

# Potentialités androgénétiques des quatre cytodèmes d'*Anthoxanthum odoratum* L. s. lat.

Autor(en): **Felber, François / Jacot, Philippe**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Botanica Helvetica**

Band (Jahr): **97 (1987)**

Heft 1

PDF erstellt am: **17.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-67853>

## **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

## **Haftungsausschluss**

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

## Potentialités androgénétiques des quatre cytodèmes d'*Anthoxanthum odoratum* L. s. lat.

François Felber et Philippe Jacot

Institut de Botanique, Laboratoire de Phanérogamie, Chantemerle 22, CH-2000 Neuchâtel 7

Manuscrit accepté le 8 décembre 1986

### Abstract

Felber F. and Jacot Ph. 1987. Androgenetic potentialities of the four *Anthoxanthum odoratum* L. s. lat. cytodemes. Bot. Helv. 97: 53–60.

Anther culture was carried out for some natural *Anthoxanthum odoratum* L. s. lat. (Poaceae) populations, corresponding to four cytodemes and two degrees of polyploidy. Cytological observation of the early stages of development showed that several androgenetic patterns are possible. Albinic callus were obtained for each cytodeme as well as on all media tested [MS (Murashige and Skoog 1962), N (Nitsch and Nitsch 1969), Potato-2 medium (Chuang et al. 1978), Wh (White 1943)]. The proportion of anthers showing a growth response (between 0 and 2.7%) depends on the culture medium and the population. Significant rhizogenesis was obtained, and in only one case a chlorotic plantlet developed. By karyological observation of several callus originating from tetraploid cytodemes it was possible to establish dihaploid, tetraploid and in one case aneuploid chromosome counts.

*Key-words:* androgenesis – anther culture – *Anthoxanthum* – natural populations.

### Introduction

Jusqu'ici, la culture d'anthères a été essentiellement utilisée sur des plantes cultivées (Chu 1982). Pourtant, cette technique appliquée à des complexes polyploïdes spontanés permettrait, en particulier, d'estimer la variabilité des potentialités androgénétiques des différents taxons d'une même espèce collective.

A cet égard, *Anthoxanthum odoratum* L. s. lat., la Flouve odorante (Poaceae), représente un matériel favorable. Cette espèce eurasiatique, devenue synanthropique, comprend quatre cytodèmes correspondant à deux degrés de polyploïdie: *A. odoratum* s. str. diploïde ( $2n = 10$ ) et tétraploïde ( $2n = 20$ ) d'une part, et *A. alpinum* Löve et Löve diploïde ( $2n = 10$ ) et tétraploïde ( $2n = 20$ ) d'autre part. Les cytodèmes isoploïdes se distinguent entre autre par la morphologie des chromosomes à constriction secondaire (Teppner 1970). Enfin, pour *A. odoratum* tétraploïde, Qureshi et al. (1981) ont obtenu des cals à partir de fragments somatiques.

Dans ce travail nous présentons les résultats obtenus par culture *in vitro* d'anthères pour les quatre cytodèmes de ce complexe polyploïde.

<sup>1</sup>cytodème = groupe d'individus caractérisé par un caryotype particulier

## Matériel et méthodes

Le matériel (tableaux 2 et 3) a été récolté dans la nature et cultivé en jardin expérimental. Il comprend des plantes des quatre cytodèmes d'*A. odoratum* L. s. lat. et des intermédiaires naturels *A. odoratum* tétraploïde  $\times$  *A. alpinum* tétraploïde (Felber, non publié).

Au cours de deux années successives (1984 et 1985), les inflorescences de 3 à 16 individus par population sont récoltées lors de l'apparition des premiers stigmates puis prétraitées à 4 °C pendant 72 heures (Nitsch et Nitsch 1970). Ce stade correspond pour beaucoup d'étamines au début de la première mitose pollinique.

Les épillets sont détachés de la panicule puis désinfectés à l'hypochlorite de Calcium (2%, 10 min.) et lavés deux fois à l'eau désionisée stérile. Les étamines sont disposées sur quatre milieux standards (tableaux 1 et 3) dans des boîtes de Pétri stériles (8,5 centimètres de diamètre) à raison de 120 étamines par boîte. Les milieux sont additionnés de saccharose (2, 3 ou 10%) et d'agar (Difco Noble Agar 0,8%), ajustés à pH = 5,8, et autoclavés (1 kg/cm<sup>2</sup> pendant 20 min.). Les cytokinines et les auxines (tableaux 1 et 3) sont ajoutées par filtration.

Après la mise en culture, les boîtes de Pétri sont incubées à l'obscurité à 26 °C.

Après une semaine, une centaine d'anthères prélevées au hasard sur les quatre milieux sont fixées au Carnoy (acide acétique: alcool absolu 1 : 3) puis colorées au réactif de Schiff (Oestergren et Heneen 1962) pour déterminer leur stade de développement.

Après six semaines, les cals sont repiqués sur un milieu de différenciation (diminution de la teneur en saccharose à 1% et de la concentration des hormones d'un facteur dix) pour induire l'organogénèse, puis placés dans une chambre de culture [lumière 15 heures (25 °C), obscurité 9 heures (20 °C)].

En 1984, les boîtes dont au moins une des étamines offre des cals sont notées. En 1985, les anthères ayant réagi sont dénombrées et suivies individuellement. Les racines formées sont fixées et colorées (Östergren et Heneen 1962) pour établir leur nombre chromosomique.

## Résultats et discussion

Une semaine après la mise en culture, moins de 1% des microspores sont encore chromophiles. La plupart des survivants ont alors un, deux ou trois noyaux (un noyau végétatif et deux noyaux reproducteurs) qui correspondent aux stades normaux du développement.

Quelques grains de pollen présentent des divisions surnuméraires démontrant le début de l'androgénèse. Ainsi, nous avons observé des microspores à deux noyaux reproducteurs et un noyau végétatif en division (Fig. 1), plusieurs à 4 (Fig. 2), 7 ou 9 noyaux (Fig. 3) et même un grain de pollen à plus de 10 noyaux.

L'existence de microspores à 4 noyaux identiques (Fig. 2) implique une première division symétrique. Cependant l'observation de noyaux différenciés en division (Fig. 1 et 4) montre qu'un développement est aussi possible après une première division asymétrique, équivalent à la première mitose pollinique.

Après six semaines, les premiers cals apparaissent (Fig. 5 et 6). Dans un seul cas (population de Pezzeit cultivée sur MS K6D6 en 1984), une embryogénèse apparemment directe (Fig. 7) a permis le développement d'une plantule chlorotique.

Au cours de l'année 1984 (tableaux 1 et 2), plus de cals ont été formés sur MS, P2 et Wh que sur N. Les résultats varient également en fonction de la combinaison hormonale et des génotypes de la population. La présence de cytokinine ne semble pas indispensable, le milieu Wh D7 ayant également produit des cals. La méthode utilisée, recensement des boîtes présentant des cals ne permet pas d'analyses détaillées.

En 1985 (tableau 3) deux milieux de culture ont été choisis: P2, le meilleur en 1984, et MS, sur lequel s'est développé la plantule. Deux combinaisons hormonales ont été testées: K7D6, pour ses bons résultats en 1984, et BA6D6NAA6, une nouvelle composition. Deux concentrations de saccharose 3% pour MS et 10% pour P2) ont été choisies en plus de celle utilisée en 1984. Dans la mesure du possible, les populations offrant de bons résultats en 1984 ont été reprises en 1985 et complétées par de nouvelles provenances.

En 1985, les meilleurs rendements (proportion d'anthères présentant des cals) ont été obtenus sur MS (jusqu'à 2,7%). Ils dépendent de la teneur en saccharose mais peu des combinaisons hormonales. En effet, le rendement de MS 2% est significativement différent de celui de MS 3% (au seuil de 5%). En revanche, le rendement de MS 2% K7D6 n'est pas significativement différent de celui de MS 2% BA6D6NAA6.

Sur P2, des cals ont été produits dans une seule situation alors que ce milieu a offert de bons résultats en 1984. L'irrégularité de P2 d'une année à l'autre peut être expliquée par la variabilité de l'extrait naturel.

Le rendement androgénétique par population est compris entre 0 et 0,8%. Il varie d'une population à l'autre pour un même cytodème (*A. alpinum* tétraploïde). Les bons résultats obtenus sur le matériel de Pezzeit en 1984 sont confirmés en 1985. En revanche, les résultats différant d'une année à l'autre (par exemple Pican qui a produit des cals sur MS en 1985 mais pas en 1984) tiennent peut-être à la petite taille des échantillons. De façon générale, les résultats des deux années d'expérimentation suggèrent que le rendement androgénétique dépendrait plus des génotypes de la population que de l'appartenance à un cytodème ou à un degré de polyploïdie particulier.

Malgré plusieurs semaines de développement à la lumière, aucun cal chlorophyllien n'a été observé. L'albinisme des structures androgénétiques est un phénomène fréquent chez les Graminées (Pagniez et Demarly 1979) et plusieurs hypothèses ont été formulées (Sun et al. 1979, Sunderland et Huang 1985).

Tableau 1. Résultats de l'année 1984; nombre de boîtes dont au moins une anthère a réagi, en fonction des milieux et des mélanges hormonaux

Milieux	K7D7 <sup>a</sup>	K7D6	K6D7	K6D6	D7	Totaux par milieu
MS 2% <sup>b</sup>	1 (8) <sup>c</sup>	3 (10)	1 (9)	2 (8)	—	7 (35)
N 2%	2 (7)	1 (10)	0 (11)	0 (10)	—	3 (38)
P2 2%	3 (10)	3 (12)	4 (11)	0 (9)	—	10 (42)
Wh 2%	—	2 (7)	2 (9)	0 (11)	3 (8)	7 (35)
Totaux par mélange hormonal	6 (25)	9 (39)	7 (40)	2 (38)	3 (8)	27 (150)

<sup>a</sup> Mélange hormonal; K = kinétine (6-furfuryl-aminopurine), D = Acide dichlorophenoxy-2,4-acétique, 7 = 10<sup>-7</sup> M, 6 = 10<sup>-6</sup> M.

<sup>b</sup> Milieu de culture; MS = Murashige et Skoog (1962), P2 = Potato-2 medium de Chuang et al. (1978), Wh = White (1943), N = Nitsch et Nitsch (1969), 2% = teneur en saccharose.

<sup>c</sup> 1 (8); 1 = nombre de boîtes dont au moins une anthère a réagi, (8) = nombre de boîtes inoculées.

Tableau 2. Résultats de l'année 1984; nombre de boîtes dont au moins une anthère a réagi, en fonction des populations et des milieux (sans tenir compte des mélanges hormonaux)

Cytodèmes	Populations	MS 2%	N 2%	P2 2%	Wh 2%	Totaux par population
<i>A. alpinum</i> 2x	Grand Chavalard (CH), 82-1590 <sup>a</sup>	-	0 (4)	-	-	0 (4)
	Hohneck (F), 83-1214	1 (6)	1 (7)	1 (5)	0 (6)	3 (24)
<i>A. alpinum</i> 4x	Croix-Morand (F), 82-1535	0 (4)	-	0 (3)	4 (7)	4 (14)
	Morgins (CH), 83-746	1 (5)	0 (2)	2 (4)	0 (1)	3 (12)
	Reculet (F), 83-747	0 (1)	0 (3)	-	-	0 (4)
	Supeyres (F), 82-1538	1 (3)	-	0 (10)	0 (1)	1 (14)
<i>A. odoratum</i> 2x	Nida (GR), 82-1101	-	-	0 (5)	-	0 (5)
	Pican (YU), 83-1007	0 (4)	0 (5)	0 (1)	1 (4)	1 (14)
<i>A. odoratum</i> 4x	Ambert (F), 83-1120	1 (4)	-	-	-	1 (4)
	Escandorgue (F), 83-1117	-	0 (4)	-	-	0 (4)
	Jenins (CH), 82-1731	-	1 (4)	-	0 (4)	1 (8)
	Pezzeit (YU), 82-1445	3 (4)	-	3 (10)	0 (4)	6 (18)
	Puechagut (F), 83-1118	0 (3)	0 (4)	1 (1)	0 (3)	1 (11)
	Avigliana (I), 82-597	0 (1)	0 (1)	-	-	0 (2)
	Lozère (F), 82-1533	-	1 (4)	3 (3)	2 (5)	6 (12)
Totaux par milieu		7 (35)	3 (38)	10 (42)	7 (35)	27 (150)

<sup>a</sup> Population; Grand Chavalard = lieu, CH = Suisse, YU = Yougoslavie, F = France, GR = Grèce), 82-1590 = numéro de culture de la population.

Tableau 3. Résultats de l'année 1985; proportion d'anthers présentant des cals en fonction des populations et des milieux

Cytodèmes	Populations	MS 2%		MS 3%		P2 2%		P2 10%		Rendements par population
		K7D6	BA6D6NAA6 <sup>a</sup>	K7D6	BA6D6NAA6	K7D6	BA6D6NAA6	K7D6	K7D6	
<i>A. alpinum</i> 2x	Chasseron (CH), 82-1583	0 (1) <sup>b</sup>	0 (1)	0 (1)	0 (1)	0 (1)	0 (1)	0 (1)	0 (1)	0 (6)
<i>A. alpinum</i> 4x	Charmant Som (F), 83-1184	0,8 (1)	-	0 (1)	0 (1)	0 (1)	-	0 (1)	0 (1)	0,2 (4)
	Croix-Morand (F), 82-1535	0 (1)	0,8 (1)	-	0 (1)	0 (1)	0 (1)	-	-	0,2 (4)
	Puy Mary (F), 82-1534	0 (2)	0 (2)	0 (2)	0 (2)	0 (2)	0 (2)	0 (2)	0 (2)	0 (12)
<i>A. odoratum</i> 2x	Pican (YU), 83 = 1007	1,0 (4)	0,4 (4)	0 (2)	0 (4)	0 (4)	0 (4)	0 (2)	0 (2)	0,3 (20)
<i>A. odoratum</i> 4x	Pezzeit (YU), 82-1445	2,7 (3)	1,3 (4)	0,4 (2)	0 (4)	0 (4)	0 (4)	0,4 (2)	0,4 (2)	0,8 (19)
<i>A. odoratum</i> 4x × <i>A. alpinum</i> 4x	Lozère (F), 82-1533	0,6 (3)	0,6 (3)	0 (1)	0 (3)	0 (3)	0 (3)	0 (1)	0 (1)	0,2 (14)
Rendements par milieu		1,0 (15)	0,6 (15)	0,1 (9)	0 (16)	0 (15)	0 (15)	0,1 (9)	0,1 (9)	0,3 (79) <sup>c</sup>

<sup>a</sup> Mélange hormonal; BA = N<sub>6</sub>-Benzyl-adénine, NAA = acide 1-naphthylacétique.

<sup>b</sup> 0 (1) = 0 proportion d'anthers ayant réagi (rendement) en %. (1): nombre de boîtes inoculées.

<sup>c</sup> Rendement global.

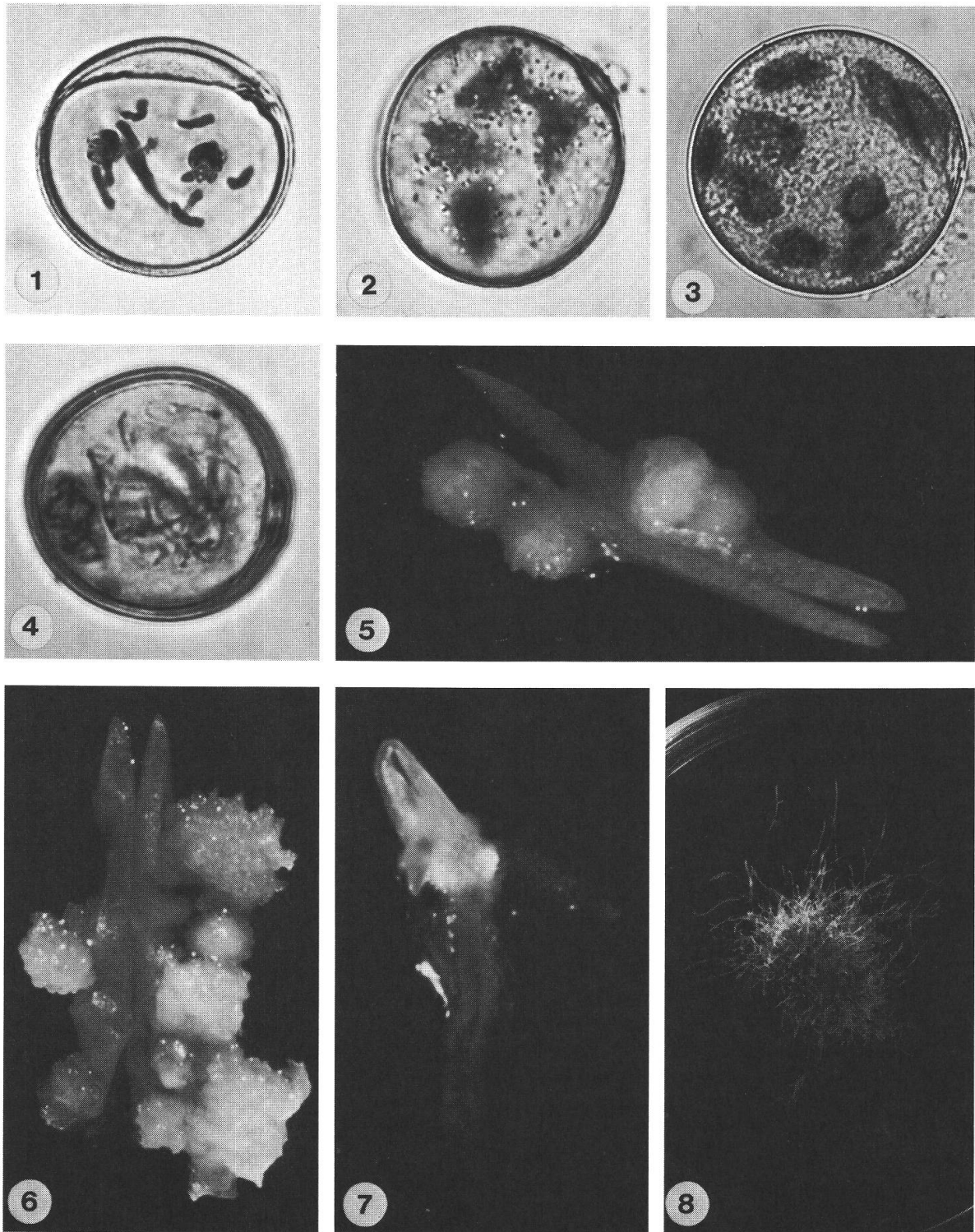


Fig. 1. Microspore à deux noyaux reproducteurs et un noyau végétatif en division.  $\times 900$ .  
 Fig. 2. Microspore à quatre noyaux identiques.  $\times 900$ . Fig. 3. Microspore à neuf noyaux.  $\times 900$ .  
 Fig. 4. Microspore à deux noyaux différenciés en prophase.  $\times 900$ . Fig. 5. Étamine avec quatre  
 cals dont deux bien individualisés.  $\times 14$ . Fig. 6. Étamine avec de nombreuses structures andro-  
 génétiques.  $\times 14$ . Fig. 7. Début du développement de la plantule; ébauche des systèmes racinaire  
 et foliaire.  $\times 18$ . Fig. 8. Cal sur milieu de différenciation présentant une rhizogenèse impor-  
 tante.  $\times 0,7$

Tableau 4. Résultats des comptages chromosomiques des cals (1985) en fonction des populations et des milieux

Cytodèmes	Populations	MS 2% K7D6	MS 2% BA6D6NAA6
<i>A. alpinum</i> 4x	Croix-Morand (F), 82-1535	2n = 10	
<i>A. odoratum</i> 2x	Pican (YU), 83-1007	2n = 10	
<i>A. odoratum</i> 4x	Pezzeit (YU), 82-1445	2n = 10 et 20	2n = 10, 11 et 20
<i>A. odoratum</i> 4x × <i>A. alpinum</i> 4x	Lozère (F), 82-1533	2n = 20	2n = 20

La diminution de la teneur en saccharose et en hormones a induit une rhizogenèse importante (Fig. 8).

Pour les cytodèmes diploïdes, un seul comptage a pu être effectué sur des méristèmes racinaires (tableau 4). Il correspond au nombre somatique ( $2n = 10$ ). Son origine reste indéterminée: gamète réduit suivi d'endomitose, gamète non réduit ou cellule somatique de l'anthere.

Pour les cytodèmes tétraploïdes, les comptages ont permis d'établir des nombres tétraploïdes, dihaploïdes et aneuploïde. Les mêmes hypothèses sur l'origine des cals diploïdes d'*A. odoratum* diploïde peuvent être émises pour les cals tétraploïdes. Les comptages dihaploïdes ( $2n = 10$ ) démontrent qu'une partie au moins des développements androgénétiques sont bien issus d'un gamète réduit. Enfin, le nombre aneuploïde ( $2n = 11$ ) peut être attribué, soit à la technique androgénétique, comme cela a été démontré chez *Hordeum vulgare* L. (Mix et al. 1978), soit à une irrégularité méiotique antérieure à la mise en culture, comme l'a observé Hedberg (1970) pour *A. odoratum* tétraploïde.

## Conclusions

Au cours des deux années d'expérimentation, des cals ont été obtenus pour les quatre cytodèmes d'*Anthoxanthum odoratum* s. lat. Pour chaque cytodème, des différences notables ont été observées entre les populations: certaines ont produit des cals, d'autres pas. D'après nos résultats, le succès de l'androgenèse dépendrait plus de la population que de l'appartenance à un degré de polyploidie particulier ou à une des deux espèces, *A. alpinum* ou *A. odoratum*. La difficulté d'induire l'embryogenèse, et l'albinisme de tous les cals, restent des problèmes majeurs pour des travaux ultérieurs.

Nous remercions le prof. Ph. Küpfer de ses conseils et de son aide lors de la rédaction, Mesdemoiselles A. Filter et M. Girard pour leur assistance technique ainsi que Monsieur E. Fortis pour la réalisation des documents photographiques.

Ce travail a été subventionné par le Fonds National de la Recherche Scientifique (subside no 3.047.81). Il fait partie de la thèse de doctorat de F. Felber.

## Résumé

La culture d'anthers a été appliquée à quelques populations naturelles d'*Anthoxanthum odoratum* L. s. lat. (Poaceae), correspondant à quatre cytodèmes et deux degrés de polyploidie. L'observation cytologique des premiers stades de développe-



ment a montré que plusieurs voies androgénétiques sont possibles. Des cals albinos ont été obtenus pour chaque cytodème ainsi que sur tous les milieux testés [MS (Murashige et Skoog 1962), N (Nitsch et Nitsch 1969), Potato-2 medium (Chuang et al. 1978), Wh (White 1943)]. La proportion d'anthères ayant réagi (entre 0 et 2,7%) dépend du milieu de culture et de la population. Une rhizogenèse importante a été induite et dans un seul cas, une plantule chlorotique s'est développée. L'observation caryologique de plusieurs cals issus des cytodèmes tétraploïdes a permis d'établir des nombres chromosomiques dihaploïdes, tétraploïdes et dans un cas aneuploïde.

*Mots-clés:* – androgenèse – *Anthoxanthum* – culture d'anthères – populations naturelles.

### Bibliographie

- Chu C. 1982. Haploids in plant improvement. Dans: I. K. Vasil, W. R. Scowcroft et J. Frey (ed.), Plant improvement and somatic cell genetics. Academic Press New York, pp. 129–158.
- Chuang C. C., T. W. Ouyang, H. Chia, S. M. Chou and C. K. Ching. 1978. A set of potato media for wheat anther culture. Proceedings of Symposium on Plant Tissue Culture. Science Press Peking, pp. 51–56.
- Hedberg I. 1970. Cytotaxonomic studies on *Anthoxanthum odoratum* L. s. lat. IV. Karyotypes, meiosis and the origin of tetraploid *A. odoratum*. Hereditas 64: 153–176.
- Mix G., Wilson H. M. and Foroughi-Wehr B. 1978. The cytological status of plants of *Hordeum vulgare* L. regenerated from microspore callus. Z. Pflanzenzücht. 80: 89–99.
- Murashige T. and Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plantarum 15: 473–497.
- Nitsch J. P. and C. Nitsch. 1969. Haploid plants from pollen grains. Science 163: 85–87.
- Nitsch J. P. et C. Nitsch. 1970. Obtention de plantes haploïdes à partir de pollen. Bull. Soc. bot. Fr. 117: 339–360.
- Östergren G. and W. K. Heneen. 1962. A squash technique for chromosome morphological studies. Hereditas 48: 332–341.
- Pagniez M. and Y. Demarly. 1979. Obtention d'individus androgénétiques par culture in vitro d'anthères de Ray-grass d'Italie (*Lolium multiflorum* Lam.). Ann. Amélior. Plantes 29: 631–637.
- Qureshi J. A., H. A. Collin, K. Hardwick and D. A. Thurman. 1981. Metal tolerance in tissue cultures of *Anthoxanthum odoratum*. Plant Cell Reports 1: 80–82.
- Sun C. C., S. C. Wu, C. C. Wang and C. C. Chu. 1979. The deficiency of soluble proteins and plastid ribosomal RNA in the albino pollen plants of rice. Theor. App. Genet. 55: 193–197.
- Sunderland N. and B. Huang. 1985. Barley anther culture – The switch of programme and albinism. Hereditas suppl. 3: 27–40.
- Teppner H. 1970. Karyotypen europäischer, perennierender Sippen der Gramineen-Gattung *Anthoxanthum*. Österr. Bot. Z. 118: 280–292.
- White P. R. 1943. A handbook of plant tissue culture. Jacques Cattell Press, Lancaster.