

Amélioration de la régénération chlorophyllienne chez le blé dur

Utilisation de la culture d'anthères
après croisements interspécifiques

S. Cherkaoui¹

O. Lamsaouri¹

B. Chlyah¹

H. Chlyah¹

I Introduction

Dans le cadre du programme d'amélioration du blé dur par les techniques de biotechnologie et particulièrement par l'haplodiploïdisation, plusieurs travaux ont été réalisés afin d'obtenir des plantes haploïdes qui, après dédoublement de leur stock chromosomique par un traitement à la colchicine, donneront des lignées diploïdes parfaitement homozygotes. La production d'un individu homozygote en une seule étape permet un gain de temps appréciable pour la sélection.

Les premières expériences effectuées dans notre laboratoire ont porté sur la culture d'anthères chez le blé dur. Les résultats obtenus ont montré des rendements en embryons relativement faibles et un taux

¹ Département de Biologie, faculté des Sciences, BP 1014, Rabat, Maroc.

d'albinisme très important, atteignant 99 % (Chlyah et Saïdi, 1991). Parallèlement, cette même technique appliquée chez le blé tendre a permis la formation de plantes haploïdes chlorophylliennes avec des rendements de 23 % (El Haddoury 1990 ; El Haddoury *et al.*, 1993).

À l'issue de ces résultats, nous avons pensé qu'il serait intéressant de surmonter le problème d'albinisme, en essayant de transférer la capacité de régénération chlorophyllienne du blé tendre au blé dur par l'intermédiaire de croisements interspécifiques. Après l'obtention de la F_1 , des rétrocroisements sont effectués avec le parent blé dur et à chaque génération, les descendants sont soumis à la technique de culture d'anthères afin d'obtenir des plantes haploïdes vertes.

Matériel et méthodes

Les croisements sont réalisés entre 2 génotypes de blé tendre : Nesma et Verry's (ce dernier ayant la particularité de porter la translocation 1BL/1RS) de génome AABBDD ($2n = 6x = 42$) pris comme parents femelles et 9 génotypes de blé dur (Cocorit, Isly, Karim, Marzak, Massa, Oum Rabiâa, Sarif, Sebou et Tensift) de génome AABB ($2n = 4x = 28$) pris comme parents pollinisateurs. Les semences sont fournies par la station Guich de l'Inra de Rabat.

Le parent Verry's a la particularité de porter la translocation 1BL/1RS. Les semis de blé sont faits directement dans le champ. Les épis de blé tendre sont castrés manuellement 1 à 3 jours avant l'anthèse puis ils sont recouverts par des sachets en papier cellophane. Lorsque les stigmates de l'épi castré deviennent réceptifs, l'épi pollinisateur est coupé et déposé à côté de celui-ci. Les deux épis sont alors enveloppés dans un même sachet portant les références du croisement. À maturité, les graines hybrides formées sont récoltées. Après la germination quelques racines sont coupées et vont servir pour l'étude cytologique, et les plantules continueront leur développement. Une partie des plantes formées sera utilisée pour la réalisation des rétrocroisements et le reste servira pour la culture d'anthères.

Après obtention de la F_1 , les trois générations successives RC_1 , RC_2 , RC_3 sont obtenues à partir de rétrocroisements avec le parent pollinisateur blé dur. Pour l'appellation des descendants, on adoptera les écritures suivantes : descendants du RC_1 avec le parent donneur Verry's : F_1V x blé dur et avec Nesma : F_1N x blé dur, ceux du RC_2 : RC_1V x blé dur et RC_1N x blé dur et ceux du RC_3 : RC_2V x blé dur et RC_2N x blé dur.

L'étude cytologique des pointes racinaires permettant de réaliser le comptage chromosomique est effectuée comme suit : prétraitement à l' α -bromonaphtalène (1 %), fixation à l'alcool acétique à 4 °C pendant au moins 12 h, hydrolyse à l'HCl 1N, 12 mn à 60 °C, coloration par le réactif de Schiff et écrasement dans une goutte de carmin acétique. À chaque génération, 20 à 30 cellules ont été analysées pour le dénombrement chromosomique.

Pour la technique de culture d'anthères, les épis sont récoltés lorsque les microspores sont au stade uninucléé, vacuolisé. Ils sont soumis à un prétraitement au froid à 4 °C pendant 6 à 8 j, puis sont désinfectés par trempage dans une solution d'hypochlorite de calcium à 4 % pendant 10 mn et rincés 3 fois à l'eau distillée stérile. Les anthères sont ensuite prélevées et déposées à la surface du milieu d'induction gélosé : milieu C_{17} (Wang et Chen, 1986) complété par 2 mg.l⁻¹ de 2,4-D et 1 mg.l⁻¹ kinétine. Pour chaque expérience 350 à 400 anthères sont mises en culture. Les boîtes scellées sont placées à l'obscurité et à une température de 28 ± 2 °C. Après au moins un mois de culture, les embryons formés sont dénombrés et repiqués sur milieu de régénération R_9 (Picard et De Buyser, 1977) sous 16 h d'éclairément et à 22 ± 2 °C. Lorsque les jeunes plantules sont suffisamment développées et bien enracinées, elles sont transférées dans des pots contenant terreau, sable, tourbe à volumes égaux. Puis, on procède au dédoublement chromosomique par immersion des racines pendant 5 h dans une solution de colchicine à 0,1 % additionnée de 2 % de DMSO. Après quelques semaines de sevrage, les plantules seront repiquées dans de grands seaux contenant uniquement du terreau, puis elles seront arrosées régulièrement jusqu'à la formation de graines.

Pour l'analyse statistique, les pourcentages obtenus sont convertis en *Arcsin* et une analyse de la variance est ensuite effectuée selon le test de Fisher (logiciel Super Anova).

■ Résultats

Étude du dénombrement chromosomique des descendants interspécifiques

Étude de la F₁

Théoriquement, un hybride F₁ normal provenant de croisements interspécifiques posséderait la moitié du nombre de chromosomes de chaque parent impliqué dans la combinaison. Ainsi, les hybrides issus de croisements entre le blé hexaploïde (2 n = 42) et le blé dur (2 n = 28) devraient avoir 2 n = 35 chromosomes. En effet, d'après nos observations, toutes les cellules qui ont été analysées présentent un nombre chromosomique égal à 35.

Étude du premier rétrocroisement : RC₁

Chez les descendants du rétrocroisement RC₁ (tabl. 1), la variation du nombre de chromosomes se situe entre 2 n = 28 et 2 n = 34 chromosomes. Les cellules à 2 n = 29 et 2 n = 30 chromosomes présentent la même fréquence qui est la plus élevée atteignant 23,81 %. Par ailleurs, on constate aussi l'importance des cellules à 2 n = 32, 2 n = 33 et 2 n = 34 chromosomes.

Chromosomes Descendance	28	29	30	31	32	33	34
RC1 (%)	4,76	23,81	23,81	4,76	14,28	19,04	9,52
RC2 (%)	26,08	21,74	26,08	17,39	8,69	-	-
RC3 (%)	38,23	32,35	11,76	11,76	2,94	-	2,94

■ Tableau 1

Variation chromosomique des descendants des rétrocroisements RC1, RC2, RC3.

Étude du deuxième rétrocroisement : RC₂

Le nombre chromosomique des descendants du RC2 présente une marge de variation plus restreinte que précédemment allant de

$2n = 28$ à $2n = 32$ chromosomes (tabl. 1). Par comparaison au RC_1 , d'une part les cellules à 33 et 34 chromosomes n'ont pas été observées et, d'autre part, la proportion des cellules à 32 chromosomes a diminué de moitié alors que celle des cellules à 28 chromosomes a beaucoup augmenté, passant de 4,76 % à 26,08 %. De plus, on remarque que les cellules à 28, 29 et 30 chromosomes possédant des fréquences respectives de 26,08 %, 21,74 % et 26,08 % sont les plus nombreuses, représentant 74 % du total.

Étude du troisième rétrocroisement : RC_3

Les descendants de ce rétrocroisement possèdent des cellules montrant une variation chromosomique s'étalant de $2n = 28$ à $2n = 34$ chromosomes (tabl. 1). Néanmoins, on constate l'absence de cellules à 33 chromosomes et un nombre plutôt négligeable de cellules à 32 et 34 chromosomes. Par ailleurs, en comparant cette distribution avec celle du deuxième rétrocroisement, on remarque que la fréquence des cellules à 30, 31 et 32 chromosomes a diminué de moitié alors que celle des cellules à 28 et 29 chromosomes a encore augmenté atteignant respectivement 38,23 % et 32,35 %.

Évaluation de l'aptitude androgénétique des descendants des RC_1 , RC_2 et RC_3

Afin de déterminer la capacité androgénétique des descendants provenant des différents rétrocroisements, le taux d'induction des embryons ainsi que celui des régénérations en plantes chlorophylliennes et albinos ont été analysés.

Androgenèse des descendants du RC_1

L'analyse statistique des données du tableau 2 n'a révélé aucune différence significative entre les croisements effectués pour tous les embryons et les plantes albinos, à l'exception des croisements Nesma x Isly et Nesma x Karim qui présentent des taux élevés en plantes albinos. Ainsi, tous les descendants ont permis l'obtention d'embryons avec des rendements variant de 13,6 % pour F_1V x Marzak qui est donc le plus embryogène à 5,02 % pour F_1N x Karim qui présente le pourcentage d'induction le plus bas. Pour la

	% Embryons		% Plantes vertes chlorophylliennes		% Plantes albinos	
	F1 Verry's	F1 Nesma	F1 Verry's	F1 Nesma	F1 Verry's	F1 Nesma
Cocorit	8,42 a	9,06 a	15,15	5,71	6,06 a	0 a
Isly	12,39 a	5,53 a	13,33	0	6,66 a	8,69 b
Karim	8,55 a	5,02 a	11,11	4,76	2,77 a	9,52 b
Marzak	13,60 a	5,13 a	13,70	9,52	0 a	0 a
Massa	11,86 a	7,47 a	9,52	3,70	2,38 a	0 a
O. Rabiâa	9,89 a	5,88 a	0	0	5,26 a	4,34 a
Sarif	7,40 a	5,52 a	7,69	5,26	0 a	5,26 a
Sebou	12,86 a	7,98 a	14,28	9,67	4,08 a	3,22 a
Tensift	9,21 a	7,67 a	5,88	3,44	2,94 a	0 a

Les moyennes suivies des différentes lettres sont significativement différentes au seuil de $p = 0,05$.

Tableau 2

Réponse androgénétique des descendants du rétrocroisement 1 (RC1).

régénération des plantes chlorophylliennes, tous les descendants ont répondu favorablement à l'exception de $F_1V \times$ Oum. Rabiâa, $F_1N \times$ Isly et $F_1N \times$ Oum Rabiâa. Le meilleur rendement (15,15 %) est obtenu pour $F_1V \times$ Cocorit, alors que le plus bas (3,44 %) est observé chez $F_1N \times$ Tensift. Par ailleurs, on remarque l'absence de régénération albinos pour six croisements. Dans le cas où des plantes albinos ont été obtenues, le descendant $F_1N \times$ Karim atteint un taux maximum de 9,52 % et au contraire $F_1V \times$ Massa présente un taux minimum de 2,38 %.

Androgenèse des descendants du RC_2

Le tableau 3 représente les rendements obtenus pour la réponse androgénétique des descendants du RC_2 . Concernant le rendement en embryons, l'étude statistique montre une différence significative entre les divers croisements. Le descendant $RC_1V \times$ Isly peut être considéré comme le plus embryogène avec un rendement de 11,83 % et $RC_1N \times$ Oum Rabiâa possède le taux le plus faible qui est de 2,35 %. Pour la régénération chlorophyllienne, on remarque que le nombre de croisements n'ayant pas régénéré des plantes vertes a augmenté. Ainsi, en plus des trois croisements mentionnés au RC_1 , trois autres à savoir : $RC_1N \times$ Karim, $RC_1N \times$ Massa et

	% Embryons		% Plantes vertes chlorophylliennes		% Plantes albinos	
	RC1 Verry's	RC1 Nesma	RC1 Verry's	RC1 Nesma	RC1 Verry's	RC1 Nesma
Cocorit	6,12 ab	11,62 b	8,00	2,63	0 a	2,63 a
Isly	11,83 c	5,49 ab	7,14	0	2,38 ab	9,52 a
Karim	4,58 ab	3,51 ab	6,25	0	12,50 b	21,42 a
Marzak	9,14 bc	4,78 ab	8,82	5,88	8,82 ab	17,64 a
Massa	7,45 abc	3,67 ab	7,69	0	0 a	15,38 a
O. Rabiâa	5,61 ab	2,35 a	0	0	4,76 ab	11,11 a
Sarif	4,15 a	3,97 ab	6,66	6,25	6,66 ab	12,50 a
Sebou	11,67 c	8,52 ab	9,09	5,88	0 a	2,94 a
Tensift	5,97 ab	4,67 ab	4,16	0	4,16 ab	11,76 a

Les moyennes suivies des différentes lettres sont significativement différentes au seuil de $p = 0,05$.

Tableau 3

Réponse androgénétique des descendants du rétrocroisement 2 (RC2).

RC₁N x Tensift ont également répondu négativement. Les taux de régénération maximum 9,09 % et minimum 2,63 % ont été obtenus respectivement chez les descendants RC₁V x Sebou et RC₁N x Cocorit. D'autre part, la régénération de plantes albinos a été observée pour tous les croisements à l'exception de RC₁V x Cocorit, RC₁V x Massa et RC₁V x Sebou. L'étude statistique montre qu'il existe une différence significative uniquement entre les descendants de Verry's, en revanche ceux de Nesma présentent une certaine homogénéité dans la réponse à la régénération de plantes albinos.

Androgénèse des descendants du RC₃

L'analyse statistique des données du tableau 4 a révélé une différence significative uniquement pour les rendements en embryons. Les descendants RC₂V x Marzak et RC₂N x Oum Rabiâa présentent respectivement le taux le plus élevé (8,80 %) et le plus faible (1,06 %). Concernant la régénération chlorophyllienne, le nombre de réponses négatives a encore augmenté. En effet, sur 18 croisements réalisés, seuls 7 ont permis l'obtention de plantes chlorophylliennes. Ainsi, en fonction du nombre d'embryons induits, le croisement RC₂V x Sebou présente le meilleur taux de régénérations vertes avec 6,89 % alors que RC₂V x Marzak montre le ren-

	% Embryons		% Plantes vertes chlorophylliennes		% Plantes albinos	
	RC2 Verry's	RC2 Nesma	RC2 Verry's	RC2 Nesma	RC2 Verry's	RC2 Nesma
Cocorit	5,77 bc	3,61 abc	5,26	0	15,78 a	7,14 a
Isly	5,27 abc	1,87 ab	5,26	0	5,26 a	14,28 a
Karim	2,47 a	2,17 abc	0	0	22,22 a	25,00 a
Marzak	8,80 c	6,42 c	3,22	4,34	9,67 a	8,69 a
Massa	5,01 abc	1,63 a	5,55	0	22,22 a	33,33 a
O. Rabiaa	3,26 ab	1,06 a	0	0	25,00 a	25,00 a
Sarif	3,44 ab	2,75 abc	0	0	15,38 a	9,09 a
Sebou	7,10 bc	4,61 bc	6,89	5,88	10,34 a	5,88 a
Tensift	3,73 ab	2,94 abc	0	0	18,75 a	16,66 a

Les moyennes suivies des différentes lettres sont significativement différentes au seuil de $p = 0,05$.

Tableau 4

Réponse androgénétique des descendants du rétrocroisement 3 (RC3).

dement le plus bas avec 3,22 %. Enfin, contrairement aux rétrocroisements RC₁ et RC₂, tous les descendants ont régénéré des plantes albinos. Le taux le plus important est obtenu pour RC₂N x Massa avec 33,33 % alors que RC₂V x Isly a montré le rendement le plus bas qui est de 5,26 %.

Effet du génotype femelle

La figure 1 représente les rendements de la réponse androgénétique en fonction des génotypes des parents femelles pour les trois rétrocroisements effectués et pour tous les génotypes de blé confondus. D'après les résultats de l'étude statistique, on observe qu'à l'exception du RC₁ qui présente une différence significative entre les deux parents femelles Verry's et Nesma pour leur capacité embryogène, Verry's possédant le meilleur rendement (10,4 %), les deux autres rétrocroisements RC₂ et RC₃ ne montrent aucune différence pour ce paramètre. Par ailleurs, en ce qui concerne la capacité de régénération chlorophyllienne, l'étude statistique révèle une différence significative entre les deux parents femelles avec une nette supériorité du génotype Verry's par rapport à Nesma et ceci pour les trois

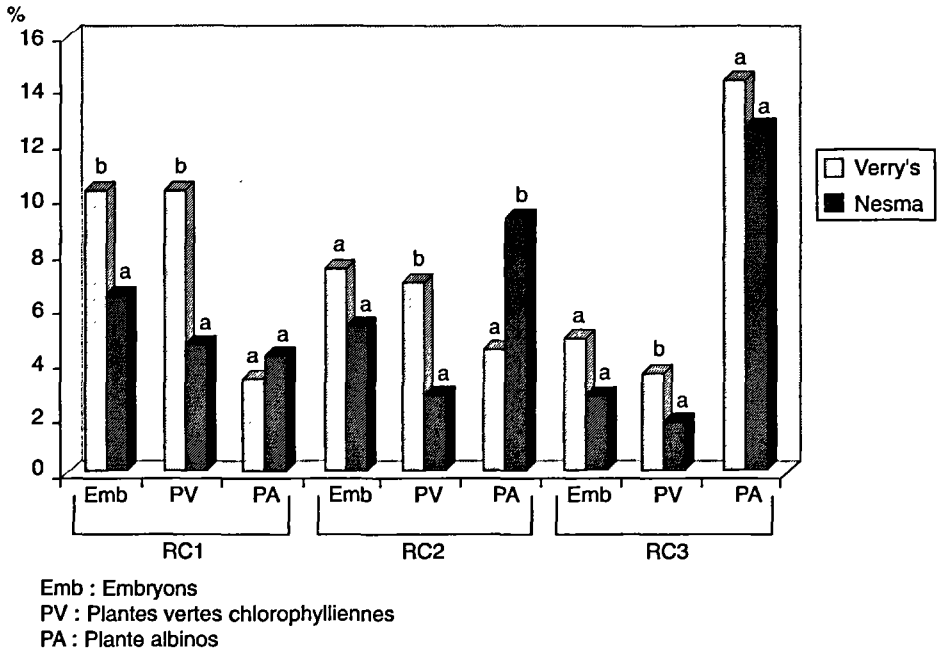


Figure 1
 Rendements androgénétiques des trois rétrocroisements en fonction du génotype des parents femelles. (toutes variétés de blé confondues).

rétrocroisements RC₁, RC₂ et RC₃. Enfin, pour la régénération en plantes albinos, à l'exception du rétrocroisement RC₂, où le taux de régénération avec le parent Nesma est significativement plus élevé qu'avec Verry's, les autres rétrocroisements RC₁ et RC₂ ne montrent aucune différence significative.

Comparaison des rendements androgénétiques des trois rétrocroisements

D'après la représentation des figures 2 et 3, on remarque que le pourcentage d'embryons diminue sensiblement du RC₁ au RC₃. En effet, l'étude statistique montre une différence significative entre les trois rétrocroisements issus de la descendance du parent femelle

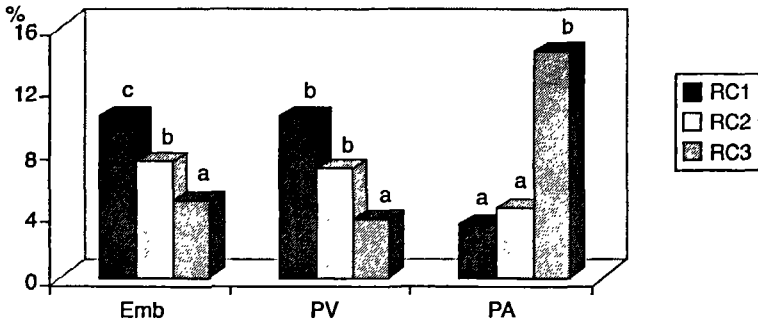


Figure 2

Comparaison de la réponse androgénétique des trois rétrocroisements issus de la F1 : Verry's x blé dur.

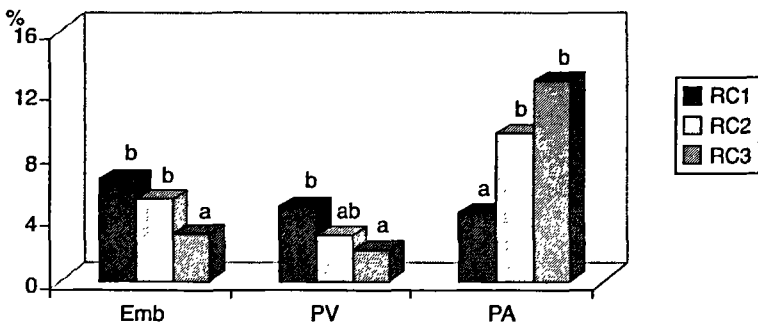


Figure 3

Comparaison de la réponse androgénétique des trois rétrocroisements issus de la F1 : Nesma x blé dur.

Verry's, cependant en ce qui concerne le parent Nesma, seule le RC₃ diffère par rapport aux autres rétrocroisements RC₁ et RC₂. Toutefois, on remarque dans les deux cas que le rendement en embryons du RC₁ est deux fois plus important que celui du RC₃ variant de 4,9 % à 10,4 % avec Verry's et de 2,9 % à 6,5 % avec Nesma. Concernant la production de plantes chlorophylliennes, on observe aussi une diminution régulière du rendement du RC₁ au RC₃. Cette variation est assez nette car le pourcentage de plantes vertes obtenu chez le RC₁ est deux fois et demi à trois fois plus élevé que chez le RC₃, passant de 3,6 % à 10,4 % avec Verry's et de

1,9 % à 4,8 % avec Nesma. Quant à la régénération de plantes albinos, contrairement aux facteurs précédents, il y a une augmentation du rendement du RC₁ au RC₃. Dans ce cas, le pourcentage de plantes albinos régénérées au RC₃ est trois à quatre fois plus important qu'au RC₁.

Discussion

L'étude cytogénétique a montré que le nombre chromosomique des hybrides de la F₁ ainsi que la marge de variation des rétrocroisements RC₁, RC₂ et RC₃ sont en parti conformes à la théorie. Ainsi, toutes les cellules analysées à la F₁ possèdent 35 chromosomes à savoir la moitié des chromosomes de chacun des deux parents inclus dans le croisement. De plus, concernant la variation du nombre chromosomique, elle se situe entre 28 et 34 chromosomes pour les rétrocroisements RC₁ et RC₃ et entre 28 et 32 chromosomes pour le RC₂. On remarque que les cellules à 35 chromosomes qui théoriquement devraient être incluses dans la marge de variation des RC₁, RC₂ et RC₃ n'ont pas été observées. Cette variation dans le nombre chromosomique a déjà été observée par Fedak (1980), Islam *et al.* (1981), Finch et Bennett (1982) après plusieurs générations de croisements entre le blé et l'orge. Celle-ci peut s'expliquer par une distribution aléatoire des chromosomes du génome D au cours des divisions méiotiques (Mujeeb-Kazi *et al.*, 1978). En effet, l'analyse du taux de variation du nombre chromosomique des descendants des trois rétrocroisements a révélé soit l'absence des chromosomes du génome « D » dans le cas où $2n = 28$, soit la présence de 1 à 6 chromosomes appartenant à ce même génome dans le cas où $2n = 29$ jusqu'à $2n = 34$ chromosomes. Par comparaison au RC₁, les rétrocroisements RC₂ et RC₃ montrent une baisse de la fréquence et parfois même une absence des cellules ayant un nombre supérieur à 31 chromosomes et au contraire une augmentation des cellules à 28 et 29 chromosomes. Par exemple, on remarque que la proportion des cellules à 28 chromosomes a sensiblement augmenté du RC₁ au RC₃ en passant respectivement de 4,76 % à 38,23 %. Ces

constatations ne peuvent s'expliquer que par la « dilution » du nombre de chromosomes du génome « D » voire même l'absence de ce génome au cours des rétrocroisements, ce qui va permettre aux cellules de stabiliser leur nombre de chromosomes à $2n = 28$.

Par ailleurs, à la lumière de nos observations sur l'aptitude androgénétique, on peut souligner l'importance du génotype des descendants. En effet, chaque plante-mère représente un génotype différent par son nombre chromosomique, et sa capacité androgénétique. Cette influence du génotype dans l'androgenèse a déjà été mise en évidence par différents auteurs (Lazar *et al.*, 1984 ; Ghaemi *et al.*, 1993 ; Saïdi *et al.*, 1997). Toutefois, pour l'ensemble des croisements, ce rendement généralement assez faible et en particulier celui des plantes vertes est probablement en relation avec la nature du matériel végétal utilisé. Des études antérieures réalisées sur l'androgenèse des génotypes parents ont montré que le pourcentage de régénération chlorophyllienne est quasiment nul pour ces mêmes variétés de blé dur utilisées (Chlyah et Saïdi, 1991), alors qu'il atteint 23 % pour la variété de blé tendre Verry's (El Haddouri *et al.*, 1993). Ainsi, d'après ces données, on pourrait expliquer l'obtention de régénérations chlorophylliennes après croisements interspécifiques blé tendre x blé dur par un effet positif du cytoplasme blé tendre. En effet, Day et Ellis (1984) ont montré que la régénération albinos chez le blé tendre et l'orge est due à une délétion dans l'ADN chloroplastique. Toutefois une action nucléaire et éventuellement une interaction nucléo-cytoplasmique ne sont pas exclues (Sarraf *et al.*, 1994). De plus, Tuveson *et al.* (1989) ont rapporté que l'expression des gènes chloroplastiques est sous le contrôle des gènes nucléaires pendant le développement des plastes. Enfin, Ghaemi et Sarraf (1994) ont mis en évidence l'importance du génome « D » dans l'amélioration de la réponse androgénétique et en particulier de la régénération chlorophyllienne chez des génotypes de blé tétraploïde après addition du génome « D ».

D'autre part, la comparaison entre les deux parents femelles Verry's et Nesma, impliqués dans les croisements avec les différents génotypes de blé dur, montre une supériorité du génotype Verry's, particulièrement pour le rendement en embryons et la capacité de régénération chlorophyllienne. Ce résultat, considéré comme positif, peut s'expliquer par la présence chez la variété Verry's de la

translocation 1BL/1RS. En effet, Henry et de Buyser (1985) ont montré que les génotypes qui portent cette translocation présentent une bonne aptitude à l'androgénèse et surtout une meilleure capacité de régénération chlorophyllienne. Ceci a été confirmé plus tard par d'autres chercheurs tels que : Agache *et al.* (1989), Foroughi-Wehr et Zeller (1990), Cattaneo *et al.* (1991). D'après Picard *et al.* (1994) d'autres translocations impliquant d'autres chromosomes de seigle, tel que le chromosome 4R, améliorent significativement le rendement en androgénèse. Ceci a été observé par Lazar *et al.* (1987) chez une lignée d'addition de blé tendre « Chinese spring »/Seigle.

Enfin, d'après la comparaison de la réponse androgénétique des trois rétrocroisements, on remarque que le rendement androgénétique le plus élevé est obtenu pour le RC1, suivi du RC2 puis du RC3. Cette perte de l'aptitude à la régénération chlorophyllienne pourrait en partie s'expliquer par les résultats de l'analyse cytogénétique. Celle-ci a montré au cours des rétrocroisements une augmentation très marquée des cellules à 28 chromosomes, cellules ayant un nombre chromosomique équivalent à celui du blé dur, avec absence du génome « D ». Ceci laisse supposer que le génome « D » joue un rôle important dans l'amélioration de la réponse androgénétique et confirme donc l'hypothèse émise par Ghaemi et Sarrafi (1993) sur l'action positive de ce génome « D » après étude de l'androgénèse des descendants interspécifiques blé tendre x blé dur.

Conclusion

Cette méthode d'hybridation interspécifique, suivie par la culture d'anthères, a permis l'obtention de plantes chlorophylliennes. En effet, à chaque génération, les plantes haploïdes-doublées chlorophylliennes obtenues après androgénèse et possédant un nombre chromosomique $2n = 28$ pourraient être utilisées comme un matériel de choix dans les programmes d'amélioration du blé dur. Cependant, malgré ce résultat positif, il a été constaté qu'à mesure que le nombre de rétrocroisements augmente le nombre de plantes albinos devient de plus en plus important. Afin de surmonter ce pro-

blème d'albinisme, d'autres méthodes de production de plantes haploïdes ont été utilisées : la gynogenèse (Mdarhri-Alaoui *et al.*, 1998) et les croisements blé dur x maïs (Cherkaoui *et al.*, 2000). Cette méthode de croisement intergénérique blé dur x maïs reste la plus rapide et la plus sûre car, d'une part, elle a permis la production d'un grand nombre de plantes haploïdes en une seule génération et, d'autre part, toutes les plantes régénérées sont chlorophylliennes.

Bibliographie

- Agache S, Becheller B, De Buyser J, Henry Y, Snape J 1989 — Genetic control of anther culture response in wheat using aneuploid, chromosome substitution and translocation lines. *Theor Appl Genet* 77 : 7-11.
- Cattaneo M, Qiao YM, Pogna NE 1991 — Embryoid induction and green plant regeneration from cultured anthers in a durum wheat line homozygous for the 1BL/1RS translocation. *J Genet Breed* 45 : 369-372.
- Cherkaoui S, Lamsaouri O, Chlyah A, Chlyah H 2000 — Durum wheat x maize crosses for haploid wheat production: Influence of parental genotypes and various experimental factors. *Plant Breeding* 119 : 31-36.
- Chlyah H, Saidi N 1991 — Analyse des capacités androgénétiques de génotypes marocains de *Triticum durum*. In L'amélioration des plantes pour l'adaptation aux milieux arides. Aupelf-Uref, éd. John Libbey Eurotext, Paris, 135-148.
- Day A, Ellis THN 1984 — Chloroplast DNA deletions associated with wheat plants regenerated from pollen: possible basis for maternal inheritance of chloroplasts. *Cell* 39 : 359-368.
- El Haddoury J 1990 — Contribution à l'analyse des capacités androgénétiques de certains génotypes marocains de blé tendre. Thèse de doctorat de 3^e cycle, université Mohammed V, 96 p.
- El Haddoury J, Chlyah H, Picard E 1993 — Étude de l'effet de quelques facteurs génotypiques et environnementaux de l'androgenèse *in vitro* chez des variétés de blé tendre adaptées au Maroc. In Le progrès génétique passe-t-il par le repérage et l'inventaire des gènes ? Aupelf-Uref, éd. John Libbey Eurotext, Paris, 221-232.
- Fedak G 1980 — Production, morphology and meiosis of reciprocal barley wheat hybrids. *Can J Genet Cytol* 22 : 117-123.
- Finch RA, Bennett MD 1982 — Preferential survival of wheat haploids over hybrids in wheat x barley cross. *Heredity* 48 : 293-298.
- Forougui-Wehr B, Zeller FJ 1990 — *In vitro* microspore reaction of different German wheat cultivars. *Theor Appl Genet* 79 : 77-80.

- Ghaemi M, Sarrafi A, Alibert G 1993 — Influence of genotype and culture conditions on the production of embryos from anthers of tetraploid wheat (*Triticum turgidum*). *Euphytica* 65 : 81-85.
- Ghaemi M, Sarrafi A 1994 — The effect of the "D" genome from synthetic wheat lines in anther culture responses. *Plant Breeding* 112 : 76-79.
- Henry Y, De Buyser J 1985 — Effect of 1B/1R translocation on anther culture ability in wheat (*Triticum aestivum* L.) *Plant Cell Reports* 4 : 307-310.
- Islam AKMR, Shepherd KW, Sparrow DHB 1981 — Isolation and characterization of euplasmic wheat-barley chromosome addition lines. *Heredity* 46 : 161-174.
- Lazar MD, Baenziger PS, Schaeffe GW 1984 — Combining abilities and heritability of callus formation and plantlet regeneration in wheat (*Triticum aestivum* L.) anther cultures. *Theor Appl Genet* 68 : 131-134.
- Lazar MD, Chen TH, Scoles GJ, Kartha KK 1987 — Immature embryo and anther culture of chromosome addition lines of rye in chinese spring wheat. *Plant Sci* 51 : 77-81.
- Mdarhri-Alaoui M, Saidi N, Chlyah A, Chlyah H 1998 — Obtention par gynogenèse *in vitro* de plantes haploïdes chlorophylliennes chez le blé dur. *CR Acad. Sci. Paris* 321 : 25-30.
- Mujeeb-Kazi A, Thomas JB, Rodriguez R, Waters RF, Bates LS 1978 — Chromosome instability in hybrids of *Hordeum vulgare* with *Triticum turgidum* and *T. aestivum*. *J Heredity* 69 : 179-182.
- Picard E, De Buyser J 1977 — High production of embryoids in anther culture of pollen derived homozygous spring wheat. *Ann. Amél. Plantes* 27 : 483-488.
- Picard E, Crambes E, Liu GS, Mihamou-Ziyyat A 1994 — Évolution des méthodes d'haplodiploïdisation et perspectives pour l'amélioration des plantes. *CR Soc. Biol.* 188 : 109-141.
- Saidi N, Cherkaoui S, Chlyah A, Chlyah H 1997 — Embryo formation and regeneration in *Triticum turgidum* ssp. *durum* anther culture. *Plant Cell Tiss Org Cult* 51 : 27-33.
- Sarrafi A, Ghaemi M, Amrani N, Alibert G 1994 — Contrôle nucléaire et cytoplasmique de la régénération haploïde chez les blés tétraploïdes. In *Quel avenir pour l'amélioration des plantes ?* Aupelf-Uref, édit. John Libbey Eurotext, Paris, 299-303.
- Turesson IKD, Pedersen S, Andersen SB 1989 — Nuclear genes affecting albinism in wheat (*Triticum aestivum* L.) anther culture. *Theor Appl Genet* 78 : 879-883.
- Wang P, Chen YR 1986 — A study on the application of C17 medium for anther culture. *Acta Bota. Sin.* : 28-45.