

Obtention d'embryons par croisement interspécifique entre le blé dur et Aegilops

C. Djenadi

Laboratoire de Physiologie Végétale et Amélioration des Plantes, Institut National de la Recherche Agronomique d'Algérie, 2 rue des Frères Ouaddek, B.P. 200, Hacene Badi El Harrach, Algérie

RESUME – En vue d'une amélioration à la sécheresse et aux gelées tardives, deux contraintes que rencontre la culture du blé dur en Algérie, des croisements interspécifiques entre hybrides F₁ de blé dur et Aegilops ont été réalisés. En effet, les espèces sauvages apparentées au blé constituent une ressource importante de variabilité génétique. L'usage de ces espèces pour les croisements, est de plus en plus courant et ce grâce au progrès des méthodes de sauvetage d'embryons. Le pollen d'Aegilops a induit un taux de nouaison de 25% et la formation de 515 embryons. Ces embryons ont été placés sur deux milieux : MS1/2 et B5 à une température de 20°C +/-2.

Most-clés : Blé dur, Aegilops, croisement interspécifique, embryons.

SUMMARY – “Obtention of embryos by interspecific crossing between durum wheat and Aegilops”. With the purpose of breeding for resistance to drought and late frost, two limitations in durum wheat culture in Algeria, interspecific crosses between F₁ durum wheat hybrids and Aegilops were made. In fact, the wild species related to wheat are an important source of genetic variability. The use of these species for crosses is increasingly more common, also as a result of embryo rescue methods. Aegilops pollen has induced a 25% rate of seed setting and the formation of 515 embryos. These embryos were placed in two media: MS1/2 and B5 at a temperature of 20 ± 2°C.

Key words: Durum wheat, Aegilops, interspecific crosses, embryos.

Introduction

Les croisements interspécifiques réalisés sur blé ont d'abord servi à l'étude des relations phylogénétiques entre les genres et à évaluer les possibilités d'exploitation des espèces croisées pour l'amélioration du blé. Les premiers croisements ont surtout concerné les Aegilops, leurs génomes présentent une grande affinité avec ceux des blés et donc peuvent être efficacement exploités dans les opérations de transfert de gènes.

De ce type de croisement résulte une élimination du stock chromosomique de l'espèce sauvage au cours des divisions des cellules de l'embryon. Cette élimination est progressive et serait due soit à la désynchronisation des cycles mitotiques des deux espèces, soit à l'inactivation du génome étranger, soit à des anomalies du fuseau mitotique ou du centriole. Elle dépend aussi du sens du croisement, du génotype des plantes donneuses de pollen et des plantes femelles réceptrices.

C'est cette même technique que nous avons tenté d'utiliser pour l'obtention d'haploïdes à partir de croisements entre hybrides de blé dur issus de croisements intraspécifiques entre variétés locales et variétés introduites.

Matériels et méthodes

Dans cet essai quatre (04) hybrides F₂ de *Triticum durum* Desf. (S3, S4, S11, S13) ont été croisés avec Aegilops. Les semis ont été effectués en plein champs. La castration des épis est réalisée 1 à 4 jours avant l'anthèse et ces derniers sont ensachés afin d'éviter une pollinisation accidentelle.

Lorsque les stigmates sont réceptifs (l'ovaire a grossi et les stigmates sont plumeux), du pollen fraîchement récupéré des plants d'Aegilops y est déposé à l'aide d'un pinceau ; 24 h plus tard un traitement d'acide 2,4 diclophénoxyacétique (2,4-D) à 100 mg/l est injecté dans le dernier entre-nœud et une goutte de la même solution est déposée sur chaque fleur, 48 h plus tard un autre traitement à base de gibbérelline à 75 mg/l est réalisé par pulvérisation sur les épis.

Environ 10 à 20 jours après pollinisation, les ovaires qui ont augmenté de volume, ce qui correspond à une réaction de nouaison, sont prélevés. Les ovaires sont stérilisés sous hotte à flux laminaire, cinq minutes à l'hypochlorite de calcium à 90°C puis dix minutes à l'hypochlorite de sodium à 6% suivi de 3 rinçages à l'eau distillée stérile.

Sous une loupe binoculaire, les ovaires sont disséqués et les embryons sont recueillis de la partie basale. Les embryons prélevés sont émis en culture sur deux milieux de culture différents B5 (Gamborg et Evaleigh, 1968) additionné de 30 g/l de saccharose et Ms1/2 (Murashige et Skoog, 1962) spécifié par Sears et Deckard (1982). Les embryons sont maintenus à l'obscurité à une température de $20 \pm 2^\circ\text{C}$.

Résultats et discussion

Les différents résultats obtenus sont regroupés dans la Table 1.

Table 1. Comparaison des croisements blé dur x *Aegilops*

Hybrides de blé dur	Nombre de fleurs pollinisées	Nombre d'ovaire prélevés	Nouaison (%)	Nombre d'embryons	Nouaison/embryons (%)
S13	1134	202	17,81	124	61,3
S4	718	299	41,64	232	77,59
S3	737	50	6,78	31	62
S11	431	203	47,09	128	63,05

Le taux de nouaison est variable d'un cultivar à un autre, il varie de 47,09% pour l'hybride S11 à 6,78% pour l'hybride S3 sur l'ensemble des fleurs fécondées. La moyenne observée est de 25%. Ces résultats sont supérieurs à ceux obtenus par (Coumans *et al.*, 1993), lors des croisements entre le blé dur et le maïs qui ont obtenu un taux de nouaison de 13%.

Ce taux permet d'avoir une estimation de la réactivité des ovules mais n'est pas une preuve irréfutable de fécondation (Coumans *et al.*, 1993).

Sur les 3020 fleurs pollinisées, par le pollen de *Aegilops* 515 embryons ont été obtenus. Ce taux n'est pas élevé, mais comparable à ceux de Chlyah *et al.* (1999) et supérieur à ceux de Coumans *et al.* (1993) qui sur 740 fleurs de blé dur pollinisées par du maïs n'ont obtenu que 2 embryons.

Les embryons formés sont souvent de taille et de forme différentes. Lors de la mise en culture il a été observé une augmentation de volume des embryons, mais pas pour autant de germination. Généralement, on observe une germination immédiatement après mise en culture et régénération en plante verte à partir de 6 semaines (Inagaki *et al.*, 1987). Dans notre cas aucune plante verte n'a pu être régénérée.

L'influence du génotype est plus ou moins forte sur le développement gynogénétique. L'incompatibilité interspécifique que rencontre le blé dur avec les espèces voisines est sous contrôle génétique. Deux allèles sur 2 loci (*Kr1*, *Kr2*) sont responsables de l'incompatibilité. Ces deux allèles sont localisés respectivement sur le chromosome B5 et A5.

Conclusion

La technique de production d'haploïdes de blé dur par gynogenèse induite par pollen étranger (*Aegilops*) a permis d'obtenir des embryons qui n'ont cependant pas évolué en plantes vertes. Ceci serait notamment dû à la petite taille des embryons au moment de leur transfert dans les milieux de culture.

Références

- Chlyah, O., Amail, O., Saidi, N., Cherkaoui, S., Lamsaouri, O., Chlyah, A.B. et Chyah, S. (1999). Haploïdiploïdisation chez le blé dur par croisements intergénériques : Blé dur x *Hordeum bulbosum* et blé dur x maïs. *Agricultures*, 8(4) : 330-333.
- Coumans, M.P., Boutouchent, F., Dusautoir, J.C. et Kaan, F. (1993). Obtention d'embryons par croisements interspécifiques entre le blé dur et autres céréales. Tolérance à la sécheresse des céréales en zone méditerranéenne. *Les Colloques de l'INRA*, 64.
- Gamborg, O.L. et Eveleigh, D.E. (1968). Culture methods and detection of glucanases in suspension cultures of wheat and barley. *Can. J. Biochem.*, 46 : 417-421.
- Inagaki, M., Henry, Y. et De Buyser, J. (1987). Comparison of haploid production efficiency through anther culture and intergeneric crossing in three wheat varieties and their F1 hybrids. *Jpn. J. Breed.*, 37(4) : 474-478.
- Murashige, T. et Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.*, 15 : 473-497.
- Sears, R.G. et Deckard, E.L. (1982). Tissue culture variability in wheat : Callus induction and plant regeneration. *Crop Sci.*, 22 : 546-550.