), extrait d'une population dont la proportion de grains pleins et de grains vides est de 0,5 , a une probabilité de 0,018; c'est-à-dire que si la population pollinique comporte 100 échantillons de 225 grains, 2 échantillons présentent théoriquement la combinaison 100 grains vides, 125 grains pleins.

L'intérêt de la loi binomiale est que l'écart-type qui limite la distribution des pourcentages d'un type de grains est exprimé en fonction du pourcentage théorique p et q de ce type de grains dans la population pollinique, et en fonction de l'effectif de l'échantillon, N, qui est une donnée expérimentale :

$$\sigma = \sqrt{\frac{p \times q}{N}}$$

p ± 3 σ limite la distribution des pourcentages au risque de 1/1.000. Par exemple, pour N = 225, 3 σ = 10 %. Les pourcentages des grains pleins parmi l'ensemble des échantillons doivent varier entre 40 et 60 %.

Si la distribution expérimentale des fréquences des pourcentages s'ajuste à la distribution binomiale et si la dispersion des pourcentages est comprise dans les limites définies par l'écart-type théorique, la population pollinique dérive d'une population de tétrades à ségrégation 1/1 de deux facteurs mendéliens. ⁽⁺⁾ La population pollinique de *purpurata* constitue une belle illustration de ces propriétés statistiques.

B. - <u>RESULTATS</u>.

Deux mutants de pollen létal ont été isolés dans nos cultures de purpurata : le mutant p_1 : les grains létaux sont totalement vides et réduits au sporoderne; le mutant p_2 : les grains létaux contiennent encore du cytoplasme (Pl. XXIII).

(+) La démonstration statistique pourrait également confirmer la ségrégation entre tétrades, 1 tétrade à 4 microspores pleines et 1 tétrade à 4 microspores vides. Mais cette hypothèse est génétiquement insoutenable.

Chez l'hétérogygote $+/p_1$ des prélèvements sont faits dans les 8 anthères de 2 fleurs, chaque fleur provenant d'une plante différente. La population pollinique est composée de 150 échanțillons de 225 grains. Pour l'hétérozygote $+/p_2$ les prélèvements de pollen sont faits sur une anthère provenant de trois fleurs différentes d'un même pied, et cette opération est répétée sur 5 plantes différentes. La population pollinique comporte 120 échantillons de 225 grains.

Moyennes et écarts-types expérimentaux des pourcentages de grains vides sont les suivants :

> p_1 : 49,94 ± 1,57 % p_2 : 50,50 ± 1,39 %

La moyenne des pourcentages observés se superpose pratiquement au pourcentage théorique. Dans chaque cas beaucoup d'échantillons présentent un nombre égal des deux types de grains. La fluctuation d'échantillonnage est très restreinte, largement inférieure à celle prévue théoriquement, $\sigma = 3,33 = \sqrt{\frac{50 \times 50}{225}}$. La dispersion expérimentale totale (± 3 S) est inférieure à 2 σ , comme le montre l'histogramme des fréquences, tracé pour les grains vides p₁ (Fig. 4, A). Cet histogramme ressemble à une pyramide à base étroite et à sommet élevé.

La courbe théorique, tracée sur la base de l'écart-type théorique de 3,3 % devrait normalement circonscrire l'histogramme expérimental. Elle présente en réalité une forme plus aplatie et plus étalée que l'histogramme expérimental, ce qui veut dire que la fréquence du mode est plus élevée que celle attendue théoriquement. Même la courbe ajustée à l'histogramme expérimental présente un mode plus faible. L'histogramme expérimental est un histogramme normal à moyenne privilégiée. Un nombre anormalement élevé d'échantillons est proche de la population réelle, telle qu'elle existe dans la loge pollinique.

C. - INTERPRETATION DE LA VALEUR DE L'ECART-TYPE EXPERIMENTAL

La limitation de la fluctuation d'échantillonnage est une propriété générale de la ségrégation gamétophytique. Elle a été mise en évidence pour la ségrégation des réserves +/wx dans le pollen de maïs, mais également

<u>Tableau 3</u>: Pollen d'Oenothera purpurata +/p: Distribution des pourcentages de grains vides par sous-population pollinique (la sous-population : n = 10, N = 225).

Oe. purpurata +/p _l		Oe. purpurata +/p ₂	
S/population	Pourcentages de grains vides	S/population	Pourcentages de grains vides
Plante 1 :			
1	50,04 <u>+</u> 0,77	1 .	49,13 <u>+</u> 0,3
2	50,04 <u>+</u> 0,83	2	49,93 <u>+</u> 1,7
3	50,04 <u>+</u> 0,83	3	51,09 <u>+</u> 1,8
4	50,06 <u>+</u> 0,89	4	51,71 <u>+</u> 0,3
5	49,86 <u>+</u> 0,83	5	51,46 + 1,5
6	50,02 <u>+</u> 1,41	6	49,87 <u>+</u> 1,8
7	49,72 <u>+</u> 1,58	7	51,26 <u>+</u> 1,2
8	49,89 <u>+</u> 1,40	8	49,58 <u>+</u> 1,4
		9	50,68 <u>+</u> 1,7
<u>Plante 2</u> :		10	51,19 <u>+</u> 1,3
9	49,75 + 2,32	11	49,66 <u>+</u> 1,1
10	50,67 <u>+</u> 2,10	12	50,96 <u>+</u> 1,2
11	49,40 <u>+</u> 1,26		
12	49,29 <u>+</u> 1,55		
13	50,20 <u>+</u> 1,60		
14	50,55 <u>+</u> 2,30		
15	49,72 <u>+</u> 1,60		
Pourcentages de grains vides de la population :	49,94 + 1,57 (pour n = 150)		50,50 <u>+</u> 1,39 (pour n = 120)

pour les allèles +/p du poirier et du pommier (LINDER R., 1953). Généralement l'intervalle $\pm 2 \sigma$ enferme toute la distribution expérimentale 3 S. Mais chez les Oenothères la distribution est encore plus resserrée. Ce fait est à imputer à la viscine qui relie les grains entre eux, de sorte que le prélèvement de pollen ne bouleverse pas sensiblement la disposition initiale des grains.

Le rôle de la viscine apparaît nettement lorsqu'on analyse en détail la population pollinique. Celle-ci est fragmentée en sous-populations de 10 échantillons correspondant à une anthère. Au tableau 3 figurent les moyennes et les écarts-types. Ces derniers sont très faibles et homogènes pour la fleur de la plante $+/p_1$. Ils sont également homogènes, mais plus élevés pour la plante 2. Les deux fleurs ont dû être cueillies à un stade d'anthèse différent. Pour la fleur 2, l'anthèse était plus avancée, la viscine au contact de l'air se dessèche, la cohésion entre les grains est plus lâche. La population pollinique du mutant $+/p_2$ est plus hétérogène, car elle provient d'anthères, de fleurs et de plantes différentes, les stades d'anthèse sont variés. La cohésion entre les grains est forte (S = 0,3) ou faible (S = 1,8).

CONCLUSION

Deux enseignements se dégagent de l'analyse statistique de la population pollinique, marquée par la létalité factorielle :

1 - la ségrégation d'un facteur mendélien gamétophytique se traduit dans la population par des proportions de phénotypes de grains très précises qui sont la conséquence de la disjonction des allèles durant la méiose.

2 - Chez les Oenothères, l'image pollinique reproduit fidèlement la ségrégation dans la tétrade. Lorsque toutes les tétrades sont identiques et qu'elles se partagent chacune par moitié en deux phénotypes de grains, la moyenne expérimentale de chaque phénotype est pratiquement identique à la proportion réalisée dans la tétrade, et l'écart-type de la distribution des pourcentages est très faible, environ 1,5 %. Partant de cette situation claire, nous abordons le problème soulevé par la ségrégation des grains actifs, inactifs et vides dans la population pollinique des Oenothères hétérozygotes.

ć

III. LA SEGREGATION

"GRAINS ACTIFS / GRAINS INACTIFS / GRAINS VIDES"

_ 0 0 _ 0 0 _ 0 0 _ 0 0 _

Les populations polliniques des Oenothères hétérozygotes peuvent être analysées de deux manières :

- soit en considérant une classe de grains séparément des autres classes, ce qui revient à traiter chacune comme une population pollinique indépendante ;

- soit en considérant l'interdépendance éventuelle des classes prises 2 à 2, dans le pollen à 3 classes de grains, défini par 2 degrés de liberté.

A. - <u>ANALYSE DE LA DISTRIBUTION DES POURCENTAGES A L'INTERIEUR</u> D'UNE CLASSE DE GRAINS

1-Aperçu d'ensemble :

Les caractères principaux de la population pollinique des Oenothères hétérozygotes apparaissent nettement dans un dénombrement limité à des territoires d'anthères de 2 mm d'une fleur (Tableau 4). Dans un premier temps, il n'est tenu compte que des pourcentages de grains vides. Ces derniers sont très étalés aussi bien entre territoires d'une même anthère qu'entre territoires d'anthères différentes. (A l'opposé, la population pollinique de *purpurata* présente des pourcentages bien centrés sur 50 % et se sépare remarquablement des populations d'espèces hétérozygotes).

Le tableau 5 donne le bilan général de la population pollinique pour 10 espèces. Ces dénombrements portent sur 3 fleurs par plante et chaque prélèvement est fait sur une anthère par fleur. La dispersion des pourcentages est très grande, en particulier dans la classe des

<u>ubleau 4</u>; Comparaison des pourcentages de pollen vide dans trois territoires (T₁, T₂, T₃; longueur 2 mm) de chaque fois trois anthères de plantes différentes chez les espèces nuda, biennis, lamarckiana, syrticola et purpurata +/p₁ (LINDER, 1968; p. 213).

	Grains	z	de grains vide:	3
	dénombrés (N)	Τ _l	т2	T ₃
Oeinuda				
anthère l	517	34 %	54 %	39 %
anthère 2	374	46 %	37 %	46 %
anthère 3	532	63 %	39 %	55 %
<u>Oe.biennis</u>				
anthère l	758	54 %	59 %	43 %
anthère 2	492	55 %	54 %	51 %
anthère 3	736	61 %	60 %	53 %
<u>Oe.lamarckiana</u>				
anthère l	979	45 %	44 %	35 %
anthère 2	759	14 %	32 %	34 %
anthère 3	1.179	40 %	42 %	36 %
<u>Oe.syrticola</u>				
anthère l	425	60 %	87 %	81 %
anthère 2	274	34 %	29 %	42 %
anthère 3	457	38 %	32 %	48 %
<u>Oe.purpurata +/p</u>]				
anthère l	703	52 %	48 %	52 %
anthère 2	486	52 %	51 %	49 %
anthère 3	780	50 %	50 %	52 %
			L	

<u>Tableau 5</u>: Moyennes des pourcentages, écarts-types expérimentaux et théoriques des classes de grains dans le pollen des Oenothères hétérozygotes.

Fanàna		Actifs	Inactifs	Vides
rspeces		x±sσ	x ± S σ	x±sσ
biennis	150	23,6 ± 4,8 4,3	19,2 ± 4,1 3,8	57,2 ± 6,8 4,3
conferta	81	40,2 ± 5,9 4,9	26,1 ± 8,0 4,4	37,7 ± 8,6 4,6
coronifera	66	37,0 ± 6,4 4,8	26,1 ± 6,6 4,4	36,9 ± 11,3 4,8
coronifera rubrisepala	56	72,1 ± 11,2 4,0	6,3 ± 5,4 2,4	21,6 ± 9,4 4,1
ersteinensis	195	45,5 ± 7,1 4,9	15,3 ± 5,4 3,6	39,2 ± 7,1 4,9
lamarckiana	245	58,7 ± 11,2 6,4	<u>ــــــــــــــــــــــــــــــــــــ</u>	41,3 ± 11,2 6,4
nuda	62	40,2 ± 11,9 4,9	15,8 ± 7,4 3,5	44,0 ± 13,3 4,9
rubricaulis	76	33,9 ± 5,4 4,7	31,0 ± 5,2 4,6	35,1 ± 9,4 4,8
suaveolens	40	41,4 ± 4,8 4,9	35,5 ± 4,2 4,8	23,1 ± 6,2 4,3
syrticola	100	24,4 ± 8,2 5,4	28,4 ± 8,4 4,5	47,2 ± 11,8 5,4



grains vides. Dans l'éventail des espèces choisies, *nuda* présente les valeurs les plus fortes : la différence entre les pourcentages extrêmes de grains vides est de 70 %. Pour *biennis*, l'écart-type reste limité à 4 ou 6 % suivant la classe de grains. Ceci démontre que, tout en prenant une valeur élevée, S a des limites définies dans le cadre de l'espèce.

Une fluctuation aussi importante des pourcentages enlève à la moyenne sa signification de pourcentage théorique de ségrégation (Tableau 5). En effet, pour que la moyenne estimée puisse être considérée comme proportion de ségrégation, il faut que l'écart-type soit :

 $\sigma = \sqrt{\frac{p \times q}{N}} \qquad p \text{ étant la moyenne d'une classe, et q le} \\ \text{complément à 100. 2 espèces seulement :$ *biennis*et*suaveolens* $satisfont à cette condition pour la classe des grains actifs et inactifs. Dans toutes les autres populations polliniques, S est largement supérieur à <math>\sigma$. Cette situation statistique est illustrée pour la classe des grains actifs d'*ersteinensis* (Fig. 4, B). Il apparaît nettement que la courbe théorique est largement dépassée par l'histogramme expérimental. La comparaison avec le graphique tracé à partir de la population pollinique à létalité factorielle montre bien que les deux ségrégations procèdent de deux mécanismes génétiques distincts.

Comme il a été démontré que la population pollinique à l'anthèse reflète exactement l'organisation des tétrades, la valeur élevée de l'écart-type signifie que la ségrégation dans les tétrades n'est pas constante. Elle varie dans la tétrade et, de ce fait, entre tétrades.

Une telle situation conduit à se poser la question suivante : Cette variation des pourcentages est-elle désordonnée ou bien existe-t-il des zones privilégiées à faible ou forte létalité ? En d'autres termes, il s'agit de savoir si moyennes et écarts-types de populations polliniques provenant de plantes différentes sont statistiquement homogènes à l'intérieur de l'espèce.

2-L'homogénéité des sous-populations :

Un échantillonnage important est constitué pour 4 populations polliniques, choisies pour les caractères génétiques de l'espèce : *biennis* et *syrticola*, espèces strictement hétérogamétiques du côté mâle, *lamarckiana*, espèce isogamétique, et *ersteinensis*, espèce relativement

<u>TABLEAU 6</u>: Pourcentages moyens et écarts-types par sous-populations polliniques.

Espèces	Sous- populations	n	actifs	inactifs	vides
biennis	1	30	° 22,30 <u>+</u> 4,43	° 18,37 <u>+</u> 3,89	° 59,33 <u>+</u> 6,05
	2	30	23,07 <u>+</u> 3,75	18,83 <u>+</u> 4,14	58,10 <u>+</u> 6,73
	3	30	24,77 <u>+</u> 5,75	19,20 <u>+</u> 4,28	56,03 <u>+</u> 7,93
	4	30	22,67 <u>+</u> 4,37	° 20,77 <u>+</u> 3,81	56,57 <u>+</u> 6,29
	5	30	° 25,17 <u>+</u> 4,72	18,97 <u>+</u> 3,98	° 55 ,8 7 <u>+</u> 6,04
ersteinensis	1	30	° 47,63 <u>+</u> 5,93	° 12,20 <u>+</u> 4,28	40,17 <u>+</u> 7,67
	2	30	46,87 <u>+</u> 9,46	12,93 <u>+</u> 6,28	° 40,20 <u>+</u> 9,36
	3	30	43,80 <u>+</u> 7,19	° 20,00 <u>+</u> 5,07	° 36,20 <u>+</u> 6,45
	4	30	47,67 <u>+</u> 6,23	13,43 <u>+</u> 2,82	38,90 <u>+</u> 5,56
	5	30	46,40 <u>+</u> 5,66	14,30 <u>+</u> 3,66	39,30 <u>+</u> 5,79
	6	45	° 42,69 <u>+</u> 6,10	17,84 <u>+</u> 4,40	39,47 <u>+</u> 6,48
lamarckiana	1	50	59,10 ± 9,53		40,90 <u>+</u> 9,53
	2	50	° 49,11 <u>+</u> 11,30		° 50,90 <u>+</u> 11,30
	3	50	62,00 <u>+</u> 13,07	—	38,00 <u>+</u> 13,07
	4	50	57,70 <u>+</u> 10,63		42,30 <u>+</u> 10,63
	5	45	° 67,70 <u>+</u> 12,16		° 32,30 <u>+</u> 12,16
syrticola	1	30	° 23,00 <u>+</u> 8,32	° 27,30 <u>+</u> 7,65	° 49,70 <u>+</u> 11,45
	2	30	° 27,13 <u>+</u> 7,46	27,97 <u>+</u> 4,63	° 44,90 <u>+</u> 10,07
	3	40	23,42 <u>+</u> 7,74	° 29,60 <u>+</u> 10,59	46,97 <u>+</u> 12,95

° Pourcentage moyen, minimum et maximum, par espèce et par classe de grains.



isogamétique du côté mâle. Le pollen de chaque individu forme une souspopulation dans la population pollinique de l'espèce. Suivant les espèces la prospection s'étend de 3 à 6 plantes. Les résultats statistiques figurent dans le tableau 6. La comparaison des moyennes et des écarts-types, à l'intérieur de l'espèce, appelle les commentaires suivants :

a) les moyennes :

L'homogénéité des moyennes est testée par l'analyse des variances (cf. annexe 3, p.425). Les résultats sont les suivants :

	actifs		inac	tifs	vides	
Espèces	F	Р	F	Р	F	Р
bienn i s	1,97	N.S.	2,56	0,05	1,37	N.S.
ersteinensis	3,33	0,01	15,00	0,00	1,33	N.S.
lamarckiana	0,91	N.S.	-		0,91	N.S.
syrticola	5,52	0,01	4,41	0,01	3,58	0,05

(Les résultats plus complets sont rep**or**tés en annexe 3, p 127).

Pour les 4 espèces la classe des inactifs présente des moyennes hétérogènes. Les moyennes des actifs sont hétérogènes chez ersteinensis et syrticola. Les moyennes des vides sont homogènes, pour syrticola on atteint le seuil d'homogénéité.

La répartition des pourcentages des grains actifs et surtout des grains inactifs varie en fonction du tissu sporogène de la plante. Les grains inactifs, issus des microspores potentiellement inactives, doivent donc différencier les tétrades entre elles. Nous verrons que ces résultats se superposent à l'analyse des tétrades.

b) les variances :

Le test de BARTLETT (annexe 3, p.128) permet de comparer pour une classe de grains donnée les variances de différentes sous-populations entre elles. Le calcul est fait sur la classe des grains vides où se rencontrent à la fois les variances les plus élevées et les différences les plus fortes entre les variances. Les résultats de la classe des grains vides peuvent ainsi s'extrapoler aux 2 autres classes :

Homogénéité des variances

Espèces	Classes de grains	x ²	d.d.l.	Р
biennis	vides	3,33	4	0,52
ersteinensis	"	8,85	5	0,11
lamarckiana	n	3,83	4	0,43
syrticola	"	0,68	2	0,70

Pour toutes les espèces, les variances sont homogènes. La fluctuation d'échantillonnage garde donc la même valeur sur toute l'étendue de la population pollinique.

Cette conclusion est particulièrement intéressante pour les espèces qui ont des moyennes hétérogènes : dans ces cas, si la plante élève ou abaisse le pourcentage de grains létaux, ce dernier fluctue dans tous les territoires d'anthères de manière égale.

Grâce à ces particularités statistiques, le regroupement des sous-populations en population unique doit a priori se résoudre en une distribution normale des fréquences des pourcentages.

3-La normalité de la fonction, fréquence des pourcentages :

Les tests de normalité (annexe 2, p.120), sont appliqués aux fréquences des pourcentages. Le résultat de ces tests, présentés dans le tableau 7 n'infirme pas la normalité pour les 3 classes de grains d'ersteinensis et de syrticola et les deux classes de *lamarckiana*. Les distributions des 3 classes sont également normales dans le pollen de *coronifera*, *conferta*, *nuda*, *rubricaulis* et *suaveolens* (les résultats du test du X² sont reportés en annexe 2, tableau 13 p. 122).

Pour le pollen de *biennis*, la situation se complique. Les pourcentages des grains inactifs et vides sont distribués normalement. Par contre des irrégularités s'introduisent dans la classe des grains actifs ; le coefficient b₁ est significatif, la distribution est dissymétrique (une proportion anormale d'échantillons se situe dans la partie gauche de l'histogramme des fréquences) L'analyse détaillée des fréquences théorique et expérimentale montre que les fréquences expérimentales sont irrégulièrement réparties. Cette disparité s'amoindrirait par l'augmentation du nombre

Espèces	Classes de	2			Coefficients de Pearson			
	grains	X-	d.d.1.		^b 1	P	^b 2	P
biennis	actifs	35,8	20	0,02	0,21	< 0,05	3,15	> 0,05
	inactifs	14,3	17	0,66	0,02	> 0,05	2,46	= 0,05
	vides	34,8	28	0,16	0,08	> 0,05	2,81	> 0,05
ersteinensis	actifs	30,6	30	0,46	0,01	> 0,05	2,92	> 0,05
	inactifs	25,3	24	0,40	0,14	> 0,05	2,77	> 0,05
	vides	32,0	32	0,46	0,00	> 0,05	2,67	> 0,05
lamarckiana	actifs ou vides	55 , 9	49	0,19	0,02	> 0,05	2,64	> 0,05
syrticola	actifs	25,1	27	0,57	0,18	> 0,05	<u>4,13</u>	< 0,05
	inactifs	40,8	32	0,15	0,13	> 0,05	4,02	< 0,05
	vides	41,0	35	0,08	<u>1,19</u>	< 0,00	5,02	< 0,01

Tableau 7 : Normalité de la fonction fréquence des pourcentages.

N.B. : Dans les 2 cas où le coefficient b₁ est significatif, le moment du 3° ordre est négatif.

d'échantillons. Tout se passe comme si, chez *biennis*, un facteur supplémentaire intervenait pour déterminer l'image pollinique.

La distribution des pourcentages dans la population pollinique de syrticola mérite encore une mention spéciale : les coefficients b₂ sont significatifs pour les trois classes de grains. Cela veut dire que, pour une grande partie des échantillons, les pourcentages se concentrent préférentiellement près de la valeur moyenne. Il reste un nombre d'échantillons anormalement bas **a**ux pourcentages très éloignés de la moyenne.

En réalité, ce phénomène marque la majorité des distributions. Si on évalue le nombre d'échantillons qui se situent dans l'intervalle de M \pm S, ce nombre est plus élevé que dans la distribution théorique, comme le montre le tableau ci-dessous. La fréquence des échantillons attendue est de 68,3 %. A l'exception de *lamarckiana*, ce pourcentage est nettement dépassé. Il y a une accumulation d'échantillons dont les pourcentages dans les 3 classes sont proches de la moyenne.

Fréquences des pourcentages, compris dans les limites de M ± 1 S.

C lasses de grains	biennis	ersteinensis	lamarckiana	syrticola
actifs	78	72	66	70
inactifs	69	70	-	72
vides	72	69	66	76

CONCLUSION

Les caractères remarquables de la population pollinique des Oenothères hétérozygotes sont :

1. Distribution normale des fréquences des pourcentages, avec la restriction de l'accumulation d'échantillons aux pourcentages proches des valeurs moyennes. Dans ce contexte le pollen de *biennis* prend une place particulière puisque la distribution des grains actifs est éloignée de la normale. Or, *biennis* se différencie des autres espèces par la présence en diacinèse de 2 anneaux de caténation (8, 6). Il est possible que ce facteur cytologique intervienne sur l'image pollinique.

2. L'écart-type largement supérieur à l'écart théorique, si on considère la moyenne des pourcentages comme proportion théorique de ségrégation.

3. La plante peut apporter une augmentation ou un abaissement de la létalité et, dans ce cas, c'est l'ensemble de la distribution qui s'élève ou s'abaisse en pourcentage de grains létaux.

De ces caractères statistiques il découle que l'écart-type définit deux fluctuations, celle due à l'échantillonnage, et celle due à la variabilité dans les proportions de ségrégations des 3 types de grains. Cette dernière fluctuation signifie que la ségrégation à l'intérieur de la tétrade n'est pas identique d'une tétrade à l'autre. La fluctuation des proportions de ségrégation détermine la grande valeur de l'écart-type et fait comprendre le rôle du tissu sporogène. Celui-ci peut favoriser, soit les tétrades où les grains actifs sont prédominants, soit les tétrades où les grains vides sont prédominants.

A la suite de cette conclusion, il serait intéressant de connaître la composition des tétrades en microspores potentiellement actives, inactives et vides. C'est là le but de l'analyse des liaisons entre les pourcentages des 3 classes de grains.

B. - LIAISON ENTRE LES POURCENTAGES DES 3 CLASSES DE GRAINS

Dans l'analyse précédente, chaque classe de grains a été considérée séparément comme une population indépendante. Or, la répartition des 3 pourcentages à l'intérieur de l'échantillon a également une valeur significative. Il s'agit de savoir comment l'un varie par rapport aux deux autres dans la suite des échantillons qui composent une population pollinique. Pour résoudre ce problème, il faut rechercher la méthode statistique qui, par un coefficient, donne la variation d'ensemble des 3 classes de grains d'un échantillon à l'autre. Ce coefficient pourra avoir une signification génétique en le calculant sur une population pollinique témoin dans laquelle le mécanisme de ségrégation est bien connu.

1-La méthode statistique :

La méthode statistique nous est suggérée à partir de la variation des pourcentages de 2 classes de grains représentée sur un graphique.

> a) Les diagrammes des pourcentages pris deux à deux par échantillon :

Les combinaisons binaires de 3 classes de grains sont : actifs/vides, actifs/inactifs, inactifs/vides. Un couple de classes est représenté par 1 diagramme. A titre d'exemple les 3 diagrammes d'une sous-population d'ersteinensis (la 4° du tableau 6, n = 30), d'une sous-population de syrticola (la 1° du tableau 6, n = 30) et d'une sous-population de rubricaulis (n = 21) sont tracés.

Pour *ersteinensis*, le diagramme actifs/vides est dans l'ensemble symétrique : à un pourcentage élevé d'une classe correspond un pourcentage faible de l'autre classe, et vice-versa. Les deux autres

<u>Figure 5</u>: Variation d'Echantillon à Echantillon des pourcentages de deux classes de grains.



Oe. ersteinensis



diagrammes n'ont pas cette symétrie. Le couple actifs/inactifs ne comporte que 7 échantillons symétriques ; les autres échantillons montrent une variation des pourcentages qui se fait sensiblement dans le même sens. Le couple inactifs/vides donne un diagramme nettement dissymétrique. Les deux pourcentages s'accroissent ou diminuent, mais pas de manière proportionnelle.

Pour *syrticola*, la symétrie se manifeste dans deux diagrammes, actifs/vides et inactifs/vides. Le diagramme actifs/inactifs est très irrégulier.

Les diagrammes de *rubricaulis* sont semblables à ceux de *syrticola* avec la particularité que le diagramme actifs/inactifs montre une remarquable variation parallèle des pourcentages.

Comme nous le verrons plus loin, l'allure de chaque diagramme se maintient à travers toute la population pollinique. Elle présente donc une valeur spécifique.

Si dans un couple de classes, x_i et y_i sont les pourcentages de l'échantillon, la somme des produits $(x_i - \bar{x}) (y_i - \bar{y})$ prend une valeur définie en fonction du degré de symétrie du diagramme.

En cas de bonne symétrie $x_i - \bar{x}$ est positif, et $y_i - \bar{y}$ est négatif, ou vice-versa, le produit est négatif, les produits des différents échantillons s'additionnent en valeurs négatives. La somme est négative et élevée.

<u>Figure 5</u> : Variation d'échantillon à échantillon des pourcentages de 2 classes de grains dans le pollen d'ersteinensis, de syrticola et de rubricaulis.

Chaque diagramme est construit avec un axe des abscisses, sur lequel sont portés les numéros d'ordre des échantillons, marqués au-dessus du diagramme, et 2 axes des ordonnées. Sur celui de gauche sont portés les pourcentages d'une classe de grains, avec pour ordonnée à l'origine la moyenne de ces pourcentages. Sur celui de droite sont portés les pourcentages de la 2° classe de grains, l'ordonnée à l'origine étant la moyenne de ces pourcentages. Ainsi les 2 diagrammes sont centrés sur l'axe des abscisses qui représente la moyenne de chaque classe de grains. Les pourcentages appartenant à une même classe sont reliés par un trait. On obtient de cette manière une représentation visuelle de la variation des 2 pourcentages dans la suite des échantillons.







En cas de dissymétrie, certains échantillons donnent un produit positif, d'autres un produit négatif; la somme algébrique des produits est petite, positive ou négative.

Enfin, lorsque 2 pourcentages varient parallèlement, la somme algébrique des produits est élevée et positive. Pour comparer les populations polliniques entre elles, la somme des produits est rapportée au nombre d'échantillons, n :

$$\frac{\Sigma (\mathbf{x}_{i} - \bar{\mathbf{x}}) (\mathbf{y}_{i} - \bar{\mathbf{y}})}{n} = \sigma_{(\mathbf{x}, \mathbf{y})}$$

Cette formule est la définition de la covariance. Or, la covariance reçoit une signification statistique par le coefficient de corrélation :

$$r = \frac{\sigma(x,y)}{\sigma_x \sigma_y}$$

L'allure générale d'un diagramme peut donc s'exprimer par le coefficient de corrélation calculé à partir des pourcentages des 2 classes. Si $\sigma_{(x,y)}$ est élevé, r est proche de 1 ou -1; si $\sigma_{(x,y)}$ est faible, r tend vers 0.

En conclusion, un diagramme symétrique correspond à une liaison forte négative entre les deux variables, un diagramme dissymétrique à une liaison faible, négative ou positive, ou à l'indépendance, enfin un diagramme à variation parallèle correspond à une liaison positive. Le tableau suivant qui met en parallèle le type de symétrie du diagramme et le coefficient de corrélation, confirme bien cette correspondance; nous y avons ajouté la signification du coefficient r , calculée dans le programme (Cf. p. 118).

Allure du diagramme	Couple de classes	れ	Signification de r
Symétrie nette	ersteinensis, actifs/vides	-0,9	0,000
	syrticola, actifs/vides inactifs/vides	-0,7 -0,6	0,000 0,000
	rubricaulis, actifs/vides inactifs/vides	-0,9 -0,9	0,000 0,000
Symétrie faible	ersteinensis, actifs/inactifs	-0,4	0,008
Dissymétrie	ersteinensis, inactifs/vides	+0,004	N.S.
	syrticola, actifs/inactifs	-0,04	N.S.
Variation parallèle	rubricaulis, actifs/inactifs	+0,6	0,000

Dans l'analyse des diagrammes, nous nous référons plus à la valeur du coefficient de corrélation qu'à sa signification statistique. L'échelle suivante des valeurs s'est montrée pratique à manipuler :

Coefficient élevé ou liaison forte	0,6 à 1
Coefficient moyen ou liaíson moyenne	0,3 à 0,5
Coefficient faible à nul ou liaíson faible à nulle	0,0 à 0,2

La correspondance "morphologie du diagramme et valeur de r", définie sur des distributions normales, est valable pour une distribution éloignée de la normale (le test a été fait sur des populations polliniques de plantes F_1 analysées dans la 3ème partie).

> b) <u>La signification génétique du diagramme d'un</u> <u>couple de classe</u>:

Pour donner une interprétation génétique à la valeur du coefficient de corrélation, il faut appliquer la méthode statistique des corrélations à une population pollinique composée de plusieurs phénotypes de grains dont la répartition dans les tétrades est exactement connue. C'est le cas d'une population pollinique dans laquelle ségrègent deux couples de facteurs mendéliens, donnant ¹4 génotypes de grains de pollen.

Ces ségrégations sont classiques dans la génétique du maïs⁽¹⁾. La ségrégation sur un épi issu d'un croisement-test traduit la ségrégation dans la population pollinique. En effet, dans ce type de croisement, les 4 phénotypes de caryopse correspondent aux 4 génotypes du pollen, et leurs proportions sur l'épi et dans le pollen sont semblables. Les caractères statistiques, mis en évidence dans la population d'épis, s'appliquent exactement à la population pollinique⁽²⁾.

⁽¹⁾Les résultats des ségrégations sont extraits de cultures de maïs, effectuées au Laboratoire de Phytogénétique de l'Institut botanique de Strasbourg.

(2) Cette méthode expérimentale qui consiste à comprendre des évènements génétiques du gamétophyte à partir d'observations sur le sporophyte est classique dans la génétique des plantes supérieures. C. CORRENS (1907) démontre la ségrégation dans le pollen d'unités génétiques déterminant le sexe en analysant la descendance des croisements réciproques *Bryonia dioica* x *B. alba.* De même, J.H. KEMPTON (1919) met en évidence la fertilisation sélective entre pollen + et pollen wx, suivant l'âge de ce pollen, chez le maïs, en utilisant les proportions de ségrégation sur l'épi. Deux couples d'allèles peuvent ségréger en étant indépendants l'un de l'autre, ou en étant liés. Les deux situations sont envisagées successivement: la ségrégation dihybride indépendante et la ségrégation à liaison factorielle.

α) La ségrégation dihybride indépendante :

L**e**s 2 caractères en ségrégation sur l'épi sont : - <u>la coloration de l'aleurone</u>, déterminée par les allèles C/c situés sur le chromosome 9 ;

- <u>la nature des réserves</u>, déterminée par les allèles +/ su, situés sur le chromosome 4.

Le croisement-test est le suivant :

 $\frac{c s u}{c s u} x \frac{c +}{c s u}$

Les tétrades dans les anthères de la plante pollinisatrice sont de 3 types :



Les tétrades ditypes, A et B, sont en proportion égale. La tétrade C tétratype apparaît à la suite d'échanges par rapport au centromère. La probabilité d'échange pour l'allèle C/c est faible (distance centromère - locus du gène C : 10 unités), elle est plus forte pour l'allèle +/su (centromère - locus du gène su : 35 unités⁽⁺⁾).

⁽⁺⁾Les distances sont prises sur la carte génétique du maïs publiée par SERRA I.A. (1969, Modern Genetics, vol. 1, p. 282-283) qui complète celle de RHOADES M.M. (1950, J. of Heredity 41, 59-67).

<u>Figure 6</u>: Variation d'Echantillon à Echantillon des pourcentages de 2 classes de grains dans le pollen de Soa mayo.





r: -0,6









Les 4 classes de grains peuvent s'ordonner en 6 couples de classes. En ne considérant que les 2 tétrades ditypes, ces couples sont caractérisés par leur origine dans les tétrades :

- 2 couples intra-tétrade : C +/c su, C su/c +
- 4 couples inter-tétrades : C +/C su, c su/c +, C +/c +, C su/c su

- Les coefficients de corrélation :

La population est composée de 108 épis qui ont donné les pourcentages de ségrégation suivants :

(C +):25,56 ± 2,63(c +):24,61 ± 2,62(C su):24,77 ± 2,63(c su):25,06 ± 2,05

Les coefficients de corrélation sont donnés pour la population totale (n = 108), et pour des fractions arbitraires de cette population (n = 30 ou 48) appelées sous-populations.

Les diagrammes sont tracés pour les couples de classes de grains dont les coefficients de corrélation indiquent une liaison forte, une liaison moyenne et l'indépendance (Figure 6). Dans le couple où r = -0.6 (couple C +/C su de la sous-population 2), la symétrie du diagramme est nette, exceptés 4 échantillons au centre du diagramme. Pour r = -0.4(couple C +/C su de la sous-population 1), la symétrie est conservée dans l'ensemble, bien que le tracé des 2 lignes soit plus irrégulier que dans le diagramme précédent. Enfin dans le couple c +/C su de la sous-population 2 où r (=-0,158) indique l'indépendance, le diagramme est dissymétrique. Comme pour la population pollinique des Oenothères hétérozygotes, la valeur des coefficients de corrélation indique l'allure du diagramme d'un couple.

La situation pour les 6 couples de classes est la suivante (Tableau 8) : au niveau de la population totale, les liaisons sont faibles, variant entre - 0,2 et - 0,4 et sont homogènes entre elles (P du test d'homogénéité = 0,48 ; les résultats de ces tests sont reportés en annexe 4 p.136).Les sous-populations 1 et 3 se comportent comme la population totale : coefficients faibles significatifs ou non, et homogènes (P est respectivement égal à 0,93 et 0,57). La sous-population 2 se comporte différemment : elle est remarquable par la gradation dans les valeurs des coefficients qui, de ce fait, sont hétérogènes entre eux (P = 0,008). Les 2 couples

<u>Tableau 8</u> : Liaison entre pourcentages de classes de grains dans le pollen de Zea mays.

Ségrégation dihybride indépendante : $\frac{C + C}{C + C}$

		Couples intra-tétrades			Couples i	nter-tétr	ades
Sous- pulation	n	C + / c	su	C + /	c +	c su	/ c +
		r	Р	r	Р	r	Р
1	30	- 0,398	0,022	- 0,371	0,034	- 0,2 9 2	0,106
2	30	- 0,086	0,648	- 0,217	0,239	- 0,639	0,000
3	48	- 0,229	0,110	- 0,429	0,001	- 0,150	0,304
opulation							
totale	108	- 0,264	0,005	- 0,372	0,000	- 0,288	0,002
		c + / C	su	C su /	c su	C + /	C su
1	30	- 0,515	0,001	- 0,451	0,067	- 0,319	0,075
2	30	- 0,158	0,398	- 0,240	0,190	- 0,658	0,000
3	48	- 0,353	0,010	- 0,345	0,013	- 0,450	0,001
opulation							
totale	108	- 0,400	0,000	- 0,229	0,016	- 0,423	0,000

intra-tétrade ont les coefficients les plus faibles (- 0,1), les 2 couples inter-tétrades ont les coefficients les plus élevés (- 0,6). Les autres couples sont caractérisés par des valeurs intermédiaires. La particularité de cette sous-population s'estompe dans la population totale.

- Interprétation :

De ces résultats se dégagent 2 modes de variation des pourcentages, deux à deux.

. Les pourcentages des 4 classes prennent n'importe quelle valeur par rapport à leur moyenne respective (cas des sous-populations 1 et 3) (Tableau 8) ;

. Certains couples de classes ont un résultat balancé des pourcentages ce qui entraîne l'indépendance dans d'autres couples (cas de la sous-pop. 2). L'analyse de la figure 7, p. 96, montre comment on aboutit à

une telle situation. Les deux couples fortement liés sont les couples intertétrades C +/C su et c su/ c +. Quand une classe du couple présente une différente positive avec la moyenne, l'autre classe présente une différence négative, et vice-versa. La somme des produits des 2 différences est négative et élevée, la covariance est élevée et r a une valeur négative proche de -1. Le coefficient r faible d'un couple intra-tétrade signifie que les pourcentages des 2 phénotypes de la tétrade peuvent présenter une différence de même signe ou de signe différent par rapport à leur moyenne. L'expression $\Sigma (x_i - \bar{x}) (y_i - \bar{y})$ est faible, positive ou négative. On voit sur la figure 7 que les 2 couples inter-tétrades C +/c + et c su/C su sont dans la même situation que les couples intra-tétrade. Il découle de là que les 2 couples inter-tétrades à r élevé sont indépendants l'un par rapport à l'autre.

Nous pouvons imaginer le cas où les pourcentages des deux couples inter-tétrades à r élevé varient dans le même sens. Alors la situation dans le couple intra-tétrade est la suivante : les 2 pourcentages sont ensemble supérieurs à leur moyenne ou ensemble inférieurs à leur moyenne. L'expression $\Sigma (x_i - \bar{x}) (y_i - \bar{y})$ est toujours positive et élevée. Pour opérer cette transformation, il suffit de corriger le diagramme en enlevant la symétrie aux 8 échantillons du couple c +/C su marqués d'une flèche (Fig. 6). De la même manière, la correction est effectuée sur l'autre couple intra-tétrade, sans que les moyennes soient modifiées. Les coefficients de corrélation sont les suivants :

Couples intra-tétrade	Couples inter-tétrades		
C+/csu r P	C + / c + r P	csu/c+ r P	
+ 0,475 0,004	- 0,595 0,000	- 0,767 0,000	
c + / C su	C su / c su	C+/Csu	
+ 0,276 0,128	- 0,577 0,000	- 0,773 0,000	

La liaison est devenue positive et significative pour le couple intra-tétrade. Sous l'angle de l'analyse des tétrades, la liaison faible à nulle ou la liaison positive et significative peut donc caractériser le couple intra-tétrade.

Pour clore l'analyse de la figure 7 il faut remarquer que le résultat balancé des pourcentages est la conséquence de la fluctuation des tétrades ditypes A et B ; les tétrades tétratypes passent en quelque sorte inaperçues dans l'estimation des coefficients de corrélation,



Figure 7: Les coefficients de corrélation dans les différents couples de la sous-population 2 de la ségrégation C + / c su.

car, apportant en proportion égale les 4 phénotypes, elles ne modifient pas les rapports entre classes dans la fluctuation des tétrades ditypes.

En résumé, dans une population pollinique composée de 4 phénotypes de grains, issue d'une ségrégation indépendante de 2 couples d'allèles, les pourcentages des 6 couples de phénotypes ne se séparent pas par leurs coefficients de corrélation si l'échantillonnage est élevé. Avec un <u>échantillonnage plus faible</u>, il peut arriver que les couples inter-tétrades et intra-tétrade aient des coefficients significativement différents : <u>2 des 4 couples inter-tétrades sont caractérisés par des liai</u>sons fortes, les 2 couples intra-tétrade sont caractérisés par l'indépendance. β) La ségrégation à liaison factorielle :

- La ségrégation pollinique :

La liaison c - wx (coloration aleurone/réserveamylodextrine) est mise en évidence dans le croisement-test suivant :

> c wx C wx c wx c +

> > Le pollen de la plante pollinisatrice dérive de

Les tétrades recombinées (Re)

3 types de tétrades :

La tétrade parentale (Pa)



La différence essentielle avec la composition des tétrades en ségrégation indépendante est la prépondérance de la tétrade parentale sur les 2 tétrades recombinées.

- Les coefficients de corrélation (Tableau 9, A) :

La descendance du croisement-test donne théoriquement 4 phénotypes de grains :

. les phénotypes parentaux (C wx) et (c +)

les phénotypes recombinés (C +) et (c wx).

Mais comme sur l'épi le caractère des réserves est masqué par la coloration de l'aleurone, les phénotypes (C wx) et (C +) sont réunis en une seule classe de phénotypes (C +).

Pour 3 phénotypes, il y a 3 couples de classes

possibles :

. le couple inter-tétrades c + / c wx

. les 2 autres couples présentent un phénotype se répartissant sur les 2 tétrades : C / c + et C / c wx.

<u>Tableau 9</u> : Liaison entre les pourcentages des classes de grains, prises deux à deux, dans le pollen de Zea mays.

		c + / c wx tétrade : Pa / Re		с	/ c +	С	/cwx
Sour -	n			Pa + Re / Pa		Pa + Re / Re	
population		r	Р	r	P	r	Р
1	30	- 0,825	0,000	- 0,540	0,001	- 0,031	0,872
2	46	- 0,688	0,000	- 0,488	0,000	- 0,298	0,038
population totale	76	- 0,748	0,000	- 0,515	0,000	- 0,184	0,108

A : Ségrégation dihybride à liaison factorielle: $\frac{1}{c}$ +

B	:	Ségrégation	dihybride	indépendante	:
---	---	-------------	-----------	--------------	---

avec regroupement des phénotypes (C).

C +

c su

		c + / c su tétrade : A / B		C / c + A + B / B		C / c su A + B / A	
Sous -							
population		r	Р	r	Р	r	P
1	30	- 0,292	0,106	- 0,753	0,000	- 0,409	0,018
2	30	- 0,639	0,000	- 0,451	0,007	- 0,399	0,021
3	48	- 0,150	0,304	- 0,745	0,000	- 0,548	0,000
population							
totale	108	- 0,288	0,002	- 0,719	0,000	- 0,459	0,000

§ (C) est la somme de § (C +) et de § (C su).

C wx

Les pourcentages de ségrégation portant sur 76 épis

sont les suivants :

(c) : 50,33 ± 1,96 ; (c +) : 35,55 ± 2,89 ; (c wx) : 12,12 ± 2,52

Les coefficients de corrélation sont calculés au niveau de la population totale (n = 76) et au niveau de 2 sous-populations (n = 30 et 46). La valeur de r est remarquablement homogène pour le couple inter-tétrades : - 0,6 à - 0,8. Les deux couples mixtes ont, l'un une liaison moyenne, l'autre une liaison faible ou nulle.

Pour comparer la population à liaison factorielle avec la population pollinique à ségrégation indépendante, il faut transformer cette dernière en une population à 3 classes de grains, en regroupant en une seule classe tous les grains à aleurone coloré. Les coefficients de corrélation des 3 couples de classes sont portés dans le tableau 9, B. En comparant les deux résultats (Tableau 9, A et B), il est manifeste que la population pollinique à ségrégation liée est analogue à la sous-population 2 de la ségrégation indépendante : le couple inter-tétrades présente le coefficient le plus élevé. Pour les deux autres sous-populations et la population globale, le couple inter-tétrades présente la liaison la plus faible.

- Interprétation :

Il apparaît donc que le résultat balancé des pourcentages de phénotypes, provenant de tétrades différentes constitue, dans la ségrégation indépendante, une particularité mais devient le fait général dans la ségrégation liée.

On peut énoncer le principe suivant : la population pollinique provenant de 2 tétrades ditypes, en proportion inégale, présente une liaison préférentielle pour le couple de phénotypes inter-tétrades. Réciproquement le coefficient de corrélation, calculé sur la population pollinique à l'anthèse, est indicateur de la composition des tétrades.

Puisque la population pollinique à ségrégation indépendante se distingue de celle à ségrégation liée il s'agit de savoir duquel des 2 types de population pollinique se rapproche la population des Oenothères hétérozygotes.

Il a été démontré plus haut que, chez les Oenothères hétérozygotes, les microspores potentiellement actives, inactives et vides

<u>Figure 8</u> : Schéma représentatif des résultats de corrélation dans la population pollinique témoin à 3 classes de grains.



Les 2 phénotypes qui forment le couple à liaison la plus forte se trouvent dans 2 tétrades différentes.



Les 2 phénotypes qui forment les couples à liaison forte et égale sont situés dans une tétrade à condition que les écarts-types des 3 phénotypes soient égaux :





ne peuvent pas se répartir dans les tétrades de manière uniforme, mais dans plusieurs tétrades en proportion inégale. C'est donc la structure d'une population pollinique à ségrégation liée qui peut servir de modèle approché pour interpréter la population des Oenothères hétérozygotes.

c) La population-témoin à 3 classes de grains :

Pour que la population à liaison factorielle puisse être comparée à la population pollinique à 3 classes de grains, il faut transformer la ségrégation à 4 classes en une ségrégation à 3 classes en regroupant 2 classes en une seule. La ségrégation issue de $\frac{C+}{c \text{ wx}}$ est obtenue directement sous cette forme par regroupement des phénotypes C + et C wx. Mais en ne disposant que de ce résultat, il est impossible de procéder à un autre regroupement. Pour remédier à cet inconvénient, nous nous référons à la sous-population 2 de la ségrégation issue de $\frac{C+}{c \text{ su}}$.

Sur les 2 tétrades ditypes, le regroupement de 2 phénotypes peut se faire sur 2 tétrades ou à l'intérieur d'une tétrade : . le regroupement sur 2 tétrades donne les phénotypes (C) ou (c), (+) ou (su) ;

. le regroupement par tétrade se résoud en une tétrade monotype A ou B.

En tout, 3 regroupements sont possibles, indiqués sur la figure 8 par les microspores ponctuées. Les coefficients de corrélation entre les pourcentages des 3 phénotypes, pris 2 à 2 sont portés dans le tableau 10.

Chaque regroupement est caractérisé par une répartition définie de la valeur des liaisons sur les 3 couples de classes. - regroupement inter-tétrades :

. regroupement 1 : (C) ou (c) : le couple inter-tétrades garde la liaison la plus forte (- 0,6) ; les 2 autres couples ont des liaisons moyennes ;

. regroupement 2 : (+) ou (su) : le couple inter-tétrades est caractérisé par une liaison faible, les 2 autres couples par des liaisons fortes et égales.
<u>Tableau 10</u> : La population témoin à 3 classes de grains (Sous-population 2 de la ségrégation $\frac{C}{c}$ avec regroupement de phénotypes).

	r P	r P	r P		
Phénotypes regroupés	couple inter-tétrades	couple	mixte		
1° regroupement	A. Phénotypes regroupé c + / c su	s provenant de tétrade C / c +	es diffērentes 		
C { C + c su	- 0,639 0,000	- 0,451 0,007	- 0,399 0,021		
	C + / C su	c / C +	c / C su		
$ c \begin{cases} c + \\ c su \end{cases} $	- 0,658 0,000	- 0,357 0,043	- 0,453 0,007		
2° regroupement	C su / c su	+ / C su	+ / c su		
+ {+ C + c	- 0,240 0,190	- 0,629 0,000	- 0,591 0,000		
	C + / c +	su / C +	su / c +		
su { su C su c	- 0,217 0,239	- 0,619 0,000	- 0,632 0,000		
	B. Phénotypes regroupé	s provenant d'une mêm	e tëtrade		
	couple intra-tétrade	couple inte	er-tétrades		
3° regroupement	C su / c +	tétrade A / C su	tétrade A / c +		
tétrade (C + A c su	- 0,158 0,393	- 0,667 0,000	- 0,631 0,000		
	C + / c su	tétrade B / C +	tétrade B / c su		
$\begin{array}{c} \text{tétrade} \\ B \\ c + \end{array}$	- 0,086 0,648	- 0,681 0,000	- 0,671 0,000		

BBS LILLE - regroupement intra-tétrade :

. regroupement 3 : les liaisons avec la tétrade monotype sont les plus fortes. Le couple intra-tétrade est caractérisé par une liaison faible.

On voit que les regroupements 2 et 3 présentent une répartition identique des coefficients de corrélation : 2 coefficients forts et égaux et un coefficient faible. Mais en considérant les variances de chaque phénotype, il est possible de séparer les regroupements 2 et 3. Dans le regroupement 2, les écarts-types des phénotypes sont pratiquement égaux. Dans le regroupement 3, la variance de la tétrade est approximativement égale à la somme des variances des 2 autres phénotypes.

Il est ainsi possible de définir la répartition des 3 phénotypes de microspores dans les tétrades à partir des coefficients de corrélation calculés sur la population pollinique à l'anthèse, en énonçant les règles suivantes :

1 - si sur les 3 couples, 1 couple présente une liaison plus forte, les 2 phénotypes de ce couple proviennent, le premier d'une tétrade et le deuxième de l'autre tétrade ;

2 - si 2 couples présentent une liaison forte et égale, et le troisième une liaison faible, il y a 2 organisations possibles de tétrades qui se distinguent par la valeur des écarts-types.

a) lorsque les 3 écarts-types des 3 phénotypes sont approximativement égaux, les 2 couples forts constituent chacun une tétrade ditype ;

b) lorsque la variance du phénotype commun à 2 couples est approximativement égale à la somme des variances des 2 autres phénotypes, le couple à liaison faible (ou à liaison positive significative) compose une tétrade ditype, le troisième phénotype forme la tétrade monotype.

3 - des règles précédentes on déduit que lorsque les 3 couples sont caractérisés par une liaison faible et approximativement égale, la répartition des 3 phénotypes dans les tétrades n'est plus préférentielle, elle est indépendante et se fait au hasard. En résumé, pour aboutir à ces lois, le raisonnement se fait

en 3 temps.

^{1°} temps: La population pollinique qui se rapproche le mieux de la population des hétérozygotes de complexes est la population pollinique à liaison factorielle, à cause de l'inégalité de proportion entre les tétrades parentales et les tétrades recombinées.

Or la population pollinique à ségrégation factorielle liée, C wx / c +, est caractérisée par la valeur graduée des coefficients r des dif= férents couples de phénotypes. En conséquence, les coefficients de corrélation sont des marqueurs des couples de phénotypes inter-tétrades et des couples de phénotypes intra-tétrade.

Donc la valeur des coefficients r dans la population pollinique des Oenothères indique, par similitude, les couples de phénotypes inter-tétra= des et les couples de phénotypes intra-tétrade.

<u>2° temps</u>: Pour que la similitude entre la population-témoin et la population des Oenothères soit exacte, il faut regrouper 2 phénotypes de grains de la population témoin en un seul, ce qui réalise une population-témoin à 3 classes de grains.

Or un regroupement par 2 sur 4 phénotypes peut se réaliser de 6 manières. Chaque regroupement aboutit à une variété de population-témoin avec une combinaison définie des 3 coefficients de corrélation sur les couples inter-tétrades et les couples intra-tétrade.

Nous pouvons donc observer chez les Oenothères différentes combinaisons des coefficients r qui chacune correspond à un type de répartition des 3 phénotypes de microspores dans les tétrades.

<u>3° temps</u>: Mais pour opérer ces regroupements , nous rencontrons une difficulté expérimentale. La population-témoin est donnée d'emblée sous 3 classes de grains, dont une résulte d'un regroupement de 2 classes de grains. Comme il est impossible de dissocier les 2 classes regroupées, il est également impossible de réaliser les 5 autres regroupements. On surmonte cette difficulté en faisant appel à une autre similitude. En effet, en fractionnant au hasard la population à ségrégation factorielle indépendante, on isole une sous-population qui imite exactement la gradation des coefficients r de la population à ségré= gation factorielle liée. Cette sous-population permet d'opérer les 6 regroupe= ments, et elle sera en définitive la population - témoin.

Ce raisonnement comporte donc 3 analogies: une première entre la population à ségrégation factorielle liée et la population des Oenothères; une deuxième entre une fraction au hasard de la population à ségrégation facto= rielle indépendante et la population à ségrégation liée; d'où découle la 3° ana= logie entre la sous-population à ségrégation indépendante et la population des Oenothères.

1.03'

d) <u>Les limites de la méthode des coefficients de</u> corrélation:

Il est certain que la transposition d'un modèle mendélien de ségrégation pollinique à la population des Oenothères hétérozygotes a des limites qui découlent de plusieurs caractères :

- la distribution des pourcentages d'une classe de phénotypes dans le pollen de mais diffère totalement de celle des Oenothères. Pour s'en rendre compte, il suffit de comparer les diagrammes des figures 5 d'une part et de la figure 6 d'autre part: pour la ségrégation mendélienne, diagramme ramassé autour de l'abscisse moyenne; pour la ségrégation chez les Oenothères, diagramme étalé de part et d'autre de l'abscisse moyenne.;

- la ségrégation 1/1 dans la tétrade de maïs est la seule possible. Chez les Oenothères elle est accompagnée d'autres proportions de ségrégation ;

- enfin, la population 3 classes de grains est factice, car elle est obtenue par le regroupement de phénotypes bien distincts, alors que dans le pollen des Oenothères chaque classe est réelle.

Aussi doit-on accorder aux 3 règles établies plus haut seulement une valeur indicative qui demande à être confirmée par les autres paramètres statistiques, moyenne et écart-type.

2-Les résultats statistiques :

L'utilisation des coefficients de corrélation linéaire pose comme préalable un ensemble de conditions statistiques : normalité de la fonction fréquence, régression linéaire, significative. Les résultats des tests statistiques présentés en annexe 2 (p.122) et annexe 4 (p.131) prouvent que ces conditions sont bien satisfaites.

Dans le tableau 11 qui présente les estimations des coefficients de corrélation, il est intéressant de considérer globalement population et sous-populations. Pour les 3 espèces, le couple actifs/vides présente uniformément des coefficients élevés, entre - 0,6 et - 0,9. La moyenne est à - 0,7. La fluctuation si réduite de r est remarquable, car l'intervalle de confiance au risque de 5 % s'étend théoriquement de - 0,3 à - 1.

⁽⁺⁾ C'est le coefficient de corrélation ajusté, r', calculé sur l'ensemble des sous-populations des 3 espèces.

<u>Tableau 11</u> : Les coefficients de corrélation entre les pourcentages de classes prises deux à deux dans la population totale et les souspopulations chez biennis, ersteinensis et syrticola.

sous		actifs,	/vides	actifs/:	inactifs	inactifs/vides				
populations	n	r	P	r	P	r	P			
0e. biennis										
1	30	-0,766	0,000	+0,054	N.S.	-0,683	0,000			
2	30	-0,837	0,000	+0,456	0,007	-0,869	0,000			
3	30	-0,851	0,000	+0,233	N.S.	-0,709	0,000			
24	30	-0,803	0,000	+0,178	N.S.	-0,729	0,000			
5	30	-0,753	0,000	+0,042	N.S.	-0,625	0,000			
Population totale	150	-0,801	0,000	+0,156	0,054	-0,716	0,000			
0e. syrticola										
1	30	-0,744	0,000	-0,039	N.S.	-0,638	0,000			
2	30	-0,903	0,000	+0,352	0,046	-0,721	0,000			
3	40	-0,576	0,000	-0,027	N.S.	-0,802	0,000			
Population totale	100	-0,709	0,000	+0,024	N.S.	-0,722	0,000			
0e.ersteinensis										
1	30	-0,832	0,000	+0,105	N.S.	-0,639	0,000			
2	30	-0,778	0,000	-0,348	0,049	-0,319	N.S.			
3	30	-0,728	0,000	-0,491	0,003	-0,240	N.S.			
4	30	-0,891	0,000	-0,450	800,0	+0,004	N.S.			
5	30	-0,796	0,000	-0,289	N.S.	-0,350	0,048			
6	45	-0,757	0,000	-0,272	N.S.	-0,423	0,002			
Population totale	195	-0,717	0,000	-0,382	0,000	-0,370	0,000			

105

Les liaisons dans les couples actifs/inactifs et inactifs/vides différencient les espèces. On peut distinguer *biennis* et syrticola d'ersteinensis.

Pour *biennis* et *syrticola*, le couple actifs/inactifs est caractérisé par des liaisons faibles ou nulles, ou des liaisons significatives positives. Le couple inactifs/vides présente uniformément des coefficients élevés négatifs, à l'instar du couple actifs/vides.

Il faut cependant relever une particularité qui distingue *biennis* de syrticola. Chez *biennis*, les valeurs de r des couples actifs/vides et inactifs/vides se tiennent bien ensemble. Elles diffèrent de - 0,1. Chez syrticola, chaque sous-population est un cas particulier, les valeurs sont - 0,7 et - 0,6, ou - 0,9 et - 0,7, ou - 0,6 et - 0,8.

Chez ersteinensis, la sous-population 1 est comparable aux sous-populations de *biennis*. Mais les autres sous-populations et la population totale présentent des coefficients faibles ou moyens qui ne dépassent pas - 0,5.

Si nous comparons ces résultats avec le test de l'homogénéité des moyennes (p. 80), on constate qu'aux moyennes homogènes correspondent des coefficients de corrélation homogènes (cas de *biennis*), et qu'aux moyennes hétérogènes correspondent des valeurs différentes des coefficients de corrélation entre sous-populations (cas d'*ersteinensis* et de *syrticola*). L'hétérogénéité des moyennes reflète donc une organisation différente des tétrades.

Pour les 3 espèces, la liaison dans les couples de phénotypes se résume de la manière suivante :

Espèce		liaison dans le	couple	
	actifs/vides	actifs/inactifs	inactifs/vide	
biennis	forte	nulle	forte	
syrticola	forte	nulle	forte	
ersteinensis	forte	faible	faible	

La même analyse a été faite chez d'autres espèces avec des démombrements moins importants (tableau 12). On peut objecter qu'un nombre faible d'échantillons ne permet pas de dégager la signification de r. Mais cette objection ne se justifie pas pour notre matériel car l'analyse

Tableau 12	:	Corrélations entre	. Les	pourcen	itages	des c	lasses	deux à	deux,
		dans la population	. pol	linique	des e	spèces	hétéro	z y g o te	۵.

			Coefficio dans les	ents de corr couples de	élation classes
Espèces	n	x±s	A/V	A/IA	IA/V
	r _{A/V}	 ≥ ^r ia/v			
biennis	150	$\begin{bmatrix} A : 23,59 \pm 4,79 \\ IA : 19,23 \pm 4,11 \\ V : 57,11 \pm 6,76 \end{bmatrix}$	-0,801 ^{****}	+0,156	-0,716
coronifera	66	A : 36,94 ± 6,36 IA : 26,17 ± 6,60 V : 36,89 ±11,30	-0,867 ****	+0 , 520	-0,877
nuda	62	A : 40,15 ±11,94 IA : 15,85 ± 7,36 V : 44,00 ±13,92	-0,849 ××××	-0,016	-0,515
rubricaulis	76	A : 33,87 ± 5,38 IA : 31,04 ± 5,15 V : 35,09 ± 9,40	-0,897 ××××	+0 , 593	-0,888
suaveolens	40	A : 41,42 ±±4,79 IA : 35,50 ± 4,21 V : 23,07 ± 6,23	-0,738****	-0,047	-0,640
syrticola	100	A : 24,41 ± 8,20 IA : 28,42 ± 8,36 V : 47,17 ±11,85	-0,709 ^{****}	+0,024	-0,722
	r _{A/V}	é levé			
ersteinensis	195 195	A : 45,50 ± 7,11 IA : 15,30 ± 5,36 V : 39,00 ± 7,10	-0,717	-0,382 ^{****}	-0,370
coronifera rubrisepala	56	A : 72,13 ±11,27 IA : 6,32 ± 5,39 V : 21,55 ± 9,44	-0,879***	-0,551 ^{жжж}	+0,087
	r _{TA/1}				
conferta	81	A : 40,20 ± 5,87 IA : 26,11 ± 8,04 V : 33,75 ± 8,55	-0,428****	-0,278***	-0,746

Les exposants des coefficients r indiquent la signification de r:

significatif **au-**delà de 1/1000 significatif à 1/100 non significatif

sans exposant

жжж жж des sous-populations montre que, si dans un couple de classes la liaison est forte, elle apparaît très vite. Par exemple pour *Oe. conferta*, où au départ n'était analysée qu'une population de 20 échantillons, la liaison la plus forte caractérisait le couple inactifs/vides. Ce résultat était singulier par rapport aux autres espèces. Un dénombrement plus étendu (n = 81) a confirmé cette liaison plus forte du couple inactifs/vides. Il en découle qu'une population pollinique composée de 30 échantillons suffit pour interpréter les coefficients de corrélation.

Le tableau 12 dans lequel sont réunis les résultats pour 9 espèces (y compris les 3 espèces analysées plus haut) donne une vue d'ensemble des possibilités de liaison dans les 3 couples de classes d'une population pollinique. Les espèces sont groupées en fonction de la combinaison des 3 coefficients r. Moyennes et écarts-types sont rappelés car ils sont nécessaires pour l'interprétation génétique des coefficients de corrélation.

Les combinaisons observées dans les 9 espèces sont

les suivantes :

Combinaison 1 appelée biennis A/V : r élevé, négatif A/IA : r faible⁽¹⁾ou élevé, positif IA/V : r élevé, négatif.

Combinaison 2 appelée ersteinensis A/V : r élevé, négatif A/IA : IA/V :}r moyen, négatif ou faible IA/V :}

Combinaison 3 appelée conferta A/V : r faible à moyen, négatif A/IA : IA/V : r élevé négatif.

3-Interprétation : l'organisation des tétrades :

Ces données statistiques permettent d'esquisser la répartition des microspores potentiellement actives (en abrégé A), inactives (IA) et vides (V).(Dans la suite de l'exposé, le terme "potentiellement" est sous-entendu.) A une combinaison des coefficients r correspond

(1) Quand r est faible, c'est à dire non significatif, le signe de r n'a aucune importance. <u>Figure 9</u>: Répartition des microspores potentiellement actives (A), inactives (IA) et vides (V) dans les tétrades.



espèces : biennis, coronifera, nuda, suaveolens et syrticola





espèces : ereteinensis et coronifera rubrisepala





883 ULU un type d'organisation des tétrades. Comme nous observons 3 combinaisons des coefficients r, il y a 3 organisations de tétrades, schématisées sur la figure 9.

a) Le type biennis :

La combinaison *biennis* suit la règle 2 b : il en découle une tétrade ditype actifs/inactifs et une tétrade monotype de microspores vides. Confrontons cette répartition avec la valeur des moyennes et écarts-types. La population pollinique de *rubricaulis* paraît la plus simple à analyser. Comme actifs et inactifs fluctuent dans le même sens par rapport aux vides, la fluctuation entre les 2 tétrades est théoriquement définie par l'écart-type de la tétrade de vides. On peut donc estimer la fluctuation propre à la ségrégation actifs/inactifs en calculant le rapport

% actifs % actifs + % inactifs

A la suite de cette transformation, la moyenne des actifs est de 52 ± 3,7 %. Le nouvel écart-type est plus petit. Nous savons que pour une ségrégation 1/1, l'écart-type devrait avoir une valeur de 2 %. La ségrégation actifs/inactifs tend donc vers la ségrégation 1/1, mais sans jamais atteindre le mécanisme rigoureux de la ségrégation mendélienne.

Coronifera présente la même combinaison des coefficients r que *rubricaulis*, mais les moyennes des actifs et inactifs sont trop éloignées de la ségrégation 1/1, les inactifs sont toujours en proportion plus faible.

Biennis, syrticola et *suaveolens* ont le couple actifs/inactifs indépendant, mais la somme des variances $S_A^2 + S_{IA}^2$ est supérieure à la variance des vides (S_V^2) (alors que dans les 2 espèces précédentes elle est inférieure). En outre le rapport

% actifs % actifs + % inactifs

calculé pour la population de *syrticola* donne les paramètres suivants : 46 ± 11,6 %. Par cette transformation l'écart-type a fortement augmenté. Cela veut dire que la tétrade monotype de grains vides qui présente la fluctuation la plus forte n'est pas la seule probable, certaines tétrades à grains contiennent en plus des microspores actives et inacti**v**es.

Les résultats de *nuda* sont particuliers. Par

biennis. Mais à la différence des espèces précédentes, les écarts-types des actifs et des vides ont la même valeur. Cela s'explique par la faible proportion des grains inactifs. De ce fait la majorité des tétrades à grains actifs sont monotypes ; elles suivent la fluctuation des tétrades à microspores vides. Cette situation s'explique par la morphologie des grains inactifs : les inactifs sont très proches des actifs, dans les dénombrements on a pu qualifier comme actifs des grains génétiquement inactifs. Dans la tétrade des grains actifs se réalise donc la ségrégation des grains génétiquement actifs et inactifs, mais la morphologie des grains à l'anthèse ne rend pas apparente cette ségrégation.

En définitive, les résultats statistiques de l'ensemble des espèces à organisation *biennis* sont cohérents, quand on compare moyennes et écarts-types avec les coefficients de corrélation. L'organisation de base est : tétrade à microspores actives et tétrades à microspores vides. Suivant les espèces, la lère tétrade est le siège de la ségrégation actifs/inactifs, dans des proportions généralement très éloignées de 1/1, la 2ème tétrade peut comporter, en plus des vides, des actifs et des inactifs.

b) Le type ersteinensis :

La combinaison des 3 coefficients de corrélation suit la règle 1. On déduit 2 types de tétrades : des tétrades à microspores actives et des tétrades à microspores vides, les microspores inactives apparaissent au hasard dans l'une ou l'autre tétrade. La fluctuation des 2 tétrades est donc définie par la classe des grains actifs et celle des grains vides. Ainsi s'explique la valeur égale des 2 écarts-types, actifs et vides. Comme les inactifs apparaissent dans les 2 tétrades, leur fluctuation est de ce fait plus faible.

On voit que le type d'organisation *ersteinensis* est assez proche du type *biennis*. La différence essentielle avec ce dernier est que les microspores inactives ne ségrègent pas préférentiellement avec les microspores actives.

Cette organisation n'apparaît pas au niveau de toutes les sous-populations (tableau 11): Les sous-populations 2, 5 et 6 sont à l'image de la population totale. Les sous-populations 3 et 4 sont caractérisées par un couple actifs/inactifs à liaison plus forte que le couple inactifs/vides, ce qui signifie que les grains inactifs apparaissent préférentiellement dans les tétrades à microspores vides. Enfin la sous-population 1 est de type *biennis*. On constate que la variation dans les types de tétrades au niveau des sous-populations est déterminée par la répartition des inactifs. Or il a été démontré plus haut que cette classe est caractérisée par une forte hétérogénéité entre les moyennes des sous-populations (cf. résultats p. 80). La fluctuation des pourcentages d'inactifs est donc conditionnée par l'organisation des tétrades.

Il est intéressant de comparer les paramètres de nuda et d'ersteinensis : les moyennes des 3 classes sont approximativement identiques, mais la combinaison des coefficients de corrélation est différente ; nuda est un cas intermédiaire entre *biennis* et ersteinensis : Chez nuda les inactifs apparaissent préférentiellement avec les actifs, chez ersteinensis les inactifs sont indépendants des 2 autres types de microspores.

Dans le tableau 11, coronifera rubrisepala est rangé à la suite d'ersteinensis. L'organisation des tétrades de cette espèce ne peut être déterminée avec certitude. En effet, comme la moyenne des inactifs est très faible, la distribution des pourcentages de cette classe est dissymétrique et donc éloignée de la normale (cf. tableau 13, en annexe 2, p.122). Si nous ne tenons compte que des 2 classes à distribution normale, actifs et vides, ce couple à r très élevé (proche de - 0,9) indique 2 types de tétrades, l'une à microspores actives l'autre à microspores vides. Si malgré l'absence de normalité, on accordait aux coefficients r des 2 couples A/IA et IA/V une valeur descriptive, il faudrait conclure que les microspores inactives apparaîtraient préférentiellement avec les microspores vides. Il est donc vraisemblable que l'organisation des tétrades de *coronifera rubrisepala* est de type *ersteinensis*.

c) Le type conferta :

Dans le cadre de notre analyse, *conferta* est la seule espèce qui, sur les 3 couples, montre le coefficient le plus élevé pour le couple inactifs/vides. La combinaison des coefficients suit approximativement la règle 1 : un coefficient fort, 2 coefficients moyens. On déduit 2 types de tétrades, l'une à microspores inactives, l'autre à microspores vides ; les microspores actives apparaissent dans les 2 tétrades, avec cependant une faible préférence pour les tétrades à microspores inactives. On retrouve sous une autre forme la répartition de type *ersteinensis*. La fluctuation des 2 tétrades est mesurée par l'écart-type des grains

112

inactifs ou des grains vides, qui sont pratiquement égaux. Les grains actifs participant aux 2 tétrades ont de ce fait une fluctuation plus faible. Comme *conferta* est l'espèce unique pour le type de combinaison des coefficients r, il n'est pas possible d'infirmer ou de confirmer la tétrade tritype. On admettra son existence.

A la suite de cette revue des populations polliniques de 9 espèces, on voit que les règles des combinaisons des coefficients de corrélation déduites de la population témoin permettent de connaître avec vraisemblance la structure des tétrades. Car chaque fois ces règles se sont trouvées en conformité avec la valeur des moyennes et surtout des écarts-types. En définitive, les coefficients de corrélation entre classes prises 2 à 2, expliquent l'égalité ou l'inégalité entre les écarts-types des 3 classes de grains. Sans l'analyse des coefficients de corrélation, il est impossible de donner la raison pour laquelle chez *biennis* les écartstypes des actifs et inactifs sont égaux, ou chez *ersteinensis* ceux des actifs et des vides sont égaux.

<u>CONCLUSION : LA SIGNIFICATION GENETIQUE DE L'ORGANISATION</u> <u>DES TETRADES</u>

Deux faits paraissent intéressants à analyser :

1 - le rapport particulier des actifs et inactifs. Dans le type *ersteinensis* et *conferta*, une opération de méiose peut donner soit actifs et inactifs, soit inactifs et vides, soit actifs et vides ; Chez *biennis* par contre, actifs et inactifs sont issus préférentiellement d'une seule opération de méiose. Cette constatation impose un rapprochement entre l'organisation des tétrades et l'activité des complexes dans le pollen.

2 - dans les 3 organisations de tétrades, les grains vides apparaissent préférentiellement dans une tétrade et les grains viables dans une autre tétrade.

De ces deux faits, nous dégageons des enseignements génétiques :

1-L'organisation des tétrades et l'activité des complexes. L'ensemble des espèces du type biennis sont hétérogamétiques strictes du côté mâle. Conferta est isogamétique, ersteinen-

sis est relativement isogamétique, coronifera rubrisepala s'est montré

hétérogamétique, mais elle fait partie des mutants de translocation qui sont généralement isogamétiques. En opposant donc hétérogamétiques et isogamétiques, nous comparons l'organisation de type *biennis* à celle d'*ersteinensis* et *conferta*.

Chez les hétérogamétiques, la méiose d'une cellule-mère sépare les 2 complexes, mais la ségrégation morphologique dans le pollen ne se superpose pas à la ségrégation génétique de complexes. De ce fait les grains de type morphologique actif transmettent les 2 complexes. Le grain inactif transmet le complexe inactif, mais reste à savoir s'il ne transmet gue ce complexe.

Chez les isogamétiques la ségrégation morphologique dans la tétrade actifs/inactifs s'estompe complètement, puisque les grains inactifs apparaissent indépendamment avec les grains actifs ou les grains vides. Les grains actifs transmettent les 2 complexes. Les grains inactifs sont génétiquement hétérogènes dans le type *ersteinensis*.

La méthode des coefficients de corrélation ne peut être utilisée sur la population pollinique de *lamarckiana*, isogamétique typique à 2 classes de grains. Mais nous disposons maintenant d'arguments suffisants pour connaître l'organisation des tétrades de cette espèce. En effet, ersteinensis et lamarckiana ont le même plastome, type III. Les écarts-types de la classe des actifs et de celle des vides sont égaux et les plus élevés, chez ersteinensis. Ils sont élevés également chez lamarckiana. Dans les 2 espèces les moyennes des sous-populations sont les plus étalées. Si chez ersteinensis nous regroupons les classes des actifs et inactifs en une classe de grains pleins, les moyennes grains pleins et grains vides sont pratiquement identiques chez les 2 espèces (cf. tableau 5). Enfin, si nous regardons la population pollinique in situ de lamarckiana (planche IV, 1 et 2) nous trouvons des zones d'anthères à grains pleins et des zones d'anthères à grains vides qui chacune ne peuvent provenir que de tétrades monotypes à microspores normales ou à microspores vides. Il est donc hautement probable qu'ersteinensis et lamarckiana ont la même organisation des tétrades.

2-La tétrade des grains vides :

Les types *biennis* et *ersteinensis* font le mieux comprendre la signification génétique de la tétrade à grains vides. Nous savons qu'une opération de méiose donne les 2 complexes (la tétrade 1, fig. 9). Or il existe une 2ème opération de méiose caractérisée par les grains vides (tétrade 2). Le génome de la microspore résultant de cette méiose doit donc être différents des 2 complexes, il est nouveau mais inviable. La létalité est donc bien d'origine génétique, elle intéresse un génome dans son ensemble. La question à résoudre est la composition de ce génome.

La fluctuation entre tétrades, la fluctuation des proportions de ségrégation, à l'intérieur des tétrades mettent en évidence une qualité essentielle du mécanisme de la létalité : celui-ci doit mettre en jeu un grand nombre de facteurs avec un seuil d'action : quand un certain nombre de facteurs sont présents dans la microspore, la létalité est déclenchée. L'hypothèse d'un tel modèle multifactoriel implique que la létalité est déterminée par l'interaction de facteurs nucléaires et cytoplasmiques.

Nous nous proposons de donner la nature des facteurs nucléaires en analysant la transmission de l'image pollinique.

<u>_00_00_00_00</u>_

CONCLUSION A L'ANALYSE STATISTIQUE DE LA POPULATION POLLINIQUE.

Intégrons les résultats statistiques acquis par l'analyse des classes de grains considérées isolément et des 3 classes de grains considérées ensemble d'un échantillon à l'autre.

Comme il existe principalement 2 tétrades et qu'à l'intérieur des tétrades il y a ségrégation entre 2 ou 3 formes de microspores, l'écart-type représente pour une part la fluctuation d'échantillonnage et pour une deuxième part la fluctuation entre types de tétrades ou entre proportions de ségrégation. Les grains vides provenant en majorité de tétrades monotypes, l'écart-type des grains vides est une bonne approximation de la fluctuation entre tétrades. Il est le plus élevé des trois écarts-types ; car il est évident que le nombre de combinaisons de n tétrades prises 2 à 2, où n est toujours supérieur à 10, est très élevé (pour n = 25, correspondant à un échantillon de 100 grains de pollen, le nombre de combinaison est de 300).

A l'intérieur des tétrades, la ségrégation la plus apparente est celle entre grains actifs et inactifs chez les espèces hétérogamétiques. Les 5 combinaisons se réalisent, soit 4 actifs, 3 actifs / 1 inactif, 2 actifs / 2 inactifs, 1 actif / 3 inactifs, enfin 4 inactifs. Ce nombre de combinaison est très faible en comparaison avec le nombre de combinaisons entre 2 types de tétrades. L'écart-type des grains actifs et celui des grains inactifs est de ce fait plus faible (en annexe 5, p.136, nous montrons à partir de populations fictives de tétrades comment l'écarttype des grains vides doit être plus grand que celui des grains actifs et des grains inactifs).

L'image pollinique est donc la résultante d'une fluctuation élevée entre types de tétrades et d'une fluctuation de fait plus faible entre proportions de ségrégation à l'intérieur de la tétrade.

La distribution normale des fréquences des pourcentages indique qu'il y a continuité entre les différentes zones d'anthères. Prenons le cas le plus simple, celui de *rubricaulis* : selon les résultats du tableau 5 (p. 77) la proportion des tétrades à microspores actives et inactives (tétrade A) et des tétrades à microspores vides (tétrade B) est de 60 % / 40 %. Dans les différents échantillons qui dérivent de 100 tétrades, les 21 combinaisons comprises entre 60 tétrades A et 40 tétrades B et 40 tétrades A, 60 tétrades B se réalisent et se mélangent de manière homogène.

Réciproquement une distribution éloignée de la normale (que nous rencontrerons dans les populations polliniques des hybrides) indique que le tissu sporogène n'est pas homogène. Les combinaisons extrêmes de types de tétrades sont aussi abondantes que les combinaisons voisines de la moyenne. La distribution anormale des fréquences des pourcentages révèle donc l'intervention prédominante du cytoplasme. A N N E X E S :

1 - Le calcul statistique

2 - Les tests de normalité

3 - Les tests d'homogénéité

 4 - La corrélation dans un couple de phénotypes de grains.

5 - La population pollinique calculée à partir de population fictive de tétrades.

_00_00_00_00_00_

1 - LE CALCUL STATISTIQUE.

Une partie des calculs statistiques est effectuée sur programme en langage Algol et exécutée sur ordinateur Gamma M 40 au Centre Interuniversitaire de Traitement de l'Information. Un programme est composé pour le calcul des paramètres de la population pollinique, un autre pour le calcul de la loi normale.

1-Les paramètres de la population pollinique :

Ce programme comporte le calcul des paramètres

suivants :

a) Pour chaque classe de grains, la moyenne, l'écart-type, la variance, les moments de 2ème et 3ème ordre, les coefficients de PEARSON, b_1 et b_2 et le tableau des fréquences des pourcentages.

b) Pour chaque couple de classes, la covariance, les pentes α_x et α_y des droites de régression D_x et D_y , le coefficient de corrélation linéaire, r et sa signification, définie par le paramètre de STUDENT :

$t = \frac{r - \rho}{\sigma_n}$ t suit la loi normale réduite pour n > 30et la loi de STUDENT pour n < 30

Dans l'hypothèse de l'indépendance, $\rho = 0$. On calcule la probabilité pour |t| d'être dépassé, on dit que la liaison est significative au niveau (le seuil de probabilité est fixé à 0,05).

Les données :

Elles sont les pourcentages calculés à la main à partir des dénombrements faits au microscope. Sur une carte sont portés les 3 pourcentages d'un échantillon. Cette méthode s'est montrée très pratique car elle permet facilement de décomposer la population totale en sous-populations.

Temps de machine : 1 minute pour calculer tous les paramètres de 2 populations polliniques à n = 100.

Ci-contre est donné un exemple d'analyse d'une sous-

population.

- Analyse statistique exécutée sur Ordinateur M. 40.

La sous-population 1 d'ersteinensis.

A. LES DONNEES

Tableau 1 : % grains actifs Tableau 2 : % grains inactifs Tableau 3 : % grains vides.

Β.	MOYENNE	VARIANCE	MOMENT 3	MOMENT 4	<u>b</u> 1	b	ECARTS-TYPES
1	47,63	35,17	- 127,76	4084,30	0,38	3,30	5,93
2	12,20	18,29	- 12,42	732,81	0,03	2,19	4,28
3	40,17	58,81	166,64	9422,13	0,14	2,72	7,67

C. CORRELATION A/IA

M 1 = 47,633 - M 2 = 12,200 - s^2 1 = 35,17 - s^2 2 = 18,29 C = 2,766 (C = covariance). n = 30 Le coefficient de corrélation linéaire estimé : r = 0,105. t = 0,561 Probabilité de |t| 0,575 Régression du tableau 2 en fonction du tableau 1 0,076 Régression du tableau 1 en fonction du tableau 2 0,146

CORRELATION IA/V

 $M_1 = 12,200 - M_2 = 40,167 - S_1^2 = 18,29 - S_2^2 = 58,81$ С = -21,690 = 30 n Le coefficient de corrélation linéaire estimé : r = -0,639. = 4.399. t La liaison est significative au niveau 0,000 Régression du tableau 2 en fonction du tableau 1 -1,146 Régression du tableau 1 en fonction du tableau 2 -0,357 CORRELATION A/V $M_1 = 47,633 - M_2 = 40,167 - s_1^2 = 35,17 - s_2^2 = 58,81$ C = -0,832n = 30Le coefficient de corrélation linéaire estimé : r = -0,832t = 7,938La liaison est significative au niveau 0,000 Régression du tableau 2 en fonction du tableau 1 -1,076 Régression du tableau 1 en fonction du tableau 2 -0,643. D. FREQUENCES

Tableau 1 :

 $x_1 = 1 - f = 0$; x = 2 - f = 0; ..., x = 50 - f = 1; x = 100 - f = 0.

Tableau 2 et tableau 3 : idem.

Le programme est composé pour donner la fréquence théorique de chaque valeur de pourcentage, à l'intérieur d'une classe de grains, en développant la formule de la loi normale.

Les données :

- la moyenne et l'écart-type de la distribution ;

- l'intervalle des pourcentages dans lequel Y_i doit

être calculé ;

- n, pour transformer les fréquences relatives en fréquences absolues.

Temps de machine : 1 minute pour calculer 800 valeurs Y_i.

2 - LES TESTS DE NORMALITE.

1-Ajustement de la fonction fréquences des pourcentages à la loi normale :

Les fréquences théoriques sont calculées en développant la formule de la loi normale :

$$Y_{i} = \frac{1}{\sigma \sqrt{2\pi}} e^{-\frac{(x_{i} - \bar{x})^{2}}{2\sigma^{2}}}$$

pour chaque valeur de la variable x_i (les pourcentages d'une classe de grains) comprise dans les limites de $\overline{x} \pm 3$ S. Y_i est obtenu en fréquences relatives. La fréquence absolue est calculée par le produit Y_i n.

Ensuite le test du χ^2 est appliqué aux fréquences : $\chi^2 = \frac{(o - c)^2}{c}$. o est la fréquence expérimentale, c la fréquence théorique.

Les fréquences théoriques des variables extrêmes qui ne sont pas représentées dans la distribution expérimentale sont sommées avec la fréquence théorique de la variable qui correspond dans la distribution expérimentale à la variable extrême. En outre si, dans la suite des variables, une variable n'est pas représentée dans la distribution expérimentale, sa fréquence théorique est additionnée à la suivante. Trois relations entre les données sont utilisées pour calculer les fréquences théoriques : le nombre d'échantillons, n ; la moyenne des pourcentages, \bar{x} ; et l'écart-type, S. D'où l'on définit les degrés de liberté par : k - 3, k est le nombre de variables de la distribution expérimentale. La probabilité, correspondant à la somme des χ^2 des variables, est lue dans les tables de PEARSON (1970, p. 128) qui ont l'avantage de présenter P pour toutes les valeurs de χ^2 comprises entre 0,001 et 120.

Exemple : La distribution des pourcentages de grains inactifs de biennis. n = 150 $\bar{x} = 19,23$ \$ S = 4,19 \$.

x (%)	^F théorique relative	F théorique absolue	^F expérimentale
5	0,000	0,036	-
6	0,001	0,082	-
7	0,001	$0, 194 (\simeq 0, 8$	-
8	0,002	0,348	1
9	0,004	0,657 1 8	-
10	0,008	1,170	1
11	0,013	1,961	1
12	0,021	3,099	5
13	0,031	4,616	7
14	0,043	6,479	5
15	0,057	8,573	12
16	0,071	10,692	9
17	0,084	12,567	10
18	0,094	13,922	9
19	0,097	14,537	15
20	0,095	14,307	18
21	0,088	13,270	11
22	0,077	11,602	14
23	0,064	9,560	6
24	0,049	7,425	9
25	0,036	5.435	7

26	0,025	3,750		6
27	0,016	2,438		3
28	0,010	1,494		1
29	0,006	0,863		· _
30	0,003	0,470	2	-
31	0,002	0,241	5	-
32	0,001	0,117		-
33	0.000	0.053 /		-

 $\chi^2_{total} = 14,32$; k = 20, d'où d.d.l. = 17; P = 0,66 (cf.tableau 7, p. 82).

De ce résultat, on conclut que la normalité de la distribution des fréquences n'est pas infirmée par le test du χ^2 . Les fluctuactions des fréquences expérimentales sont dues au hasard de l'échantillonnage.

Ces résultats s'ajoutent à ceux donnés dans le tableau 7, p. 82.

		Actifs	3	Inactifs			Vides		
Espèces	χ²	d.d.1.	Р	χ ²	d.d.1.	Р	χ ²	d.d.1.	Р
Conferta	17,21	20	0,58	28,40	23	0,21	21,18	24	0,63
Coronifera	20,43	20	0,45	34,29	24	0,08	29,67	27	0,36
Coronifera rubrisepala	33,73	2 8	0,20	118,94	13	0,000	21,61	26	0,68
Nuda	38,62	29	0,10	33,37	22	0,06	43,09	34	0,14
Rubricaulis	15,33	20	0,74	16,37	19	0,65	25,39	31	0,80
Suaveolens	8,88	14	0,84	9,56	10	0,47	15,40	14	0,34
Population témoin C +		5 0 1	1	,	[0	1	,	r 1	
segregation c su]		[C su]			0.67
	3,18	11	0,98	14,54	11	0,21	[7,74	10	0,65
		[c s1	u]	1					
	7,59	8	0,47	1					
Ségrégation $\frac{C+}{C+}$		[C]]	1	[c +]	1		[cwx]
C wX	7,47	10	0,67	3,63	13	0,99	4,16	8	0,84

122

Dans l'ensemble, la normalité n'est pas infirmée. Seule la classe des inactifs de *coronifera rubrisepala* est éloignée de la normalité. Ceci est dû à la valeur faible de la moyenne, 6,3 ± 5,4 %, de sorte que la distribution des fréquences est ce fait dissymétrique.

2-Les coefficients de PEARSON :

Ces coefficients utilisent :

- le moment de 2ème ordre :

$$m_2 + \frac{\Sigma (x_i - \overline{x})^2}{n}$$

- le moment de 3ème ordre : $m_{3} = \frac{\Sigma (x_{1} - \overline{x})^{3}}{n}$

- le moment de 4ème ordre : $m_{ij} = \frac{\sum (x_i - \overline{x})^{ij}}{n}$

> Ils sont définis par : $b_1 = \frac{m_3^2}{m_2^3}$ $b_2 = \frac{m_4}{m_2^2}$

Dans une distribution théorique $b_1 = 0$, et $b_2 = 3$. Dans une distribution expérimentale, ils sont soumis à une fluctuation d'échantillonnage, dont les tables définissent les limites de confiance à 95 % et 99 %.

Les coefficients b_1 et b_2 indiquent l'allure de la courbe expérimentale des fréquences. Si b_1 est significativement différent de 0, la distribution est dissymétrique : avec m_3 négatif, les pourcentages inférieurs à la moyenne sont anormalement fréquents ; avec m_3 positif, les pourcentages supérieurs à la moyenne sont anormalement fréquents. Le coefficient b_2 précise la fréquence des pourcentages proches de la moyenne. Si



b) F2(blandina x nuda), de phénotype blandina, à 7 bivalents.



b₂ est significativement inférieur à 3, une partie importante de la distribution est centrée sur la moyenne, et les pourcentages extrêmes font défaut. Si b₂ est supérieur à 3, la distribution est encore plus resserrée autour de la moyenne mais les pourcentages extrêmes sont présents.

3-La droite de HENRY :

On utilise du papier gausso-métrique. En abscisse, graduée suivant l'échelle métrique, est portée la variable pourcentage ; en ordonnée, graduée suivant l'échelle gaussienne sont portées les fréquences cumulées, avec l'indication de la position de \pm 1, 2 et 3 σ . On porte la moyenne (axe 0) et, de part et d'autre de la moyenne, ± 1 S de la distribution expérimentale. Ces 3 points sont situés sur la droite qui représente la fonction fréquences théoriques. On porte ensuite les fréquences cumulées de la distribution expérimentale et visuellement on apprécie si les différents points sont disposés régulièrement le long de la droite. On voit que pour syrticola (Fig. 10) les points sont bien alignés, au moins dans les limi-2 S. Cependant les fréquences des grains vides sont à la limite de tes de la normalité (ce qui est confirmé par le test du χ^2 , P = 0,08). Pour l'hybride F₂ (blandina x nuda), la fonction fréquence des pourcentages est éloignée de la normale pour les 3 classe de grains, en particulier la classe des grains vides.

3 - LES TESTS D'HOMOGENEITE.

1-<u>Test d'homogénéité des moyennes par l'analyse de la</u> variance :

L'analyse de la variance est une analyse à un facteur, la sous-population. Le schéma est le suivant :

Origine de la variance	Ecart-quadratique	d.d.l.	s²	F
inter-population	$\begin{bmatrix} \frac{T^2}{n} & \frac{T^2}{n} \\ \hline n & 1 \end{bmatrix} + \frac{G^2}{N}$	k - 1		
résiduelle	$\Sigma_{1}^{k} \Sigma_{1}^{n} (x_{1}^{2}) - (\frac{T_{1}^{2}}{n_{1}} + \frac{T_{1}^{2}}{n_{2}} + \dots)$	N - k	•••••	
totale	$\Sigma_{1}^{k} \Sigma_{1}^{n} (x_{1}^{2}) - \frac{G^{2}}{N}$	N - 1		

T : Somme des variables des sous-populations 1, 2,

G : Somme de toutes les variables x_i (population totale)

n: Nombre d'échantillons par sous-population

N : Nombre d'échantillons de la population totale

k : Nombre de sous-populations.

Les sommes des écarts-quadratiques sont calculées de la manière suivante :

- les écarts-quadratiques de la population totale sont calculés à partir de la variance (donnée sur programme) ;

- la variance résiduelle est obtenue en faisant la moyenne des variances des sous-populations (données sur programme) ; d'où on calcule les écarts-quadratiques résiduels ;

- les écarts-quadratiques inter-populations sont calculés à partir de la différence : écarts-quadratiques totaux - écarts-quadratiques résiduels.

Les tables de F sont prises dans SCHWARTZ D. (Flammarion, 1970, p. 290).

Les résultats des analyses sont portés dans le tableau 14.

Origine de	d.d.l.		actifs			inactif	s		vides		
la variance		S ²	F	P	S ²	F	Р	S ²	F	Р	
						 biennis					
inter-population	4	50,2	1,9	N.S.	41,5	2,5	0,05	62,4	1,4	N.S.	
résiduelle	145	25,3			16,2	Ì		45,5			
totale	149	25,9			16,9			45,9			
			1		ersteinensis						
inter-population	5	159,6	3,3	0,01	316,6	15,0	0,000	66,3	1,3	N.S.	
résiduelle	189	47,2			21,1			49,8			
totale	194	50,7			28,5)	50,2			
						·	· · · · · · · · · · · ·	•,,	1	·	
					la	rmarcki	ana			1	
inter-population	4	120,3	0,9	N.S.				résul	tat ide	ntique	
résiduelle	240	125,7						a	ux acti	fs.	
totale	244	125,6									
								<u></u>			
					S	yrticol	a				
inter-population	2	340,3	5,5	0,01	282,51	4,4	0,01	477,0	3,6	0,05	
résiduelle	97	61,6	÷ *	-	6 4,0		-	133,4			
totale	99	67,2			69,8			140,3			

<u>Tableau 14</u> : Comparaison des moyennes de pourcentages des sous-populations par l'analyse de la variance.



2-Test d'homogénéité des variances (Test de BARTLETT) :

La méthode de ce test est exposée dans VESSEREAU A. (1960), p. 157-158, et dans PEARSON E.S. (1970), p. 63. Elle est basée sur la différence M suivante :

 $M = N \log_{e} \overline{U} - \Sigma n_{i} \log_{e} U_{i}$

Ui sont les variances des sous-populations

U est la moyenne des variances :

$$\overline{U} = \frac{\sum n_i U_i}{N}$$

Cette valeur M suit la loi du χ^2 . Si on exprime M en log. de base 10, on a :

$$\chi^2 = 2,3026$$
 M

BARTLETT ajoute un correctif qui fait intervenir le nombre de sous-populations k, entrant dans la comparaison : $\chi^2 = 2,3026 \frac{M}{C}$

$$C = 1 + \frac{1}{3 (k - 1)} \qquad \sum \left(\frac{1}{n_i} - \frac{1}{N} \right)$$

Les d.d.l. sont égaux à k - 1.

Voici un exemple de calcul sur la population pollinique d'ersteinensis où k = 6.

U.i	ⁿ i	ⁿ i ^U i	log U.	n _i log U _i	1 / n _i
59,29	30	1778,7	1,77	53,1	0,03
87,61	30	2628,3	1,94	58,2	0,03
41,60	30	1248,0	1,62	48,6	0,03
32,15	30	9 6 4,5	1,51	45,3	0,03
33,52	30	1005,6	1,52	45,6	0,03
41,99	45	1889,5	1,62	72,9	0,02
	195	9514,6			0,17

$$\overline{U} = \frac{9514,6}{195} = 48,79$$
 log $\overline{U} = 1,68$

$$C = 1 + \frac{1}{15}$$
 (0,17 - 0,005) = 1,01

$$\chi^2 = \frac{2,3026}{1,01}$$
 (327,60 - 323,7) = 8,85

Pour d.d.l. = 5, P = 0,11 (cf. tableau p. 81).

4 - LA_CORRELATION_DANS_UN_COUPLE_DE_PHENOTYPES DE_GRAINS.

Les diagrammes des figures ⁴ et 5 présentent la variation des pourcentages de 2 classes, échantillon à échantillon. Les diagrammes nous ont conduit à l'utilisation des coefficients de corrélation. Nous nous proposons de montrer par les diagrammes classiques de dispersion la liaison ou l'indépendance entre les pourcentages des 2 classes de grains.

1-Les diagrammes de dispersion :

Pour un couple de 2 phénotypes de grains, nous portons en abscisse les pourcentages d'une classe, et en ordonnée les pourcentages de l'autre classe d'un couple. Chaque point du diagramme correspond à un échantillon ou à plusieurs échantillons qui ont des pourcentages identiques. A chaque valeur d'abscisse x_i correspondent plusieurs valeurs de l'ordonnée y_i , et réciproquement. On a tracé les diagrammes de la population pollinique de *biennis* (Figure 11). Il y a 3 couples de phénotypes de grains auxquels correspondent 3 diagrammes.

Un sens de lecture des diagrammes est choisi : les pourcentages portés en abscisse sont considérés comme variable indépendante, les pourcentages portés en ordonnée comme variable dépendante. En langage statistique, cela revient à calculer la régression des valeurs de y en x. Les 3 diagrammes d'une espèce représentent les fonctions suivantes :



```
% grains vides = f (% grains actifs)
% grains inactifs = f (% grains actifs)
                   = f (% grains inactifs).
% grains vides
```

Suivant le sens de lecture, à chaque valeur x; correspond une moyenne des ordoy i nées y_i , soit \overline{y}_i cette moyenne, représentée par un cercle noir. La ligne en zig-zag qui rejoint les différents y, est la ligne de régression de y en x. A cette courbe M(₹.ÿ) de régression correspond une droite de régression D_v qui relie les moyennes théoriques Y, correspondant aux moyennes expérimentales y. L'équation de la droite est : $Y_i = \alpha_x (x_i - \bar{x}) + \bar{y} \cdot \alpha_x$ est la pente de la droite. Pratiquement c'est la droite qui passe au plus x; près des cercles noirs, y_i. Les

2 droites équidistantes de D_y dédroite D_u. finissent la fluctuation d'échantillonnage des couples x_i, y_i, par rapport à la droite de régression D_u.

On voit que pour la population pollinique de biennis, la pente D_v du couple actifs / vides et du couple inactifs / vides est forte et que les points sont centrés sur la droite de régression. Le couple actifs / inactifs présente une droite à pente faible et un nuage de points. Dans le premier cas, liaisons et régressions sont significatives, et dans le 2ème cas, elles sont non significatives.

On a également tracé certains diagrammes portant sur les pourcentages des phénotypes de l'épi de maïs (Figure 12) : à la pente forte de la droite de régression correspond une liaison forte ; à la pente faible, l'indépendance.

2-La linéarité de la régression :

a) Principe:

La linéarité est testée pour la régression de Y en X. Suivant ce sens de lecture, chaque variable x; forme une classe



Figure 12 : Diagrammes de dispersion des pourcentages des phénotypes, pris deux à deux, sur l'épi de Zoa mays.



 $\frac{\mathbf{C} \mathbf{w} \mathbf{x}}{\mathbf{c} +}$





à laquelle correspondent une ou plusieurs variables y_i (n_i est le nombre des variables y_i). Pour une classe x_i , le diagramme de dispersion présente les points remarquables suivants (Figure 13) :

- y_i : la moyenne des y_ide la classe x_i
- Y_i : la moyenne théorique de la classe x_i lue sur la droite D_y
- x, y : respectivement la moyenne des variables x_i et des variables y_i de la population à N grains.

On admet que la linéarité n'est pas infirmée si la fluctuation des \bar{y}_i autour de la droite D_y n'est pas supérieure à la fluctuation des y_i autour de \bar{y}_i pour chaque classe x_i . On compare donc la variance de $\Sigma n_i (\bar{y} - Y_i)^2 = Q_D$ à la variance $\Sigma n_i (y_i - \bar{y})^2 = Q_E$. Le calcul des variances se fait suivant le schéma ci-dessous (extrait de VESSEREAU, 1960, p. 448).

Origine de la variation	Somme des carrés	Degrés de liberté	Carré moyen
Régression linéaire	$Q_{\rm R} = \alpha^2 \Sigma n_{\rm i} (x_{\rm i} - \bar{x})^2$	1	-
Ecarts par rapport à la ligne droite	$Q_{D} = \Sigma n_{i} (\bar{y}_{i} - Y_{i})^{2}$	k - 2	<u>Q</u> D <u>k - 2</u>
Totale "entre classes"	$Q_{C} = \Sigma n_{i} (\bar{y}_{i} - \bar{y})^{2}$	k - 1	$\frac{Q_{\rm C}}{k-1}$
Rédiduelle (Erreur)	$Q_E = \Sigma (y_i - \bar{y}_i)^2$	N - k	$\frac{Q_E}{N - k}$
Total général	$Q = \mathbf{z} (\mathbf{y}_{i} - \mathbf{y})^{2}$	N - 1	

Q et Q_R sont calculés à partir de données fournies par le calcul à l'ordinateur. Q_C est calculé à la main à partir de la formule :

$$n_{i} (\bar{y}_{i} - \bar{y})^{2} = n_{i} \bar{y}_{i}^{2} - N \bar{y}^{2}.$$

 Q_{D} et Q_{E} sont obtenus par différence.

133

b) Exemple d'une analyse :

Linéarité de la régression des pourcentages

des grains vides dans les pourcentages de grains actifs pour la population pollinique d'Oe. biennis.

Origine de la variation	Somme des carrés	d.d.l.	s ^z	F ²¹ 127
Régression linéaire	4426,32	1	14,61	0.85
Ecarts par rapport à \mathcal{D}_{μ}	306,89	21	17,01	•,••
Totale "entre classes"	4733,21	22		
Résiduelle	2160,87	127		
Total général	6894,08	149		

c) <u>Résultats (Tableau 15) :</u>

Couple de classes	d.d.l. ₁ / d.d.l. ₂	F	P			
	biennis					
actifs/vides	21 / 127	0,85	N.S.			
actifs/inactifs	21 / 127	1,01	N.S.			
inactifs/vides	18 / 130	1,29	N.S.			
	sunticola					
actifs/vides	30 / 68	1,37	N.S.			
actifs/inactifs	régression non significative					
inactifs/vides	35 / 65	1,40	N.S.			
	ersteinensis					
actifs/vides	31 / 162	0,1	N.S.			
actifs/inactifs	31 / 162	1,28	N.S.			
inactifs/vides	25 / 168	0,89	N.S.			

3-Homogénéité entre les coefficients de corrélation :

a) Principe:

Le test d'homogénéité se calcule sur les coefficients de corrélation transformés, z. (Un tableau de correspondance détaillé figure dans PEARSON, 1969, vol. I, p. 147).

Les écarts $(z_i - \overline{z})^2$ suivant la loi du χ^2 suivant

la formule

$$\chi^2 = \Sigma (n_i - 3) (z_i - \bar{z})^2$$

dans laquelle n_i est le nombre d'échantillons de la population pollinique, et \overline{z} la moyenne des z_i , appelée coefficient ajusté, et qui est définie de la manière suivante :

$$\overline{z} = \frac{\Sigma (n_i - 3) z_i}{\Sigma (n_i - 3)}$$

Pour la population pollinique des Oenothères,

le coefficient ajusté r'est égal ou presque égal au coefficient de la population totale.

1-Ségrégation $\frac{C+}{c \text{ su}}$: homogénéité entre les 6 coefficients r de la sous-population (les coefficients de corrélation figurent au tableau 8 page 94).

Sous-po p ulations	χ²	d.d.l.	P	た'
1	1,33	5	0,93	- 0,392
2	15,41	5	0,008	- 0,252
3	3,75	5	0,57	- 0,329.
Population totale	4,66	5	0,46	- 0,31

2-Population pollinique des Oenothères : homogénéité entre souspopulations d'une espèce pour un couple de phénotypes (Les coefficients de corrélation figurent dans le tableau 11 page 105).

Couple de phénotypes	χ ²	d.d.l.	P	た'	ア
biennis					
actifs/vides	1,60	4	0,80	-0,812	-0,801
actifs/inactifs	3,62	4	0,46	+0,198	+0,156
inactifs/vides	3,00	4	0,55	-0,712	-0,716
ersteinensis					
actifs/vides	4,50	5	0,49	-0,802	-0,717
actifs/inactifs	6,98	5	0,22	-0,298	-0,382
inactifs/vides	8,34	5	0,14	-0,348	-0,370
syrticola					
actifs/vides	11,71	2	0,003	-0,760	-0,709
actifs/inactifs	4,50	2	0,11	+0,069	+0,024
inactifs/vides	1,94	2	0,38	-0,734	-0,722

Pour un couple de classes, les coefficients des sous-populations d'une espèce sont homogènes entre eux à l'exception du couple actifs/vides de syrticola. Mais ce cas confirme la tendance générale de ce couple de pourcentages d'être fortement lié, car l'hétérogénéité entre les coefficients r est due à la valeur élevée de r (- 0,9) de la sous-population 2 (cf. tableau 11, p. 105).

5 - LA POPULATION POLLINIQUE CALCULEE A PARTIR DE POPULATION FICTIVE DE TETRADES.

Nous nous plaçons dans l'organisation de tétrades la plus simple, celle de *rubricaulis*, une tétrade à grains vides (V) et une tétrade mixte à grains actifs et grains inactifs.

On admet que l'échantillon de population pollinique à l'anthèse est issu de 25 échantillons qui donnent 100 grains de pollen.

Posons les proportions de tétrades suivantes :
Tab	Lea	<u>16 16</u>	:	La	flu	ctu	rtion	des	tétr	ades	et	la {	fluc	tuation	
	des	pou	rc	enta	iges	de	phēn	otype	es de	gra	ins	dans	la	populat	ion
	pol	lini	qu	zā	l'a	nthi	èse.								

	Nom tét:	bre de rades	Nombre de grains dans la population pollinique			
	mixtes	vides	actifs	inactifs	vides	
1.	16	9			36	
Ségrégation 4/0	-	•				
3/1	4		12	4		
2/2	7		14	14		
1/3	5		5			
0/4	-	total	31	33	36	
2.	9	16			64	
Ségrégation 4/0	-					
3/1	2		6	2		
2/2	4		8	8		
1/3	3		3	_9_		
0/4	-	total	17	19	64	
3.	20	5			20	
Ségrégation 4/0	-					
3/1	5		15	5		
2/2	10		20	20		
1/3	4		4	12		
0/4	1			<u> </u>	<u></u>	
		total	39	41	20	
4.	5	20			80	
Sé grégati on 4/0	-					
3/1	1		3	1		
2/2	3		6	6		
1/3	1		1	_3_		
0/4	-	total	10	10	80	

ULLA - 16 mixtes et 9 vides et l'inverse 9 mixtes et 16 vides
- 20 mixtes et 5 vides et l'inverse 5 mixtes et 20 vides.

Dans les tétrades mixtes apparaissent les 4 proportions de ségrégations actifs/inactifs :

4 / 0; 3 / 1; 2 / 2; 1 / 3 et 0 / 4, avec une préférence pour la ségrégation 2 / 2.

Le décompte des grains de pollen issus de ces tétrades est pré senté dans le tableau 16.

On voit qu'en comparant les totaux des échantillons 1 et 2, et des échantillons 3 et 4, la fluctuation des 2 tétrades entraîne une fluctuation plus élevée des pourcentages des grains vides que de ceux des grains actifs et inactifs.

3° PARTIE :

L'HEREDITE DE L'IMAGE POLLINIQUE

La transmission de l'image pollinique avec grains létaux est a priori paradoxale. Le facteur génétique qui détermine la létalité est éliminé par la mort du gamétophyte. Une plante dont la population pollinique comporte des grains normaux et des grains létaux se présente dans les processus de fertilisation comme une plante à pollen uniquement normal : sa fertilité n'est nullement réduite. La létalité pollinique, puisqu'elle existe, est donc héritée par voie indirecte.

Au départ, nous nous référons à la descendance de la population témoin à létalité factorielle. Le facteur p d'Oe. purpurata ne peut se transmettre que par l'ovule et la descendance d'une plante +/p doit être composée d'une part d'individus à pollen entièrement normal, d'autre part d'individus dont le pollen ségrège en grains normaux et grains létaux. Nous nous proposons de vérifier le mécanisme de cette transmission.

Pour les Oenothères hétérozygotes, nous suivons la transmission de l'image pollinique chez l'hybride. Car il faut supposer que le système génétique des Oenothères, qui est si rigoureux chez l'espèce, se dégrade dans la plante hybride. Cette situation doit nous permettre de comprendre l'origine de la létalité pollinique.

Ces hybrides sont issus de croisements entre trois types de plantes qui se distinguent, entre autres caractères génétiques, par la létalité pollinique : les espèces homozygotes, les espèces hétérozygotes. . Chacune suggère une piste de recherche :

138

1 - Quelle est la cause génétique qui fait que l'espèce homozygote donne du pollen uniquement normal, et l'espèce hétérozygote du pollen normal et létal ? Pour répondre à cette question, nous suivrons la descendance d'hybrides dont les parents sont hétérozygotes ou hétérozygotes et homozygotes ;

2 - les hybrides issus d'espèces homozygotes peuvent-ils avoir du pollen létal ? ;

Le plan est ainsi tout tracé : après l'étude de la descendance de la population témoin, nous analyserons successivement l'image pollinique des hybrides d'espèces hétérozygotes, des hybrides des espèces homozygotes et enfin des hybrides des mutants de translocation.

> I. LA TRANSMISSION DU FACTEUR DE LETALITE p.

Dans le paragraphe précédent, nous avons démontré par des arguments statistiques le déterminisme factoriel de la létalité pollinique chez *Oe. purpurata*. Nous nous proposons de suivre le facteur p dans la descendance de l'hétérozygote +/p.

L'essentiel des résultats a été développé dans une publication antérieure (R. JEAN et R. LINDER, 1970). Cette dernière comporte l'expérimentation des saisons de culture 1968 et 1969, nous y ajoutons les données des saisons 1970 et 1971. En première partie nous exposons l'historique de la descendance du mutant +/p, et en deuxième partie l'interprétation génétique. Planche XXIII: La létalité pollinique factorielle d'*Ce. purpurala* Klebahn.











Planche XXIII: La létalité pollinique factorielle

d'Oenothera purpurata Klebahn.

Figure 1 : Pollen de plante +/+ (x 90).

Figure 2 : Pollen de plante $+/p_1$ (x 90).

Figure 3 : Pollen de plante $+/p_2$ (x 90).

Figure 4 : Inflorescence d'Oe. purpurata.

Figure 5 : Diacinèse d'Oe. purpurata $+/p_2$ (x 800).

Tableau 17 : La descendance du mutant +/p d'Oe. purpurata.

Génération	Nbre de plantes issues d'autofécondation	Plantes +/p _l	Plantes +/p ₂	% de plantes à ségrégation pollinique
le	88	9	1	8,8
2e	122	6	0	4,9
	120	6	0	5,0
	124	1	0	0,8
3 ^e	63	2	0	3,1
	54	2	0	3,7
4 ^e	207	0	0	0,0

A. - Descendance d'*Oe.* purpurata $+/p_1$

B. - Descendance d'Oe. purpurata +/p₂

Génération	Nbre de plantes issues d'autofécondation ou de croisement	Plantes +/p ₂	Plantes +/p _l	% de plantes à ségrégation pollinique
Autofécondatio	n			
le	120	24	0	20,0
2 ^e	57	15	1	28,0
3 ^e	126	33	1	26,9
Croisements				
+/p ₂ x Oe.franciscan	a 55	6	0	10,9
/ +/p ₂ x Oe.Iamarckiana	75	7	0	9,3
^{+/p} 2 ^x Oe.suaveolens	13	4	0	30,7

140

A. - DESCRIPTION DE LA DESCENDANCE DE LA PLANTE HETEROZYGOTE +/p (TABLEAU 17).

A l'origine, nous avons isolé dans nos cultures d'Oe. purpurata une plante unique que l'analyse ultérieure nous a permis de définir comme +/p₁. La classe des grains létaux est composée de grains totalement vides, réduits au sporoderme (Planche 23). Par autofécondation, cette plante a donné 8,8 % de plantes à ségrégation +/p ; toutes les autres plantes du lot montrent un pollen normal, elles sont homozygotes +/+ (cf. tableau 17, A, première génération). Dans le groupe des plantes à ségrégation pollinique, une plante présente un pollen ségrégeant en grains normaux et grains létaux dans les proportions 1/1, mais le phénotype du grain létal est différent : il est ratatiné, de plus petite taille et conserve du protoplasme (Planche 23). Les effets de la létalité sont moins accentués que chez les grains létaux de la plante parentale. Nous appelons p₂ le facteur qui détermine ce phénotype de grain létal.

A la suite de l'isolement de ce 2ème mutant, nous suivons séparément la descendance de la plante $+/p_1$ et de la plante $+/p_2$. En 2ème et 3ème génération de l'hétérozygote $+/p_1$, un très faible pourcentage de plantes $+/p_1$ est enregistré, et en 4ème généraltion aucune plante $+/p_1$ n'est apparue malgré la grande taille de la population (207 plantes). Le pourcentage moyen de plantes $+/p_1$ est de 3,4 %. Comparées entre elles, les proportions de plantes $+/p_1$ sont fortement hétérogènes (le test du $\chi^2_{total} = 27,2;$ d.d.l. = 6 ; P = 0,000).

Les taux de répartition de plantes +/+ et +/ p_2 dans la descendance de +/ p_2 sont totalement différents (cf. tableau 17, B) : la moyenne des plantes +/ p_2 est de 23,7 % et les proportions de ségrégation résultant des différentes autofécondations sont homogènes entre elles ($\chi^2_{total} = 1,94$; d.d.l. = 1 ; P = 0,17). En lère et 3ème génération, le groupe de plantes à ségrégation pollinique comporte une plante à pollen létal de phénotype p_1 . Ce pollen létal est issu de la mutation réverse p_2 en p_1 .

Des croisements du mutant $+/p_2$ avec des espèces dépourvues de létalité factorielle, franciscana, lamarckiana et suaveolens ont également été effectués. Parmi la population hybride, les plantes $+/p_2$ sont facilement repérées : le grain de pollen de phénotype p_2 se distingue des grains vides

141

propres aux Oenothères hétérozygotes. Les proportions des plantes +/+ et +/ p_2 dans un lot de plantes hybrides sont fonction du croisement et elles ne sont pas homogènes d'un croisement à un autre ($\chi^2_{total} = 10,25$; d.d.l. = 2 P = 0,01).

En résumé, dans la lignée d'hétérozygote $+/p_1$, les plantes à ségrégation pollinique sont rares ou même exceptionnelles ; par contre dans la lignée de l'hétérozygote $+/p_2$, les plantes à ségrégation apparaissent dans des proportions plus élevées.

B. - INTERPRETATION GENETIQUE DE LA DESCENDANCE DE LA PLANTE HETEROZYGOTE +/p.

L'analyse de la descendance de la plante +/p de purpurata nous amène à commenter le lien entre les deux facteurs de létalité, la proportion expérimentale de ségrégation des génotypes +/+ et +/p, et enfin la répartition du facteur de létalité en population naturelle.

1-Les facteurs de létalité p₁ et p₂:

Le facteur de létalité p est connu chez les Oenothères. R. LINDER (1954) l'a mis en évidence dans la population pollinique de fruticosa (du sous-genre Kneiffia). Cette espèce étant tétraploïde (2n = 28), l'auteur a pu démontrer la ségrégation tétrasomique des allèles +/p. Il a trouvé un seul type d'activité factorielle qui aboutit au grain totalement vide et qui est donc équivalent au facteur p₁. Chez purpurata nous observons deux types d'actions factorielles, p_1 et p_2 . Cette diversité de phénotypes dans la létalité pollinique a été mise en évidence par A. GAGNIEU (1951 et 1955) sur les pommiers cultivés. L'auteur distingue 4 phénotypes p_1 à p_4 , allant du grain totalement vide au grain régulièrement développé, mais incapable de germer. R. LINDER (1956, 1959), en prospectant les pommiers et les poiriers sauvages de la forêt rhénane de la Hart, a retrouvé des individus +/p, +/p₂ et +/p₃, et il conclut que ce caractère de la létalité pollinique est un signe de parenté entre les espèces malus et communis du genre Pirus. Il en est probablement de même entre les sous-genres Eu-Oenothera etKneiffia du genre Oenothera.

L'originalité de la létalité pollinique de pur-

purata est que dans la descendance de la plante $+/p_1$ peut apparaître le phénotype de grain létal p_2 et réciproquement dans celle de la plante $+/p_2$ le phénotype p_1 . Ces deux phénotypes peuvent être considérés comme la manifestation d'un facteur de létalité mendélien instable dans son activité.

2-Signification de la proportion de ségrégation sporophytique de +/+ et +/p :

Théoriquement, l'autofécondation de l'hétérozygote +/p doit donner une descendance composée de 50 % de plantes +/+, à pollen normal, et de 50 % de plantes +/p à pollen ségrégeant en deux classes suivant le schéma ci-dessous :



Tableau des gamètes de la plante +/p autofécondée.

Ce schéma suppose que la ségrégation des allèles + et p dans les ovules se fait dans les proportions 1/1. Le facteur p n'influencerait donc pas le développement de la macrospore.

Aucun résultat de ségrégation, évoqué plus haut, ne correspond à ce schéma. Le pourcentage le plus élevé (30 % de plantes à ségrégation pollinique dans le croisement *purpurata* $+/p_2$ x *suaveolens*) demeure encore à l'extérieur d'une fluctuation d'échantillonnage d'une ségrégation 1/1.

Pourtant ce résultat théorique a été obtenu à partir d'un semis de pommier +/p₁ autofécondé (A. GAGNIEU, travail non publié). Chez le mutant +/p de *purpurata* interviennent donc des conditions particulières qui éliminent les macrospores p.

Cette situation suggère une hypothèse conforme à des faits connus chez les Oenothères dans le fonctionnement du sac embryonnaire. Chez les Oenothères, la macrospore micropylaire se développe préférentiellement en sac embryonnaire. Pour les Oenothères hétérogames, O. RENNER



144

(1921) a montré que la sélection des macrospores dépend du complexe qu'elle transmet : la macrospore micropylaire se développe normalement lorsqu'elle transmet le complexe femelle. Mais elle peut être relayée par la macrospore chalazienne si cette dernière transmet le complexe femelle. Cette sélection a été appelée "effet Renner". Elle peut s'appliquer également aux macrospores + et p.

Sachant que la disposition des 4 spores résultant de la méiose est linéaire, nous pouvons définir leur arrangement respectif et analyser ainsi les échanges chromatidiques des allèles + et p, comme dans le cas d'une analyse factorielle des ascospores d'un asque. Sur la figure 14 sont portées les positions relatives possibles des macrospores + et p dans les tétrades.

Si la ségrégation entre + et p se fait en lère division de méiose, deux dispositions sont possibles : dans un cas la macrospore micropylaire transmet le facteur +, dans l'autre cas, c'est la macrospore chalazienne. Suivant l'hypothèse de l'effet Renner, dans l'une ou l'autre position, la macrospore + sera prépondérante. Le facteur p est ainsi éliminé. Pour la ségrégation en 2ème division de méiose, quatre dispositions sont possibles : dans trois dispositions nous retrouvons la situation précédente. Dans la dernière disposition (disposition 6 dans la figure 14), les macrospores micropylaire et chalazienne transmettent le facteur p. Dans cette disposition, seule une macrospore p doit normalement évoluer en un sac embryonnaire. Si l'on admet que les ségrégations en 1ère et 2ème divisions ont autant de chance de se réaliser, 1 macrospore sur 6 (ou 16 %) transmet le facteur p.

Comparons ce résultat théorique à notre résultat expérimental. L'autofécondation de $+/p_2$ donne en moyenne 25 % de plantes à ségrégation pollinique, c'est à dire 25 % des macrospores, transmettent le facteur p_2 . Les ségrégations en 2ème division ont donc été plus nombreuses que celles en 1ère division. Chez les hybrides de *purpurata* $+/p_2$, les proportions des macrospores p_2 sont variables. Elles démontrent que la valeur des échanges chromatidiques est spécifique : pour *purpurata*, celle-ci est constante ; par contre elle varie d'un hybride à l'autre de *purpurata*. Cette propriété a été mise en évidence chez les hybrides des Oenothères pour d'autres facteurs, R, Sp par exemple, par RENNER (1933) qui l'a dénommée "changement dans les échanges" (Koppelungswechsel).

145

Suivant notre démonstration, malgré la diminution des plantes $+/p_2$, toutes les macrospores p_2 sont viables et donnent un sac embryonnaire fonctionnel. Il n'en est pas de même pour les macrospores p_1 . Leur développement apparaît rare, et même exceptionnel. L'élimination du facteur p_1 peut se faire également au niveau de l'embryon. Nous avons analysé les capsules des différents génotypes +/+, $+/p_1$ et $+/p_2$. A part les ovules accidentels avortés, et répartis irrégulièrement dans toutes les capsules, nous n'avons pas trouvé, entre les génotypes, de différences significatives dans les pourcentages d'ovules avortés. De même la réussite des germinations des graines est bonne dans les trois cas. La sélection des macrospores p_1 doit donc se faire dans la tétrade. La macrospore + la supplante généralement, même dans la disposition favorable à son développement que nous avons évoquée plus haut. Nous pouvons conclure qu'au degré de létalité le plus fort, le facteur de létalité p agit sur le développement du gamétophyte femelle.

C. - <u>REPARTITION DU FACTEUR DE LETALITE D DANS LA POPULATION</u> <u>DE PURPURATA.</u>

Avec les données génétiques que nous venons d'acquérir, nous pouvons estimer la distribution des individus à ségrégation pollinique dans la population de *purpurata*. Les mutations réverses, p_1 en p_2 et p_2 en p_1 , étant approximativement égales, leur effet ne se fera pas sentir dans les lignées +/ p_1 et +/ p_2 .

Nous considérons que les plantes se reproduisent uniquement par autofécondation. C'est le système de reproduction conforme à la biologie florale du type Oenothera.

 q_0 est le nombre d'individus +/p dans la population initiale, q_n le nombre d'individus +/p à la nième génération. f est la fréquence relative des génotypes +/p par génération. Pour +/p₁, f₁ vaut en moyenne 0,03⁴ et, pour +/p₂, f₂ vaut en moyenne 0,237.

A la nième génération, le nombre q_n de génotypes +/p est donné par la relation suivante :

$$= f^n q_o$$

^qn

La variable étant la puissance n, cette fonction est exponentielle et elle tend asymptotiquement vers 0. La différence Δ q d'individus +/p entre deux générations successives est donnée dans la relation suivante :

$$\Delta q = q_{n+1} - q_n = f^{n+1} q_0 - f^n q_0$$

$$\Delta q = q = q_0 (f^{n+1} - f^n).$$

L'état d'équilibre est atteint lorsque $\Lambda q = 0$, cette condition est réalisée lorsque n est grand, car l'expression mise entre parenthèse devient infiniment petite. Le génotype +/p ne s'élimine pas, mais se conserve dans la population à un pourcentage extrêmement bas. L'état d'équilibre est atteint plus rapidement pour le génotype +/p, que pour le génotype +/p₂.

En posant $q_o = 1$, nous avons calculé l'évolution des fréquences relatives du génotype +/p dans la population jusqu'à la 10ème génération.

fréquence relative des génotypes

génération	+/p1	+/p2
1	0,03400	0,2370
2	0,00115	0,0562
3	$3,9 \times 10^{-5}$	0,0133
4	$1,3 \times 10^{-5}$	0,00316
5	$4,5 \times 10^{-8}$	$7,4 \times 10^{-4}$
10	2×10^{-15}	$5,6 \times 10^{-7}$

Remarquons que pour une espèce pérenne, telle que le pommier ou le poirier, le génotype +/p se maintient à une fréquence beaucoup plus élevée.

La conséquence pratique de l'évolution de la population de purpurata est que l'individu +/p, que nous avons isolé dans une culture qui comportait 15 plantes, est probablement issu d'une mutation et non pas de la descendance d'un individu +/p préexistant.

CONCLUSION.

_00_00_00_

Le schéma de transmission du facteur de létalité p est théoriquement simple. Mais chez *purpurata*, il est compliqué par l'action du facteur p sur le gamétophyte femelle.

Pour notre recherche, le caractère génétique le plus important de la plante à létalité factorielle est la ségrégation dans sa descendance de plantes à pollen normal et de plantes ayant 50 % de pollen létal. Une telle descendance s'oppose nettement à celle des Oenothères hétérozygotes où tous les individus présentent la létalité pollinique. Nous devrons donc envisager pour ce groupe un autre mécanisme génétique qui maintient la létalité pollinique uniformément parmi tous les individus de la population.

II. - LE MECANISME GENETIQUE DU MAINTIEN DE LA LETALITE POLLINIQUE DES HETEROZYGOTES DE COMPLEXES.

L'hypothèse de départ est la suivante: puisque la létalité apparaît régulièrement dans la descendance d'un hétérozygote, c'est que le pollen létal est lié à la distribution méiotique par un mécanisme cytologique et génétique. C'est ce mécanisme que nous nous proposons de rechercher; dans ce but nous analyserons successivement les résultats de 2 types d'hybridation :

- Hétérozygote x Hétérozygote

- Hétérozygote x Homozygote

A. - LA METHODE D' ETUDE.

1- Le raisonnement génétique:

L'étude d'une population d'hybrides se fait en deux étapes:

- l'analyse morphologique et caryologique de chacune des plantes permet de déterminer les combinaisons de complexes apparues dans le lot, donc d'identifier les complexes transmis par les gamètes aux générations successives. Il s'agit en outre de déceler toute modification dans la composition factorielle d'un complexe;et, par suite, déterminer les limites de viabilité du gamétophyte par rapport à sa composition factorielle.

- en confrontant les résultats de l'analyse génétique avec l'image pollinique, on peut déduire les conditions génétiques de la létalité.

2- L'analyse pollinique:

L'analyse quantitative se fait suivant les méthodes statistiques utilisées pour l'espèce.

L'analyse qualitative introduit la notion de <u>phénotype d'image pollinique</u>. En effet, à la variabilité des pourcentages s'ajoute la variabilité dans le nombre de classes, il en résulte une multitude d'images que nous rassemblons en quelques types principaux. A l'expérience, les phénotypes suivants ont pu être caractérisés: Planche XXIV: Images polliniques de plantes hybrides.

<u>Figure 1</u>: F_3 [F_2 (blandina x nuda) x blandina] : pollen hétérogène (x 75).

Figure 2:

 F_3 [blandina $x F_2$ (blandina x nuda)] : pollen homogène (x 75).

Figure 3 :

 F_3 [F_2 (blandina x nuda) x F_2 (blandina x nuda)] : pollen hétérogène entourant une zone de grains vides (x 75).

Figure 4 :

 F_1 (coronifera rubrisepala x purpurata) : pollen à 3 classes de grains, dont la classe des inactifs montre **t**ous les degrés d'inhibition dans le développement $(x \ 400)$. PLANCHE XXIV: Images polliniques de plantes hybrides.



BUS

a) Population pollinique homogène (P1. XXIV, 2):

Tous les grains sont normaux et de même taille, la proportion des grains vides est inférieure à 20 %.

b) Population pollinique hétérogène (Pl. XXIV, 1):

Tous les grains sont régulièrement développés et de taille légèrement inégale. Les cylindres aperturaux avec leur anneau basal se détachent bien partout mais des grains ont eu leur croissance ralentie peu avant l'anthèse: une déficience cytoplasmique diminue la tension du sporoderme et le corps du grain diminue légèrement de volume. Dans cette population pollinique le pourcentage de grains vides est inférieur à 20 %.

c) Population pollinique à deux classes de grains:

L'image de ce pollen correspond au pollen hétérogène avec plus de 20 % de grains vides, de sorte que la population est composée globalement de deux types de grains, des normaux et des vides.

d) Population pollinique à trois classes de grains:

Les grains inactifs ont leur morphologie caractéristique, ou bien ils sont proches des grains actifs, ou bien ils sont plus petits, leur contenu cytoplasmique apparaît granuleux à la coloration du carmin. Dans ce pollen la proportion des grains vides est souvent inférieur à 20 %.

e) Population à pollen vide:

Ce phénotype représente le degré de létalité le plus fort. La loge pollinique est occupée par des grains vides agglutinés en un fin cylindre qui se laisse prélever par fragments. Dans les cas extrêmes la microspore est stoppée très tôt dans son développement, de sorte qu'à l'anthèse, la loge pollinique est occupée par un résidu d'enveloppes. Dans toutes les plantes à pollen vide, les anthères sont régulièrement développées.

3- Les descendances d'hybrides:

L'analyse cytogénétique des espèces nouvelles, *nuda* et ersteinensis (cf. 4ème partie annexe), a été réalisée à partir d'une cinquantaine de lots F₁ issus des croisements suivants:

- nuda x espèce type standard et réciproque

- ersteinensis x espèce type standard et réciproque.

C'est dans cette collection d'un millier de plantes que nous faisons nos observations morphologiques, caryologiques et polliniques. Les 2 espèces nouvelles sont des Hétérozygotes de complexes.

<u>Tableau 18</u>: Paramètres statistiques de la population pollinique de l'hybride F₁ ersteinensis x lamarckiana.

1.	, M	oy	enne	s e	tē	car	ts-2	types
----	-----	----	------	-----	----	-----	------	-------

sous- populations	n	actifs	inactifs	vides
1	30	41.10 ± 7.14	°15,80 ± 5,91	°43,10 ± 6,08
2	30	40,30 ± 7,57	19,23 ± 4,88	40,47 ± 8,00
3	30	°41,80 ± 8,39	17,07 ± 4,57	41,13 ± 7,16
4	30	41,30 ± 8,32	21,47 ± 5,73	° 37,23 ± 8,11
5	30	$38,33 \pm 6,14$	20,70 ± 5,07	40,97 ± 5,27
6	30	°34,93 ± 5,24	°22,90 ± 5,19	42,17 ± 5,63
7	30	40,87 ± 6,60	16,10 ± 6,49	43,03 ± 6,26
8	23	37,87 ± 7,99	21,34 ± 4,02	40,78 ± 6,40
Population totale	233	39,61 ± 7,55	19,27 ± 5,90	41,15 ± 6,93

Pourcentages minimum et maximum par classe de grains.

2. Les coefficients de corrélation entre les pourcentages de classes de pollen, prises 2 à 2.

		actifs/vides		actifs/ir	actifs	inactifs/vides		
populations	n	r	P	r	P	r	Р	
1	30	- 0,610	0,000	- 0,580	0,000	- 0,292	N.S.	
2	30	- 0,805	0,000	- 0,231	N.S.	- 0,391	0,025	
3	30	- 0,838	0,000	- 0,521	0,001	- 0,028	N.S.	
4	30	- 0,757	0,000	- 0,380	0,030	- 0,317	N.S.	
5	30	- 0,615	0,000	- 0,573	0,000	- 0,294	N.S.	
6	30	- 0,547	0,001	- 0,416	0,015	- 0,533	0,001	
7	30	- 0,491	0,003	- 0,542	0,001	- 0,466	0,005	
8	23	- 0,867	0,000	- 0,607	0,000	+ 0,130	N.S.	
Population totale	233	- 0,672	0,000	- 0,492	0,000	- 0,314	0,000	

3. Comparaison des sous-populations.

		actifs		inactifs		vides	
Origine de la variation	a.a.1.	s ²	F	s ²	F	s ²	F
inter-population	7	202,1	3,5 ^{xxx}	222,2	7,9 ^{xxx}	102,3	2 ,2[*]
résiduelle	225	52,5		27,9		46,2	
totale	232	57,0		34,7		47,9	

a) test d'homogénéité des moyennes par l'analyse de variance :

* : F significatif au-delà de 0,05

xxx : F significatif au-delà de 0,001.

b) test d'homogénéité des variances des sous-populations pour la classe des grains vides :

χ² = 11,05 d.d.l. : 6 (la 8° sous-population pour la classe des grains vides.)

P = 0,08.

c) normalité de la fonction fréquence des pourcentages :

Classes de	× ²	aal	Ð	Coefficients de PEARSON				
grains	X	u.u.1.	Г	Ъ ₁	Р	Ъ ₂	P	
actifs inactifs vides	35,61 29,87 37,18	33 25 33	0,28 0,22 0,24	0,04 > 0,00 > 0,02 >	0,05 0,05 0,05	2,79 2,74 3,12	> 0,05 > 0,05 > 0,05	
	1					}		

<u>Tableau 19</u>: Pollen des hybrides F₁ d'ersteinensis. Croisements entre espèces hétérozygotes.

Croisements	n	x ±	S inactifs	vides	Type de Tétrade
	A. era	teinensis	х Елрдсе	standard	
anatainanaia x amfanta	00	62 + 0	<u> </u>	26 + 0	Т
erocecnenoco x conjerca	22	1 + 8	22 + 7	30 ± 9 35 ± 7	2 Ind.
anotainanoi o y acmui fana	10	55 + 0	23 ± 1	30 + 0	•
erocecnenoco a coronijeru	20	57 + 16	14 ±)	10 + 16	£ 9
eroteinensio x lomenski me	20	20 + 7	10 + 6	42 ± 10	۰ ۲
erecenenete x cumproxiana	233 16	39 ± 1		41 ± 1	1
ersteinensis x suaveolens ersteinensis x coronifera ^r	20	30 ± 11 52 ± 10	10 ± 4	36 ± 13	Т
					_
	B. Esp	èce standa	vrd x erst	einensis	-
biennis x ersteinensis	20	16 ± 7	20 ± 7	63 ± 12	В
con f erta x ersteinensis	30	70 ± 12		29 ± 12	?
lamarckiana x ersteinensis	35	10 ± 4	10 ± 3	79 ± 6	I
nuda x erste i nensis	19	42 ± 9		58 ± 9	?
coronifera ^r x ersteinensis	31	26 ± 11	18 ± 10	54 ± 16	В
silesiaca x ersteinensis	24	15 ± 5	10 ± 4	73 ± 9	В
			·,		

Abréviations :

Tétrades :

B : biennis

E : ersteinensis

I : intermédiaire ersteinensis - biennis

Ind : indépendance

Coronifera^r : Coronifera rubrisepala

BUS URLE Nuda est hétérogamétique: dans le pollen, le complexe glabrans est fonctionnel; dans l'ovule, c'est le complexe calvens. Ersteinensis est isogamétique du côté mâle: cruens et virens sont fonctionnels dans le pollen, cruens est seul fonctionnel dans l'ovule.

B. - <u>RESULTATS DE CROISEMENTS ENTRE</u> HETEROZYGOTES DE COMPLEXES

L'hybride F_1 , ersteinensis x lamarckiana est analysé d'abord. Ensuite nous donnons une vue d'ensemble des populations polliniques de différentes F_1 .

1- Ersteinensis x Lamarckiana

Les plantes hybrides (cruens-velans) forment une population remarquablement homogène. L'image pollinique est identique dans toutes les anthères d'une fleur et dans les anthères de tous les individus, partout se présente le phénotype à 3 classes de grains. Les données statistiques sont réunies dans le tableau 18 où la population pollinique de l'individu constitue la sous-population; les sous-populations regroupées forment la population totale de l'hybride.*

La variablilité est très élevée et pratiquement la même dans toutes les classes.

De la combinaison des coefficients de corrélation, on déduit l'organisation des tétrades qui est proche du type *ersteinensis*, quand on considère la population totale: une tétrade à ^microspores actives et l'autre à microspores inactives et vides.

2- <u>Vue d'ensemble sur les hybrides F</u>, <u>d'ersteinensis</u>:

Les dénombrements portent sur 3 individus d'un lot F_l à raison d'une anthère par plante. Les données statistiques portées dans le tableau 19, appellent les remarques suivantes:

- la distribution en trois classes n'est généralement pas aussi nette que chez les espèces parentales

Les échantillonnages sont réalisés de la manière suivante: 3 fleurs par plante et dans chaque fleur une anthère. la composition des tétrades sépare les hybrides réciproques

- les hybrides issus du croisement ersteinensis x espèce standard sont théoriquement isogamétiques, le pollen est à 2 ou 3 classes et les tétrades sont proches du type ersteinensis ou présentent une répartition au hasard des microspores.

- les hybrides réciproques à 3 classes de grains, issus du croisement espèce standard x ersteinensis, sont théoriquement hétérogamétiques, sauf lamarckiana x ersteinensis. Leurstétrades;ont de type biennis, sauf la F₁ lamarckiana x ersteinensis.

Nous retrouvons donc, à la méiose de la F₁ d'espèces hétérozygotes, la liaison entre l'activité des complexes et l'organisation des tétrades, telle qu'elle est définie chez l'espèce.

3- Descendance des hybrides de lère génération

Des hybrides F_1 issus de nuda et d'ersteinensis sont autofécondés. Chaque lot de F_2 comportant 50 à 60 plantes est issu de l'autofécondation d'une plante F_1 . Les hybrides utilisés sont les suivants:

-Hybrides d'Oenothera nuda :

nuda x biennis sulfurea (= calvens - s-rubens) nuda x chicaginensis (= calvens - punctulans) nuda x hungarica (= calvens - undans) nuda x lamarckiana (= calvens - velans) nuda x rubricaulis (= calvens - rubens) nuda x rubricuspis (= calvens - praecurvans) nuda x silesiaca (= calvens - subcurvans) biennis x nuda (- albicans - glabrans) chicaginensis x nuda (= excellens - glabrans)

-Hybrides d'Oenothera ersteinensis :

ersteinensis x coronifera (= cruens - paravelans) ersteinensis x lamarckiana (= cruens - velans) ersteinensis x suaveolens (= cruens - flavens) chicaginensis x ersteinensis (= excellens - virens) lamarckiana x ersteinensis (= velans - virens) hungarica x ersteinensis (= laxans - virens) rubricaulis x ersteinensis (= tingens - virens) syrticola x ersteinensis (= rigens - virens). 152

Tous les descendants F_2 , cités ci-dessus, conservent la morphologie des hybrides F_1 . Tous les lots sont homogènes, toutes les plantes se ressemblent. Pour les hybrides lamarckiana x ersteinensis et rubricaulis x ersteinensis, la descendance de 2 plantes F_1 est observée. Chaque lot est homogène et les 2 lots issus de la même F_1 sont identiques.

Quelques prélèvements faits au hasard ont montré une image pollinique à 3 classes ou 2 classes de grains, comme dans les populations de F₁.

A titre d'exemple sont donnés ci-dessous les paramètres d'une population pollinique prélevée en F_2 dans la descendance du croisement

- ersteinensis x coronifera :

•	grains	actifs	:	49,13 ± 5,49	
•	grains	inactifs	:	23,97 ± 5,23	
•	grains	vides	:	26,93 ± 5,89	

(pour 30 échantillons de 100 grains):

Les corrélations par couple de classes s'établissent ainsi :

A / V : - 0,585 A / IA : - 0,521 IA / V : - 0,388.

Les 2 premières valeurs de r sont significatives au-delà de 1/1.000 et la dernière à 3 %. On déduit que la répartition des 3 types de microspores se fait au hasard. En comparaison avec la F_1 de type ersteinensis, cette F_2 perd l'organisation en 2 tétrades à microspores actives et en tétrades à microspores vides.

CONCLUSION

L'analyse morphologique montre classiquement que la F₂ correspond à la même combinaison des complexes que la F₁ : elle est hétérozygote et les combinaisons homozygotes sont éliminées de la descendance. Nous retrouvons donc dans la descendance d'un hybride d'Hétérozygotes le même mécanisme de fertilisation que dans la lignée pure de l'espèce hétérozygote. La létalité pollinique apparaît dans tous les individus du croisement et dans toutes les générations. Elle est donc liée à l'état hétérozygote de la plante.

L'organisation des tétrades conserve les caractères de l'espèce, mais elle tend à s'effacer par une répartition au hasard des microspores.

Crojsements			x ±s		Type de tétrades ^X
croisements	n	ac tifs	inactifs	vides	Type de tetrades
	T	a huhmid	on dlamat	- crim crandi a	
A	. <u>Le</u>	s nybrid	es a erec	ernensis	
ersteinensis x hookeri	30	28 ± 6	28 ± 4	44 ± 5	Ersteinensis
ersteinensis x blandina	32	37 ± 6	25 ± 5	38 ± 5	proche d'ersteinensis
hookeri x ersteinensis	32	31 ± 7	20 ± 5	49 ± 6	proche d' <i>ersteinensis</i>
blandina x ersteinensis	32	44 ± 5	25 ± 5	31 ± 5	Indépendance
В					
nuda x hookeri	32	30 ± 3	32 ± 4	38 ± 5	Conferta
nuda x blandina	32	31 ± 4	33 ± 4	36 ± 5	Biennis
hookeri x nuda	32	37 ± 5	23 ± 4	40 ± 6	Biennis
blandina x nuda	37	37 ±10	41 ±10	22 ± 7	proche d'Ersteinensis

* Les résultats des coefficients de corrélation sont portés en annexe, tableau 33, 2, p-172 suite



C.-DESCENDANCE DE CROISEMENTS:

HETEROZYGOTES x HOMOZYGOTES

L'analyse de cette descendance est plus compliquée que celle de la lignée issue de parents hétérozygotes. Aussi allons-nous donner d'abord une vue d'ensemble sur les hybrides F_1 et F_2 pour centrer ensuite notre attention sur la descendance du croisement *blandina* x nuda.

1- <u>Vue d'ensemble</u>: <u>Hybrides de première génération</u>

Les 8 lots d'hybrides F_l sont analysés. Ils sont issus de croisements entre *ersteinensis* et *nuda* d'une part, *hookeri* et *blandina* d'autre part.

Toutes les plantes d'un lot F_l sont rigoureusement semblables entre elles; il n'y a donc pour un lot donné qu'une seule combinaison de complexes.

D'une plante à l'autre, à l'intérieur d'un lot, les images polliniques sont semblables et généralement elles sont à 3 classes de grains. Les caractéristiques numériques sont portées dans le tableau 20. (Elles sont calculées à partir d'un échantillonnage de 3 plantes par lot F_1 à raison d'une anthère par plante). La normalité de la fonction fréquence est respectée dans la majorité des lots (tableau 32).

Le pourcentage des grains vides reste inférieur à 50 %. On voit que la combinaison d'un complexe de plante homozygote et d'un complexe de plante hétérozygote induit une létalité plus faible que la combinaison de 2 complexes provenant de plantes hétérozygotes.

Les types de tétrades mis en évidence par les coefficients de corrélation sont les suivants:

. chez les hybrides d'ersteinensis, nous rencontrons surtout le type ersteinensis

. chez les hybrides de *nuda* apparaît soit le type *biennis*, soit le type *conferta*. Enfin la F₁ *blandina* x *nuda* présente une organisation nouvelle de tétrades qui est proche de celle d'*ersteinensis*, en considérant qu'à la suite de l'atténuation de la létalité, la tétrade des microspores vides est remplacée par celle des inactives.

Ces résultats montrent que le complexe est caractérisé par sa provenance de plante hétérogamétique, de plante isogamétique ou de plante homozygote. Les faits se résument de la manière suivante: <u>Tableau 21</u> : Pollen des hybrides F₂ issus par autofécondation des hybrides F₁[homozygote x hétérozygote] et réciproques.

	Hybride F, autofécondé	Images polliniques des		
		Plante 1	Plante 2	Plante 3
A.	<u>Hybrides de nuda</u> :			
	(nuda x hookeri)	hétérogène	hétérogène	3 classes
	(hookeri x nuda)	hétérogène	hétérogène	3 classes
	(nuda x blandina)	2 člasses	hétérogène	3 classes
	(blandina x nuda)	cf. t	ableau 27, p. 16	34
	(nuda x purpurata)	hétérogène	hétérogène	3 classes
	(purpurata x nuda)	2 classes	2 classes	3 classes
в.	Hybrides_d'ersteinensis :			
	(ersteinensis x blandina)	h é térogène	3 classes	hétérogène
	(blandina x ersteinensis)	hétérogène	hétérogène	hétérogène
	(ersteinensis x franciscana)	hétérogène	hétérogène	hétérogène
	(franciscana x ersteinensis)	hétérogène	hétérogène	hétérogène
	(er steinensis x purpurata)	hétérogène	2 classes	hétérogène
	(purpurata x ersteinensis)	-		
	h purpurata 🕈 virens	hétérogène	hétérogène	hétérogène
	^h purpurata – cruens	hétérogène	hétérogène	hétérogène
	(BUS)		L	

<u>Tableau 22</u>: Pollen des hybrides F_2 issus du croisement homozygote x F_1

A Hybrides de nuda						
Phénotype de		Image		x±s (n≠	Type de X	
Croisements	l'hybride	pollinique	7 normaux	% régressés	% vides	tétrades
avec hookeri :						
(nuda x hookeri) x hookeri	Type F ₁	3 classes	54,2 ± 7,2	30,1 ± 8,9	15,9 ± 11,1	conferta
hookeri x (nuda x hookeri)	hookeri	3 classes	48,2 ± 6,5	27,2 ± 6,2	24,6 ± 9,4	biennis
(hookeri [,] x nuda) x hookeri	Type F ₁	hétérogène	63,6 ± 5,6	32,3 ± 5,5	4,1 ± 2,0	proche d'ersteinensis
hookeri x (hookeri x nuda)	Type F ₁	hétérogène	69,7 ± 5,2	24,5 ± 4,5	5,9 ± 2,7	proche d' <i>ersteinensis</i>
<u>avec blandina</u> :						
(nuda x blandina) x blandina	blandina	homogène à hétérogène	87,7 ± 8,1	_	12,3 ± 8,1	. ?
blandina x (nuda x blandina)	blandina	hétérogène	62,4 ± 7,6	23,8 ± 7,6	13,8 ± 10,2	biennis
		homogène à hétérogène	89,5 ± 5,8	5,7 ± 5,3	4,7 ± 3,8	?
(blandina x nuda) x blandina	Type F ₁	homogène à hétérogène	90,2 ± 5,1	_	9,8 ± 5,1	?
blandina x (blandina x nuda)	Type F ₁	3 classes	64,6 ± 9,3	27,8 ± 7,5	7,6±5,6	proche d'ersteinensis

x Les valeurs des coefficients de corrélation figurent dans le tableau 33, 3 p. 192 mile

<u>Tableau 22 (suite)</u> : B. - Hybrides d'ersteinensis.

Croisements	phénotype	Image pollinique de l'hybride.
<u>avec hookeri</u> : (ersteinensis x hookeri) x hookeri bookeri x (ersteinensis x hookeri hookeri x (hookeri x ersteinensis) avec blondina :	hookeri hookeri hookeri	hétérogène, ou 2 classes, ou 3 classes hétérogène, ou 2 classes hétérogène, ou 2 classes hétérogène, ou 2 classes, ou 3 classes
(ersteinensis x blandina) x blandina blandina x (ersteinensis x blandina) (blandina x ersteinensis)x blandina blandina x (blandina x ersteinensis)	blandina blandina blandina blandina blandina	homogène, ou hétérogène hétérogène hétérogène homogène, ou hétérogène, ou 2 classes
<u>evec fronciscona</u> : (ersteinensis x fronciscona) x fronciscona fronciscona x (ersteinensis x fronciscona) (fronciscona x ersteinensis) x fronciscona fronciscona x (fronciscona x ersteinensis)	franciscana franciscana franciscana franciscana	hétérogène, ou 3 classes hétérogène, ou 2 classes hétérogène hétérogène, ou 3 classes
<u>evec purpurata</u> : (ersteinensis x purpurata) x purpurata purpurata x (ersteinensis x purpurata) (purpurata x ersteinensis)type R x purpurata purpurata x(purpurata x ersteinensis) type R	type F purpurata purpurata purpurata	homogène à hétérogène hétérogène à 2 classes hétérogène hétérogène

BUS

hétérozygote x homozygote isogamétique hétérozygote hétérozygote x homozygote hétérogamétique hétérozygote isogamétique ou hétérogamétique.

Le complexe de plante homozygote apporte dans la F₁ la composition de tétrade de plante isogamétique. Dans tous les cas, l'image pollinique est déterminée par les 2 complexes en présence, à la méiose de la plante F₁.

2ème génération:

Les lots issus d'autofécondation de la F_1 ersteinensis x nuda, ne sont pas homogènes; ils comportent en mélange: le phénotype parental de la plante F_1 qu' prédomine, il s'y ajoute des plantes à phénotype de plante homozygote. On comprend l'apparition de combinaisons homozygotes, mais l'analyse morphologique ne suffit pas pour définir la combinaison des complexes.

En outre, l'image pollinique n'est pas constante à l'intérieur d'un lot F_2 (tableau 21) et cette variation ne se superpose pas à la ségrégation mor-phologique.

Les lots issus de recroisements avec le parent homozygote (tableau 22) ont principalement la morphologie du parent homozygote. L'analyse caryologique du lot (blandina x nuda) x blandina démontre que ces hybrides sont des homozygotes de structure du génome de la plante homozygote.

L'image pollinique n'est pas constante à l'intérieur d'un lot, mais le phénotype prédominant est le pollen hétérogène. Dans aucune anthère nous n'avons relevé de pollen uniquement formé de grains vides. Les grains pleins normaux sont largement prédominants. Les écarts-types restent très élevés comme dans toutes les distributions de plantes hybrides. La normalité de la distribution des fréquences n'est pas toujours respectée (résultats en annexe, tableau 32).

En définitive, le caractère remarquable de cette série d'hybrides est l'atténuation de la létalité. On est conduit à établir une relation avec l'homozygotie des descendants.

Une nouvelle hypothèse de travail est ainsi posée: rechercher comment l'état hétérozygote peut induire la létalité et comment l'état homozygote favorise une retour au pollen normal. Avec cette idée-guide nous aborderons l'étude de la descendance de l'hybride (blandina x nuda). 2- descendance de l'hybride : Oe. blandina x Oe. nuda

Nous avons choisi cet hybride parce que la population de F_2 a été reproduite trois années consécutives, elle était chaque fois très hétérogène.

La descendance de l'hybride est suivie en lignée directe par autofécondation et en lignée latérale par recroisement avec le parent homozygote, *blandina*.

La lère génération (F_1) :

La population F_1 (blandina x nuda) est homogène : toutes les plantes se ressemblent, elles appartiennent au même type morphologique. Cela signifie que les gamètes de <u>blandina</u> sont génétiquement identiques, de même que les gamètes actifs de <u>nuda</u> transmettent le complexe identique dans sa composition factorielle.

La combinaison des complexes ^hblandina - glabrans, est caractérisée en diacinèse par un anneau de 8 chromosomes et 3 bivalents.

La population pollinique est partagée en 3 classes de grains nettement distincts, dont les proportions sont les suivantes : pour 37 prélèvements de 100 grains

grains	actifs	:	36,78	±	9,98
grains	inactifs	:	41,11	±	9,73
grains	vides	:	22,22	±	7,06.

La 2ème génération (F_2) issue par autofécondation de la F_1 :

Une plante F_1 autofécondée a donné, durant la saison 1968, une descendance de 59 plantes F_2 que nous avons analysée, individu par individu, sur les plans morphologique, caryologique et pollinique. <u>Planche XXV</u>: Lignée structurale du croisement blandina x nuda (x 1000, sauf fig. **\$** : x 800).

PARENTS .

blandina

nuda

Figure 1 : 7 bivalents

Figure 2 : anneau de 14.

F₁

blandina x nuda complexe : ^hblandina / glabrans

Figure 3 : anneau de 8 et 3 bivalents.

F₂ (blandina x nuda)

F₂ homozygote de structure ^hblandina / ^hblandina F₂ hétérozygote de structure ^hblandina / glabrans

Figure 5 : anneau de 8 et 3 bivalents.

Figure 4 : 7 bivalents

PLANCHE XXV: Lignée structurale de

blandina x nuda











a) Analyse morphologique :

Dans la description des hybrides nous retenons les caractères morphologiques suivants : la pilosité de la tige, la forme de la feuille, la coloration de sa nervure, la forme et la striation du bouton floral. Par l'un ou l'autre de ces caractères, chaque plante est singulière. Mais par le port général de la plante, nous pouvons distinguer

deux phénotypes : le phénotype F_1 et le phénotype *blandina*, qui apparaissent également en F_3 et dans les recroisements ultérieurs.

<u>Le phénotype F_1 </u>: ces plantes ont les caractères de la F_1 , certaines même se confondent avec *nuda* par la glabrescence de la tige, la feuille étroite, denticulée, à nervure rouge, le bouton floral glabre et en forme de tonnelet. Ce phénotype concerne 25 plantes

<u>Le phénotype blandina</u> : les 29 autres plantes ont les caractères de blandina par la tige très velue et ponctuée, la feuille vertfoncé, orbiculaire, à nervure blanche, le bouton floral trapu, strié.

Dans les deux phénotypes, la variabilité porte sur les caractères suivants : l'importance de la ponctuation et de la pubescence de la tige, la morphologie de la feuille et du bouton floral, l'importance de la striation des sépales, la taille de la corolle et du style, l'ampect de l'inflorescence.

> b) Analyse caryologique (Planche XXV) : Par leur figure de diacinèse, les plantes F₂

se partagent en deux groupes :

- 13 plantes montrent un anneau de 8 chromosomes et 3 bivalents (8, 2, 2, 2) figure identique à la diacinèse de l'hybride F_1 ;

- 46 plantes montrent 7 bivalents, figure identique à celle du parent homozvgote initial. *blandina*.

La répartition des figures de diacinèse ne se superpose pas à la ségrégation des deux phénotypes comme le montre le tableau 23

Phénotype	Proportio	on de plantes	Total par
	à dia	cinèse :	phénotype
	7 x 2	8, 2, 2, 2.	
Blandina	33	1	34
	(56 %)	(2 ≸)	(58 %)
F ₁	13	12	25
	(22 %)	(20 %)	(42 %)
Total par figure de diacinèse	46 (78 %)	13 (22 %)	59 Total des plantes F ₂ analysées.

<u>Tableau 23</u> : Analyse morphologique et cytologique de la F₂ issue de l'hybride blandina x nuda autofécondé.


c) Interprétation génétique

 α - <u>Détermination du génotype</u> : Il est simple de définir la combinaison des complexes de la plante à anneau de 8 chromosomes et 3 bivalents ; elle correspond, comme la F₁, au génotype ^hblandina/ glabrans. Par contre il est plus difficile de définir le génotype des plantes à 7 bivalents. Il est probable que la plante à phénotype blandina est l'homozygote du génotype blandina. Mais il est plus douteux que la plante à phénotype F₁ et à 7 bivalents puisse être l'homozygote glabrans/glabrans qui normalement n'apparaît pas dans l'espèce.

Une première indication de réponse se trouve dans le phénotype F_1 . Tottes les plantes de phénotype F_1 sont ponctuées sur la tige et striées de raies d'anthocyane sur les sépales. Ces deux caractères sont transmis par le complexe hilandina. Si le phénotype F_1 était de constitution glabrans/glabrans, des plantes non striées et non ponctuées devraient apparaître. En outre

- les plantes hybrides de la génération F_1 recroisées avec blandina donnent une descendance composée uniquement d'homozygotes de structure h blandina/ h blandina et pourtant leur phénotype est celui de la F_1 .

- les plantes hybrides F_2 à 7 bivalents de phénotype F_1 ou de phénotype blandina recroisées avec blandina donnent une descendance de phénotype blandina ou de phénotype F_1 .

Les deux arguments superposés, variété de phénotype pour une même structure chromosomique, et descendance analogue à partir de deux phénotypes différents, démontrent que l'hybride F_2 à 7 bivalents, qu'il soit de phénotype blandina ou de phénotype F_1 , est l'homozygote de structure chromosomique ^hblandina/^hblandina.

Sur le plan structural, la descendance de l'hybride F_1 blandina x nuda (^hblandina/glabrans) est donc composée de deux types d'hybrides : l'homozygote de structure ^hblandina/^hblandina, et l'hétérozygote de structure ^hblandina/glabrans. Si nous admettons que les complexes glabrans et ^hblandina sont actifs du côté mâle, et le complexe ^hblandina du côté femelle dans les gamètes de la F_1 , la descendance issue d'autofécondation devrait être composée par moitié d'hybrides homozygotes et d'hybrides hétérozygotes. Or les pourcentages expérimentaux sont 78 % / 22 %, résultat qui est en dehors de l'intervalle de confiance au risque de 1 %, si nous nous plaçons dans l'hypothèse d'une ségrégation 1/1 (cf. tableau 24). Les phénotypes homozygotes sont donc significativement plus abondants, ce qui veut dire que les gamètes qui transmettent le génome blandina sont favorisés par rapport aux gamètes glabrans.

Combinaison des	h _{blandina_}	glabrans
complexes	^h blandina	^h blandina
Figure de diacinèse	7 x 2	8, 2, 2, 2.
Pourcentage théorique	50 %	50 %
Pourcentage experimental	78 8	22 %
Intervalle de confiance au risque de 1 %	32 - 68 %	32 - 68 %.

<u>Tableau 24</u>: Proportions théoriques et expérimentales des hybrides structuraux de la F₂[blandina x nuda.]

β - La composition factorielle des complexes

 $\frac{h_{blandina}}{h_{2}}$ est que la ségrégation des hybrides structuraux ne suit pas la ségrégation factorielle : des phénotypes différents peuvent revêtir une même structure chromosomique. La combinaison glabrans/ $\frac{h_{blandina}}{h_{blandina}}$ s'exprime principalement sous le phénotype F₁, mais une plante sur 13 est de phénotype blandina ; l'homozygote $\frac{h_{blandina}}{h_{blandina}}$ revêt aussi bien le phénotype blandina que le phénotype F₁. Un tel résultat accentue la variabilité morphologique de la F₂, car à l'intérieur d'un même phénotype les individus sont déjà diversifiés. Dans la F₁ par contre nous n'avons jamais rencontré de phénotypes différents pour une même combinaison de complexes.

Nous en déduisons que la liaison étroite entre les facteurs d'un complexe au niveau de l'espèce est partiellement levée dans la plante hybride F_1 . Durant la méiose de cette plante, les complexes glabrans et ^hblandina en se séparant conservent leur structure chromosomique, mais leur composition factorielle est modifiée par des échanges ; le complexe blandina incorpore des facteurs du complexe glabrans et réciproquement.

Ces échanges peuvent s'opérer de deux manières : comme la figure de diacinèse de l'hybride F_1 comporte 3 bivalents, ces bivalents peuvent s'interpoler en métaphase, de sorte que 1, 2 ou 3 chromosomes de *glabrans* s'incorporent dans le complexe *blandina*. Mais les échanges peuvent également se réaliser entre les bras de chromosomes homologues des bivalents et de l'anneau de caténation par les chiasma. Nous analysons successivement ces deux possibilités.

1. Echanges par interpolation de bivalents :

Un des 3 bivalents est composé des bras de chromosomes homologues 1.2. Sur ce chromosome sont situés les allèles R/r qui déterminent la coloration de la nervure foliaire (cf. RENNER, 1942). La ségrégation de ces allèles permet de tester l'interpolation du chromosome 1.2 à la méiose.

Les plantes à nervure rouge sont de génotype R/r Les plantes à nervure blanche sont de génotype r/r. (il est connu, que l'homozygote R/R n'apparaît pas, cf. RENNER, 1933).

glabrans transmet R . Par interpolation nous pouvons obtenir des gamètes blandina-R et glabrans-r; donc des plantes F_2 : ^hblandina-R/^hblandina-r, et glabrans-r/^hblandina-R.

La répartition des plantes selon la coloration des nervures, dans les différents types d'hybrides, se fait de la manière suivante (cf. tableau 25) :

<u>Tableau 25</u> : Ségrégation de la coloration de la nervure dans la F_2 (blandina x nuda) autofécondée.

Phénotype et diacinèse	Nombre de plantes	Nervure de la feuille		Combinaison des complexes				
		R	r					
F ₁ 8, 2, 2, 2	12	12	-	<u>_glabrans-R</u> ^h blandina-r				
F ₁ 7 bivalents	13	11	2	$\frac{h_{blandina-r}}{h_{blandina-r}} et \qquad \frac{h_{blandina-R}}{h_{blandina-r}}$				
<i>Blandina</i> 7 bivalents	33	9	24					
Blandina 8, 2, 2, 2.	1	1	-	<u>_glabrans-R</u> ^h blandina-r				

toutes les plantes de phénotype F, à

anneau de caténation ont une nervure rouge [R]. Les plantes à 7 bivalents ségrègent à l'intérieur de chaque phénotype : au total 20 plantes R et 26 plantes r. Avec l'hypothèse de ségrégation 1/1, le χ_t^2 est 0,8, auquel correspond la probabilité 0,40 (d.d.l. = 1). La ségrégation 1/1 est statistiquement vérifiée.

Si les plantes à 7 bivalents se départagent par moitié à nervure rouge et par moitié à nervure blanche, c'est que l'interpolation du bivalent 1.2 par rapport à l'anneau de 8 chromosomes se fait au hasard.

Cette analyse des échanges des allèles R, r entre les complexes *glabrans* et *blandina* nous amène à une constatation très intéressante : comme *blandina - R* se réalise, nous devons aussi observer *glabrans - r*.

En effet, parmi les plantes de phénotype F_1 à anneau de caténation, on attend théoriquement des plantes (r) de génotype glabrans-r/^hblandina-r. Suivant le schéma de fécondation ci-dessous, la proportion est de 2 [R]/1 [r].

Pollen	1	
Ovule	glabrans-R	glabrans-r
^h blandina-R	(R/R, létal)	R/r
^h blandina-r	R/r	r/r

Pour 12 plantes, est admis statistique-

ment qu'une ségrégation 2/1 dans une population de 12 plantes comprenne au moins 1 plante [r].

Or, aucune des populations réalisées n'a montré en ségrégation le phénotype nervure blanche parmi les hétérozygotes de structure

On doit en conclure que la microspore qui transmet glabrans-r est létale. Nous avons ici la démonstration que parmi les grains vides ou les grains inactifs de la F₁, certains portent le complexe glabrans-r.

2. Echanges par chiasma entre bras de chromosomes homologues :

En plus de l'interpolation des bivalents, les échanges au niveau des chiasmas entre bras de chromosomes homologues déterminent des recombinaisons entre complexes. Les combinaisons nouvelles de certains caractères s'expliquent par ce mécanisme.

Le caractère taille de la corolle Co/co

est connu chez la majorité des hybrides comme indépendant d'un complexe (cf. RENNER, 1942). Il en est de même pour le <u>caractère longueur</u> du style Br/br . Aussi bien parmi les plantes de phénotype *blandina* que parmi les plantes de phénotype F₁, les fleurs présentent une grande ou une petite corolle ; elles sont soit longistyles, soit brévistyles. Comme les 2 couples d'allèles sont indépendants entre eux des fleurs anormales apparaissent : une fleur à corolle très grande avec des stigmates qui atteignent à peine l'ouverture de l'hypanthium : ou bien des corolles petites, dépassées par un long style.

La forme de la feuille et celle du bouton floral sont des caractères où la variabilité morphologique est très visible D'après RENNER ils sont déterminés par les allèles Sp, sp; en principe,l'hybride F_1 analysé est homozygote Sp/Sp. Pourtant nous décrivons les phénotypes suivants : feuille lancéolée (glabrans), orbiculaire (blandina), plus ou moins dentée, bouton floral trapu (glabrans) ou élancé (blandina), à pointes longues (blandina), moyennes et courtes (glabrans). Toutes les combinaisons entre ces phénotypes apparaissent. Il est probable que plusieurs allèles sont en jeu.

Nous avons enfin des caractères que les auteurs n'ont pas rapportés à un facteur déterminé :

. la pubescence de la tige, qui apparaît sous plusieurs phénotypes : tige densément pubescente avec poils courts et blancs (*blandina*), moyennement pubescente à poils longs ou tige presque glabre (*glabrans*);

. la morphologie de l'inflorescence : boutons floraux jeunes tassés en corymbe (glabrans) ou étalés en une grappe lâche (blandina);

. l'aspect général de la plante : verte ou glauque (glabrans) et grisâtre (blandina).

Ces caractères se combinent entre eux et composent tous les phénotypes intermédiaires entre le phénotype blandina et le phénotype F_1 . Une vue d'ensemble de la plante permet de doser les caractères des deux phénotypes et de la classer.

162

<u>Planche XXVI</u>: Les images polliniques dans la lignée : blandina x nuda (x 100).

PARENTS



anthère 1	anthère 3	anthère 4
2 classes	3 classes	homogène.
(Figure 4)	(Figure 5)	(Figure 6).

Planche XXVI: Les images polliniques dans la lignée blandina x nuda

blandina

nuda

Fred



E



Ę



Schématisons les faits.

Suivant l'importance des échanges, se forment les complexes ^hblandina et les complexes glabrans plus ou moins modifiés. Par la combinaison au hasard des différents génomes haploïdes, la fécondation donne les résultats suivants:

- Homozygotes de structure:

a- Deux complexes ^hblandina standard, de phénotype blandina
b- Un complexe ^hblandina standard et un complexe ^hblandina modifié, de phénotype intermédiaire entre F₁ et blandina
c- Deux complexes ^hblandina modifiés, de phénotype F₁

- Hétérozygotes de structure:

Composés des complexes glabrans standard et modifié, blandina standard et modifié; ils sont de phénotype F_1 .

Dans cette énumération de génotypes, nous n'avons pas fait intervenir les complexes fortement modifiés. La F_1 et l'espèce possèdent la même image pollinique à 3 classes de grains. Mais du croisement entre espèces est issue une population F_1 <u>homogène</u>, et de l'autofécondation de la F_1 une population F_2 très <u>hétérogène</u>. Nous avons vu que la F_2 est très hétérogène parce que les complexes se recombinent en F_1 et que ces complexes recombinés sont viables. Ces faits conduisent à proposer l'hypothèse suivante:

dans l'espèce, les complexes doivent également se recombiner, mais les limites de viabilité du gamétophyte sont plus strictes qu'en F_1 : tous les gamètes recombinés sont éliminés dans les grains létaux; alors que, dans le gamétophyte de la F_1 seuls les gamètes hautement recombinés donnent du pollen létal. Suivant cette hypothèse, la létalité pollinique a comme effet de supprimer l'importance des disjonctions et recombinaisons dans la gamètogenèse et les gamètes 0⁷

Nous nous proposons de tester la valeur de cette hypothèse, en commentant l'image pollinique des plantes F_2 .

d) Les images polliniques (Planche XXVI):

La F₂ est caractérisée par une grande diversité d'images polliniques. On y rencontre des plantes à pollen homogène, à pollen hétérogène, à 3 classes de grains et des plantes à pollen entièrementvide.

(BUS UNLE Tableau 27 : Répartition des divers types d'images polliniques dans la 2ème génération

issue de blandina x nuda.

Total		12 20 Z	13 22 Z	33 56 %	1 2 %	Total des plantes analysées : 59
analysées	grains vides	0	4	6	O	13 22 %
lez 59 plantes	3 classes	4	4	ω	-	17 29 %
polliniques ch	2 classes	-	0	_	0	7 - 7
tion des images	hétérogène	ع	4	14	0	24 40 %
Réparti	homogène	2	-		0	7 %
	Image :	Type F ₁ 8, 2, 2, 2.	ese Type F ₁ 7 bivalents	d e Type blandina 7 bivalents	en Reference Pressor Reference Refer	Total

a - Test d'homogénéité de l'image pollinique :

Il s'agit de savoir si n'importe quel échantillon de pollen traduit l'image pollinique de l'individu ou s'il existe une variabilité dans sa population pollinique. Cette vérification s'est faite en prélevant un échantillon de pollen à 3 niveaux de l'anthère dans les 8 anthères d'une fleur. Ce test a porté sur une plante à pollen hétérogène et sur une plante à 3 classes de grains.

- <u>Test d'homogénéité de la population pollinique à</u> <u>pollen hétérogène (tableau 26)</u>. Sur les 24 prélèvements, 21 sont du type hétérogène (le pourcentage de grains vides est inférieur à 20 %). Les 3 autres prélèvements ont donné du pollen à 2 classes. Donc en moyenne on peut conclure à un pollen hétérogène.

> <u>Tableau 26</u>: Pollen hétérogène : test d'homogénéité de la population pollinique dans la F_2 issue d'autofécondation de blandina x nuda.

Niveau de la loge pollinique			Pourcenta	ge de gr	ains vid	les dans l	21	
	anthère 1	2	3	4	5	6	7	8
artie supérieure	17	<u>63</u>	3	<u>43</u>	4	12	5.	7
Partie moyenne	7	8	10	14	10	10	6	4
Partie inférieure	4	3	56	4	10	9	7	8

N.B. Les pourcentages de grains vides soulignés correspondent à une population pollinique à 2 classes de grains. Les autres pourcentages caractérisent une population pollinique hétérogène.

- Test d'homogénéité de la population pollinique à 3

<u>classes de grains (tableau 28)</u>. Nous avons étendu la prospection aux 8 anthères de 2 fleurs d'une plante pour chaque phénotype. Dans deux fleurs, une de chaque phénotype, nous avons rencontré des anthères à grains vides. Dans l'ensemble les observations permettent de conclure à une image pollinique à 3 classes de grains.

De ces tests nous déduisons que pour déterminer l'image pollinique d'une plante, il faut au minimum prospecter 3 anthères d'une fleur. D'une manière générale les images polliniques hétérogènes, à 2 classes et à 3 classes, sont constantes dans une plante. Par contre le pollen homogène et le pollen vide caractérisent localement des territoires d'anthères, et plus rarement toutes les fleurs d'une plante.

<u>Tableau 28</u>: Pourcentages moyens et écarts-types des trois classes de grains dans la population pollinique de la F₂ issue d'autofécondation de blandina x nuda.

Origine population	e de la pollinique	n	Actifs	Inactifs	Vides
Type F					
8, 2, 2, 2.					
F	Leur 1	39	4 9, 6 ± 6,4	14,6 ± 4,5	35,7 ± 7,1
Plante				(2 anthères à	grains vides)
F	leur 2	45	44,9 ± 7,9	15,6 ± 6,3	39,5 ± 6,4
Individus		43	58,8 ± 10,6	25,5 ± 7,9	17,1 ± 6,1
Total		127	51,0 ± 10,3	18,7 ± 8,8	30,8 ± 11,9
Type F					
7_bivalents					
[m	o).).	700+86		99490
Plente		44	10,0 ± 0,0	$21,0 \pm 0,9$	$0,0 \pm 0,9$
I LALICE)12	667+68	(1 anthere a)	72 + 27
Tudi vi due	leur z	45 27	585 ± 161	$27,9 \pm 10.0$	$1,5 \pm 5,1$
Total		د ا 11}	$50, 5 \pm 10, 1$	$20,2 \pm 10,9$	$(2, 9 \pm 10, 9)$
IUUAI		1 14	00,0 ± 11,4	24,7 1 9,0	9,4 - 1,0
Type blanding	2				
7 bivalents					
FI	Leur 1	47	74.2 ± 8.3	21.4 ± 7.6	4.4 ± 2.8
Fiante	leur 2	26	56,3 ± 13,0	$23,3 \pm 9,4$	$20,4 \pm 15,3$
L				(3 anthères à	grains vides)
Individus		106	57,7 ± 17,1	27,1 ± 10,9	17,1 ± 17,8
Total		179	60 ,7 ± 16,8	25,1 ± 10,2	14,3 ± 16,1
Type blonding					
8, 2, 2, 2, 2					
Planta [F]	leur 1	47	58,7 ± 4,5	30,2 ± 4,0	11,1 ± 3,8
Fiance	leur 2	49	50,6 ± 6,4	41,4 ± 6,3	8,3 ± 2,9
Total		96	54,5 ± 7,0	35,9 ± 7,7	9,7 ± 3,7

<u>Tableau 29</u> : Corrélations dans les couples de classes des populations polliniques à distribution normale de la F₂ issue d'autofécondation de blandina x nuda

	<u> </u>			•	
Origine de la		r des c	couples de	classes	
population pollinique	n	A/V	A/IA	IA/V	Types de tétrades
<u>Type F</u> 1-					
8, 2, 2, 2					
Fleur 1	39	- 0,783	- 0,175	- 0,475	ersteinensis
Fleur 2	45	- <u>0,630</u>	- 0,608	- 0,234	pròche d'ersteinensis
total fleurs	84	- 0,714	- 0,465	- 0,288	ersteinensis
Individus	43	- 0,609	- <u>0,797</u>	+ 0,006	proche d'ersteinensis
		· ·			
Type F ₁					
<u>7_bivalents</u>					
Individus	27	- <u>0,738</u>	- 0,762	+ 0,126	proche d'ersteinensis
	l				
Type blandina					
<u>7_bivalents</u>					
Plante Fleur 1	47	- <u>0,412</u>	- <u>0,944</u>	+ 0,088	proche d'ersteinensis
m. 17 7					
Type Dlandina			-		
8,2,2,2	ł				
Plante Fleur 2	49	- 0,262	- <u>0,897</u>	- 0,191	proche d'ersteinensis

N.B. Les coefficients soulignés sont significatifs au-delà de 1/100. Les coefficients non soulignés sont non significatifs.

β - La répartition des phénotypes d'images

<u>polliniques (tableau 27)</u> : Dans chaque type d'hybride on peut trouver des individus soit à pollen homogène, soit à pollen hétérogène, soit à 3 classes de grains. La plante à pollen vide n'apparaît que parmi les types à 7 bivalents. Le test du χ^2 , non significatif (χ^2 total = 12,86 ; d.d.l. = 12 ; P = 0,39) démontre que l'image pollinique est indépendante du type d'hybride.

Cette indépendance montre l'originalité de la population pollinique de la F_2 : une plante hétérozygote de structure peut avoir du pollen homogène, et inversement une plante homozygote de structure peut avoir du pollen totalement vide. C'est un résultat inattendu quand on le compare à la population pollinique de l'espèce.

γ - <u>Les paramètres statistiques de la popula-</u>

tion pollinique à 3 classes de grains : La prospection systématique de tous les individus à 3 classes de grains est faite de la manière suivante: les 8 anthères de 2 fleurs d'une plante sont analysées; ensuite, par individu, une anthère est prospectée . La population totale réunit la population pollinique de la plante et des individus. Moyennes et écartstypes sont portés dans le tableau 28.

Les écarts-types des 2 hybrides hétérozygotes de structure ont des valeurs semblables à celles des espèces. Pour les homozygotes, les valeurs sont élevées et, entre individus, elles comptent parmi les plus élevées (allant jusqu'à 17 %). Dans un tel contexte, la normalité de la fonction fréquence des pourcentages traduit le mieux le caractère statistique de la population pollinique (tableau 32, 3). Beaucoup de distributions, et en particulier celle des grains vides, sont éloignées de la normale (la droite de HENRY tracée pour la population pollinique de l'homozygote de phénotype *blandina*, en annexe de la 2ème partie, p. A24 montre bien que les fréquences des 3 classes, et surtout celle des grains vides, sont éloignées de la normale). Inversement certaines distributions n'infirment pas la loi normale avec une probabilité de 90 % (les inactifs de l'homozygote de phénotype *blandina*). Les cas extrêmes sont réunis dans la population pollinique de la F₂.

A un phénotype d'image pollinique comportant 3 classes de grains, peuvent correspondre des caractéristiques statistiques diverses

δ - Interprétation de la variabilité des images

<u>polliniques</u>: En F_1 , l'image pollinique est identique dans toutes les anthères de la population de plantes hybrides ; en F_2 , elle est très variée entre individus. Cette différence reflète, dans le 1er cas, l'homogénéité des génotypes de la population F_1 , dans le 2ème cas l'hétérogénéité des génotypes de la population F_2 .

Les plantes F_1 ont un génotype unique. Lors de la méiose les échanges se font entre 2 complexes identiques dans toute la population. Les complexes sont modifiés par les recombinaisons dans des limites identiques dan .outes les cellules-mères. Le phénotype d'image pollinique est ainsi homogène à travers toute la population des individus F_1 .

Les plantes F₂ ont des génotypes différents. A la méiose, les échanges se font entre 2 complexes différents d'une plante à l'autre.

Une plante de structure homozygote, mais à complexe modifié, peut reconstituer le complexe parental, mais aussi engendrer un complexe plus fortement modifié. Dans le premier cas l'image pollinique est homogène ou hétérogène, sans létalité importante. Dans le deuxième cas se réalise une image à 3 classes de grains, avec létalité forte. La plante hétérozygote de structure, avec deux complexes modifiés, peut reconstituer les deux complexes parentaux : l'image pollinique peut être homogène à hétérogène. Si les 2 complexes sont encore plus modifiés, le pollen létal apparaît dans une image à 3 classes de grains.

Il faut remarquer que dans le cadre de notre expérimentation, nous n'avons observé de plantes à pollen entièrement vide que parmi les hybrides homozygotes de structure: le problème de l'interpolation des bivalents en Métaphase I doit être évoqué à ce sujet. Aucun argument cytologique ne réfute l'interpolation à la méiose des chromosomes homologues du complexe **b**landina; le brassage des deux génomes est alors beaucoup plus important qu'à la suite du seul échange d'allèles entre chromatides; il se forme ainsi des génomes h blandina fortement modifiés, qui évoluent en gamètes inviables. La population pollinique est uniquement composée de grains vides.

		DESCENDANCE DU PHENOTYPE	
Opération	blandina, 7 x 2	F ₁ , 8, 2, 2, 2.	F1, 7x2
	lot 1 : toutes les plantes de t ype F ₁	lot 1 : type F ₁	1 lot : 33 % de type F_1 le reste de type $blandina$
F ₂ x blandina	lot 2 : 75 % des plantes de type F ₁ , le reste de type <i>blandina</i>	lot 2 : type F ₁	
		<pre>lot 3 : 21 % de type F₁, le reste de type blandina</pre>	
	Partout : pol	len hétérogène à pollen à 3 classes.	
	lot 1 : tous de type F_1	1 lot : type F_1	
$^{\rm F}_{ m 2}$ autofécondée	lot 2 : 25 % de type F ₁ , le reste de type <i>blandind</i>	Dallan hótóraiðne à naflen à 3 classe	1
	Porcen nomogene a necenogene	Porcen nerembere a porcer a como	
	lot 1 : 10 $%$ de type F_1 , le reste de type blandina.	1 lot : type F ₁	
Croisements entre	lot 2 : type blandina		1
de nême phénotype.	lot 3 : type blandina	•	
	lot 4 : type blandina		
	Pollen homogène à hétérogène, loca- lement du pollen vide.	Pollen hétérogène à pollen à 3 classes	

 Tableau
 30 : Analyse morphologique et pollinique de la F3, issue de la F1 blandina x nuda, autofécondée.

Dans le groupe *Eu-Oenothera*, la létalité pollinique joue un rôle que nous dégageons progressivement: elle assure l'individualité du complexe, sans le jeu de la caténation, en éliminant les effets du bras= sage méiotique.

La génération F_2 issue de la F_1 par recroisement avec <u>blondina</u>.

L'analyse cytologique des plantes F_2 a donné les résultats suivants:

- blandina x (blandina x nuda):22 plantes analysées, toutes à 7 bivalents.

- (blandina x nuda) x blandina: 16 plantes analysées, toutes à 7 bivalents.

Ces F_2 sont donc des homozygotes de structure ^hblandina/ ^hblandina, comme ceux issus d'autofécondation, analysés plus haut. Mais ils en diffèrent par la composition factorielle: un complexe est le complexe ^hblandina standard, identique dans toutes les plantes F_2 , l'autre complexe est le complexe ^hblandina modifié, issu de la méiose de la F_1 .

A la méiose de la F_2 , les échanges se font entre un complexe h blandina qui est en quelque sorte un dénominateur commun à toutes les plan= tes F_2 et un complexe h blandina modifié, différent d'une plante à l'autre.

Ces échanges ne donnent que des complexes ^hblandina peu modifiés; l'image pollinique est faiblement marquée par la létalité. (cf. tableau 22, p. 155 suite).

Ce résultat impose dès maitenant deux réflexions:

1- Un complexe h blandina peu modifié a été opérationnel dans les combinaisons réalisées à partir de la plante F₁.

2- Les croisements réciproques donnent le même résultat, ce qui implique que le processus sélectif au niveau du gamétophyte a la même activité du côté σ et du côté $\underline{\phi}$.

La génération F_3 .

Avec les plantes F_2 , nous avons procédé à deux séries d'opé= rations: d'une part les plantes de phénotype *blandina* et de phénotype F_1 sont autofécondées, ou des plantes de phénotype identique sont croisées entre elles; d'autre part des plantes de chaque phénotype ont été croisées en retour avec *blandina*. Les résultats sont portés dans le tableau 30.

a) Analyse morphologique :

 α - <u>Les hybrides F₃ issus du croisement-test</u> <u>avec blandina</u> : Pour chaque croisement, nous avons constitué en moyenne une descendance de 15 plantes: **là** encore, le sens du croisement n'influence pas la composition de la population hybride.

Les résultats des croisements sont présentés dans le tableau 30.

En résumé, les génotypes issus de ces croisements-tests sont composés d'un génome haploïde toujours identique, celui de blandina, et d'un autre génome blandina modifié ; c'est pourquoi les plantes F_3 sont soit de phénotype blandina, soit de phénotype F_1

 β - <u>Les hybrides F₃ issus d'autofécondation de</u> <u>plantes F₂ ou de croisement entre plantes F₂ de même phénotype</u> : A l'inverse des croisements-tests précédents, dans les autofécondations se reconstituent des génotypes composés de deux génomes haploïdes modifiés de sorte que les phénotypes sont plus nombreux

b) <u>Analyse cytologique de la F₃:</u>

Nous avons prospecté une population F_3 issue du croisement entre plantes-soeurs de phénotype *blandina* (tableau 30). Sur 15 plantes du lot 1, les diacinèses de 7 plantes ont été observées : elles sont toutes caractérisées par 7 bivalents. En plus, nous avons analysé une plante de la population hybride issue du recroisement F_2 phénotype *blandina* x *blandina* (lot 2). Là aussi la diacinèse montre 7 bivalents. Tous ces hybrides F_3 possèdent donc la structure chromosomique du complexe *blandina*. Cette structure ^hblandina, transmise de la F_1 à la F_2 , puis à la F_3 , reste inchangée.

c) Interprétation génétique :

L'analyse de la population hybride F_3 confirme le remaniement factoriel des complexes : à la méiose de la plante F_2 , il y a échange de facteurs entre complexes déjà modifiés durant la méiose de la plante F_1 . Malgré les échanges, le maintien d'un ensemble de caractères génétiques strictement liés permet de caractériser une plante hybride, soit comme phénotype F_1 , soit comme phénotype *blandina*. Nous en déduisons que les complexes fortement modifiés sont éliminés dans les grains létaux.

d) L'image pollinique des hybrides F3 (tableau 30) :

α -<u>Résultats</u>: En F₂, la répartition des images polliniques s'est montrée indépendante du phénotype de la plante; c'est là un fait qu'il faut retenir et sur lequel nous reviendrons.

1. $F_3 = F_2 \times blandina$:

Dans les 6 lots de plantes, on retrouve tous les types d'images polliniques : pollen homogène, pollen homogène à hétérogène avec localement 3 classes de grains, ou pollen à 3 classes de grains (Pl. 24, 1 et 2).

2. $F_3 = F_2$ autofécondée ou croisée par plantes de même phénotype :

Les hybrides, issus de plantes à phénotype F₁ (à diacinèse 8, 2, 2, 2), ont un pollen hétérogène ou à 3 classes de grains. Les hybrides, issus du phénotype *blandina*, ont un pollen homogène à hétérogène ; localement, on observe dans certaines anthères 3 classes de grains ou un amas de grains vides isolé au milieu de la population (P1. XXIV,3).

β - Interprétation : Comparaison de la létalité

pollinique dans les lignées homozygote et hétérozygote de structure : Si nous faisons abstraction de la létalité localisée à un territoire d'anthère, que nous commenterons plus loin, la lignée homozygote de structure ne montre plus en F_3 l'image pollinique à létalité accentuée, comme c'est le cas en F_2 . Par contre, dans la lignée hétérozygote de structure la létalité se maintient. En considérant à la fois les plantes F_2 et les plantes F_3 , les faits se résument ainsi : Pollen homogène, 3 classes ou

Lignée hétérozygote de structure.

Pollen homogène à pollen

· Pollen homogène à pollen

F2

Fz

plante à pollen entièrement vide Pollen homogène à hétérogène avec localement du pollen vide

Intervention éventuelle du cytoplasme

Il reste à interpréter la létalité par territoire d'anthère des hybrides F_3 de la lignée homozygote de structure. Nous pensons déceler ici un autre conditionnement de la létalité pollinique, l'intervention du cytoplasme

La recombinaison entre les deux génomes haploïdes ne touche plus à la viabilité du gamétophyte, ces hybrides sont génétiquement homologues d'espèces homozygotes, sauf pour un caractère : la plante demeure hybride du point de vue cytoplasmique. Elle a le cytoplasme de *blandina*, avec des éléments du cytoplasme de *nuda*, apporté par le pollen dans le croisement entre les espèces parentales.

On peut se représenter les phénomènes de la manière suivante: Les zones du tisau sporogène où l'élément cytoplasmique de *nuda* devient important sont incompatibles à tout génome de structure *blandina*. Tout se passe comme si le complexe *blandina* était devenu inactif. Dans tous les autres hybrides, l'action du facteur cytoplasmique n'est pas apparente; elle se superpose à l'élimination des génotypes recombinés

3 classes

3 classes

CONCLUSION

L'analyse de la descendance de l'hybride *blandina* x *nuda* met en évidence l'éclatement du complexe qui n'atteint cependant jamais l'indépendance factorielle ; car on retrouve toujours dans la plante hybride une morphologie d'ensemble qui rappelle le parent hétérozygote ou le parent homozygote.

Cornelia HARTE (1948), continuant les travaux de RENNER (1942), montre l'importance des recombinaisons chez les hybrides de 2ème génération. Elle constate que les recombinaisons ne dépassent pas un certain seuil, de sorte que le complexe est maintenu sous la forme de "Restkomplex" (complexe résiduel).

Une analyse qui met en parallèle l'image pollinique et le génotype de la plante, nous conduit à la mise en évidence des faits suivants: (tableau 31)

 $1 - \hat{a}$ un génotype unique dans la population hybride correspond une image pollinique unique ;

2 - la disjonction de génotypes s'accompagne de la variabilité dans le phénotype d'image pollinique ;

3 - la létalité la plus forte s'observe chez l'hétérozygote génétique à 7 bivalents, où le brassage méiotique est parfait ; en raison de l'homozygotie structurale, il est chromosomique et chromatidique

4. Avec l'homozygotie factorielle réapparaît, dans la descendance en lignée pure, une image pollinique constante, sans létalité.

Dans la descendance de l'hybride *blandina* x *nuda*, la létalité pollinique apparaît comme la représentation du processus sélectif qui assure, par élimination, au niveau du gamétophyte, la constitution et le maintien du complexe factoriel, sans le support matériel d'un complexe chromosomique/ 171



1. - LES TESTS DE NORMALITE.

<u>Tableau 32</u> : 1) Populations polliniques des F_1 [homozygote x hétérozygote]

Croisements		Actif	3	inactifs .			vides		
	d.d.l.	χ²	P	d.d.l.	χ²	P	d.d.l.	χ²	P
ersteinensis x hookeri	14	39,3	0,003	12	7,8	0,80	13	5,6	0,95
ereteineneis x blandina	16	108,2	0,000	13	12,8	0,48	14	12,2	0,60
hookeri x ersteinensis	16	29,2	0,46	13	4,9	0,97	14	6,5	0,94
blandina x ersteinensis	13	5,8	0,95	12	10 , 5	0,57	13	13,7	0,22
nuda x hookeri	9	7,0	0,25	11	11,9	0,36	13	9,8	0,71
nuda x blandina	12	9,3	0,68	10	4,2	0,93	11	17,9	0,15
hookeri x nuda	13	18,9	0,12	12	6,9	0,85	16	18,8	0,26
blandina x nuda	22	10,8	0,96	19	39,3	<u>0,004</u>	20	27,7	0,13

Croisements	actifs			inactifs				vides			
	d.d.l.	χ²	Р	d.d.l.	χ²	Р	d.d.l.	χ ²	P		
(nuda x hookeri) x hookeri	13	19,9	0,09	17	12,0	0,76	13	28,8	<u>0,006</u>		
hookeri x (nuda x hookeri)	14	17,5	0,23	15	11,7	0,71	16	2 0, 0	0,22		
(hookeri x nuda)x hookeri	13	6,1	0,94	13	52,2	0,000	4	6,7	0,15		
hookeri x (hookeri x nuda)	12	16,4	0,16	11	8,7	0,65	8	11,8	<u>0,71</u>		
blandina x (nuda x blandina)	16	12,7	0,70	13	11,5	0,56	15	38,4	0,000		
(nuda x blandina) x blandina	18	20,2	0,33	17	4,6	0,99	11	512	<u>0,000</u>		

<u>Tableau 32</u> (suite) : 2) Populations polliniques des F₂ : homozygote x (homozygote x hétérozygote)

<u>Tableau 32</u> (suite) : 3) Populations polliniques de la F₂ issue. d'autofécondation de blandina xnuda.

Origina de la		Actifs	;		Inactif	ſs		Vides	
population pollinique	d, d, l,	χ ²	P	d, d. I.	χ²	Р	d,d. I,	χ²	Р
$\frac{\text{Type } F_{1-}}{8_{3} \cdot 2_{3} \cdot 2_{3} \cdot 2_{2}}$									
Fleur 1	17	21,1	0,22	14	12,6	0,57	17	24,0	0,12
Plante Fleur 2	22	19,1	0,64	21	12,1	0,94	20	17,1	0,65
total fleurs	26	28,3	0,35	21	10,6	0,97	25	24,6	0,46
Individus	24	24,5	0,46	22	13,9	0,17	17	18,2	0,39
Population totale	37	123,8	0,000	31	28,7	0,52	38	56,5	<u>0,03</u>
<u>Type F</u> ₁₋ 7_bivalents									
Plante Fleur 1	9	17,1	0,05	21	23,5	0,34	15	13,6	0,56
Fleur 2	19	18,0	0,52	20	36,5	<u>0,01</u>	8	10,4	0,23
total fleurs	25	20,9	0,69	29	43,1	0,04	12	31,7	0,001
Individus	16	19,6	0,24	19	21,6	0,28	14	15,3	0,34
Population totale	34	53,9	0,01	31	37 ,3	0,20	19	121,7	<u>0,000</u>
<u>Type <i>blandina</i></u> 7_bivalents									
Fleur 1	22	22,8	0,40	10	11,5	0,32	7	13,4	0,06
Plante							5	8,6	0,13~
Fleur 2	16	10,8	0,81	19	6,0	0,99	15	27,3	<u>0,03</u>
total fleurs	34	44,3	0,12	29	19,8	0,89	18	115,9	<u>0,000</u>
Individus	45	52,1	0,22	32	45,7	<u>0,05</u>	31	126,6	<u>0,000</u>
Population totale	57	73,6	0,07	39	54,6	0,06	36	236,0	<u>0,000</u>
<u>Type blandina</u> <u>8,2,2,2</u> .									
Fleur 1 Plante	14	13,4	0,51	13	10,5	0,65	10	22,5	<u>0,01</u>
Fleur 2	23	9,3	0,99	21	17,1	0,71	10	14,8	0.13
t otal fleurs	36	19,6	0,98	28	35,6	0,14	13	31,7	<u>0,002</u>

(x) Selon la distribution de POISSON

Les distributions anormales au seuil de 5 % sont soulignées.

II. LES COEFFICIENTS DE CORRELATION.

Croisements	n	A / V	A / IA	IA / V					
ersteinensis x espèces standards									
ersteinensis x coronifera	19	- 0,826	+ 0,314	- 0,227					
erste in ensis x coronifera ^r	20	- 0,946	+ 0,445	- 0,712					
ersteinensis x conferta	33	- 0,547	- 0,554	- 0,393					
<u>espèces standards x ersteinensis</u>									
biennis x erste ine nsis	20	- 0,822	+ 0,394	- 0,847					
lamarckiana x ersteinensis	35	- 0,807 ×××	+ 0,104	- 0 ,6 71					
silesiaca x ersteinensis	24	- 0,926 ^{****}	+ 0,627	- 0,876					
coronifera ^r x ersteinensis	31	- 0,811	+ 0,209	- 0,742					
2) Population pollínique des hybrides F ₁ homozygotes x hétérozygotes.									
ersteinensis x hookeri	30	жж - 0,692	- 0,401×	- 0,384 [×]					
ersteinensis x blandina	32	- 0,584 ×××	- 0,540 ×××	- 0,369					
hookeri x ersteinensis blandina x ersteinensis	32 32	- 0,747 - 0,542	- 0,566 ^{****} - 0,4 8 7	- 0,125 - 0,470					
nuda x hookeri	32	- 0,496	- 0,212	- 0,743					
nuda x blandina	32	- 0,568	- 0,371	- 0,553					
hookeri x nuda	32	- 0,795 ×××	+ 0,075	- 0,664					
blandina x nuda	37	- 0,381	- 0,747 ^{×××}	- 0,327					

<u>Tableau 33</u> : 1) Population pollinique des hybrides F₁ issus de parents hétérozygotes.

*** : r significatif au-delà de 1/1.000
** : r significatif au-delà de 1/100
* : r significatif au-delà de 5/100
sans signe : r non significatif.

Croisements	r (pour n = 30) des couples			
	A / V	A / IA	IA / V	
(nuda x hookeri) x hookeri	- 0,564 ^{жжж}	- 0,097	- 0,763 ^{жж}	
hookeri x (nuda x hookeri)	- 0,750 ^{жж}	+ 0,091	- 0,727	
(hookeri x nuda) x hookeri	- 0,219	- 0,933 ^{жж}	- 0,147	
hookeri x (hookeri x nuda)	- 0,485 ^{жж}	- 0,851	- 0,046	
blandina x (nuda x blandina)	- 0,666 ^{жж}	- 0,110	- 0,667 ^{****}	
blandina x (blandina x nuda)	- 0,591 ×××	- 0,801	- 0,009	

III. - L'APPARITION DE LA LETALITE POLLINIQUE CHEZ LES HYBRIDES ENTRE HOMOZYGOTES.

_ • • _ • • _ • • _ • • _ • • _

La méiose de la majorité de ces hybrides est caractérisée par la prédominance des bivalents à côté de petits anneaux de caténation (tableau 3⁴). Nous retrouvons donc chez ces hybrides le problème de l'interpolation des bivalents et ses limites compatibles avec la vie du gamétophyte.

D'autre part les hybrides issus des croisements réciproques ont des plastomes différents (STUBBE, W. 1960) ce qui permettra d'observer si le type de plastome de la phase haploïde intervient dans la létalité pollinique.

Les images polliniques qui sont constantes à l'intérieur d'un lot F, séparent 2 séries d'hybrides (tableau 34).

1 - Les hybrides entre *hookeri*, *franciscana* et *blandina* ont un pollen homogène plein. On déduit qu'entre les génomes ^h*franciscana*, ^h*hookeri* et ^h*blandina* le brassage méiotique donne des génomes haploïdes nouveaux tous viables. Les plantes hybrides se comportent comme l'espèce homozygote. On voit que l'importance de l'anneau en diacinèse et le type de plastome de la plante-mère n'interviennent pas dans le phénotype d'image pollinique.

2 - Les hybrides issus des croisements avec *purpurata* montrent un pollen où se manifeste la létalité, une létalité faible dans le pollen hétérogène, une létalité plus forte dans le pollen à 2 ou **à** 3 classes de grains. Dans les croisements de *purpurata* avec *hookeri* et *blandina*, la létalité est plus forte lorsque *purpurata* est la plante-mère.

Entre ^hpurpurata et n'importe quel autre génome, le brassage méiotique aboutit à la ségrégation de gamétophytes viables et de gamétophytes létaux. En plus purpurata intervient par le cytoplasme qui accentue la létalité pollinique.

Hybrides	Figures de diacinèse	Type de plastome de l'hybride	Image pollinique	≸ de grains vides
hookeri x franciscana franciscana x hookeri	4,2,2,2,2,2	I I	homogène homogène	
hook eri x blandina blandina x hookeri	6,2,2,2,2	I III	homogène homogène	9 %
blandina x franciscana franciscana x blandina	4,2,2,2,2,2	III I	homogène homogène	
hookeri x purpurata purpurata x hookeri	4,2,2,2,2,2	I II	2 classes 3 classes	29 % 24 %
blandina x purpurata purpurata x blandina	4,2,2,2,2,2	III	hétérogène 2 classes	17 % 23 %
franciscana x purpurata purpurata x franciscana	2,2,2,2,2,2,2	I	hétérogène hétérogène	7 % 7 %

Ces résultats mettent en évidence la place particulière de purpurata parmi les homozygotes. Cette espèce a été isolée une seule fois en Europe par KLEBAHN (1914), dans un peuplement de *rubricaulis* dans les landes sableuses de la "Lüneburgerheide", et depuis cette découverte, l'espèce n'a plus été observée. Elle est probablement un mutant de translocation totalement homozygote par le génome et la structure chromosomique, qui est issu d'une espèce hétérozygote de plastome II (probablement une espèce du groupe *biennis*).

CONCLUSION

De la distinction entre *hookeri*, *blandina*, *franciscana* d'une part et de *purpurata* d'autre part, il apparaît que le gamétophyte de plante homozygote présente des limites de viabilité plus larges au brassage méiotique que le gamétophyte d'espèce hétérozygote. Cette conclusion rejoint l'observation, faite au chapitre précédent, entre les hybrides de la lignée entièrement hétérozygote, stable, à un seul génotype, et les hybrides de lignée hétérozygote et homozygote, à disjonction de génotypes. Par l'intervention de la plante-mère, dans les croisements avec *purpurata*, on voit que la viabilité du gamétophyte est déterminée par l'interaction génome - cytoplasme.

174

Tableau 35 . Relation entre létalité pollinique et propriétés génétiques de la plante chez les hybrides d'Eu-Oenothera

Cline de létalité croissante

Pollen vide

homogamétique 7 bivalents homozygote homogène. homogamétique 7 bivalents hétérogène homozygote hétérozygote isogamétique hétérogène anneau hétérogamétique hétérozygote hétérogène anneau hétérozygote 7 bivalents hétérogène 1 Tissu sporogène : •• •• Activité des complexes Diacinèse Génotype

Gradient d'hétérozygotie croissante

ļ

Pollen normal

BUS

CONCLUSION A L'HEREDITE DE L'IMAGE POLLINIQUE.

_ • • _ • • _ • • _ • • _ • • _

L'analyse de la transmission de l'image pollinique dans les différentes lignées d'hybrides démontre que l'image pollinique est la convergence de plusieurs évènements génétiques.

1 - les recombinaisons entre complexes :

Plus les possibilités de recombinaisons entre les génomes haploïdes sont grandes, plus la létalité est élevée ; le terme extrême est le brassage méiotique d'une plante hétérozygote à 7 bivalents.

2 - <u>l'hétérogamétie et l'isogamétie</u>:

Le fait qu'un complexe est inactif par rapport à un autre complexe, détermine de la létalité sous le phénotype de grain inactif ou de grain vide.

3 - <u>l'interaction génome/cytoplasme</u> :

Lorsqu'à l'issue de la méiose apparaît un seul génome haploïde, le tissu sporogène se montre hétérogène, composé d'éléments cytoplasmiques de l'un et l'autre des parents : localement le même génome est létal ou viable. En réalité ce caractère de tissu hétérogène est propre à tous les hybrides. Mais son action ne se manifeste pas nettement à cause de la diversité des génomes haploïdes.

La juxtaposition de ces propriétés génétiques détermine l'image pollinique de l'hybride. On peut résumer toutes les situations rencontrées dans les lignées hybrides, en utilisant un schéma de génécologie : le milieu, ce sont les caractères génétiques de la plante qu'on peut disposer suivant un gradient allant de l'hétérozygotie à l'homozygotie. Le cline qui se superpose à ce gradient, c'est la létalité pollinique qui varie en fonction du génotype de la plante. Le tableau 35 illustre bien la variation parallèle des propriétés génétiques et de la létalité pollinique.

174'

DISCUSSION ET CONCLUSION GENERALES

Notre recherche concourt essentiellement à donner la signification génétique de l'image pollinique et à insérer la létalité pollinique dans le système génétique des *Eu-Oenothera*.

1. La signification génétique de l'image pollinique.

L'image pollinique nous est devenue parlante génétiquement,

- parce que ses caractères statistiques révèlent la répartition des microspores potentiellement actives, inactives et vides dans les tétrades,

- parce que l'hérédité de son phénotype est liée aux ségrégations dans la descendance d'un croisement.

Partant du fait que la population pollinique à l'anthèse des *Eu-Oenothera* conserve, après échantillonnage, la répartition des grains telle qu'elle est à l'origine dans les tétrades, sous la forme de microspores, moyennes et écarts-types indiquent une fluctuation de ségrégation des 3 types de grains dans les tétrades et entre les tétrades. On peut ainsi faire par voie indirecte une analyse de tétrades.

Aussi bien chez les espèces que chez les hybrides F₁, une tétrade donne préférentiellement des microspores actives, et une autre tétrade des microspores vides. La fluctuation entre ces 2 types de tétrades est très élevée, elle est généralement mesurée par l'écart-type des grains vides.

Cette répartition de base est modulée par le caractère de plante hétérogamétique et le caractère de plante isogamétique. Les hétérogamétiques ont des tétrades à microspores actives et inactives, des tétrades à microspores vides et des tétrades aux 3 types de microspores. Dans la tétrade "actives/inactives", la ségrégation 1/1 est un cas particulier parmi les 5 combinaisons : 4/0, 3/1, 2/2, 1/3 et 0/4. Chez les isogamétiques, les microspores inactives se répartissent au hasard entre les tétrades à microspores actives et les tétrades à microspores vides (type *ersteinensis*). Figure 15 : Les Tétrades des hétérozygotes de complexes.



Hétérogamétiques

Tétrade des complexes

.

Tétrade des génomes recombinés

Tétrade des complexes et des génomes recombinés.

. .



Cette répartition recouvre un mécanisme génétique qui devient compréhensible par l'hérédité du phénotype d'image pollinique. En faisant le bilan des images polliniques des hybrides issus uniquement d'hétérozygotes de complexes et des hybrides issus d'hétérozygote et d'homozygote de complexes, on constate que la plante hétérozygote génétique, qu'elle soit hétérozygote ou homozygote de structure, possède une image pollinique à pollen létal. Par contre, la plante entièrement ou partiellement homozygote génétique, toujours homozygote de structure, donne une image pollinique faiblement marquée par la létalité pollinique.

On déduit que les grains vides représentent les génomes haploïdes recombinés entre complexes. Ils sont issus de méiose où se sont réalisés des échanges entre bras de chromosomes homologues. Ces méioses se déroulent dans des cellules-mères qui donnent 4 microspores vides, démontrant que les échanges se font sur les 4 chromatides.

A l'opposé, les méioses sans échanges donnent les deux complexes. Elles se déroulent dans les tétrades à microspores actives chez les isogamétiques, ou dans les tétrades à ségrégation actives/inactives chez les hétérogamétiques.

Les tétrades aux 3 microspores indiquent que les échanges se font entre chromatides.

On voit que l'organisation des tétrades des *Eu-Oenothera* est homologue de celle que l'on observe en génétique mendélienne, dont nous avons donné un exemple pour la ségrégation des 2 couples d'allèles, C/c et +/wx (cf. p. 97) : la tétrade parentale est l'homologue de la tétrade actives/inactives, la tétrade recombinée ditype de la tétrade à microspores vides, et la tétrade tétratype de la tétrade aux 3 microspores.

L'analyse statistique et l'analyse génétique se complètent. En particulier, ces 2 analyses réunies permettent de généraliser l'organisation des tétrades des hétérozygotes de complexes (Figure 15). Dans le type *ersteinensis* (Figure 9, p. 109), l'analyse statistique ne peut séparer la ségrégation "actives/vides" entre tétrades de la même ségrégation à l'intérieur du 3e type de tétrade. En outre, chez *conferta*, les grains inactifs étant très proches des grains vides, il est probable qu'ils se confondent génétiquement

176

avec les grains vides. Cette espèce n'aurait donc qu'un seul type de tétrade "actives/vides", équivalent à la tétrade à 3 microspores. Cette espèce représente un cas particulier qui ne contredit pas l'organisation générale des tétrades, présentée sur la Figure 15.

Il est probable que dans l'ovule s'opèrent les mêmes ségrégations entre les 4 macrospores. Mais comme on observe les résultats de ségrégations sur les graines, il est impossible de faire la part de la létalité du gamétophyte de celle du sporophyte. Harte C. (1958) avait réalisé une prospection très étendue sur les pourcentages de graines vides dans les capsules chez les espèces et les F_1 entre espèces. Elle constate une dispersion très élevée des pourcentages entre capsules d'une même plante, entre capsules de plantes différentes. Ce phénomène apparaissait inexplicable à l'auteur qui l'imputait à un mécanisme génétique inconnu. A la lumière de nos résultats sur le gamétophyte mâle, nous pouvons dire qu'une part de la fluctuation des pourcentages des graines vides est homologue de celle des grains de pollen vides.

L'idendité des hybrides réciproques observée dans la descendance du croisement blandina x nuda, nous a donné l'indication que le mécanisme sélectif joue parallèlement dans l'ovule.

En résumé, l'image pollinique a acquis pour nous une signification génétique parce qu'elle est un réactif visible de la sélection du gamétophyte.

2. La létalité pollinique et le complexe.

En éliminant les complexes recombinés, la létalité pollinique maintient la solidarité factorielle du complexe. Elle rend efficace les mécanismes cytologiques qui sont : l'empêchement à l'appariement des segments différentiels, au pachytène, et la disposition alterne en métaphase I (cf. p. 12-14). L'existence de tétrades à microspores actives démontre que ces mécanismes cytologiques assurent la ségrégation des 2 blocs factoriels, mais ils ne l'assurent pas de manière parfaite, puisque les recombinaisons sont possibles.

Lorsqu'il n'ya pas de caténation, la létalité est le seul mécanisme qui maintient l'intégrité du complexe (cas de la F₂ issue du croisement blandina x nuda qui comporte ^hblandina/^hblandina) 177

Té†rade Pollen Méiose 0 Total multiple ~ 50% possibilities O empty 0

BUS

Extrait de "Determinism of pollen letality " (Linder R., 1970).

NUCLEAR - CYTOPLASMIC INTERFERENCE
Ce rôle actif de la létalité pollinique est basé sur les conditions de viabilité du gamétophyte : celui-ci n'est viable que s'il transmet les caractères spécifiques. Cette exigence apparaît essentielle pour le gamétophyte de plante hétérozygote, elle l'est moins pour le gamétophyte de plante homozygote. C'est la raison pour laquelle les hybrides homozygote x hétérozygote donnent des gamètes viables recombinés, alors que les hybrides hétérozygote x hétérozygote n'en donnent pas.

Cette différence entre les deux gamétophytes démontre que la solidarité des 7 chromosomes a par elle-même un effet létal. Les limites de viabilité sont beaucoup plus strictes que chez une plante où en méiose tous les bivalents sont interchangeables. L'action du complexe est comparable à l'effet de position qui induit de la létalité.

3. Le déterminisme cytoplasmique de l'inactivité des complexes.

La morphologie grain actif, grain inactif n'est pas liée à un type de complexe. Mais entre ces 2 types de grains se fait la ségrégation des 2 complexes, car statistiquement on isole chez les hétérogamétiques une tétrade à microspores actives et à microspores inactives. Toutes les combinaisons entre 4 microspores actives et 4 microspores vides, évoquées plus haut, peuvent se réaliser.

Pour expliquer la ségrégation "grains actifs/grains inactifs", nous avons trouve chez les hybrides une situation qui peut se rapprocher de l'inactivité d'un complexe. Lorsque chez un homozygote de structure, l'homozygotie génétique est retrouvée, l'hétérogénéité cytoplasmique apparaît, qui fait que par région d'anthère, le pollen est inviable. Il est possible que l'espèce hétérozygote soit aussi un hétérozygote cytoplasmique. Des organites cytoplasmiques (plastes et mitochondries) transmis par le tube pollinique sont compatibles avec le génome du pollen et incompatibles avec l'autre génome. Réciproquement les organites de l'ovule sont compatibles avec le génome de l'ovule et incompatibles avec le génome du pollen. La ségrégation cytoplasmique au moment de la formation des tétrades répartit au hasard les organites cytoplasmiques. Sur la Figure 16, on a imaginé la ségrégation de 4 organites compatibles avec un complexe (marqués en noir) et de 4 organites compatibles avec l'autre complexe (marqués en blanc). On voit que les différentes combinaisons organites-complexes aboutissent aux différentes ségrégations que l'analyse statistique laisse supposer.

L'ensemble de nos résultats conduit à conclure que:

Le phénotype de grain létal (inactif et vide) relève de déterminismes génétiques distincts

I- la létalité factorielle qui est la manifestation d'une activité génique définie. Elle est hors du "système génétique".

2- l'inactivation du complexe qui est le résultat d'une interférence entre l'activité d'une constellation génique, le complexe, et un certain cytoplasme.

3- les recombinaisons factorielles entre complexes, d'où résulte une létalité globale, qui ne se délimite pas, quantitativement, à l'observation.

4° P A R T I E annexe :

LA METHODE TAXONOMIQUE DANS LE SOUS-GENRE *EU-OENOTHERA*

A la lumière des caractéristiques du système génétique des hétérozygotes de complexes, (cf. p. 8-15), il est évident que la simple analyse floristique est insuffisante pour décrire l'espèce. Elle doit être complétée par une longue étude expérimentale qui permet de définir les 2 complexes dans leur composition factorielle et dans leur configuration chromosomique, et qui permet de connaître le type de plastome de la plante.

Pour ce faire, il faut combiner le complexe inconnu à une série de complexes connus pour dégager des différentes combinaisons diploïdes les caractères génétiques et cytologiques propres au complexe nouveau. Ces combinaisons diploïdes sont les hybrides F_1 , issus des croisements réciproques entre l'espèce nouvelle et les espèces standard (cf. tableau 1 p. 18).

Sur l'ensemble des lots F_1 , on sépare les caractères morphologiques, apportés par le complexe connu, des caractères communs à tous les lots F_1 qui sont les caractères transmis par le complexe analysé.

Les figures de diacinèse des différents lots F_1 démontrent l'existence ou l'absence d'homologie entre certains chromosomes du complexe standard et certains chromosomes du complexe inconnu. Par une analyse combinatoire de l'ensemble des figures de diacinèse des F₁, on déduit la formule chromosomique du complexe inconnu.

Enfin à partir des relations génome - plastome des hybrides F_1 , on définit le type de génome des 2 complexes et le type de plastome de la plante, selon la classification de Stubbe W.(1960).

Pour réaliser la diagnose complète de l'espèce, le taxonomiste doit donc disposer d'éléments de référence qui sont :

- la composition factorielle de complexes standard

- la formule chromosomique des complexes standard

- la relation génome - plastome dans chaque espèce standard.

Après la présentation de ces éléments de référence, nous nous proposons d'illustrer la méthode taxonomique des hétérozygotes de complexes par l'analyse cytogénétique de deux espèces nouvelles, qui ont servi de matériel de base à la recherche sur l'origine de la létalité pollinique, *Oenothera ersteinensis* R. Linder et R. Jean, et *Oenothera nuda* Renner.

I. LES DONNEES DE REFERENCE

A. - LA RECONNAISSANCE DES COMPLEXES STANDARD

La F₁ issue du croisement (homozygote x espèce nouvelle) est très précieuse car la différence entre les hybrides réciproques est due à l'hétérozygotie des 2 complexes de l'espèce à analyser. De l'espèce homozygote, l'hybride hérite les caractères suivants :

hookeri et franciscana déterminent pratiquement le même phénotype : tige pubescente, ponctuée ; feuille vert-grisâtre, longue, étroite, s'élargissant progressivement vers la base, à nervure incolore ; bouton floral grand, trapu, aux sépales striés de rouge, aux pointes moyennes ; fleur grande (30-35 mm)[†].

L'hybride de *blandina* se reconnaît au bouton floral élancé, fin, fortement strié de rouge, aux pointes très longues, et à la corolle grande (35 à 40 mm.).

+La longueur du pétale est mesurée du point d'insertion sur l'hypanthium à l'échancrure. L'hybride de *purpurata* se reconnait à la feuille étroite, finement dentée ; au bouton floral à section quadrangulaire, aux stries des sépales rouge sang et à la fleur petite $(20 \ a \ 25 \ mm)$.

La F_1 issue du croisement (hétérozygote x espèce nouvelle) peut être composée de la manière suivante :

- si les 2 espèces sont strictement hétérogamétiques, chaque lot F_1 comporte un seul phénotype de plante ;

- si l'une des espèces est isogamétique, le lot F_1 peut être composé de 2 phénotypes, correspondant chacun à une combinaison déterminée de complexes ;

- si les 2 espèces sont isogamétiques, le lot F_1 peut être composé de 4 phénotypes de plantes hybrides, correspondant chacun à une combinaison diploïde de complexes.

Voici les caractères remarquables des complexes, pris dans l'ordre du tableau 1, p. 18.

cockerelli : la distinction entre les 2 complexes se fait par la taille de la plante hybride. Elongans détermine la taille la plus haute parmi tous les F_1 , de 2 à 2,20 m. L'inflorescence est lâche et étalée. Avec curtans la plante est de taille normale (entre 1,50 et 1,60 m.). Le sommet de l'inflorescence est tassé en corymbe. A part ces caractères, le phénotype déterminé par les 2 complexes est identique : tige verte faiblement pubescente, finement ponctuée ; feuille longue, étroite, régulièrement dentée ; bouton floral jaunâtre ; fleur petite (15 mm).

hungarica : lazans détermine la tige finement ponctuée, glabrescente ; la feuille plane, vert-clair, à nervure incolore ; l'inflorescence lâche ; le bouton floral à stries roses aux pointes effilées ; la fleur petite, souvent cléistogame.

undans détermine un phénotype proche de *laxans*, à l'exception de la tige pubescente, ponctuée et de la feuille au limbe large et ondulé.

biennis : albicans est reconnaissable par la feuille longue, fine, non pubescente à la face inférieure, à nervure incolore ; par la tige glabrescente verte, non ponctuée ; par le bouton floral non strié, et par la fleur de taille moyenne (20 à 25 mm).

Le phénotype de *rubens* s'oppose par la pubescence nette de toute la plante, par la feuille large, gaufrée, à nervure rouge.

chicaginensis : excellens détermine le phénotype suivant : tige très pubescente, non ponctuée, feuille large et longue, à nervure rouge, bouton floral élancé comme chez *chicaginensis*; corolle de taille moyenne (25 à 30 mm.). *punctulans* s'oppose à *excellens* par la tige finement ponctuée, la feuille longue, étroite, à nervure incolore, le bouton floral globuleux, vert, la fleur petite (10 à 15 mm).

conferta, coronifera et lamarckiana transmettent le complexe velans qui détermine le phénotype velutina : tige très pubescente, à ponctuation dense, feuille longue, étroite : bouton floral effilé, strié de rouge ; corolle grande (30 à 40 mm). Les deuxièmes complexes de ces espèces transmettent un ensemble de caractères identiques : tige pubescente, verte, non ponctuée ; feuille longue, large, épaisse ; bouton floral non strié, et fleur grande (de 25 à 40 mm). Aemulans se reconnait par le bouton fin de taille moyenne ;quaerens par les bractées de l'inflorescence obliques et très longues, dépassant les boutons floraux qui sont trapus, verts; gaudens par le bouton floral élancé, aux pointes longues et la corolle grande (de 30 à 40 mm).

grandiflora : on sépare difficilement chez les hybrides les deux complexes. Les figures de diacinèse permettent de trancher les deux combinaisons de complexes, à condition qu'elles ne soient pas elles-même identiques. Truncans détermine la feuille longue, plus étroite et dentée ; neoacuens une feuille plus large et pubescente à la face inférieure. Les deux complexes transmettent le même caractère de bouton floral élancé, non strié et de corolle grande (35 à 40 mm).

hoelscheri et rubricaulis transmettent des complexes déjà analysés : rubens et undans. Tingens apporte les caractères suivants : tige finement ponctuée, glabrescente, l'axe de l'inflorescence lavée de rouge-violet, le bouton floral petit, non strié, aux pointes courtes et la fleur petite (15 à 20 mm).

suaveolens : albicans transmet les mêmes caractères que albicans de biennis. flavens : est reconnaissable par la feuille longue, orbiculaire à la base, à nervure incolore ; et par le bouton floral effilé à pointes longues et la fleur assez grande (25 à 35 mm).

Les trois espèces du groupe parviflora, anmophila, rubricuspis et syrticola transmettent par le complexe mâle le même phénotype : tige verte glabrescente non ponctuée, inflorescence nutante terminée en corymbe, boutons floraux petits aux pointes divergentes et fleur petite. Des différences secondaires dans la morphologie du bouton floral permettent de distinguer les trois complexes: avec curvans, le bouton floral est vert ; avec percurvans, il est marqué de bandes rouges ; avec praecurvans, la base des pointes du bouton floral est marqué d'un anneau rouge. Rigens d'anmophila et de syrticola est identique : tige verte, finement pubescente et ponctuée, feuille étroite, longue, à nervure incolore, inflorescence érigée, boutons floraux verts et petits avec parfois de fines raies, fleur petite (15 à 20 mm). Flectens et surtout subcurvans déterminent un phénotype très différent de rigens : tige rouge à ponctuation et pubescence denses, feuille longue large, à nervure rouge ; bouton floral vert à pointes fines, fleur de taille moyenne. Suivant les lots d'hybrides, le phénotype, déterminé par le complexe de la plante à analyser, est dominant. Il est alors facile de connaître les caractères transmis par le complexe inconnu. Ce cas s'est souvent rencontré pour le complexe *cruens* d'*ersteinensis*. Mais il arrive que le complexe de l'espèce standard est dominant dans les croisements réciproques. L'analyse morphologique ne peut fournir aucune donnée sur le complexe inconnu. Seule la figure de diacinèse reste utilisable. Ce cas s'est présenté fréquemment dans les lots F_1 de *nuda*.

B. - LA FORMULE CHROMOSOMIQUE DES COMPLEXES STANDARD

La formule chromosomique d'un complexe définit la répartition des bras de chromosomes, deux par deux, en référence à l'espèce *hookeri*, la souche isolée par de Vries.

Nous suivons la numérotation de Catcheside - Renner. Pour passer à la numérotation de Cleland, il faut remplacer le bras de chromosome 11 par le bras 12, et vice-versa.

Emerson S. H. et Sturtevant A. H. (1931) définissent les premières formules des complexes suivants : velans, flavens, ^hfranciscana, excellens et gaudens.Ensuite Mickan M. (1936) décrit le complexe ^hdilatans d'argillicola. Catchseside D.G. (1940) apporte une importante contribution en définissant les complexes suivants :^h blandina, ^hpurpurata, albicans, curvans, flectens, rubens et rigens. Baerecke M.-L. (1944) analyse plusieurs espèces de la flore européenne et décrit les complexes suivants : laxans, undans, tingens, percurvans, augens, subcurvans et subpingens (de silesiaca^o). Renner (1956) décrit l'espèce hoelscheri, il y retrouve par les caractères morphologiques les complexes undans et rubens. Il en est de même pour issleri chez qui il reconnait les complexes connus rubens et curvans. Cleland R. E. (1950) décrit le complexe neoacuens, issu d'acuens. En collaboration avec Hemmond B.M. (1950), ce même auteur définit les formules de punctulans et de truncans.

^o Subpingens de parviflora est encore inconnu.

Tableau 1 : FORMULE CHROMOSOMIQUE DES COMPLEXES DES ESPECES STANDARD.

(selon la numérotation Catcheside - Renner)

i) Complexe de référence :

^hhookeri: 1.2 3.4 5.6 7.8 9.10 11.12 13.14

2) Complexes différant de ^hhookeri par 1 ou 2 translocations :

flavens standard :	1.4	2.3	5.6	7.8	9.10	11.12	13.14
velans	1.2	3.4	5.8	6.7	9.10	11.12	13.14
h franciscana							
excellens h purpurata	1.2	3.4	5.6	7.10	8.9	11.12	13.14
h dilatans	1.4	2.3	5.6	7.10	8.9	11.12	13.14
h blandina	1.2	3.4	5.6	7.10	8.13	9.14	11.12

3) <u>Complexes</u> différant de ^hhookeri par plus de 2 translocations

aemulans	1.2	3.11	4.9	5.6	7.10	8.14	12.13
albicans	1.4	2.14	3.6	5.7	8.9	10.12	11.13
augens	1.2	3.13	4.12	5.6	7.10	8.11	9.14
curtans	1.7	3.4	5.8	2.10	9.12	6.11	13.14
curvans	1.14	2.3	4.6	5.13	7.11	8.9	10.12
elongans	1.4	2.3	5.10	6.7	9.14	8.13	11.12
flavens-s	1.4	2.3	5.6	7.10	8.11	9.12	13.14
flectens	1.4	2.3	5.7	6.10	8.9	11.13	12.14
gaudens	1.2	3.11	4.9	5.6	7.12	8.14	10.13
rubens							
laxans	1.2	3.10	4.7	5.8	6.9	11.13	12.14
neoacuens	1.13	2.3	4.14	5.6	7.10	8.9	11.12
percurvans	1.14	2.9	3.5	4.12	6.8	7.10	11.13
punctulans	1.4	2.5	3.9	6.11	7.8	10.12	13.14
quaerens	1.2	3.11	4.14	5.6	7.10	8.13	9.12
rigens	1.2	3.4	5.6	7.12	8.14	9.10	11.13
subcurvans	1.14	2.9	3.10	4.5	6.13	7.11	8.12
subpingens	1.13	2.10	3.4	5.8	6.9	7.14	11.12
tingens	1.7	2.8	3.4	5.11	6.12	9.10	13.14
truncans	1.13	2.5	3.7	4.6	8.11	9.14	10.12
undans	1.4	2.3	5.10	6.7	8.14	9.13	11.12



En collaboration avec Hirmer U. (1956), Renner décrit l'espèce conferta et y découvre le même complexe velons de lamarckiana, appelé convelons, et le complexe aemulans. Enfin, Rossmann G. (1963) décrit les deux complexes de coronifera : quaerens et paravelans.

Dans le tableau 1 sont présentées les formules chromosomiques des complexes utilisés pour l'analyse cytogénétique, dans l'ordre d'un nombre croissant de translocation par rapport à *hookeri*.

C. - LES RELATIONS GENOME-PLASTOME

Depuis les travaux de Renner (1936) sur les plantes chimères apparues chez les hybrides F1, il est connu qu'il existe des barrières entre espèces par la dégénérescence de la plante hybride : certains hybrides sont jaunâtres et chétifs, d'autres ne dépassent pas le stade plantule, d'autres restent à l'état d'embryon, incapable de germer.

Stubbe W. (1960, 1963) montre que le développement du plastome est inhibé par une réaction de disharmonie entre ce dernier et le génome diploïde de la plante. Par une suite de croisements ordonnée, l'auteur place des combinaisons de deux complexes dans des plastomes différents, et il observe des degrés d'inhibition différents. Il distingue ainsi cinq plastomes, numérotés de I à V, et trois types de génome, A, B, C. La répartition des complexes par groupe de génome suit la systématique des espèces du sous-genre Eu-Oenothera : le génome A regroupe les complexes hookeri, et strigosa, le génome B les complexes biennis et le génome C, les complexes parviflora. Le tableau 2 donne la liste des complexes par type de génome et le tableau 3 la liste des espèces par type de plastome. Dans le tableau 1, p. 18 sont portégiles combinaisons génome-plastome. Au tableau 4 sont présentées, en échiquier, toutes les combinaisons génome-plastome avec le degré de vigueur de la plante. Cet échiquier permet de déterminer sur les hybrides F₁ les génomes et le plastome de la plante analysée.

Tableau 2 : Les complexes répartis par groupe de génome etleur plastome d'origine

(d'après STUBBE W., 1960)

Symbole	Complexe	Plastome d'origine
	albicans	II
	hblandina	III
	calvens	II
	convelans	II
	curtans	I
	elongans	I
	hfranciscana	I
	hhookeri	I
	laxans	I
Α	parave lans	II
	punctulans	III
	hpurpurata	II II
	rigens	IV
	subve lans	II
	tingens	II
	truncans	III
	undans	I
	velans	III
	virens	III
	aemulans	II
	augens	I
	cruens	III
	excellens	III
	flavens	II
В	gaudens	III
	glabrans	II
	pingens	IT
	neoacuens	III
	quaerens	II
	rubens	II
	subpingens	VI
**************************************	curvans	IV
	hdilatans	v
0	flectens	IV
C	percurvans	IV
	praecurvans	IV
	subcurvans	IV

LIL:

Tableau 3 :

Type de PLASTOME

des espèces du genre Eu-Oenothera.

(d'après Stubbe W.,1960).

Symbole	Plastome	Symbole	Plastome
I	Oe. cockerelli Oe. franciscana Oe. hookeri Oe. hungarica	III	Oe. chicaginensis Oe. ersteinensis Oe. lamarckiana
II	Oe. biennis Oe. conferta Oe. coronifera Oe. conferta rubrisepala Oe. coronifera rubrisepala Oe. hoelscheri Oe. nuda Oe. rubricaulis.	IV	Oe. ammophila Oe. atrovirens Oe. parviflora Oe. rubricuspis Oe. silesiaca Oe. syrticola Oe. argillicola.

Combinaison GENOME-PLASTOME des espèces

d'Eu-Oenothera .



blanc vert normal (viridis) létal vert pâle (c hl ori na) vert jaunâtre (lutescens) légèrement jaunâtre $\mathbf{\tilde{\Theta}}$ lutescens par période diversivirescens vert jaunâtre à jaune virescens blanc ou jaune (albina ou xantha)

882 1111 Tableau 4 :

II. ANALYSE CYTOGENETIQUE DE SPECIES NOVAE (+)

4

OENOTHERA ERSTEINENSIS Linder R. et Jean R. (1969).

-2-2-2-2-2-

De la diagnose floristique et cytogénétique (LINDER R. et JEAN R., 1969), nous extrayons les caractères essentiels. *Oe. ersteinensis*, qui colonise les alluvions du Rhin, est reconnaissable par sa tige droite, densément pubescente et fortement ponctuée, son feuillage vert-jaunâtre à nervure rouge, la rosette discrètement maculée, le bouton floral jaunâtre, petit, lavé de rouge, aux pointes courtes appliquées, la fleur petite et mésostyle.

La figure de caténation est un anneau de 14 chromosomes. (Pl. II, 2)

Le pollen est à 3 classes de grains, le grain inactif est très proche du grain vide.(Pl. I.)

Les complexes sont :

. cruens qui apparaît dans l'ovule ; il peut aussi apparaître dans le pollen ;

. virens qui apparaît uniquement dans le pollen.

Nous développons l'analyse factorielle et structurale des complexes.

(+) Cette recherche est réalisée avec la collaboration technique de Madame Madeleine BAEHL.



	Croisements	Combinaison des complexes	Diacinèse	Croisements réciproques	Combinaison des complexes	Diacinèse
a)	Hybrides des espèces <u>ho</u> r	mozygotes.				
1.	Oe.ersteinensis x Oe.hookeri	cruens- ^h hookeri	6,4,4.	Oe.hookeri x Oe.ersteinensis	^h hookeri-virens ^h hookeri-cruens (2 %)	8,4,2. 6,4,4.
2.	Oe.ersteinensis x Oe.blandina	cruens- ^h levans	8,4,2.	Oe.blandina x Oe.ersteinensis	h hlevans-virens levans-cruens (1 %)	8,4,2. 8,4,2.
3.	Oe.ersteinensis x Oe.franciscana	cruens- ^h franciscana	4,4,4,2.	Oe.franciscana x Oe.ersteinensis	^h franciscana-virens	4,4,4,2.
4.	Oe.ersteinensis x Oe.purpurata	cruens- ^h purpurata	4,4,4,2.	Oe.purpurata x Oe.ersteinensis	h purpurata-virens ^h purpurata-cruens (24 %)	4,4,4,2. 4,4,4,2.
b)	Hybrides des espèces du	groupe <u>Strigosae</u> .				
5.	Oe.ersteinensis x Oe.cockerelli	cruens-elongans	14.	Oe.cockerelli x Oe.ersteinensis	curtans-virens	6,2,2,2,2.
6.	Oe.ersteinensis x Oe.hungarica	cruens-undans	14.	Oe.hungarica x Oe.ersteinensis	laxans-virens (92%) laxans-cruens (8%)	8,6. 10,2,2.
c)	Hybrides des espèces du	groupe <u>Strictae</u> .				
7.	Oe.ersteinensis x Oe.biennis	cruens-rubens	14.	Oe.biennis x Oe.ersteinensis	albicans-virens (47%) rubens-virens (53%)	14. 14.
8.	Oe.ersteinensis x Oe.chicaginensis	cruens-punctulans	14.	Oe.chicaginensis x Oe.ersteinensis	excellens-virens	4,4,4,2.

เข

.6	0e.ersteinensis x 0e.conferta	cruens-convelans	10,4.	Oe.conferta x Oe.ersteinensis	aemulans-virens (48%) convelans-virens(52%)	10,4.
10.	Oe.ersteinensis x Oe.coronifera	cruens-paravelans	10,4.	Oe.coronifera x Oe.ersteinensis	paravelans-virens (60%) quaerens-virens (40%)	12,2. 8,4,2.
11.	Oe.ersteinensis x Oe.coronifera forma rubrisepala	cruens-paravelans ^{r s}	10,4.	Oe.coronifera forma rubrisepala x Oe.ersteinensis	subvelans-virens (47%) subvelans-cruens (53%)	8,4,2. 10,4.
12.	Oe.ersteinensís x Oe.grandíflora	cruens-truncans (80%) cruens-neoacuens(20%)	12,2. 12,2.	Oe.grandiflora x Oe.ersteinensis	truncans-virens (75%) neoacuens-virens(25%)	6,6,2. 10,4.
13.	Oe.ersteinensis x Oe.hoelscheri	cruens-undans	14.	Oe.hoelscheri x Oe.ersteinensis	rubens-virens (19%) undans-virens (78%) undans-cruens (3%)	14. 14. 14.
14.	Oe.ersteinensis x Oe.lamarckiana	cruens-velans (98%) cruens-gaudens(2%)	10,4. 14.	Oe.lamarckiana x Oe.ersteinensis	velans-virens (80%) gaudens-virens(20%)	12 , 2. 14.
15.	Oe.ersteinensis x Oe.nuda	cruens-glabrans	12,2.	Oe.nuda x Oe.ersteinensis	calvens-virens	6,4,4.
16.	Oe.ersteinensis x Oe.rubricaulis	cruens-rubens	14.	Oe.rubricaulis x Oe.ersteinensis	tingens-virens (69%) tingens-cruens (31%)	10,2,2 8,4,2.
17.	Oe.ersteinensis x Oe.suaveolens	cruens-flavens	10,4.	Oe.suaveolens x Oe.ersteinensis	albicans-virens (61%) flavans-virens (13%) albicans-cruens (26%)	14. 10,4. 12,2.
1. H	ybrides des espèces du	t groupe <u>Cernuae</u> .		•		
18.	Oe.ersteinensis x Oe.ammophila	cruens-percurvans- létal	I	Oe.aumophila x Oe.ersteinensis	rigens-virens (95%) rigens-cruens (5%)	6,6,2. 8,4,2.
.61	Oe.ersteinensis x Oe.atrovirens	cruens-flectens- létal	I	Oe.atrovirens x Oe.ersteinensis	pingens-virens	12,2.



						- -
20.	Oe.ersteinensis x Oe.issleri	cruens-rubens- létal		Oe.issleri x Oe.ersteinensis	rubens-virens	14.
21.	Oe.ersteinensis x Oe.parviflora	cruens-sub curve ns- létal		Oe.parviflora x Oe.ersteinensis	augens-virens (85%) augens-cruens (15%)	8,4,2. 12,2.
22.	Oe.ersteinensis x Oe.rubricuspis	cruens-praecurvans- létal		Oe.rubricuspis x Oe.ersteinensis	paenepingens-virens (96%) paenepingens-cruens (4%)	10,2,2. 14.
23.	Oe.ersteinensis x Oe.silesiaca	cruens-subcurvans- létal	_	Oe.silesiaca x Oe.ersteinensis	subpingens-virens	10,2,2.
24.	Oe.ersteinensis x Oe.syrticola	cruens-curvans	12,2.	Oe.silesiaca x Oe.ersteinensis	rigens-virens(87%) rigens-cruens(13%)	6,6,2. 8,4,2.
e.	Hybrides des espèces d	u groupe <u>Argillicolae</u> .				
25.	Oe.ersteinensis x Oe.argillicola	cruens-dilatans- létal	—	Oe.argillicola x Oe.ersteinensis	dilatans-vi re ns	6,4,4.

N. B. : Les pourcentages marqués entre parenthèses indiquent le pourcentage d'individus dans le lot.

I. - L'ANALYSE FACTORIELLE DES COMPLEXES.

_ • • _ • • _ • • _

Le relevé des hybrides F₁ d'*ersteinensis* est donné dans le tableau 5 . Dans cette liste il faut dégager la F₁ issue du croisement *rubricaulis* x *ersteinensis*. Celle-ci est composée de 2 phénotypes :

l'un reproduit exactement le phénotype de l'espèce ersteinensis ; la combinaison de complexes est tingens - cruens ;

l'autre est de phénotype virida : combinaison de complexes tingens - virens.

Tingens est donc équivalent à *virens*, les 2 complexes doivent être homozygotes pour certains caractères, de sorte que l'hybride *tingens - virens* est un bon indicateur de la composition factorielle de *virens*.

A. - LE COMPLEXE MALE VIRENS

Dans la plupart des croisements, les hybrides virida ressemblent au phénotype de l'espèce standard ; c'est le cas pour les hybrides avec hookeri, blandina, cockerelli, hungarica, coronifera, lamarckiana, ammophila, syrticola, et argillicola. Le complexe virens transmet donc un ensemble de facteurs récessifs par rapport aux complexes femelles de ces espèces.

La composition factorielle de *virens* est surtout connue par l'hybride *tingens - virens*.

Virens transmet, comme tingens, les facteurs <u>mac</u>, <u>Sp</u>, <u>r</u>, <u>P</u>, <u>Co</u> et <u>Br</u>. Il détermine la pilosité courte et éparse de la tige, sa coloration verte, les raies violettes dans l'axe de l'inflorescence. La comparaison avec les autres hybrides confirme cette détermination factorielle : lorsque les espèces standard apportent les facteurs mac, r et Sp, l'hybride conserve ce phénotype (hybrides avec les espèces homozygotes et avec les espèces du groupe strigosae). En outre la plupart des hybrides virida présentent une feuille fine, de largeur moyenne, de teinte vert-franc et à nervure incolore.

Tableau 6 : Tailles comparatives du pétale des hybrides virida et cruenta.

Espèce croisée	Complexe combiné	Taille du pétale des		
avec ersteinensis		hybrides virida	hybrides cruenta	
Espèces homozygotes				
0e. hookeri	^h hookeri	17/19	24/26	
0e. blandina	^h blandina	22/25	23/27	
0e. purpurata	h _{purpurata}	19/22	20/24	
<u>Strigosae</u>				
0e.hungarica	laxans	17/17	17/17	
<u>Strictae</u>				
0e. coronifera ^{re}	subvelans	24/33	27/30	
0e.grandiflora	truncans	32/35	31/35	
	neoacuens	28/33	30/35	
0e. hoelscheri	undans	18/19	19/23	
0e. rubricaulis	tingens	16/16	17/19	
0e. suaveolens	albicans	26/28	26/33	
Cernuae				
0 e. ammophila	rigens	13/12	13/12	
0e. parviflora	augens	13/13	13/13	
0 e. syr ticola	rigens	13/12	13/12	



Le facteur Co de la taille de la corolle est analogue à celui de *rubricaulis*. En général la corolle des hybrides *virida* est plus petite que celle des hybrides *cruenta*. Ce caractère se dégage de la comparaison des tailles de corolles chez les hybrides où le même complexe est combiné à *virens* et à *cruens* (cf. tableau 6).

Il faut cependant relever une différence factorielle entre les complexes virens et tingens. Le complexe virens transmet le facteur de la striation des sépales Str qui est lié au facteur P. En effet tous les hybrides virida montrent les sépales striés ou, le plus souvent, légèrement lavés de rouge.

Cet ensemble de facteurs, en particulier ceux qui déterminent la rosette non maculée, la pilosité de la tige, le limbe peu large et la nervure incolore de la feuille, classe le complexe *virens* dans le groupe des complexes *hookeri - strigosae* ou les complexes A, selon la définition de STUBBE, 1940.

B. - LE COMPLEXE FEMELLE CRUENS.

C'est chez les hybrides *cruens* que le phénotype d'*ersteinensis* est le plus apparent. En particulier, l'hybride *tingens - virens* qui apparaît dans le croisement *rubricaulis* χ *ersteinensis*, est remarquable puisqu'il reproduit la morphologie de l'espèce parentale.

Le complexe cruens transmet les caractères morphologiques spécifiques qui se révèlent bien chez les cruenta obtenus à partir des espèces homozygotes. Cruens transmet les facteurs Mac, R, Sp. Il détermine en outre la feuille au limbe épais, large et vert-jaunâtre, la tige rouge-sang, densément ponctuée et fortement pubescente, et la striation rose des sépales, et la taille assez petite de la corolle et du bouton floral.

Certains de ces caractères demandent quelques précisions. L'expression du phénotype maculata des feuilles de la rosette est discrète, visible seulement à la suite d'une observation minutieuse. Les taches d'anthocyane sont fines, atténuées et irrégulièrement réparties, comme chez l'espèce ellemême. La dominance du facteur Mac est affaiblie, de sorte que le phénotype peut ne pas s'exprimer : c'est le cas chez les hybrides avec chicaginensis, cockerelli, conferta et chez la plupart des hybrides cruenta où le complexe cruens est transmis par le pollen.

La ponctuation forte et serrée de la tige montre que le facteur P^{cru} est proche ou analogue dans son action, au facteur P^{vel} du complexe velons de lamarckiana. Il en est de même pour le facteur Str.

La pilosité dense et longue, déterminée par le facteur Pil, rappelle également l'action du complexe *velons*.

Le facteur R est faiblement dominant. Nous n'avons pas observé son échange entre les complexes *cruens* et *virens*. Il est strictement lié au complexe *cruens*.

D'après les travaux de RENNER (1921 et 1933), nous savons qu'un facteur de létalité est lié au facteur R chez *rubens* et gaudens. Ce facteur rend létales les combinaisons homozygotes R/R. Les combinaisons cruens - glabrans sont déficientes, cruens - rubens et cruens - gaudens montrent une forte inhibition de croissance, elles demeurent souvent à l'état de rosette avec rejets latéraux.

En résumé, le complexe *cruens* transmet les caractères des complexes de type *biennis* : la rosette maculée, la feuille large, la tige pubescente. Mais la richesse en anthocyane des tissus caulinaires confère aux hybrides *cruenta* un phénotype *velutina*.

C. - <u>LA COMPARAISON DES HYBRIDES CRUENTA ET VIRIDA</u> ET L'HETEROGAMIE RELATIVE D'ERSTEINENSIS.

Pratiquement nous reconnaissons l'action des complexes virens ou cruens d'après les caractères réunis dans le tableau 8.

Puisque ersteinensis est homozygote P Str/P Str, la ponctuation et la striation des sépales, d'observation si aisée, ne peut intervenir dans la distinction entre les hybrides réciproques. Celle-ci doit reposer sur d'autres caractères. Au fur et à mesure de nos relevés morphologiques, nous avons retenu ce contraste entre un hybride à tige rouge-sang jusque dans l'axe de l'inflorescence, densément pubescente et ponctuée, à feuille large, épaisse, vert-jaunâtre et à nervure rouge, et un hybride à tige verte, pubescente et ponctuée, dont l'axe de l'inflorescence est souvent veiné de violet, et à feuille vert-foncé avec la nervure blanche. Cette opposition a guidé notre

Espèces standard du croisement standard x <i>ersteinensis</i>	Proportion des hybrides cruenta	
Espèces homozygotes		
Oe, hookeri	6/270	(2 %)
0e. hlonding	2/200	(1 🖇)
0e. franciscana	0/360	(0 %)
0e. purpurata	86/350	(24 \$)
Strigosae		
0e. cockerelli	0/25	
0e.hungarica	2/25	
Strictae		
0e. biennis	0/45	
0e. chicaginensis	0/40	
0e. conferta	0/25	
0e. coronifera	0/37	
0e. coronifera rubrisepala	10/19	
0e. hoelscheri	1/37	
0e. grandiflora	3/24	
0e. lamarckiana	0/21	
0e. nuda	0/40	
0e.rubricaulis	15/49	
0 e. su aveolens	6/23	
Cernuae		
0e.ammophila	1/23	
0e. atrovirens	0/42	
0e. issleri	0/24	
0e. parviflora	4/26	
0e. rubricaulis	1/30	
0e. silesiaca	0/20	
0e. syrticola	7/55	
<u>Argillicolae</u> : Oe. argillicola	0/18	Total : 144/1783 ou 8 1

Tableau 7 : Proportion des hybrides cruenta apparaissant dans les croisements Oe. standard x Oe. ersteinensis. Tableau 8: Caractères morphologiques distinctifs des hybrides cruenta et virida.

Organe	Hybride <i>cruenta</i>	Hybride <i>virida</i>
Rosette	maculée	maculée ou non maculée
Tige	rou ge-sang et dens é ment pubescente	verte, veinée de violet dans l'axe de l'inflorescence
Feuille	limbe assez large, vert-jaunâtre nervure rouge	limbe peu large, vert-foncé nervure blanche ou rouge.

choix dans la dénomination des complexes : *cruens* de *cruentus* (rouge-sang) réfère à la tige rouge-sang ; *virens* (= vert)^x à la tige verte.

Parallèlement à cette hétérozygotie des complexes, nous avons découvert l'hétérogamie chez *ersteinensis*. Dans les croisements *ersteinensis* x espèce standard, il est toujours apparu un seul phénotype, le phénotype *cruenta*. Le complexe *cruens* est donc transmis par l'ovule.

Dans les lots des hybrides réciproques, (standard x *ersteinensis*) apparaît en majorité le phénotype *virida*; mais dans certains lots apparaissent aussi des hybrides *cruenta*. Les proportions des *cruenta* sont signalées dans le tableau 7.

On constate que les lots d'hybrides sont significativement différents pour la proportion des hybrides *cruenta*. Ceci est particulièrement manifeste dans les lots d'hybrides avec les homozygotes, pour lesquels nous avons constitué de grandes populations. Si l'on n'avait disposé que des résultats des hybrides de *franciscana*, on aurait conclu à l'hétérogamie stricte d'*ersteinensis*. Le résultat global des hybrides F_1 montre qu'*ersteinensis* n'est que relativement hétérogamétique du côté mâle.

X A cause de sa parenté factorielle avec *tingens*, le complexe mâle d'ersteinensis aurait pu être dénommé paratingens. Nous avons préféré une dénomination nouvelle, car la formule chromosomique de virens est très différente de celle de *tingens*.

Tableau n° 9. Développement de l'appareil végétatif des hybrides cruenta apparaissant dans le croisement de Oe. ersteinensis x Oe.standard

Génome – plastome	Croisement	Appareil végétatif de l'hybride
BA/III	ersteinensis X hookeri (cruens - ^h hookeri) ersteinensis X franciscana (cruens - ^h franciscana) ersteinensis X cockerelli (cruens - elongas) ersteinensis X chicaginensis(cruens - punctulans) ersteinensis X conferta (cruens - punctulans) ersteinensis X coronifera (cruens - paravelans) ersteinensis X grandiflora (cruens - truncans) ersteinensis X hoelscheri (cruens - undans) ersteinensis X lamarckiana (cruens - velans)	Plante verte (viridis)
BB/III	ersteinensis χ suaveolens (cruens – flavens) ersteinensis χ grandiflora (cruens – neoacuens)	Plante verte (viridis)
BC/III	ersteinensis X ammophila (cruens – percurvans) ersteinensis X atrovirens (cruens – flectens) ersteinensis X parviflora (cruens – subcurvans) ersteinensis X rubricuspis (cruens – praecurvans) ersteinensis X silesiaca (cruens – subcurvans) ersteinensis X syrticola (cruens – curvans) ersteinensis X argillicola (cruens – dilatans)	Plantule pâle ou blanche (albina)

D. - LES REACTIONS GENOME - PLASTOME

Aucun hybride virida n'est fortement inhibé dans son développement.

Les hybrides avec syrticola et avec ammophila sont vert-pâle (phénotype chlorina). Dans le lot F_1 issu de lamarckiana x ersteinensis, l'aspect des rosettes permet de distinguer les 2 types d'hybrides : les rosettes maculées vertes qui correspondent à la combinaison gaudens - virens et les rosettes non maculées, pâles et fragiles (phénotype virescens) qui correspondent à la combinaison velans - virens.

Si nous superposons ces résultats à l'échiquier établi par STUBBE W., on voit que *virens* appartient au génome A qui réunit les complexes déterminant le phénotype *strigosae*.

Toutes les combinaisons de *cruens* avec *curvans*, *subcurvans*, *praecurvans* et *flectens* (génomes C) donnent des plantules non viables : la germination des graines est normale, mais les plantules de teinte blanchâtre dépérissent. Cette dégénérescence correspond au type *albina* (cf. tableau 9). Or, selon le schéma de STUBBE, seules les combinaisons BC **a**boutissent à ce phénotype. Donc le complexe *cruens* se comporte comme un génome B. En conclusion *Oe. ersteinensis* a un génome diploïde AB.

Le type de plastome d'*ersteinensis* se définit par le raisonnement suivant.

La combinaison génomique BC domne des plantules *albina* avec les plastomes de type I, II ou III. C'est à l'un de ces trois types de plastome que doit appartenir *ersteinensis*.

L'hypothèse du plastome I est à rejeter pour deux raisons :

1 - La combinaison AB/I donnerait une plante *lutescens*, mais celle-ci n'apparaît pas ;

2 - La combinaison BB/I est proche de la létalité, or les hybrides de type BB sont tous bien viables dans nos cultures (cf. tableau 9).

Nous levons l'alternative entre les plastomes II et III en comparant les combinaisons AB et BB dans ces mêmes plastomes. Chez les hybrides d'*ersteinensis*, les deux combinaisons AB et BB présentent le phénotype de plante verte normale (cf. tableau 9). Or, cette condition n'est réalisée qu'avec le plastome III. *Ersteinensis* est donc caractérisé par le plastome III, dénommé type *lamarckiana*.

En conclusion, Oe. ersteinensis est défini par :

- le complexe cruens, de type biennis ou génome B
- le complexe virens, de type strigosa ou génome A
- et le plastome III, de type lamarckiana.

II. - ANALYSE STRUCTURALE DES COMPLEXES.

_ • • _ • • _ • • _ • • _

A. - LE COMPLEXE VIRENS.

Les figures de caténation du complexe *virens* avec les complexes connus sont les suivantes:

Complexes hookeri-strigosae

$h_{hookeri \chi}$ virens	8, 4, 2
^h blandina χvirens	8,4,2
$h_{franciscana}$ χ virens	4, 4, 4, 2
^h purpurata χ virens	4, 4, 4, 2
curtans χ virens	6, 2, 2, 2,2
tingens χvirens	10, 2, 2
rigens χ virens	6, 6, 2
velans X virens	12, 2
paravelans X virens	12, 2
truncans X virens	6, 6, 2
calvens x virens	6, 4, 4
laxans X virens	8 , 6
albicans x virens	14

<u>DIACINESE</u> Figures de F₁

1.	Lamarckiana x	ersteinensis complexes: velan	(x1200) s - virens	12,2
2.	Suaveolens x	ersteinensis complexes: albic	(x1000) ans - virens	anneau (14)
3.	Coronifera x	ersteinensis complexes: parav	(x1000) elans - virens	12,2
4.	Ersteinensis	x cockerelli ruens - elongan	(x1200) s	anneau (14)
5.	Cockerelli x	ersteinensis urtans - virens	(x 1200)	6,2,2,2,2
6.	Ersteinensis	x franciscana ruens - ^h franci	(x1200) scana	4,4,4,2
7.	Nuda x silesi c	aca alvens - subcur	(x 900) vans	10,4
8.	Nuda x hungar c	ica alvens - undans	(x 900)	6,4,2,2
9.	Biennis x nud a	a lbicans - glabr	(x 900) ans	8,6

<u>DIACINESE</u>

Figures de F_l



Complexes biennis

augens χ virens	8 , 4, 2
quaerens X virens	8 , 4, 2
subpingens X virens	10, 2, 2
flavens X virens	10, 4
aemulans X virens	10 , 4
neoacuens X virens	10, 4
gaudens 🗙 virens	14

Complexes argillicolae

 $h_{dilatans \chi}$ virens

6, 4, 4

Les combinaisons de virens avec les complexes $h_{hookeri}$, $h_{blandina}$, $h_{franciscana}$, $h_{purpurata}$ et velans montrent un bivalent. Par contre la combinaison avec *flavens* est dépourvue de bivalent. Or les chromosomes dont les extrémités de bras sont numérotées I.2 et 3.4 sont les chromosomes que *flavens* ne possède pas en commun avec les complexes cités. Notre choix doit se porter sur l'un des deux chromosomes. *Laxans* possède le chromosome I.2, mais ne montre pas de bivalent avec virens. Donc le chromosome I.2 ne convient pas. Seul le chromosome 3.4 des complexes cités plus haut doit trouver son homologue dans le complexe virens.

Virens possède le chromosome 3.4.

Ce chromosome satisfait également à l'homologie dans les combinaisons de virens avec tingens, subpingens et rigens. Il nous reste à déterminer la structure des bivalents qui apparaissent dans les combinaisons avec augens et tingens (2° bivalent), truncans et curtans.

Dans la formule chromosomique du complexe *augens*, nous pouvons éliminer les chromosomes suivants :-3.13 et 4.12 qui sont impossibles, puisque *virens* possède le chromosome 3.4,-9.14 et 7.10 qui donneraient respectivement avec *hfranciscana* et *hblandina* un bivalent supplémentaire. Les chromosomes I.2 et 5.6 ne sont pas à envisager, car ils donneraient deux bivalents supplémentaires avec *hhookeri*. Seul le chromosome 8.11 participe au bivalent de la combinaison *augens* χ *virens*. Virens possède le chromosome 2.11.

Ce chromosome 8.11 donne également le seul bivalent avec truncans.

Le 2° bivalent de la combinaison *tingens X virens* reste à définir. D'après les chromosomes de *virens* que nous venons de déterminer, nous ne pouvons prendre en considération que les chromosomes I.7 ou 12.6 de *tingens*.

Nous levons cette alternative par la construction d'un anneau de 4 chez l'hybride ^hpurpurata-virens; nous pouvons en effet à partir du chromosome 8.11 boucler l'anneau de 4 par le chromosome 12.9 :

> 8.11 <u>12.9</u> virens 9.8 11.12 hpurpurata

Virens possède donc le chromosome 9.12

De ce fait, le chromosome 12.6 ne peut être pris en considération. *Tingens* et *virens* possèdent donc en commun le chromosome 1.7.

Virens possède le chromosome 1.7

A partir du chromosome I.7, nous pouvons construire le 2° anneau de 4 de la combinaison $h_{purpurata} - virens$

> virens I.7 <u>10.2</u> hpurpurata 2.**I**. 7.10

Virens possède le chromosome 2.10

Nous devons finalement rechercher l'arrangement des bras de chromosomes 5,6,13,14. Trois éventualités sont offertes :

a) 5.6 et 13.14
b) 5.13 et 6.14
c) 6.13 et 5.14

Nous savons que (a) est impossible. Les deux éventualités (b) (c) permettent chacune de construire l'anneau de 4 avec *hpurpurata*. Mais dans la combinaison *laxans* χ *virens* nous connaissons entièrement l'anneau de 6 et incomplètement celui de 8:

laxans	I.2	10.3	4.7	5.	8 11	.13	6.	.9	12.14
virens	2.1	0 3.1	+ 7.I	?.5	8.11	13.?	?.6	9.12	14.?

Pour boucler l'anneau de 8, il faut insérer 13.6 et 5.14. La possibilité (c) satisfait donc à cette figure de caténation.

Virens possède les chromosomes 5.14 et 6.13.

La formule chromosomique du complexe virens s'énonce ainsi : 1.7 2.10 3.4 5.14 6.13 8.11 9.12

B. - LE COMPLEXE CRUENS

Les figures de caténation du complexe *cruens* avec les autres complexes standard sont les suivants:

Complexes hookeri-strigosae

cruens χ ^h hookeri	6, 4, 4
cruens χ^h blandina	8,4,2
cruens χ ^h franciscana	4, 4, 4, 2
cruens χ ^h purpurata	4, 4, 4, 2
rigens X cruens	8, 4 , 2
tingens X cruens	8,4,2
laxans X cruens	10, 2, 2
truncans X cruens	12, 2
albicans suav. X cruens	12, 2
cruens X velans	10, 4
cruens X paravelans	10, 4
cruens Xconvelans	10, 4
cruens χ elongans	14
cruens x punctulans	14
cruens χ undans	14

Complexes biennis

augens	χ	cruens	12,	2	
cruens	χ	neoacuens	12,	2	
cruens	χ	glabrans	12,	2	
cruens	χ	flavens	10,	4	
cruens	χ	rubens	14		

Complexes parviflora

cruens χ curvans

12, 2

Les combinaisons avec h franciscana et h blandina comportent un bivalent que ne montrent pas les combinaisons avec h hookeri, velans et flavens. Ces trois complexes n'ont pas le chromosome 7.10 qui est commun aux deux complexes h franciscana et h blandina.

Cruens possède donc le chromosome 7.10.

Ce chromosome entre dans la constitution des bivalents des combinaisons avec augens, neoacuens et glabrans.

Le complexe *rigens* qui montre un bivalent avec *cruens* ne peut le former qu'avec le chromosome 11.13 ou 8.14. (En effet les chromosomes I.2, 3.4, 5.6 et 9.10 sont à éliminer, car ils donneraient un bivalent avec *Oe. hookeri* ; et le chromosome 7.12 ne peut trouver d'homologue chez cruens qui possède le chromosome 7.10.) Or le complexe *undans* comporte le chromosome 8.14, mais *undans* forme un anneau de 14 avec *cruens*. Donc le chromosome 8.14 n'existe pas chez *cruens*. Le chromosome 11.13 est donc seul possible.

Cruens possède le chromosome 11.13

Ce chromosome satisfait également aux bivalents qui apparaissent avec le complexe *albicans* et *laxans*.

Le chromosome 11.13 participe à l'un des anneaux de 4 de la combinaison cruens χ^h franciscana. Nous connaissons trois chromosomes de cet anneau et en déduisons le 4° qui est 14.12.

> cruens 11.13 <u>14.12</u> ^hfranciscana 12.11 13.14

Cruens possède le chromosome 12.14

La détermination de ces trois chromosomes 7.10 11.13 et 12.14 réduit le choix du bivalent de la combinaison *tingens* χ *cruens* au chromosome 2.8.

Cruens possède le chromosome 2.8

Avec celui-ci nous reconstituons le 2° anneau de l'hybride *cruens* x franciscana :

cruens 2.8 <u>9.1</u> franciscana I.2 8.9 En fonction de ces données, seul le chromosome 4.6 du complexe truncans fournit le bivalent qui apparaît chez l'hybride truncans.cruens.

Cruens possède le chromosome 4.6. Celui-ci participe au 3° anneau de l'hybride cruens-franciscana : cruens 4.6 <u>5.3</u> hfranciscana 3.4 6.5 Le chromosome 5.3 ferme la boucle de l'anneau de 4. Cruens possède le chromosome 3.5. La formule chromosomique de cruens s'établit ainsi : 1.9 2.8 3.5 4.6 7.10 11.13 12.14

En diacinèse des cellules-mères de pollen, *Oe. ersteinensis* montre un anneau de 14 qui est justifié par la structure de chaque complexe :

> virens I.7 10.2 8.11 13.6 4.3 5.14 12.9 cruens 7.10 2.8 11.13 6.4 3.5 14.12 9.I

Cette disposition des segments de chromosomes des complexes cruens et vinens satisfait à toutes les figures de caténation observées en diacinèse chez les hybrides d'Oe. ersteinensis. Nous donnons pour confirmation les configurations chromosomiques de quelques hybrides.

- les hybrides virida

ⁿ hookeri virens	1.2 10 2.10	.9 12. 9.12	11 8 11.8	.7 7.1	5.6	13.1 6.13	14.5	3.4 = 8, 4, 2.
hblandina	5.6 13	.8 11.	12. 9	.14	· I.	.2 10	0.7	3.4
virens	6.13	8.11	12.9	14.5	5	2.10	7.1	3.4 * 8, 4, 2
ourtans	5.8 11	.6 13.	14	I.7	3.4	2.10	9.12	
virens	8.11	6.13	14.5	I.7	3.4	2.10	9.12	• 6,2,2,2,2

- les hybrides cruenta

I.2 8.7 3.4 6.5 11.12 14.13 hookeri 10.9 = 6,4,4 cruens 2.8 7.10 9.I 4.6 5.3 12.14 13.11 ^hfranciscana I.2 8.9 3.4 6.5 11.12 14.13 7.10 $4.6 5.3 12.14 13.11 7.10^{= 4, 4, 4, 2}$ 2.8 9.1 cruens

III. - RELATION ENTRE LA FORMULE CHROMOSOMIQUE ET LE GENOME.

_00_00_00_00_

Renner (1926) et R. E. Cleland (1963) ont montré qu'une parenté génomique va de pair avec une similitude partielle dans l'arrangement des segments de chromosomes. Certaines translocations caractérisent un génome.

Cléland pense que la race "Johansen" de l'espèce Oe. hookeri réalise l'arrangement originel des segments de chromosomes pour les Eu-Oenothera du continent américain qui est :

I.2 3.4 5.6 7.10 8.9 11.12 13.14

Nous passons de cette formule de base aux formules que nous avons déterminées par une suite de translocations qui ont pu s'effectuer de la manière suivante :

a) pour le complexe *virens* complexe originel : <u>I.2</u> <u>7.10</u> 3.4 <u>5.6</u> <u>13.14</u> <u>8.9</u> <u>11.12</u> *virens* : I.7 2.10 3.4 5.14 6.13 8.11 9.12

b) pour le complexe cruens

I.2 8.9 3.4 5.6</u>7.10 <u>11.12 13.14</u>

Pour les deux complexes de Oe. ersteinensis nous supposons ainsi trois séries de translocations réciproques. Or la configuration chromosomique de ^hfranciscana est identique à celle de ^hJohansen. Ces deux complexes donnent avec cruens trois anneaux de ⁴ chromosomes : ceux-ci sont l'image des trois translocations réciproques.

Ce nombre de translocations est relativement bas. De ce fait, les formules chromosomiques des complexes *virens* et *cruens* apparaissent simples

en comparaison avec celles d'autres complexes homologues d'espèces européennes (par ex. *albicans* et *rubens)*, pour lesquels il faut supposer une suite plus compliquée de translocations.

Les complexes du groupe hookeri-strigosa dont fait partie virens, sont caractérisés par les translocations entre les chromosomes 1.2 et 7.10 ou 5.6 et 13.14 ou 8.9 et 7.10. Nous avons supposé deux de ces translocations pour aboutir à la formule chromosomique de virens En outre le complexe curtans du groupe strigosa montre une grande similitude avec virens puisque 4 chromosomes des deux complexes sont identiques dans leur arrangement. Le complexe virens s'intègre donc bien dans le groupe des génomes strigosae à la fois par sa composition factorielle et sa configuration chromosomique.

Le complexe cruens n'offre qu'une translocation caractéristique du génome biennis, celle entre les chromosomes 11.12 et 13.14. Il est très éloigné des complexes du groupe biennis, sauf du complexe excellens de Oe. chicaginensis, espèce que nous avons déjà évoquée pour son homologie avec Oe. ersteinensis.

CONCLUSION

La convergence remarquable des conclusions, déduites de l'analyse factorielle, des relations génomes-plastomes et de la structure chromosomique des complexes, illustre l'unité du genre *Oenothera*.

Oc. ersteinensis est caractérisée par le plastome de type lamarckiana ; le complexe femelle, cruens, appartient au génome biennis (génome B) et le complexe mâle au génome strigosa (génome A). Elle est comme Oc. chicaginensis une biennis I, selon la classification de Cleland.

A cause de ses caractères cytogénétiques, *Oe. ersteinensis* est particulièrement isolée des espèces du groupe *Cernuae*, de *Oe. biennis* et de *Oe. lamarckiana*. En population naturelle, elle peut donc demeurer homogène et échapper à un mélange par hybridation avec les espèces environnantes.

Le complexe cruens transmet des caractères de Oe. lamarckiana, propres au complexe velans, de Oe. atrovirens ou de Oe. silesiaca, propres aux complexes pingens ou subpingens et de Oe chicaginensis, propres au complexe excellens, espèces toutes présentes en Alsace.

Le complexe virens par sa composition factorielle se superpose dans l'ensemble au complexe tingens de Oe. rubricaulis. Cette espèce étant localisée en Allemagne du Nord (Rudloff, 1929), il y a là un grand hiatus stationnel qui s'oppose à un lien de parenté. En outre tingens et virens ont deux formules chromosomiques assez différentes. La ressemblance factorielle entre les deux complexes tiendrait donc plutôt d'une convergence de forme que d'une parenté. Virens pourrait dériver d'un complexe du groupe strigosa d'une espèce inconnue ou disparue.

Ces hypothèses sont corroborées par la biologie particulière des Oenothères qu'il faut garder à l'esprit.

En effet, la létalité compensée et l'autofertilité maintiennent l'hétérozygotie des complexes. Dans ces conditions, dès qu'apparaît un hybride fécond et viable dans une population, l'innovation restera liée à cette population qui forme un clone génétique. Il en résulte un éventail de formes qui ont entre elles une étroite parenté génétique.

En outre sur le plan écologique, les Oenothères européennes sont des pionnières : elles colonisent le sol nu, souvent en groupement monospécifique. Etoffées ultérieurement par la progression de la strate herbacée, elles sont éliminées, tandis qu'en d'autres endroits s'étendent de nouvelles populations qui éventuellement engendrent de nouvelles espèces. Il est ainsi permis de supposer que des espèces proches de *Oe. rubricaulis* ont pu exister dans la plaine rhénane.

OENOTHERA NUDA Renner (1956)

Nous présentons un résumé de la monographie publiée en 1966.

En 1947, une Oenothère de type glabre a été trouvée dans le Dauphiné par A. CAGNIEU qui l'a définie comme *Eu-Oenothera* à caténation totale. La station s'étend de part et d'autre de Saint-Laurent-du-Pont, à l'entrée du massif de la Grande-Chartreuse, sur le talus d'une ancienne voie ferrée, le long de la route qui mène aux Echelles, et à Fourvoirie, en direction du Monastère.

Les graines offertes dans le catalogue du Jardin botanique de Strasbourg permirent à RENNER de la mettre en culture ; il l'a reconnue comme espèce nouvelle, hétérogame, et l'a appelée *Oenothera nuda* à cause de la glabrescence transmise par les deux complexes, dénommés pour cette raison calvens (2) et glabrans (d). (RENNER 0. 1956).

Les caractères systématiques sont les suivants :

Rosette à feuilles nettement maculées. Tige robuste, lisse, verte, non ponctuée. Pilosité très éparse, soyeuse, à poils minuscules et redressée vers le haut. Feuille plane, étroite, longueur = 5 à 6 fois la largeur (en moyenne 100/18 mm), plus large à la base, et régulièrement amincie vers la pointe, bord nettement denté, nervure rouge. Bouton floral svelte, glabre, vert, légèrement jaunâtre au niveau des sépales. Pointes des sépales longues, fines, accolées à la base, parallèles et légèrement écartées au sommet ; l'extrémité est colorée de rouge. Fleur à corolle plane, scutellée, d'un jaune lumineux, pétale 20/22 mm. Configuration chromosomique en diacinèse : caténation totale en un seul anneau de 14 chromosomes, (Pl. 25, 2). Pollen à trois classes de grains (Pl. 26, 2) : grains actifs et inactifs ont une taille identique ; cependant chez les grains inactifs, le corps du grain entre les trois ballonnets est plus rétréci.
A. - L'ANALYSE FACTORIELLE DES COMPLEXES

Nuda est strictement hétérogamétique. Dans les croisements réciproques, calvens apparaît toujours du côté femelle, et glabrans du côté mâle.

Calvens détermine le phénotype suivant : rosette de feuilles non maculées, tige verte, glabrescente, non ponctuée ; feuille à nervure incolore, bouton floral vert-jaunâtre à pointes fines. *Glabrans* s'oppose à calvens par les caractères suivants : rosette de feuilles maculées, feuille à nervure rouge, bouton floral vert en forme de tonnelet à pointes rougeâtres.

Par les relations génome-plastome chez les hybrides F_1 , on démontre que *calvens* appartient au groupe de génomes A et *glabrans* au groupe de génomes B. Le plastome de *nuda* est de type II.

B. - L'ANALYSE STRUCTURALE DES COMPLEXES

Les figures de diacinèse des hybrides F₁ sont les suivantes :

Cı	roiser	ner	nt e	xpérimental	Combinaison réalisée	Configuration en diacinèse	n
0e.	nuda	χ	0e.	hookeri	calvens ^h hookeri	10, 2, 2	
0e.	nuda	χ	0e	franciscana	calvens- ^h franciscana	8, 2, 2, 2	
0e.	nuda	χ	0e	suaveolens	calvens-flavens	8, 2, 2, 2	
0e.	n uda	χ	0e.	biennis	calvens-rubens	8 , 6	
0e.	nuđa	χ	0e.	syrticola	calvens-curvans	10, 2, 2	
0e.	nuda	χ	0e.	silesiaca	calvens-subcurvans	10, 4	
0e.	nuda	χ	0e.	blandina	calvens ^b blandina	8,4,2	
0e.	nuda	χ	0e.	lamarckiana	calvens-velans	10, 2, 2	
0e.	nuda	χ	0e.	hungarica	calvens-undans	6, 4, 2, 2	
0e.	nuđa	χ	0e.	ammophila	calvens-percurvans	14	
0e.	nuda	χ	0e.	purpurata	calvens-purpurata	8,2,2,2	
0e.	nuda	χ	0e.	chicaginensis	calvens-punctulans	6 , 6 , 2	
0e.	nuda	χ	0e.	grandiflora	calvens- neoacuens	8,2,2,2	
0 e .	nuda	χ	0e	rubricuspis	calven s- praecurvans	10, 4	

0e.	hookeri χ Oe. nuda	h _{hooker} i-glabrans	10, 2, 2
0e.	franciscana χ Oe.nuda	^h franciscana-glabrans	8, 2, 2, 2
0e.	blandina χ Oe. nuda	^h blandina-glabrans	8, 2, 2, 2
0e.	biennis χ Oe. nuda	albicans-glabrans	8 , 6
0e.	rubricaulis χ Oe. nuda	tingens-glabrans	14
0e.	lamarckiana χ Oe. nuda	velans-glabrans	12, 2
0e.	hungarica χ Oe. nuda	laxans-glabrans	12, 2
0e.	syrticola χ Oe. nuda	rigens-glabrans	8, 2, 2, 2
0e.	silesiaca χ Oe. nuda	subpingens-glabrans	14
0e.	parviflora χ Oe. nuda	augens-glabrans	8, 2, 2, 2
0e.	issleri χ Oe. nuda	curvans-glabrans	14
0e.	purpurata χ Oe. nuda	purpurata-glabrans	8, 2, 2, 2
0e.	chicaginensis χ Oe. nuda	excellens-glabrans	8, 2, 2, 2
0e.	grandiflora χ Oe. nuda	truncans-glabrans	14
0e.	suaveolens χ Oe. nuda	flavens- glabrans	12, 2

Par la même méthode d'analyse combinatoire, développée pour *ersteinensis*, on démontre que la formule chromosomique des complexes de *nuda* s'énonce de la manière suivante :

glabrans	I.2	3.11	12.13	14.8	9.4	10.7	5.6
calvens	2.	3 11	. 12 13	.14 8.	94.	.10 7	.5 6.1

Conclusion :

Dans les combinaisons expérimentales, *calvens* se comporte comme le complexe *albicans* d'*Oenothera biennis*; pourtant ces deux complexes n'ont que deux chromosomes communs : 5.7 et 8.9 ; mais les translocations qui structuralement les séparent, n'effacent pas la parenté du patrimoine héréditaire.

Pour *glabrans* par contre, l'analogie avec *rubens* d'*Oe. biennis* est plus accusée ; cinq chromosomes leur sont communs : I.2, 3.11, 4.9; 5.6, 8,14 ; ils ne diffèrent donc que par une seule translocation. Cette

34

similitude de constitution les rend incompatibles : la combinaison *rubens*glabrans est létale. La structure chromosomique de glabrans se retrouve dans aemulans, complexe d'Oenothera conferta du littoral de Normandie ; mais aemulans réalise avec *rubens* une combinaison viable.

CONCLUSION A LA METHODE TAXONOMIQUE

On voit que si la diagnose de l'espèce dans le sous-genre Eu-Oenothera demande une longue analyse expérimentale, les résultats taxonomiques sont d'autant plus riches. Ceux-ci sont remarquables par leur concordance. La composition factorielle du complexe concorde avec le type de génome ; les relations de parenté factorielle entre complexes sont confirmées par la structure chromosomique des complexes. Ceci prouve l'unité du sous-genre Eu-Oenothera.

Les résultats taxonomiques permettent également d'intégrer l'espèce nouvelle dans la flore régionale. Car les caractères caryologiques et le type de plastome sont des caractères "marqueurs" sûrs qui relient les espèces entre elles.

On aboutit donc dans le sous-genre Eu-Oenothera à un profil taxonomique détaillé de l'espèce.

BIBLIOGRAPHIE

AFZELIUS, B.M. - 1956 - Electron - microscope investigations into exine stratification. *Grana palynol., <u>1</u>, 22-37*.

- ARNOLD, C.G. 1963 Die Plastiden als Erbträger extraplastidaler Merkmale. Ber. dtsch. bot. Ges., <u>76</u>, 3-12.
- ARNOLD, C.G. 1967 Zur Plasmavererbung bei Oenothera. Ber. dtsch. bot. Ges., 80, 124-127.
- ARNOLD, C.G. 1970 Ausserkaryotische Vererbung von Pollensterilität bei Oenothera Theor. and appl. Genetics, 40, 241-244.
- BAERECKE, M.-L. 1944 Zur Genetik und Cytologie von Oenothera ammophila Focke, Bauri Boedijn, Beckeri Renner, parviflora L., rubricaulis Klebahn, silesiaca Renner. Flora, 138, 57-92.
- BEER, R. 1906 On the development of pollen grain and anther of some Onagraceae. Bot. Centbl., 19 A, 286-313.
- BREWBAKER, J.L. 1967 The distribution and phylogenetic significance of binucleate and trinucleate pollen grains in the Angiosperms. Am. J. Bot., <u>54</u>, 1069-1083.
- CATCHESIDE, D.G. 1940 Structural analysis of Oenothera complexes. Proc. Roy. Soc. London, B 128, 509-535.
- CLELAND, R.E. 1950 a Studies in *Oenothera* cytogenetics and phylogeny. Indiana Univ. Publ. Sci., <u>16</u>, 5-9.
- CLELAND, R.E. 1950 b The origin of neoacuens. Indiana Univ. Publ. Sci., <u>16</u>, 73-81.
- CLELAND, R.E. 1958 The evolution of the North American Oenotheras of the "biennis" group. Planta, 51, 378-398.

- CLELAND, R.E. 1962 Cytogenetics of Oenothera. Adv. Genetics, 11, 147-237.
- CLELAND, R.E. 1968 Cytogenetic Studies on Oenothera, subgenus Raimannia. Japan J. Genetics, <u>43</u>, 329-334.
- CLELAND, R.E. 1972 The evolution of the North American Oenotheras (Subgenus Oenothera). Dans Oenothera cytogenetics and evolution (Academic Press), 227-302.
- CLELAND, R.E. & B.M. HAMMOND 1950 Analysis of segmental arrangements in certain races of *Oenothera*. Indiana Univ. Publ. Sci., 16, 10-72.
- CORRENS, C. 1907 Die Bestimmung und Vererbung des Geschlechts nach neueren Versuchen mit höheren Pflanzen. Verl. Br. Bornträger, Berlin (référence extraite de l'article bibliographique sur CORRENS par WETTSTEIN dans Ber. dtsch. bot. Ges., 56, 140-160.
- DAVIS, B.M. 1911 Cytological studies on Oenothera III. Annals Bot., 25, 941-974.
- DEXHEIMER, J. 1965 Sur les structures cytoplasmiques dans les grains de pollen de Lobelia erinus L. C.R. Acad. Sci., Paris, 260, 6963-6965.
- DEXHEIMER, J. 1972 Etude expérimentale des grains de pollen d'Angiospermes. Rev. Cytol. et Biol. vég., 35, 17-40.
- DE VRIES, H. 1911 Über doppelreziproke Bastarden von Oenothera biennis L. und Oenothera muricata L. Biol. Centralbl., 33, 97.
- DE VRIES, A. & T.S. IE 1970 Electron microscopy on anther tissue and pollen of male sterile and fertile wheat (*Triticum aestivum* L.). Euphytica, 19, 103-120.
- DIERS, L. 1963 Elektronenmikroskopische Beobachtungen and den vegetativen Zellen im ankeimenden Pollenkorn von Oe. hookeri Torr. & Gray. Z. Naturforsch, 18, 1092-1097.
- DUNBAR A. 1967 Membranen die am Aufbau der Exine teilnehmen. Naturwissenschaften, 54, 206-207.
- DUNBAR A. 1968 Membranes of the exine surface of Chamaenerion angustifolium. Grana palynol., 8, 14-22.
- ECHLIN, P. & H. GODWIN 1968 The ultrastructure and ontogeny of pollen in *Helleborus foetidus* L. J. Cell. Sci., <u>3</u>, 161-186.

- EDWARDSON, J.R. 1962 Cytoplasmic differences in T type cytoplasmic male-sterile corn and its maintainer. Am. J. Bot., <u>49</u>, 184-187.
- EMERSON, S.H. & A.H. STURTEVANT 1931 Genetical and cytological studies in Oenothera III. The translocation hypothesis. Z. ind. Abst.-u. Vererb.-lehre, 59, 395-419.
- ERDTMAN, G. 1952 Pollen Morphology and Plant Taxonomy. I. Angiosperms. Almquist et Wicksell, Stockholm, 291-294.
- ESCHRICH, W. & H.B. CURRIER 1964 Identification of callose by its diachrome and fluorochrome reactions. Stain Technol., 77, 329-331.
- FISHER, R. & F. YATES 1970 Statistical Tables. Oliver and Boyd.
- FREYTAG, L. 1968 a Feinbau und Quellungsverhalten der Sporodermen von Lathyrus odoratus. Grana Palynol., 8, 3-13.
- FREYTAG, L. 1968 b Die Strukturen von Intine und Exine und ihre Bedeutung für das Quellungsverhalten der Pollenkörner von Viola tricolor. Protoplasma, 65, 423-433.
- GAGNIEU, A. 1951 Production de pollen chez le pommier ; possibilité de létalité génique monofactorielle. Ann. Amel. Plantes, 4, 4-42.
- GATES, R.R. 1907 Pollen development in hybrids of Oenothera lata x Oenothera lamarckiana and its relation to mutation. Bot. Gaz., 43, 81-115.
- GEERTS, J.M. 1908 Beiträge zur Kenntniss der Cytologie und partiellen Sterilität von Oenothera lamarckiana. Rec. trav. botan. Néerl., 5, 93-208.
- GELLER, S. 1967 A B C de Statistique. Masson.
- GLENK, H.-O. 1960 Keimversuche mit Oenothera. Pollen in vitro. Flora, 148, 378-433.
- GÖPEL, G. 1967 Untersuchungen über die plastomabhängige Pollensterilität bei *Oenothera*. Thèse Université de Cologne, 1-126.
- GOPEL, G. 1970 Plastomabhängige Pollensterilität bei Oenothera. Theor. and appl. Genetics, 40, 111-116.
- HAGEN, Ch. W., Jr. 1950 A contribution to the Cytogenics of the genus Oenothera with special reference to certain forms from South American. Indiana Univ. Publ., Sci. Ser., 16, 305-348.

- HARTE, C. 1948 Zytologisch-genetische Untersuchungen an spaltenden Oenotheren-Bastarden. Z. Vererb., 82, 495-640.
- HARTE, C. 1958 Untersuchungen über die Gonenkonkurrenz in der Samenanlage bei Oenothera unter Verwendung der Letalfaktoren als Markierungsgene. I., II., III. Z. Vererb.-Lehre, 89, 473-496, 497-507, 715-728.
- HARTE, C. 1967 Gonenkonkurrenz. dans Handbuch der Pflanzenphysiologie. XVIII, 447-475.
- HARTE, C. 1969 a Gonenkonkurrenz bei Oenothera unter dem Einfluss eines gametophytisch wirksamen Gens in der ersten Koppelungsgruppe sowie ein Modell für die Untersuchung verzweigter Koppelungsgruppen. Theor. and appl. Genetics, <u>39</u>, 163-178.
- HARTE, C. 1969 b Certationsversuch zur Gonenkonkurrenz unter dem Einfluss des Locus Ga bei Oenothera. Theor. and appl. Genetics, <u>39</u>, 320-325.
- HAUSTEIN, E. 1952 Die Endenbezifferung der Chromosomen einiger Oenotheren aus dem Subgenus Raimannia. Z. Vererb., 84, 417-453.
- HECHT, A. 1950 Cytogenic Studies of Oenothera, subgenus Raimannia. Indiana Univ. Publ., Sci. Ser. 16, 255-304.
- HEITZ, B. 1972 L'hétérostylie chez les lins du groupe *Linum perenne*. Thèse Université de Strasbourg.
- HOEFERT, L.L. 1969 Ultrastructure of *Beta* pollen. I. Cytoplasmic constituents. Am. J. Bot., 56, 363-368.
- HERIBERT-NILSSON, N. 1920 Zuwachsgeschwindigkeit der Pollenschlaüche und gestörte Mendelzahlen bei Oenothera lamarckiana. Hereditas, 1, 41-67.
- HESLOP-HARRISON, J. 1964 Cell walls, cell membranes and protoplasmic connections during meiosis und pollen development. in Pollen Physiology and Fertilization (H.F. LINSKENS, ed.) North-Holland Pub. Co., Amsterdam.
- HESLOP-HARRISON, J. 1970 Sporopollenin in the biological context. Sporopollenin (Academic press), 1-30.
- HESLOP-HARRISON, J. & Y. HESLOP-HARRISON 1970 Evaluation of pollen viability by enzymatically induced fluorescence ;ultracellular hydrolysis of fluorescein diacetate. Stain Tech., 45, 115-120.
- JALOUZOT, R. 1969 Aspects cytochimiques des deux cellules du grain de pollen de Crocus longiflorus. Rev. Cytol. et Biol. vég., <u>32</u>, 115-120.

- JEAN, R. & R. LINDER 1970 + Transmission du facteur de létalité pollinique chez Oenothera purpurata Klebahn. Bull. Soc. bot. Nord Fr., 23, 22-31.
- JEAN, R. 1971 La paroi du pollen d'Oenothera lamarckiana. Bull. Soc. bot. Nord Fr., <u>24</u>, 93-102.
- JEAN, R. 1973 Plasmon-Genome conditioned pollen lethality in Eu-Oenothera. Acta Agr. Acad. Sci. Hungaricae, 22, 209-214.
- JEAN, R., A.M. LAMBERT & R. LINDER 1965 Analyse cytogénétique de l'Oenothera nuda Renner. Bull. Soc. bot. Nord Fr., 19, 6-26.
- JEAN, R., A.M. LAMBERT & R. LINDER 1966 Détermination de la formule chromosomique d'*Oenothera nuda* Renner. C.R. Acad. Sc. París, 262, 548-551.
- JOHANSEN D.A. 1940 Plant Microtechnique. McGraw-Hill, New York.
- KEMPTON J.H. 1919 Inheritance of waxy endosperm in maïze. U.S. Deprt. Agric. Bull., 754, 1-99.
- KLEBAHN, H. 1913 Formen, Mutationen und Kreuzungen bei einigen Oenotheren aus der Lüneburgerheide. Jahrb. Hamb. Wiss. Anst., 31, 1-64.
- KLEIN, W.M. 1970 The evolution of three diploid species of Oenothera, subgenus Anogra (Onagraceae). Evolution, 24, 578-597.
- LAMBERT, A.-M. 1971 Contribution à l'étude ultrastructurale du fuseau de caryocinèse : organisation et évolution. Thèse Univ. Strasbourg.
- LAMOTTE, M. 1967 Initiation aux méthodes statistiques en Biologie. Masson.
- LANGERON, M. 1949 Précis de microscopie. Masson et Cie. Editeurs.
- LEPOUSE, J. & M.F. ROMAIN 1967 Etude de l'ultrastructure des enveloppes polliniques chez Oenothera biennis. Pollen et Spores, 9, 403-413.
- LINDER, R. 1953 Etude des conditions de fécondation dans les populations naturelles de pommiers et de poiriers de la région de la Hart. Bull. Soc. Bot. France, 100, 144-145.
- LINDER, R. 1954 Etude génétique de mécanismes qui limitent la fertilité dans Oenothera missouriensis et Oenothera fruticosa. Année biologique, 30, 501-518.
- LINDER, R. 1957 Les Oenothera récemment reconnus en France. Bull. Soc. bot. Fr., <u>104</u>, 515-524.

- LINDER, R. 1959 a-Les populations de pommiers et de poiriers de la Hart. Bull. Soc. bot. Fr., <u>106</u>, 131-138.
- LINDER, R. 1959 b Les Oenothères et leurs particularités. Bull. Soc. bot. Nord Fr., <u>12</u>, 95-101.
- LINDER, R. 1961 Faktorielle Pollenletalität. Z. Vererbungslehdre, 92, 1-7.
- LINDER, R. 1962 La caryosystématique particulière des Oenothères. Rev. Cytol. et Biol. vég., <u>25</u>, 343- 347.
- LINDER, R. 1967 Zum Problem der leeren Pollenkörner bei Eu-Oenotheren Ber. d.b.h. b.A. Geo, 80,539-544.
- LINDER, R. 1970 Determination of pollen letality. Proc. XII I.C. Genetics, 1, 189.
- LINDER, R., R. JEAN & M. BOUTANTIN 1957 Etude des Oenothères en Alsace. Bull. Soc. Hist. Nat., Colmar, <u>48</u>, 21-49.
- LINDER, R. & R. JEAN 1968 La létalité pollinique chez les Eu-Oenothera. Bull. Soc. bot. Nord Fr., <u>21</u>, 209-219.
- LINDER, R. & R. JEAN 1969 Oenothera ersteinensis, espèce nouvelle. Bull. Soc. bot. Fr., <u>116</u>, 523-529.
- MICKAN, M. 1936 Zur Kenntniss der *Oenothera argillicola* MacKenzie. Genetische und zytologische Untersuchungen. *Flora*, 130, 1-20.
- MUNZ, P.A. 1931 Studies in Onagraceae. VII. The subgenus Pachylophis of the genus Oenothera. Am. J. Bot., <u>18</u>, 728-738.
- MUNZ, P.A. 1949 The Oenothera hookeri groups. El Aliso, 2, 1-47.
- PEARSON E.S. & HARTLEY 1970 Biometrika Tables for Statisticians. Volume I, Cambridge at the University Press.
- RAVEN, P.H. & D.R. PARNELL 1970 Two new species and some nomenclatural changes in Oenothera subg. Hartmannia (Onagraceae). Madrono., 20, 246-249.
- RENNER, 0. 1915 Befruchtung und Embryobildung bei Oenothera lamarckiana und einigen verwandten Arten. Flora, <u>10</u>7, 115-150.
- RENNER, O. 1917 Versuche über die gametische Konstitution der Oenotheren Z. ind. Abst. Vererb., <u>18</u>, 121-294.
- RENNER, O. 1919 Zur Biologie und Morphologie der männlichen Haplonten einiger Oenotheren Z. bot., 11, 306-380.

- RENNER, 0. 1921 Das Rotnervenmerckmal der Oenotheren. Ber. dtsch. bot. Ges. 39, 264-270.
- RENNER, 0. 1924 Die Scheckung der Oenotherenbastarden. Biol. Centralbl., 44, 309-336.
- RENNER, 0. 1933 Zur Kentniss der Letalfaktoren und des Koppelungswechsels der Oenotheren. Flora, 27, 215-250.
- RENNER, O. 1936 Zur Kenntnis der nichtmendelnden Buntheit der Laubblätter. Flora, <u>130</u>, 218-290.
- RENNER, 0. 1937 Wilde Oenotheren in Norddeutschland. Flora, <u>31</u>, 182-226.
- RENNER, 0. 1941 Über die Entstehung homozygotischer Formen aus Komplexheterozygotischen Oenotheren. Flora, <u>135</u>, 201-238.
- RENNER, O. 1942 Über das Crossing-Over bei Oenothera. Flora, <u>136</u>, 117-214.
- RENNER, 0. 1943 Über die Entstehung homozygotischer Formen aus Komplexheterozygotischen Oenotheren. II. Die Translokationshomozygoten. Z. Bot., <u>39</u>, 49-105.
- RENNER, O. 1956 Europäische Wildarten von Oenothera. III. Planta, 47, 219-254.
- RENNER, O. & R.E. CLELAND 1933 Zur Genetik und Cytologie der Oe. chicaginensis und ihre Abkömmlinge. Z. Vererb., 66, 8, 275-318.
- RENNER, O. & U. HIRMER 1956 Zur Kenntnis von Oenothera. I. Uber Oe. conferta. Biol. Zbl. 75, 513-518.
- REYNOLDS, E.S. 1963 The use of lead citrate in high ph as an electronopaque staining in electron microscopy. J. Cell Biol., <u>17</u>, 208-212.
- ROSSMANN, G. 1963 Analyse der Oenothera coronifera Renner. Flora, <u>153</u>, 451-468.
- ROWLEY, J.R. 1970 The nature of sporopollenin. Sporopollenín (Acad. Press, London), 174-217.
- RUDLOFF, F. 1929 Zur Kenntniss der Oenothera purpurata Klebahn und Oenothera rubricaulis Klebahn. Z. Vererbungsl., <u>66, 275-318.</u> 52, 191-232.
- SADIQ, D. & E. STEINER 1970 Further analysis of Oenothera biennis populations for incompatibility alleles. Am. J. bot., 57, 183-190.

- SANGER, J.M. & W.T. JACKSON 1971 Fine structure study of pollen development in *Haemanthus Katherinae* Baker. I. Formation of vegetative and generative cells. J. Cell Sci., 8, 289-301.
- SCHWARTZ, D. 1970 Méthodes statistiques. Flammarion.
- SCHNELL W. 1958 Biometric der Pflanzenzüchtung. dans Pflanzenzüchtung, vol. <u>1</u>, 732-779, (Paul PAREY, Berlin).
- SCHWEMMLE, J. 1938 Die Analyse der Oenothera berteriana und Oenothera odorata. Z. Vererb., 75, 361-468.
- SCHWEMMLE, J. & M. ZINTL 1939 Genetische und zytologische Untersuchungen an Eu-Oenotheren : Die Analyse der Oenothera argentinea. Z. ind. Abst. Vereb. <u>76</u>, 353-410.
- STEINER, E. 1956 New aspects of the balanced lethal mechanism in Oenothera. Am. J. Bot., <u>41</u>, 486-500.
- STEINER, E. 1964 Incompatibility studies in Oenothera : the distribution of S₁ alleles in biennis 1 Populations. Evolution, 18, 370-378.
- STUBBE, W. 1953 Genetische und zytologische Untersuchungen an verschiedenen Sippen von Oenothera. Z. ind. Abst.-u. Vererb., 85, 180-209.
- STUBBE, W. 1959 Genetische Analyse des Zusammenwirkens von Genom und Plastom bei Oenothera. Z. Vererbungsl., 90, 288-298.
- STUBBE, W. 1960 Untersuchungen zur genetischen Analyse des Plastoms von Oenothera. Z. Bot., 48, 191-218.
- STUBBE, W. 1963 Extrem disharmonische Genom-Plastom-Kombinationen und väterliche Plastidenvererbung bei Oenothera. Z. Vererb., 94, 392-411.
- STUBBE, W. 1964 The role of the plastome in evolution of the genus Oenothera. Genetica, 35, 28-33.
- TAMMES, P. 1930 On the origin of number and arrangement of the places of exit on the surface of pollen-grains. Rec. d. trav. bot. Neerl., <u>27</u>, 2-84.
- THIEN, L.B. 1969 Chromosome Translocations in Gayophytum (Onagraceae). Evolution, <u>23</u>, 456-465.
- TING, W.S. 1966 Pollen morphology of Onagraceae. Pollen et Spores, 8, 9-36.

- VAZART, B. 1962 Structure et évolution de la cellule génératrice du lin, Linum usitatissimum L., au cours des premiers stades de la maturation du pollen. Rev. Cytol. et Biol. vég., 32, 101-104.
- VESSEREAU, A. 1960 Méthodes Statistiques en Biologie et en Agronomie. J.B. BAILLERE et Fils.
- WATERKEYN, L. & A. BIENFAIT 1968 La paroi spéciale callosique et les premiers dépôts de l'exine chez Ipomaea purpurea (L.) Roth. C.R. Acad. Sci. Paris, <u>267</u>, 56-58.
- WATERKEYN, L. & A. BIENFAIT 1970 On a possible function of the callosic special ; wall in *Ipomaea purpurea* (L.) Roth. Grana, palynol., 10, 13-20.

