



HAL
open science

Identification biochimique de clones et de lignées d'asperge III. Caractérisation des hybrides de clones hétérozygotes

Louis Roux, Yvette Roux

► To cite this version:

Louis Roux, Yvette Roux. Identification biochimique de clones et de lignées d'asperge III. Caractérisation des hybrides de clones hétérozygotes. *Agronomie*, 1983, 3 (1), pp.67-74. <hal-00884486>

HAL Id: hal-00884486

<https://hal.science/hal-00884486v1>

Submitted on 11 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



HAL Authorization

Identification biochimique de clones et de lignées d'asperge

III. Caractérisation des hybrides de clones hétérozygotes

Louis ROUX & Yvette ROUX

I.N.R.A., Laboratoire d'Etude du Métabolisme intermédiaire et de Nutrition minérale, F 78000 Versailles.

RÉSUMÉ

*Asperge,
Isoenzymes,
Peroxydase,
Phosphatase acide,
Hybrides,
Clones hétérozygotes,
Identification.*

La distribution des isoenzymes de la peroxydase et de la phosphatase acide a été étudiée dans le feuillage de 5 hybrides entre clones hétérozygotes. Les isoenzymes ont été séparées par électrofocalisation sur gel de polyacrylamide en gradient de pH 3,5 à 9,5 ou 4 à 6,5.

Peroxydases cathodiques, peroxydases anodiques et phosphatases acides s'expriment de façon indépendante. Dans chacune de ces catégories, la distribution des divers diagrammes d'isoenzymes est du type 1-1 ou 1-2-1 (moyennant certains regroupements) : de ce fait, l'examen de 20 plantes permet de caractériser chaque hybride.

En explicitant la diversité du patrimoine génétique des clones hétérozygotes parentaux, l'étude des hybrides a confirmé l'existence de linkages entre les gènes codant pour certaines isoperoxydases et l'allélisme des gènes codant pour divers groupes d'isoenzymes.

SUMMARY

*Asparagus,
Isoenzymes,
Peroxidase,
Acid phosphatase,
Hybrids,
Heterozygous clones,
Identification.*

Biochemical characterization of clones and lines of asparagus. III. Study of hybrids from heterozygous clones.

Isoenzyme patterns of peroxidase and acid phosphatase have been studied in the cladophylls of 5 hybrids between heterozygous clones. Isoenzymes have been separated by electrofocusing in polyacrylamide gel with a pH gradient of 3.5 to 9.5 or 4 to 6.5.

Cathodic peroxidases, anodic peroxidases and acid phosphatases were expressed independently. In each of these categories, the distribution of the different patterns of isoenzymes was of 1-1 or 1-2-1 type (with some patterns grouped together) : each hybrid can thus be characterized by examination of 20 plants.

By revealing the diversity of the genetic inheritance of heterozygous parental clones, the study of hybrids has confirmed the existence of linkages between genes coding for certain isoperoxidases and the allelism of genes coding for various sets of isoenzymes.

I. INTRODUCTION

L'étude par électrofocalisation sur gel de polyacrylamide des isoenzymes foliaires de la peroxydase et de la phosphatase acide a permis, dans un premier temps, d'établir une grille de reconnaissance de 17 lignées ou clones homozygotes et de 9 clones hétérozygotes d'asperge (ROUX L. & ROUX Y., 1981). Ensuite, l'étude des hybrides entre génotypes homozygotes et celle des clones homozygotes obtenus par culture d'anthères à partir de clones mâles hétérozygotes a débouché sur l'établissement de critères d'hétérozygotie ou de présomption d'homozygotie (ROUX L. & ROUX Y., 1983). L'ensemble de ces données sert de base au présent travail portant sur les facteurs génétiques de la dispersion des caractères chez les hybrides entre clones hétérozygotes et la caractérisation de ces hybrides. L'intérêt et les limites de ce type d'étude ont été exposés dans

plusieurs revues (BROWN, 1978 et 1979 ; GOTTLIEB, 1981) : on décèle effectivement des différences génétiques proches du niveau du DNA mais on ne peut dire si la variabilité observée reflète celle de la totalité du génome.

II. MATÉRIEL ET MÉTHODES

A. Origine du matériel végétal

Les 5 hybrides et les 7 clones hétérozygotes parentaux étudiés proviennent des travaux de sélection effectués par L. CORRIOLS à la Station de Génétique et d'Amélioration des Plantes, I.N.R.A., Versailles. Dans chaque cas, on a examiné autant de plantes mâles que de plantes femelles : aucune particularité biochimique liée au sexe n'a été observée chez les hybrides.

TABLEAU 1

Peroxydases cathodiques de type α ou β . *Diagrammes observés chez les parents et les hybrides.*
Cathodic peroxidases of α or β type. *Patterns observed in parents and hybrids.*

Parents	♀ ♂	type β type β	Brune Costaud	type α type β	Annette Costaud	type α type β	Benoite Costaud	type $\alpha\beta$ type β	Déesse Costaud	type α type α	Estelle Gontran
Hybrides		type β	100 %	type $\alpha\beta$	100 %	type $\alpha\beta$	100 %	type $\alpha\beta$ type β	45,7 % 54,3 %	type α	100 %
Nombre de plantes hybrides examinées		42		42		42		70		70	

TABLEAU 2

Peroxydases anodiques. *Diagrammes observés chez les parents et les hybrides.*
Anodic peroxidases. *Patterns observed in parents and hybrids.*

Parents	♀ ♂	(IV ₁)IV _{2(ss)} (IV ₁)IV _{2(ss)}	III ₁ I ₃ III ₁ I ₃	Brune Costaud	IV ₁ III ₁ I ₃ (IV ₁)IV _{2(ss)} III ₁ I ₃	Annette Costaud	IV ₁ III ₁ I ₃ (IV ₁)IV _{2(ss)} III ₁ I ₃	Benoite Costaud	
Hybrides		IV ₁ III ₁ I ₃ (IV ₁)IV _{2(ss)} III ₁ I ₃ IV _{2(ss)} III ₂ I _{1ss}	38,1 % 45,2 % 16,7 %		IV ₁ III ₁ I ₃ (IV ₁)IV _{2(ss)} III ₁ I ₃	52,4 % 47,6 %		IV _{2(ss)} III ₃ I _{1M} IV ₁ III ₁ I ₃ (IV ₁)IV _{2(ss)} III ₁ I ₃	21,4 % 59,5 % 19,1 %

La répartition en pourcentage des hybrides entre les différents diagrammes observés porte sur 42 plantes pour chaque croisement. Ensemble additif (IV₁)IV_{2(ss)} : ses composantes ne sont reconnaissables qu'en gradient de pH 4 à 6,5 ; en gradient de pH 3,5 à 9,5 on observe seulement un aspect IV₂ noté IV_{2(M)} sur les figures 1 et 3.

The percentage distribution of hybrids between the different patterns observed was based on 42 plants for each cross. Additive set (IV₁)IV_{2(ss)} : its components were recognizable only in a pH gradient of 4 to 6.5 ; in pH gradient of 3.5 to 9.5 we observed only an aspect IV₂ noted as IV_{2(M)} in figures 1 and 3.

TABLEAU 3

Peroxydases anodiques. *Diagrammes observés chez les parents et les hybrides.*
Anodic peroxidases. *Patterns observed in parents and hybrids.*

Parents	♀ ♂	(IV ₁)IV _{2(ss)} (IV ₁)IV _{2(ss)}	III ₁ I _{1M} III ₁ I ₃	Déesse Costaud	(IV ₁)IV _{2(ss)} IV ₁ III ₁ I _{1M}	III ₁ I _{1M} III ₁ I _{1M}	Estelle Gontran
Hybrides		IV ₁ III ₁ I ₃ IV ₁ III ₁ I _{1M} (IV ₁)IV _{2(ss)} III ₁ I ₃ (IV ₁)IV _{2(ss)} III ₁ I _{1M} IV _{2(ss)} III ₂ I _{1ss} IV _{2(ss)} III ₂ I _{1M}	11,4 % 11,4 % 34,3 % 15,7 % 14,3 % 12,9 %	22,8 %	IV ₁ III ₁ I ₃ IV ₁ III ₁ I ₂ IV ₁ III ₁ I _{1M}	7,1 % 11,4 % 32,9 %	51,4 % 10,0 % 14,3 % 24,3 %

La répartition en pourcentage des hybrides entre les différents diagrammes observés porte sur 70 plantes pour chaque croisement. Ensemble additif (IV₁)IV_{2(ss)} : ses composantes ne sont reconnaissables qu'en gradient de pH 4 à 6,5 ; en gradient de pH 3,5 à 9,5 on observe seulement un aspect IV₂ noté IV_{2(M)} sur les figures 4 et 5.

The percentage distribution of hybrids between the different patterns observed was based on 70 plants for each cross. Additive set (IV₁)IV_{2(ss)} : its components were only recognizable in a pH gradient of 4 to 6.5 ; in a pH gradient of 3.5 to 9.5 we observed only an aspect IV₂ noted as IV_{2(M)} in figures 4 and 5.

TABLEAU 4

Phosphatases acides. *Diagrammes observés chez les parents et les hybrides.*
Acid phosphatases. *Patterns observed in parents and hybrids.*

Parents	♀ ♂	PA _{2-A} PA ₂	Brune Costaud	PA ₂ PA ₂	Annette Costaud	PA _{2-A} PA ₂	Benoite Costaud	PA ₂ [?] PA ₂	Déesse Costaud	PA _{2-A} PA _{2-A}	Estelle Gontran
Hybrides		PA ₂ PA _{2-A}	54,8 % 45,2 %	PA ₂	100 %	PA ₂ PA _{2-A}	54,8 % 45,2 %	PA ₂ PA _{2-A}	57,1 % 42,9 %	PA ₂ PA _{2-A} PA ₃	20,0 % 58,6 % 21,4 %
Nombre de plantes hybrides examinées		42		42		42		70		70	

B. Extraction des enzymes. Séparation des isoenzymes par électrofocalisation

L'étude a porté sur les isoenzymes foliaires de la peroxydase et de la phosphatase acide. Le mode d'extraction des enzymes et le mode de séparation et de révélation des isoenzymes par électrofocalisation sur gel de polyacrylamide (en gradient de pH 3,5 à 9,5 ou 4 à 6,5) ont déjà été décrits (ROUX L. & ROUX Y., 1981 et 1983).

III. RÉSULTATS

Les tableaux 1, 2, 3 et 4 indiquent, pour chaque hybride, comment il peut être décrit selon les critères précédemment définis (ROUX L. & ROUX Y., 1981 et 1983), tirés de l'étude de 3 grands groupes d'isoenzymes (peroxydases cathodiques, peroxydases anodiques, phosphatases acides). Les caractères hors parenthèses sont ceux visibles sur les diagrammes obtenus avec le gradient de pH de 3,5 à 9,5 ; les caractères entre parenthèses sont ceux mis en évidence avec le gradient de pH de 4 à 6,5.

A. Peroxydases cathodiques

La comparaison parents-hybrides fait clairement ressortir l'allélisme entre les gènes codant pour les isoenzymes des types α et β (tabl. 1), ce qui confirme les résultats antérieurs (ROUX L. & ROUX Y., 1983).

B. Peroxydases anodiques

Quatre hybrides mettent en jeu le clone mâle « Costaud ». L'étude des plantes issues de ce clone par culture d'anthers (ROUX L. & ROUX Y., 1983) a permis de voir qu'il produisait, du point de vue des peroxydases anodiques, 2 sortes de gamètes porteurs des gènes codant respectivement pour les caractères associés $IV_1 III_1 I_3$ et $IV_{2ss} III_2 I_{1ss}$. Pour les autres géniteurs, les renseignements dont on dispose au départ se limitent à leurs diagrammes d'électrofocalisation (ROUX L. & ROUX Y., 1981 et 1983). Afin d'expliquer la variabilité observée chez les hybrides, on est conduit à attribuer à ces géniteurs certains caractères présents à l'état hétérozygote, masqués sur leurs diagrammes d'électrofocalisation par des bandes d'isoenzymes de pI très voisin et d'intensité de révélation plus forte.

Les tableaux 5 à 9 indiquent pour chacun des parents les caractéristiques des divers gamètes δ et η et les combinaisons hybrides correspondantes. Les caractères masqués chez les hybrides sont inscrits entre des doubles parenthèses, de telle sorte que chaque tableau décrit à la fois, selon le niveau de lecture que l'on choisit, les diagrammes théoriques et les diagrammes réellement observables (soit en gradient de pH 3,5 à 9,5 ; soit en gradient de pH 4 à 6,5 chaque fois qu'est figurée une parenthèse simple).

1. Hybrides « Brune » × « Costaud »

La dispersion des caractères observée chez les hybrides (tabl. 2 et fig. 1) peut s'expliquer par une constitution génétique identique des 2 parents du point de vue des peroxydases anodiques (tabl. 5). La distribution observée (tabl. 2) ne diffère pas significativement de la distribution théorique 1-2-1 (tabl. 5) : $\chi^2 = 4,24$ (2 d.d.l., $P > 0,05$).

2. Hybrides « Annette » × « Costaud »

Aucun hybride ne présente de façon apparente (tabl. 2) les caractères III_2 et I_{1ss} (potentiellement présents dans

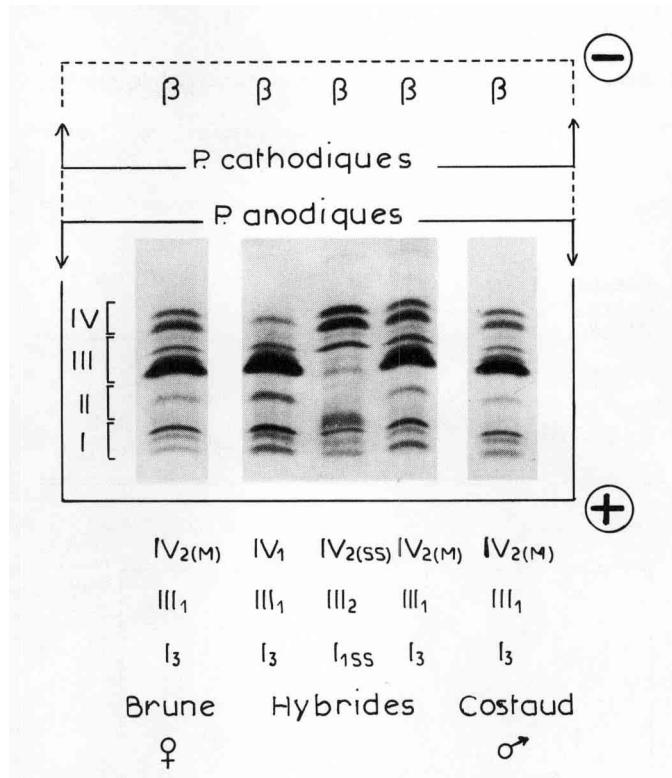


Figure 1

Hybrides « Brune » × « Costaud ». Diagrammes d'électrofocalisation des peroxydases en gradient de pH 3,5 à 9,5. Seule la portion anodique des diagrammes est représentée dans sa totalité. $IV_{2(M)}$ = additivité (IV_1) $IV_{2(ss)}$, les parenthèses indiquant les composantes qui ne sont décelables qu'avec le gradient de pH 4 à 6,5.

Hybrides « Brune » × « Costaud ». Electrofocusing patterns of peroxidases in a pH gradient of 3.5 to 9.5. Only the anodic part of the patterns is entirely represented. $IV_{2(M)}$ = additivity (IV_1) $IV_{2(ss)}$; brackets indicate the components detectable only with the pH gradient of 4 to 6.5.

50 p. 100 des gamètes du clone « Costaud »). Ceci amène à considérer le clone « Annette » comme homozygote pour l'ensemble des caractères $IV_1 III_1 I_3$ (tabl. 6). La distribution observée (tabl. 2) ne diffère pas significativement de la distribution théorique 1-1 (tabl. 6) : $\chi^2 = 0,095$ (1 d.d.l., $P > 0,05$).

En outre, au niveau III, tous les hybrides possèdent une bande particulière d' , visible seulement en gradient de pH 4 à 6,5 (ROUX L. & ROUX Y., 1983), présente seulement chez le parent femelle « Annette » (fig. 2). On observe également sur la figure 2 l'additivité des caractères IV_1 et $IV_{2(ss)}$.

TABLEAU 5

Diagrammes théoriques des peroxydases anodiques chez les hybrides « Brune » × « Costaud ». Theoretical patterns of anodic peroxidases in hybrids « Brune » × « Costaud ».

	Brune gamètes η	$IV_1 III_1 I_3$	$IV_{2ss} III_2 I_{1ss}$
Costaud gamètes δ			
$IV_1 III_1 I_3$	$IV_1 III_1 I_3$	$IV_1 III_1 I_3$	$IV_{2(ss)} ((III_2 I_{1ss}))$ (IV_1) $III_1 I_3$
$IV_{2ss} III_2 I_{1ss}$	(IV_1) $III_1 I_3$	$IV_{2(ss)} ((III_2 I_{1ss}))$	$IV_{2(ss)} III_2 I_{1ss}$ $IV_{2(ss)} III_2 I_{1ss}$

TABLEAU 6

Diagrammes théoriques des peroxydases anodiques chez les hybrides « Annette » × « Costaud ».
Theoretical patterns of anodic peroxidases in hybrids « Annette » × « Costaud ».

	Annette gamètes ♀		
	IV ₁ III ₁ I ₃	IV ₁ III ₁ I ₃	
Costaud gamètes ♂			
IV ₁ III ₁ I ₃	IV ₁ III ₁ I ₃	IV ₁ III ₁ I ₃	
IV _{2ss} III ₂ I _{1ss}	(IV ₁) III ₁ I ₃ IV _{2(ss)} ((III ₂ I _{1ss}))	(IV ₁) III ₁ I ₃ IV _{2(ss)} ((III ₂ I _{1ss}))	

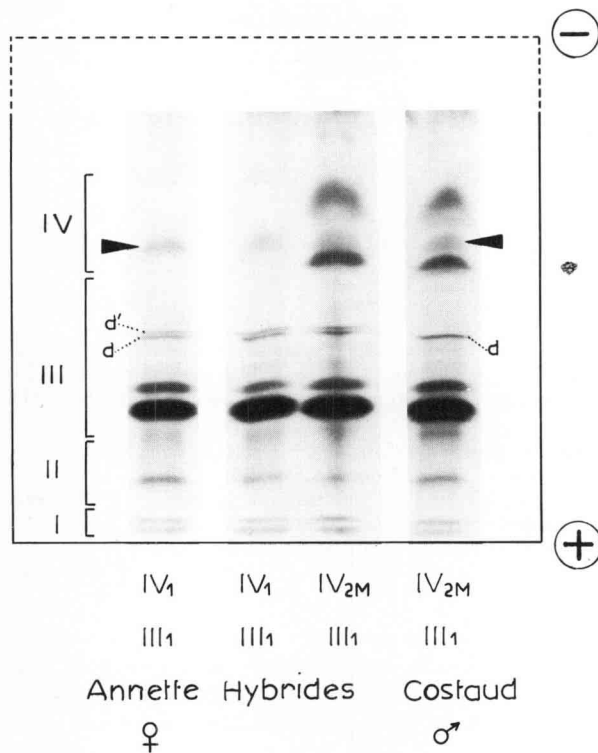


Figure 2
Hybrides « Annette » × « Costaud ». Diagrammes d'électrofocalisation des peroxydases anodiques en gradient de pH 4 à 6,5. On remarque l'additivité des caractères IV₁ (signalé par une flèche) et IV_{2ss} chez le clone « Costaud » et chez 50 p. 100 des hybrides : notation IV_{2M}.
Le niveau I n'est pas descriptible avec ce gradient de pH ; il en est de même pour les peroxydases cathodiques.
Hybrids « Annette » × « Costaud ». Electrofocusing patterns of anodic peroxidases in a pH gradient of 4 to 6.5. Additivity between the characters IV₁ (indicated by an arrow) and IV_{2ss} can be noticed in the clone « Costaud » and in 50 % of the hybrids : notation IV_{2M}.
Level I cannot be described with this pH gradient ; this is also true for cathodic peroxidases.

3. Hybrides « Benoitte » × « Costaud »

Bien que le clone « Benoitte » présente le même diagramme apparent de peroxydases anodiques que le clone « Annette » (IV₁ III₁ I₃), la descendance issue de son croisement avec le clone « Costaud » comporte un type particulier (fig. 3) dont la description est IV_{2(ss)} III₃ I_{1M} (III₃ est le nom de code donné au nouvel ensemble d'isoenzymes présentes au niveau III et non décrit jusqu'ici).

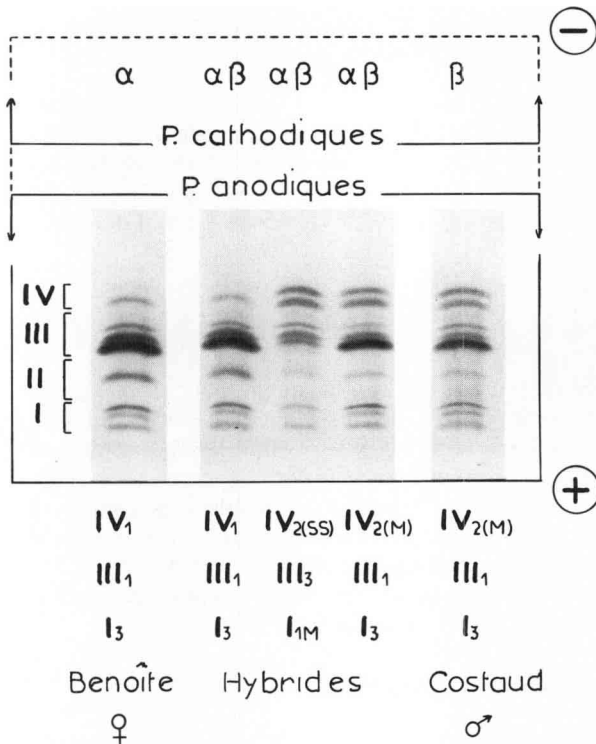


Figure 3
Hybrides « Benoitte » × « Costaud ». Diagrammes d'électrofocalisation des peroxydases en gradient de pH 3,5 à 9,5. Mêmes remarques que pour la figure 1.
Hybrids « Benoitte » × « Costaud ». Electrofocusing patterns of peroxidases in a pH gradient of 3.5 to 9.5. Same remarks as for figure 1.

L'examen des 3 diagrammes différents que peuvent présenter les hybrides permet de tirer les conclusions suivantes :

— Niveau IV

Si le clone « Benoitte » était homozygote pour le caractère IV₁, celui-ci serait présent dans toute la descendance : or, l'électrofocalisation en gradient de pH 4 à 6,5 montre que les hybrides du type IV_{2(ss)} III₃ I_{1M} ne présentent pas ce caractère. On en conclut que le clone « Benoitte » est hétérozygote pour le caractère IV₁, le caractère allèle correspondant étant nul et noté ((IV₀)).

— Niveau III

L'aspect III₃ (environ 25 p. 100 des hybrides) est distinct à la fois des caractères III₁ (déjà présent chez « Benoitte » et « Costaud ») et III₂ (déjà présent chez « Costaud »). Le caractère III₁, par sa présentation massive, occulte toute autre combinaison d'isoenzymes ; de ce fait III₃ ne peut être considéré que comme la superposition des isoenzymes du caractère III₂ (« Costaud ») et de celles d'un caractère ((III_x)) non observable directement, particulier à « Benoitte ». Chez « Benoitte », il y aurait un allélisme III₁/((III_x)).

— Niveau I

Un raisonnement analogue au précédent conduit à penser que l'aspect I_{1M} (hybrides IV_{2(ss)} III₃ I_{1M}) résulterait de la superposition de 2 caractères : I_{1ss}, particulier au clone « Costaud », et ((I_x)), non observable directement et particulier à « Benoitte » ; d'où la désignation I_{1M} (I₁ mixte). Chez « Benoitte », il y aurait un allélisme I₃/((I_x)).

Au total, on aurait, chez « Benoitte », l'alfélisme $IV_1 III_1 I_3 / (IV_0 III_x I_x)$. Le second ensemble de caractères n'est partiellement décelable par électrofocalisation qu'au travers de son additivité avec les caractères à expression « faible » présents chez « Costaud » (III_2 et I_{1ss}). Lorsqu'il est additif avec des caractères à expression « forte » (IV_1 ou $IV_{2(ss)}$, III_1 , I_3), ceux-ci font écran à sa perception compte tenu de la zone étroite dans laquelle se situent les pI des isoenzymes en cause. Sur ces bases existeraient 4 types hybrides (tabl. 7) dont 2 seraient indiscernables par électrofocalisation (aspect commun $IV_1 III_1 I_3$); la distribution apparente des hybrides (tabl. 2) serait du type 1-2-1: $\chi^2 = 1,57$ (2 d.d.l., $P > 0,05$). L'étude d'autres hybrides impliquant le clone « Benoitte » sera nécessaire pour vérifier les hypothèses relatives à l'existence et aux formes d'expression des caractères IV_0 , III_x et I_x .

TABLEAU 7

Diagrammes théoriques des peroxydases anodiques chez les hybrides « Benoitte » × « Costaud ».
Theoretical patterns of anodic peroxidases in hybrids « Benoitte » × « Costaud ».

	Benoitte gamètes ♀	$IV_1 III_1 I_3$	$IV_0 III_x I_x$
Costaud gamètes ♂			
	$IV_1 III_1 I_3$	$IV_1 III_1 I_3$ $IV_1 III_1 I_3$	$((IV_0 III_x I_x))$ $IV_1 III_1 I_3$
	$IV_{2ss} III_2 I_{1ss}$	$(IV_1) III_1 I_3$ $IV_{2(ss)} ((III_2 I_{1ss}))$	$[IV_0 III_x I_x]^*$ $[IV_{2ss} III_2 I_{1ss}]^*$

* pratiquement observé : $IV_{2(ss)} III_3 I_{1M}$
* actually observed : $IV_{2(ss)} III_3 I_{1M}$

4. Hybrides « Déesse » × « Costaud »

Le tableau 3 et la figure 4 montrent que l'on peut distinguer 6 types différents chez les hybrides. En ne considérant tout d'abord que la variabilité propre aux peroxydases des niveaux III et IV, on observe 3 sortes de combinaisons chez les hybrides, dont la nature et les proportions (1-2-1) sont similaires à ce qui a été décrit pour les hybrides « Brune » × « Costaud ». Le clone femelle « Déesse » présenterait donc des couples d'allèles tels que $IV_1/IV_{2(ss)}$ (confirmé en gradient de pH 4 à 6,5) et III_1/III_2 . En outre, au niveau III, 45,2 p. 100 des hybrides (soit une proportion théorique probable de 50 p. 100) présentent en gradient de pH 4 à 6,5 une bande d' (identique à celle de la fig. 2) existant seulement chez le parent femelle « Déesse ». L'expression de cette isoenzyme ne présente aucun lien génétique particulier avec l'un ou l'autre des 6 types d'hybrides.

La variabilité du niveau I vient se composer avec celles des niveaux III et IV. Le niveau I présente ici 3 variantes : I_3 , I_{1ss} (caractères déjà présents chez le clone « Costaud ») et I_{1M} . Comme on l'a déjà vu, l'aspect I_{1M} recouvre l'association d'isoenzymes à pI très voisins : I_2 et I_3 (ROUX L. & ROUX Y., 1983), I_{1ss} et I_x (hybrides « Benoitte » × « Costaud ») et peut-être d'autres associations. Ici les composantes de l'aspect I_{1M} présentés par le parent femelle « Déesse » ne sont pas connues et ne peuvent être déduites des disjonctions observées chez les hybrides.

La distribution observée des 6 types d'hybrides (tabl. 3) correspondrait à une distribution théorique 1-1-3-1-1-1: $\chi^2 = 1,09$ (5 d.d.l., $P > 0,05$).

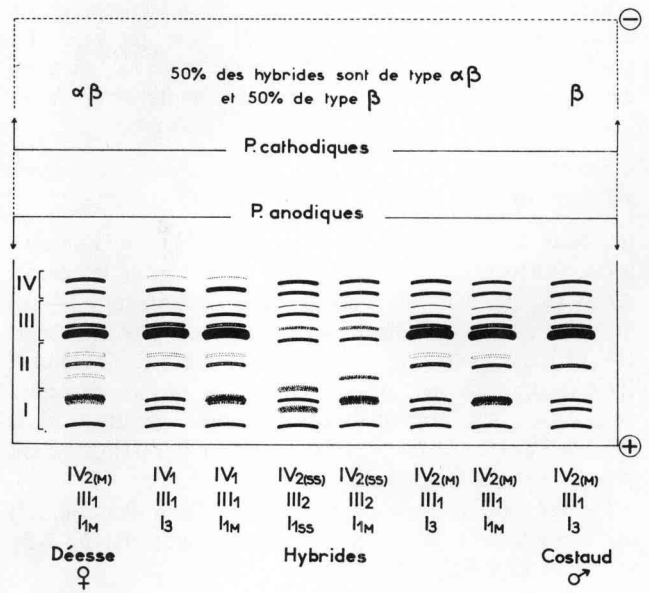


Figure 4

Hybrides « Déesse » × « Costaud ». Schéma des diagrammes d'électrofocalisation des peroxydases en gradient de pH 3,5 à 9,5. Mêmes remarques que pour la figure 1.
Hybrids « Déesse » × « Costaud ». Schematic electrofocusing patterns of peroxidases in a pH gradient of 3.5 to 9.5. Same remarks as for figure 1.

5. Hybrides « Estelle » × « Gontran »

On peut distinguer 6 types différents chez les hybrides (tabl. 3 et fig. 5), dus essentiellement à la variabilité des isoenzymes du niveau I. Cette variabilité découle du fait que les 2 parents présentent un niveau I complexe, I_{1M} , où entrent comme composantes les caractères I_2 , I_3 et peut-être d'autres non décelables.

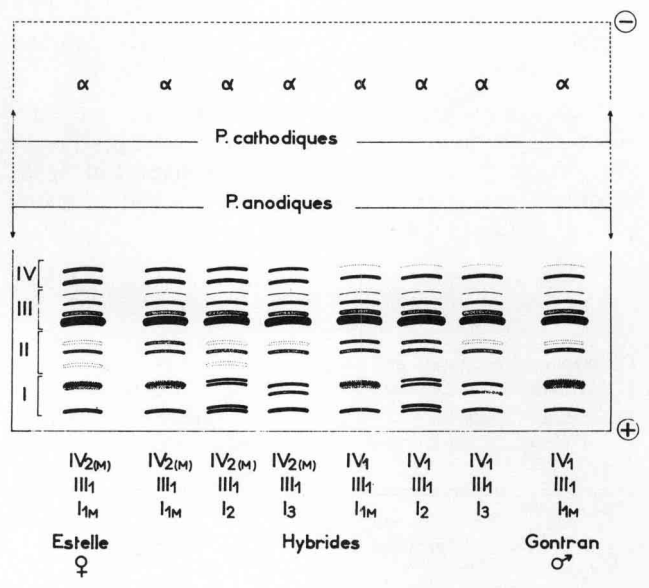


Figure 5

Hybrides « Estelle » × « Gontran ». Schéma des diagrammes d'électrofocalisation des peroxydases en gradient de pH 3,5 à 9,5. Mêmes remarques que pour la figure 1.
Hybrids « Estelle » × « Gontran ». Schematic electrofocusing patterns of peroxidases in a pH gradient of 3.5 to 9.5. Same remarks as for figure 1.

Aux niveaux III et IV la distribution des ensembles de caractères $IV_1 III_1$ et $(IV_1)IV_{2(ss)} III_1$ est du type 1-1 (tabl. 3), c'est-à-dire analogue à celle observée chez les hybrides « Annette » × « Costaud ». Compte tenu de ce que l'on connaît déjà des clones parentaux :

« Estelle » : $(IV_1)IV_{2(ss)} III_1$
 « Gontran » : $IV_1 III_1$

on peut avancer l'hypothèse que le clone « Gontran » serait homozygote pour les gènes codant pour les caractères IV_1 et III_1 — analogie avec « Annette » — et que le clone « Estelle » serait hétérozygote du type $(IV_1) III_1/IV_{2(ss)} ((III_x))$ — par analogie avec « Costaud », $((III_x))$ pourrait être le caractère III_2 ou un caractère voisin — les combinaisons possibles seraient alors $IV_1 III_1/IV_1 III_1$ et $IV_{2(ss)} ((III_x))/(IV_1) III_1$, $((III_x))$ étant masqué sur les diagrammes par III_1 .

La distribution observée des 6 types d'hybrides (tabl. 3) correspondrait à une distribution théorique 1-1-2-1-1-2 : $\chi^2 = 3,94$ (5 d.d.l., $P > 0,05$).

C. Phosphatases acides

Les clones parentaux des 5 hybrides étudiés présentent l'un ou l'autre des types PA_2 ou PA_{2-A} à l'exception du clone « Déesse » dont le diagramme est atypique (ROUX L. & ROUX Y., 1981). La nature hétérozygote du type PA_{2-A} a déjà été mise en évidence (ROUX L. & ROUX Y., 1983) : il résulte de l'association des types PA_2 et PA_3 . Quant au type PA_2 , il est possible qu'il présente des variantes, mais celles-ci sont difficiles à reconnaître compte-tenu de la complexité des diagrammes. On a déjà vu que le type PA_2 ne présentait pas de variabilité apparente chez le clone « Costaud » (ROUX L. & ROUX Y., 1983) : on peut donc admettre que, dans les 4 croisements où est impliqué le clone « Costaud », tous les gamètes qu'il produit sont porteurs des gènes codant pour le type PA_2 .

1. Hybrides « Annette » × « Costaud » ($PA_2 \times PA_2$)

Tous les hybrides sont du type PA_2 (tabl. 4).

2. Hybrides « Brune » × « Costaud » et hybrides « Benoîte » × « Costaud » ($PA_{2-A} \times PA_2$)

D'après ce qui a été dit plus haut, les hybrides présenteraient une distribution théorique 1-1 entre les types PA_2 et PA_{2-A} (tabl. 8). La distribution observée (tabl. 4 et fig. 6) ne diffère pas significativement de la distribution théorique : $\chi^2 = 0,38$ (1 d.d.l., $P > 0,05$).

TABLEAU 8

Diagrammes théoriques des phosphatases acides chez les hybrides « Benoîte » × « Costaud » (ou « Brune » × « Costaud »).
 Theoretical patterns of acid phosphatases in hybrids « Benoîte » × « Costaud » (or « Brune » × « Costaud »).

Costaud gamètes ♂	Benoite gamètes ♀		
	PA_2	PA_3	
PA_2	PA_2	PA_3] PA_{2-A}
	PA_2	PA_2	
PA_2	PA_2	PA_3] PA_{2-A}
	PA_2	PA_2	

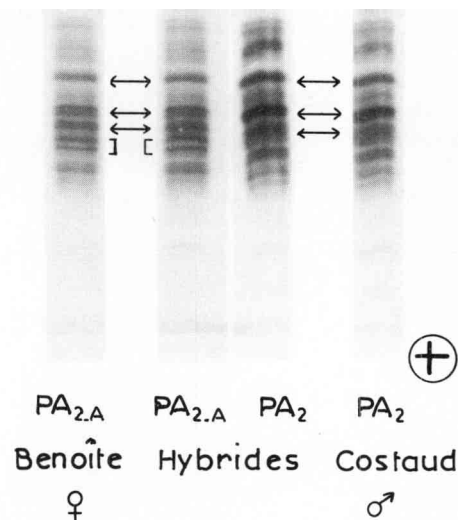


Figure 6

Hybrides « Benoîte » × « Costaud ». Diagrammes d'électrofocalisation des phosphatases acides en gradient de pH 3,5 à 9,5.

Les éléments caractéristiques du type PA_2 , communs à tous les diagrammes, sont indiqués par des flèches ; les crochets signalent les 2 bandes caractéristiques du type PA_{2-A} .

Hybrids « Benoîte » × « Costaud ». Electrofocusing patterns of acid phosphatases in a pH gradient of 3.5 to 9.5.

The characteristic elements of PA_2 type common to all the patterns are indicated by arrows ; the square brackets indicate the 2 bands characteristic of PA_{2-A} type.

3. Hybrides « Déesse » × « Costaud » (PA atypique × PA_2)

Les hybrides présentent une distribution 1-1 (tabl. 4) entre les types PA_2 et PA_{2-A} ($\chi^2 = 1,43$; 1 d.d.l., $P > 0,05$). Le diagramme atypique du clone « Déesse » pourrait résulter de l'association du type PA_3 avec un type PA_x non observé jusqu'ici à l'état isolé. A la suite du croisement avec le clone « Costaud », les descendants seraient de 2 sortes : PA_x/PA_2 à apparence PA_2 et PA_3/PA_2 à apparence PA_{2-A} (fig. 7).

4. Hybrides « Estelle » × « Gontran » ($PA_{2-A} \times PA_{2-A}$)

Les hybrides se répartissent entre 3 types de diagrammes : PA_2 , PA_{2-A} et PA_3 (fig. 8) selon une proportion 1-2-1 (tabl. 4 : $\chi^2 = 2,09$; 2 d.d.l., $P > 0,05$). Cette distribution correspond bien à 2 sortes de gamètes (du point de vue des phosphatases acides) produits par chacun des parents (tabl. 9).

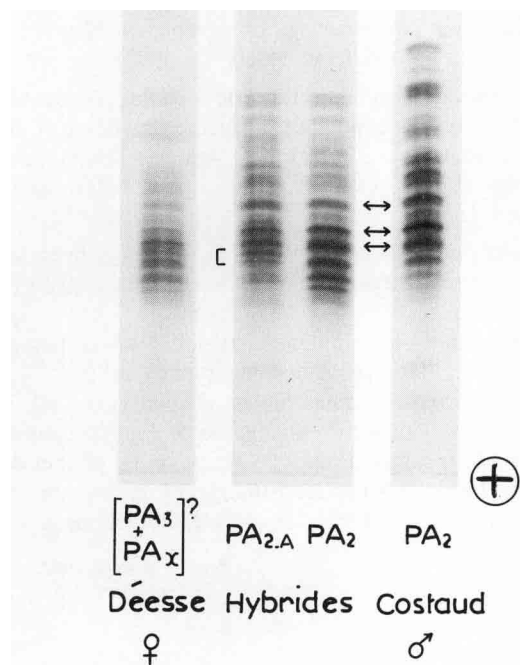


Figure 7
Hybrides « Déesse » × « Costaud ». Diagrammes d'électrofocalisation des phosphatases acides en gradient de pH 3,5 à 9,5. Flèches et crochet : voir figure 6.
Hybrids « Déesse » × « Costaud ». Electrofocusing patterns of acid phosphatases in a pH gradient of 3.5 to 9.5. Arrows and square bracket : see figure 6.

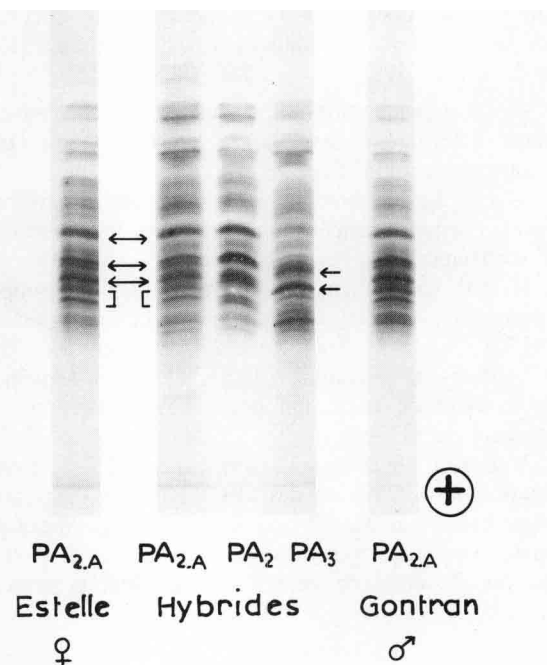


Figure 8
Hybrides « Estelle » × « Gontran ». Diagrammes d'électrofocalisation des phosphatases acides en gradient de pH 3,5 à 9,5. Simples flèches : éléments caractéristiques du type PA₃. Doubles flèches : éléments caractéristiques du type PA₂. Crochets : bandes caractéristiques du type PA_{2-A}.
Hybrids « Estelle » × « Gontran ». Electrofocusing patterns of acid phosphatases in a pH gradient of 3.5 to 9.5. Simple arrows : characteristic elements of PA₃ type. Double arrows : characteristic elements of PA₂ type. Square brackets : characteristic bands of PA_{2-A} type.

TABLEAU 9

Diagrammes théoriques des phosphatases acides chez les hybrides « Estelle » × « Gontran ». Theoretical patterns of acid phosphatases in hybrids « Estelle » × « Gontran ».

Gontran gamètes ♂	Estelle gamètes ♀		PA _{2-A}
	PA ₂	PA ₃	
PA ₂	PA ₂ PA ₂	PA ₃ PA ₂	PA _{2-A}
PA ₃	PA ₂ PA ₃	PA _{2-A} PA ₃	

IV. DISCUSSION ET CONCLUSION

1. Les résultats obtenus permettent une description pratique des hybrides étudiés par l'utilisation du gradient de pH 3,5 à 9,5 ; l'emploi du gradient de pH 4 à 6,5 ne se justifie que si l'on veut préciser certains détails concernant les peroxydases anodiques. Si l'on fait des regroupements

(acceptables en description de routine) dans les peroxydases anodiques pour les hybrides « Déesse » × « Costaud » et « Estelle » × « Gontran » (voir tabl. 3), on constate que le mode de distribution des différents diagrammes (peroxydases ou phosphatases acides) est du type 1-1 ou 1-2-1. Dans ces conditions, 20 plantes de chaque hybride permettent de le caractériser ; en effet, la distribution théorique 1-2-1 pour 20 plantes correspond à un effectif de 5 plantes pour le type le moins représenté, limite à respecter pour que la comparaison de la distribution observée à la distribution théorique soit valable (SCHWARTZ, 1981).

2. Les tableaux 5, 6, 7 (diagrammes théoriques des peroxydases anodiques chez les hybrides) montrent que la complexité réelle des zymogrammes est difficile à mettre en évidence, même avec un gradient de pH plus dispersif (gradient de pH 4 à 6,5). L'étude des hybrides (ou des plantes issues de culture d'anthers) constitue de ce fait un moyen pour expliciter la diversité du patrimoine génétique des clones hétérozygotes. Elle permet également de confirmer (voir ROUX L. & ROUX Y., 1983) le caractère allélique

de certaines isoenzymes ou ensembles d'isoenzymes :

- peroxydases cathodiques :
allélisme $\alpha_1, \alpha_2, \alpha_3, \alpha_4/\beta_1, \beta_2, \beta_3, \beta_4$
- peroxydases anodiques :
allélisme $IV_1/IV_0/IV_{2ss}$
allélisme $III_1/III_x/III_2$.

N'ayant jamais observé de plante hybride présentant l'association $IV_1 III_2$ ou bien $IV_{2ss} III_1$, on en conclut à un linkage entre les gènes codant pour les isoenzymes de chacune des associations $IV_1 III_1$ et $IV_{2ss} III_2$. Ceci confirme les faits suivants, précédemment mis en évidence (ROUX L. & ROUX Y., 1983) :

— les clones homozygotes issus par culture d'anthers du clone hétérozygote « Costaud » présentent soit l'une soit l'autre association d'isoenzymes.

— les lignées homozygotes obtenues par rétrocroisements se partagent de même entre les 2 associations d'isoenzymes.

Il faut ici souligner à nouveau que les groupements apparents « $IV_2 III_1$ » observés avec le gradient de pH 3,5 à 9,5 (par exemple chez les hybrides « Annette » × « Costaud », tabl. 2 et 6) sont seulement dus au pouvoir de résolution limité obtenu avec ce type de gradient de pH.

3. Lorsqu'on compare, dans chacun des 5 croisements étudiés, la distribution des divers types de diagrammes de phosphatases acides (PA_2, PA_{2-A}, PA_3) à celle des peroxydases anodiques, on constate l'indépendance de l'expression de ces 2 séries de caractères : les loci correspondants

pourraient donc être portés par des paires distinctes de chromosomes.

Chez les hybrides « Déesse » × « Costaud », où les peroxydases cathodiques se distribuent entre les types β et $\alpha\beta$, on constate l'indépendance de l'expression des peroxydases cathodiques, des peroxydases anodiques et des phosphatases acides.

Au total, les 3 groupes de loci correspondants respectivement aux peroxydases cathodiques, aux peroxydases anodiques et aux phosphatases acides pourraient être portés par des paires distinctes de chromosomes, comme le suggère aussi la dispersion des caractères observée chez 39 génotypes homozygotes (ROUX L. & ROUX Y., 1983).

On voit donc au terme de cette série d'études portant sur la caractérisation des génotypes d'asperge (parties I et II, ROUX L. & ROUX Y., 1981 et 1983) que les diagrammes d'isoenzymes de la peroxydase et de la phosphatase acide permettent à la fois :

— la description des clones, lignées et de leurs hybrides (aussi bien entre lignées ou clones homozygotes qu'entre clones hétérozygotes) ;

— l'appréciation (bien entendu partielle) de la nature homozygote ou hétérozygote des génotypes étudiés ;

— la caractérisation d'ensembles d'isoenzymes alléliques, la mise en évidence du linkage ou de l'indépendance d'expression de certains groupes de gènes, ce qui permet de prévoir une partie des caractéristiques des zymogrammes d'hybrides dont seuls les parents ont été étudiés jusqu'ici.

Reçu le 6 avril 1982.

Accepté le 13 septembre 1982.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Brown A. H. D.**, 1978. Isozymes, plant population genetic structure and genetic conservation. *Theor. appl. Genet.*, **52**, 145-157.
- Brown A. H. D.**, 1979. Enzyme polymorphism in plant populations. *Theor. Pop. Biol.*, **15**, 1-42.
- Gottlieb L. D.**, 1981. Electrophoretic evidence and plant populations. *Prog. in Phytochem.*, **7**, 1-46.
- Roux L., Roux Y.**, 1981. Identification biochimique de clones et de lignées d'asperge (*Asparagus officinalis* L., Liliacées). *Agronomie*, **1**, 541-548.
- Roux L., Roux Y.**, 1983. Identification biochimique de clones et de lignées d'asperge. II. Caractères particuliers liés à l'état homozygote ou hétérozygote. *Agronomie*, **3** (1), 57-66.
- Schwartz D.**, 1981. *Méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes*. Ed. Flammarion pp. 67-73.