Croisements interspécifiques entre quelques Brassicae et Brassica napus L. Analyse génomique des hybrides et perspectives d'obtention de systèmes d'androstérilité chez le colza

Patrick Rousselle, Frédérique Eber

► To cite this version:

Patrick Rousselle, Frédérique Eber. Croisements interspécifiques entre quelques Brassicae et Brassica napus L. Analyse génomique des hybrides et perspectives d'obtention de systèmes d'androstérilité chez le colza. *Agronomie*, 1983, 3 (2), pp.153-159. hal-00884494

HAL Id: hal-00884494

<https://hal.science/hal-00884494>

Submitted on 1 Jan 1983

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.

Croisements interspécifiques entre quelques *Brassicaceae* et *Brassica napus* L. Analyse génomique des hybrides et perspectives d'obtention de systèmes d'androstérilité chez le colza

Patrick ROUSSELLE & Frédérique EBER

I.N.R.A., Station d'Amélioration des Plantes, Centre de Recherches de Rennes, B.P. 29, F-35650 Le Rheu

RÉSUMÉ

*Stérité mâle,
Cytogénétique,
Culture d'embryon
in vitro,
Fertilité pollinique.*

Pour induire de nouvelles sources d'androstérilité cytoplasmique chez le colza, la création de géniteurs alloplasmiques est une des voies à privilégier. Pour ce faire, nous avons effectué quatre séries de croisements interspécifiques :

Brassica nigra Koch. × *B. napus* L., *B. campestris* L. × *B. napus*, *B. carinata* A. Br. × *B. napus*, *B. juncea* Coss. × *B. napus*.

Nous avons réalisé la culture *in vitro* des embryons immatures issus de ces croisements pour obtenir un nombre suffisant de plantes. Les analyses cytogénétiques de ces hybrides interspécifiques permettent de confirmer les hypothèses connues d'homéologie entre les génomes. Dans certains cas, nous avons noté la présence d'un nombre supérieur de bivalents ou multivalents par rapport à la méiose théorique ; ceci peut favoriser les recombinaisons entre génomes différents.

Les analyses de fertilité des plantes en 2^e génération montrent que les croisements dans lesquels *B. campestris* est utilisé ont peu de chance de déboucher sur une stérilité mâle cytoplasmique. Par contre les 3 autres croisements présentent une très grande variabilité de la fertilité pollinique.

La sélection envisagée a pour objectif l'obtention d'un système d'androstérilité cytoplasmique (plantes mâle stériles et restaurateurs) tout en évitant les cas de stérilité mâle dus à des aberrations chromosomiques.

SUMMARY

*Male sterility,
Cytogenetics,
Embryo culture,
Pollen fertility.*

Interspecific crosses between some Brassica species and Brassica napus L. Genome analysis of the hybrids and possibilities of obtaining male sterility in rape.

The production of alloplasmic lines is an excellent procedure for the development of additional sources of cytoplasmic male sterility in rape (*Brassica napus* L.). For this purpose four series of interspecific crosses were made, between *Brassica nigra* Koch., *B. campestris* L., *B. carinata* A.Br. and *B. juncea* Coss. respectively and *B. napus* L.

Interspecific embryos were cultured *in vitro* in order to obtain enough plants. Results from the cytogenetic analysis of these hybrids confirmed the existing hypothesis about homeology between genomes within the genus *Brassica*. In some cases, more bivalents or multivalents than expected were observed, which may improve recombination among the different genomes.

The fertility of the plants in the second generation was analysed. Crosses involving *B. campestris* were not likely to result in male-sterile plants. However, the three other crosses showed a wide variability for pollen fertility.

Our future breeding programme has as its main objective a cytoplasmic male sterility system (male sterile and restorer plants) from which chromosomal aberrations are excluded.

I. INTRODUCTION

L'utilisation des croisements interspécifiques a principalement servi à introduire un ou plusieurs caractères présents chez une espèce voisine ; la résistance aux parasites est l'exemple le plus courant. Peu d'intérêt était porté aux plantes mâle stériles obtenues, en particulier chez les

espèces autogames. Dans la descendance de croisements entre *Aegilops caudata* L. et *Triticum aestivum* (L.) Thell., KIHARA (1951) observa des plantes mâles stériles à déterminisme génocytoplasmique et souligna leur importance pour la création d'hybrides. Le croisement entre 2 espèces différentes apparaît comme un moyen d'obtention de tels systèmes d'androstérilité. EDWARDSON (1970) a répertorié

32 cas pour lesquels un croisement interspécifique a conduit à l'obtention de plantes androstériles, notamment chez le tournesol et chez le blé :

— LECLERCQ (1969, 1971) a mis en évidence l'intérêt de *Helianthus petiolaris* Nutt. pour la création de lignées androstériles cytoplasmiques chez le tournesol (*Helianthus annuus* L.). Ces lignées ont rendu possible la production de semences hybrides aux USA et en Europe.

— Un grand nombre d'espèces apparentées au blé ont été analysées pour leur aptitude à la création de systèmes d'androstérilité cytoplasmique (TSUNEWAKI, 1978). WILSON & ROSS (1962) ont obtenu des géniteurs utilisables à partir du croisement entre *Triticum timopheevi* Zhuk. et *T. aestivum* (L.) Thell.. La fertilité incomplète des hybrides restaurés (AURIAU *et al.*, 1973) semble pouvoir être améliorée par l'utilisation de nouveaux géniteurs (AURIAU *et al.*, 1979).

Chez le colza (*Brassica napus* L.), la valorisation de la vigueur hybride nécessite un strict contrôle de la pollinisation qui peut être obtenu par l'androstérilité cytoplasmique. Deux sont d'origine intraspécifique (SHIGA, 1976 ; THOMPSON, 1972). Deux proviennent d'espèces voisines du colza mais diffèrent quant à leur nature. La stérilité mâle intraspécifique du radis (OGURA, 1968) a été transférée chez le chou (BANNEROT *et al.*, 1974) puis chez le colza où un certain nombre d'inconvénients ne permettent pas actuellement son utilisation (ROUSSELLE, 1981). A partir du croisement entre *Brassica nigra* Koch. et *B. oleracea* L., PEARSON (1972) a obtenu directement un système d'androstérilité cytoplasmique utilisé chez le brocoli (DICKSON, 1975). L'introgression de ce système chez le colza est en cours.

Du fait des inconvénients liés aux systèmes d'androstérilité cytoplasmique déjà existants chez le colza, il nous paraît indispensable de multiplier les origines de cytoplasmes. L'exemple du blé et du tournesol montre l'intérêt de l'obtention de plantes androstériles par croisements interspécifiques mais aussi les difficultés liées à la restauration de la fertilité.

L'étude dont nous présentons ici les observations faites sur les 2 premières générations a pour objectif principal l'obtention de lignées alloplasmiques de colza androstériles et restauratrices. Il nous est apparu indispensable de contrôler la composition génomique des hybrides obtenus et de comparer nos résultats avec les hypothèses d'homéologie connues entre les espèces du genre *Brassica* utilisées. Nous avons réalisé l'analyse de la fertilité des plantes de 2^e génération, uniquement dans le cas où *B. napus* était utilisé comme parent mâle.

II. MATÉRIEL ET MÉTHODES

A. Matériel végétal

Nous n'avons utilisé qu'une seule lignée de *B. napus* : « Crésor », cultivar de printemps. Deux cultivars de navette (*B. campestris* L.) ont été employés : « Daisy » et « Chicon ». La Station d'Amélioration des Plantes (INRA) de Dijon nous a fourni la moutarde noire (*B. nigra* Koch.). La moutarde d'Abyssinie (*B. carinata* A. Br.) provient d'Ethiopie : cultivar « Awassa ». Deux moutardes brunes (*B. juncea* Coss.) ont été utilisées, l'une est le cultivar « Brunet » et l'autre provient de Gatersleben. L'ensemble de ces espèces, avec le chou (*B. oleracea* L.), forme le triangle de U (1935) (fig. 1). Le chou, qui apparaît comme

Figure 1

Relations génomiques entre quelques Brassicac alliés au colza (U, 1935).

Genome relationships within Brassica species related to rape (U, 1935).

étant le parent maternel du colza, n'a pas été utilisé en raison d'un manque de concordance de floraison.

B. Plan de croisement

Les croisements suivants ont été réalisés dans les deux sens :

B. campestris × *B. napus*
B. nigra × *B. napus*
B. carinata × *B. napus*
B. juncea × *B. napus*

Les plantes F1 ont été laissées en libre pollinisation à l'intérieur de chaque type de croisement pour obtenir la 2^e génération (G2).

C. Culture *in vitro* d'embryons immatures

Les plantes mères sont cultivées en serre. Environ 10 à 15 j après la pollinisation manuelle, la jeune silique est prélevée et désinfectée par simple immersion dans l'alcool absolu. Après dissection de l'ovule, l'embryon issu de croisement interspécifique est prélevé et déposé sur le milieu de MONNIER (1974) dans une boîte de Petri.

La teneur en saccharose de ce milieu varie de 120 g.l⁻¹ pour des embryons globulaires à 50 g.l⁻¹ pour des embryons cordiformes. La boîte de Petri est ensuite placée dans une enceinte climatisée : 16 h d'éclairement à 10 000 lux et à 25 °C suivies de 8 h d'obscurité à 20 °C pendant 8 à 15 j suivant le développement de l'embryon. Lorsque ce dernier a atteint environ 1 cm, il est repiqué dans un tube de culture contenant le même milieu mais avec une teneur en saccharose plus faible (20 à 25 g.l⁻¹) ; le tube de culture est ensuite replacé dans la même enceinte climatisée. Lorsque la plantule est suffisamment développée, elle est repiquée en mini-serre sur de la vermiculite arrosée d'une solution nutritive contenant les macro-éléments de MONNIER (1974) 2 fois moins concentrés. Cette mini-serre est placée dans la même enceinte. Lorsque le développement est jugé satisfaisant, les plantes sont rempotées en serre avant le repiquage définitif au champ.

D. Observations cytogénétiques et viabilité pollinique

Les observations des méioses polliniques en métaphase I des cellules mères du pollen sont réalisées selon la technique utilisée chez le blé (DOSBA & DOUSSINAULT, 1978).

La fertilité pollinique est déterminée à partir du pourcentage de grains de pollen colorés au carmin acétique de BELLING. Nous appelons If ce pourcentage, Is (= 100 - If) étant l'indice de stérilité pollinique. Pour chaque plante, 4 fleurs sont prélevées et, pour chaque fleur, 500 grains au moins sont comptés pour les 2 classes (fertile et stérile).

III. RÉSULTATS ET DISCUSSION

A. Obtention de plantes hybrides

Toutes les combinaisons ont été obtenues précédemment pour étudier les relations génomiques chez les *Brassicaceae* (MORICE, 1963), la plupart sans culture *in vitro* des embryons immatures. Cette dernière permet d'améliorer le rendement. Le nombre d'embryons obtenus est très important dans les croisements faisant intervenir *B. campestris*, une des espèces parentales du colza (fig. 1). Par contre, il est très faible lorsque *B. nigra* est utilisé ; cette espèce n'a pas de génome commun avec le colza. Les 2 autres espèces (*B. carinata* et *B. juncea*) qui sont des amphiploïdes ont un génome commun avec le colza. Le nombre d'embryons prélevés dans les croisements entre ces 2 espèces et le colza est intermédiaire (tabl. 1). Ainsi, il apparaît dans ces croisements que le taux de réussite des croisements est proportionnel au degré de parenté entre les génomes.

Le nombre de plantes hybrides survivantes au stade floraison représente 27 p. 100 du nombre total d'embryons prélevés, tous croisements confondus. Les embryons qui n'ont pas survécu (63 p. 100) ont, sans doute, mal supporté

soit les teneurs en sucre trop élevées soit le repiquage en mini-serre. La morphologie des hybrides est intermédiaire entre celles des 2 parents pour les caractères foliaires et floraux. Dans la plupart des cas, le pollen, bien que très abondant, a une fertilité faible mais suffisante pour obtenir la génération suivante. Quatre plantes du croisement *B. juncea* × *B. napus* présentent des étamines complètement atrophiées. Deux d'entre elles ont eu une descendance.

B. Comportement méiotique des hybrides interspécifiques

Les relations génomiques entre les espèces utilisées dans nos croisements sont bien connues et schématisées dans le triangle de U (1935) (fig. 1). Pour chaque croisement, nous pouvons donc prévoir la configuration théorique des méioses. Avant de décrire ces hybrides, précisons que les 5 espèces parentales ont été contrôlées et que leurs méioses ne présentaient que des bivalents avec une proportion variable de droits et d'anneaux.

1. *B. campestris* × *B. napus* et réciproques

La navette (*B. campestris*) et le colza (*B. napus*) (fig. 1) ont en commun le génome A(n = 10), le génome C(n = 9) provenant du chou (*B. oleracea*). Le comportement méiotique attendu est donc : 9 univalents et 10 bivalents. Le tableau 2 indique le comportement moyen de chacun des hybrides obtenus. L'analyse du χ^2 d'homogénéité montre qu'il n'y a pas de différence significative entre les plantes, quel que soit le sens du croisement : $\chi^2 = 4,21$; $0,75 \leq P \leq 0,90$. De plus, la moyenne de ces croisements (9,77 univalents et 9,62 bivalents) ne s'écarte pas de la méiose théorique ($\chi^2 = 0,08$; $0,75 \leq P \leq 0,90$). Ces résultats sont en accord avec les observations généralement faites

TABLEAU 1
Obtention des hybrides.
Hybrids produced.

Croisements réalisés	Nombre de fleurs pollinisées	Nombre d'embryons prélevés	Nombre de plantes obtenues en floraison
<i>B. napus</i> ⁽¹⁾ × <i>B. carinata</i> ⁽²⁾	165	50	3
<i>B. carinata</i> × <i>B. napus</i>	84	17	2
<i>B. napus</i> ⁽¹⁾ × <i>B. campestris</i> ⁽³⁾	90	46	7
<i>B. campestris</i> × <i>B. napus</i>	90	28	3
<i>B. napus</i> ⁽¹⁾ × <i>B. campestris</i> ⁽⁴⁾	75	65	13
<i>B. campestris</i> × <i>B. napus</i>	36	30	11
<i>B. napus</i> ⁽¹⁾ × <i>B. nigra</i> ⁽⁵⁾	120	1	1
<i>B. nigra</i> × <i>B. napus</i>	54	14	3
<i>B. napus</i> ⁽¹⁾ × <i>B. juncea</i> ⁽⁶⁾	45	8	2
<i>B. juncea</i> × <i>B. napus</i>	24	51	17
<i>B. napus</i> ⁽¹⁾ × <i>B. juncea</i> ⁽⁷⁾	45	7	6
<i>B. juncea</i> × <i>B. napus</i>	30	13	1

⁽¹⁾ Cultivar « Crésor »

⁽²⁾ Cultivar « Awassa »

⁽³⁾ Cultivar « Daisy »

⁽⁴⁾ Cultivar « Chicon »

⁽⁵⁾ Cultivar « I.N.R.A. Dijon 3279 »

⁽⁶⁾ Cultivar « Gatersleben Bra 427-72 »

⁽⁷⁾ Cultivar « Brunet »

TABLEAU 2

Comportement méiotique des hybrides réciproques entre *Brassica campestris* L. et *Brassica napus* L.
 Meiotic behaviour of reciprocal hybrids between *Brassica campestris* L. and *Brassica napus* L.

	N° plante	nb C	2 n	Univalents			Bivalents		
				$\bar{X}$	extr.	mode	$\bar{X}$	extr.	mode
<i>B. napus</i>	559	50	29	9,96	9-13	9	9,52	8-10	10
×	561	55	29	9,36	7-11	9	9,82	9-11	10
<i>B. campestris</i>	579	13	29	9,31	9-11	9	9,85	9-10	10
	583	52	29	10,12	9-13	9	9,44	8-10	10
<i>B. campestris</i>	411	50	29	9,80	9-13	9	9,60	3-10	10
×	418	27	29	9,37	9-13	9	9,81	8-10	10
<i>B. napus</i>	420	24	29	9,42	9-11	9	9,79	9-10	10
	429	60	29	10,07	9-15	9	9,47	7-10	10

TABLEAU 3

Comportement méiotique des hybrides réciproques entre *Brassica carinata* A. Br. et *Brassica napus* L.
 Meiotic behaviour of reciprocal hybrids between *Brassica carinata* A. Br. and *Brassica napus* L.

	n° Plante	nb C	2 n	Univalents			Bivalents			Trivalents			Quadrivalents		
				$\bar{X}$	extr.	mode	$\bar{X}$	extr.	mode	$\bar{X}$	extr.	mode	$\bar{X}$	extr.	mode
<i>B. napus</i>	43	20	36	16,35	15-20	16	9,45	7-10	10	0,05	0-1	0	0,15	0-1	0
×	86	8	36	13,63	6-20	16	10,75	8-15	10	0,13	0-1	0	0,13	0-1	0
<i>B. carinata</i>															
<i>B. carinata</i>	400	52	36	15,94	8-18	16	10,00	9-14	10	0,02	0-1	0	—	—	—
×	401	22	36	16,54	16-18	16	9,73	9-10	10	—	—	—	—	—	—
<i>B. napus</i>															

sur ce type de croisements et formulées en particulier par MORINAGA (1929).

2. *B. carinata* × *B. napus* et réciproque (tabl. 3)

Ces deux espèces ont en commun le génome C ($n = 9$) ; la 1^{re} possède de plus le génome B ($n = 8$). La méiose attendue d'un tel hybride est donc composée de 18 univalents et de 9 bivalents. Le calcul du χ^2 montre une certaine hétérogénéité entre les plantes n° 43 et n° 86 ($\chi^2 = 4,18$; $0,25 \geq P \geq 0,10$) et une bonne homogénéité entre les plantes n° 43, 400 et 401 ($\chi^2 = 0,88$; $0,90 \geq P \geq 0,75$). Le faible nombre de cellules observées dans la plante n° 86 peut être la cause de cette hétérogénéité apparente de la méiose. La comparaison entre chacune des méioses observées et la méiose théorique montre un déficit d'univalents au profit des chromosomes appariés (bivalents et multivalents). U (1935) avait également observé, dans ce type de croisement, un nombre important de trivalents. Ainsi, le taux d'appariement total observé est-il largement supérieur à celui attendu et permet-il de supposer un appariement entre chromosomes de génomes différents. Ce type d'appariements avait été noté dans les croisements faisant intervenir *B. carinata* et *B. campestris*, réalisés pour obtenir des plantes possédant les 3 génomes à l'état monoploïde (MORINAGA, 1931 ; HOWARD, 1942 ; MIZUSHIMA, 1944, 1950 ; IWASA, 1951).

3. *B. juncea* × *B. napus* (tabl. 4)

Le génome A ($n = 10$) est commun à ces deux espèces ; *B. juncea* apporte en plus le génome B ($n = 8$). Ainsi la

méiose théorique de l'hybride étudié est-elle composée de 17 univalents et 10 bivalents. Le comportement méiotique de l'ensemble de ces plantes n'est pas très homogène puisque, dans certains cas, on observe un nombre non négligeable de trivalents et de quadrivalents. Dans l'ensemble, nous avons noté peu de déviation par rapport à la méiose théorique (SINSKAIA, 1927 ; HEYN, 1977 ; ROY, 1978).

C. Fertilité pollinique des G2

Le but principal de cette étude réside dans l'obtention d'un système d'androstérilité cytoplasmique chez le colza que nous recherchons dans une association entre le noyau de *B. napus* et le cytoplasme d'une espèce différente (lignée alloplasmique). Pour cette raison, nous avons limité notre étude de la fertilité pollinique aux croisements de ce type sans examiner les croisements réciproques.

1. *B. nigra* × *B. napus*

Une seule plante F1 a donné 4 plantes en G2. Deux d'entre elles présentent une forte stérilité ($Is > 75$ p. 100) et 1 plante, une bonne fertilité ($Is = 14,4$ p. 100). La 4^e n'a pu être analysée.

2. *B. campestris* × *B. napus* (tabl. 5)

Toutes les plantes proviennent de croisements utilisant le cultivar « Chicon ». Dans tous les cas, nous avons noté un développement normal des anthères, aucune n'est atrophiée ou absente. L'ensemble du matériel apparaît comme ayant une bonne fertilité (Is moyen : 24,7 p. 100, $Is \leq 20$ p. 100

TABLEAU 4

Comportement méiotique des hybrides Brassica juncea Coss. × Brassica napus L.
Meiotic behaviour of hybrids of the cross Brassica juncea Coss. × Brassica napus L.

	N° plante	nb C	2 n	$\bar{X}$	Univalents extr.	mode	$\bar{X}$	Bivalents extr.	mode	$\bar{X}$	Trivalents extr.	mode	$\bar{X}$	Quadrivalents extr.	mode
<i>B. juncea</i> × <i>B. napus</i>	225	55	37	17,07	15-19	17	9,96	9-11	10	—	—	—	—	—	—
	227	89	37	17,00	15-19	17	9,96	8-11	10	0,02	0-1	0	—	—	—
	228	56	37	17,04	15-19	17	9,88	9-11	10	0,07	0-1	0	—	—	—
	258	40	37	16,85	15-19	17	10,00	8-11	10	0,05	0-1	0	—	—	—
	271	70	37	16,93	15-19	17	9,77	6-11	10	0,16	0-2	0	0,01	0-1	0
	272	62	37	16,93	15-19	17	10,03	9-11	10	—	—	—	—	—	—
	286	14	37	17,28	15-19	17	9,86	9-11	10	—	—	—	—	—	—
	288	57	37	16,79	15-18	17	10,05	8-11	10	0,04	0-1	0	—	—	—

TABLEAU 5

*Stériorité pollinique de la G2 du croisement entre
 Brassica campestris L. et Brassica napus L.*
*Pollen sterility in the G2 of the cross
 Brassica campestris L. × Brassica napus L.*

Code plante F ₁	Plantes G2		
	Code	Is	Observations
429	A	14,9	Grains à moitié colorés ⁽¹⁾
	B	12,2	
	C		
	D	36,1	
	E	12,3	
	F	37,1	
	GH		Pollen présent non dénombré ⁽²⁾
420	A	35,4	
	B	28,6	
	C	16,4	
	D	53,1	
	E	34,8	
	F	15,8	
	G	11,9	
425	A	3,2	
	B	41,6	
416	A	23,9	
	B	5,2	
	C	77,7	
	D	77,5	
	E	13,9	
	F	15,6	
	G	56,8	
	HIJ		Pollen présent non dénombré ⁽²⁾
411			Aucune plante à étamines ⁽³⁾ atrophées, pollen présent non dénombré
421-2			
433			

⁽¹⁾ Pollen grains half stained.

⁽²⁾ Pollen grains were not counted.

⁽³⁾ No plant with aborted stamens.

chez 9 plantes), sauf 2 plantes n° 416 C et D qui ont une forte stérilité (Is > 75 p. 100). La navette a été souvent utilisée pour augmenter la variabilité génétique du colza et il n'a jamais été mentionné de difficultés dans l'obtention des différentes générations.

SHIGA (1970) mentionne que sur 41 variétés de colza

TABLEAU 6

*Stériorité pollinique de la G2 du croisement entre
 Brassica carinata A. Br. et Brassica napus L.*
*Pollen sterility in the G2 of the cross
 Brassica carinata A. Br. × Brassica napus L.*

Code plante F ₁	Plantes G2		
	Code	Is	Observations
400	A	85,4	Pas d'étamine ⁽¹⁾
	B	14,3	
	C		
	D	50,3	
	E	48,5	
	F	52,2	Pollen présent non dénombré ⁽²⁾ Pas d'étamine ⁽¹⁾
	G	68,1	
	H		
	I		
401	A		Pas d'étamine ⁽¹⁾
	B		Étamines atrophiées ⁽³⁾
	C		Étamines atrophiées ⁽³⁾
	DEF		Pollen présent non dénombré ⁽²⁾
	GH		

⁽¹⁾ No stamen.

⁽²⁾ Pollen grains were not counted.

⁽³⁾ Aborted stamens.

enregistrées au Japon, 21 au moins ont un ascendant de type *B. campestris*, ce qui corrobore la fertilité élevée des descendance d'un tel croisement.

3. *B. carinata* × *B. napus* (tabl. 6)

La G2 de ce croisement présente une grande variabilité et quelques cas extrêmes : 3 plantes n'ont pas d'étamine (n° 400 C, 400 I et 401 A) ; 2 ont des étamines atrophiées (n° 401 B et 401 C) ; une possède un Is fort (n° 400 A) ; 4 plantes ont un Is voisin de 50 (n° 400 D, 400 E, 400 F et 400 G) ; la plante n° 400 B est la plus fertile avec Is faible (14,3 p. 100).

Cet étalement de la fertilité pollinique doit nous permettre de créer des têtes de familles diversifiées et répondant aux objectifs fixés.

4. *B. juncea* × *B. napus* (fig. 2)

C'est le croisement pour lequel nous avons obtenu le plus grand nombre de plantes en G2. La figure 2 indique, pour

Figure 2

Stérilité pollinique de la G2 du croisement Brassica juncea Coss. × Brassica napus L.

Pollen sterility in the G2 of the cross Brassica juncea Coss. × Brassica napus L.

- 1 — Plantes à étamines atrophiées
- 2 — Plantes sans étamines
- 1 — Plants with aborted stamens
- 2 — Plants without stamen

l'ensemble des hybrides de ce type de croisement, la fréquence dans les différentes classes de stérilité. Aucune plante n'a une stérilité pollinique inférieure à 10 et l'ensemble de l'histogramme présente une bonne symétrie. Deux classes supplémentaires de plantes sont également portées sur cet histogramme : la 1^{re} comprenant 2 plantes à étamines atrophiées et la 2^e 9 plantes sans étamine. Nos observations polliniques sont assez semblables à celles de ROY (1978) qui a noté dans la descendance d'un croisement similaire, réalisé pour l'introduction de la résistance à la hernie et au *Sclerotinia*, une large variabilité de la fertilité en F2 (autofécondation des F1).

Ce croisement nous paraît beaucoup plus exploitable que les précédents car le grand nombre de descendants obtenus en G2 favorise une bonne expression de la variabilité et nous permettra de réaliser un tri plus efficace sur la valeur agronomique des géniteurs futurs.

IV. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

La culture *in vitro* d'embryons immatures permet d'augmenter le nombre d'hybrides obtenus. Cette technique peut être encore améliorée, principalement dans la 2^e phase, lors des changements de concentration en sucre et au moment du repiquage en milieu non gélosé.

Les comportements méiotiques des hybrides observés ne sont pas en contradiction avec les hypothèses d'homéologie (U, 1935), seules quelques particularités peuvent être dues au choix des géniteurs. L'appariement entre les génomes différents observés principalement dans les croisements entre *B. carinata* et *B. napus* peut favoriser les recombinaisons, ce qui est souhaitable.

Il est regrettable que nous n'ayons pas pu observer le comportement méiotique des hybrides entre *B. nigra* et *B.*

napus car HEYN (1977) avait observé une forte proportion de gamètes non réduits à la suite de ce croisement.

L'objectif principal de notre travail est l'obtention d'un système fiable d'androstérilité génocytosplasmique par création de lignées alloplasmiques. Du fait du nombre important de plantes obtenues en 2^e génération et des familles qu'elles constituent en G3, G4..., il était indispensable de déterminer les études prioritaires. Ainsi avons-nous privilégié en G2, G3 et G4 les études concernant l'androstérilité et la restauration de la fertilité ; chaque plante ne subira pas un contrôle cytogénétique systématique mais un sondage sera réalisé sur l'ensemble des descendants. Nous ne pouvons donc pas mettre en évidence les éventuelles liaisons entre l'androstérilité et la présence d'aberrations chromosomiques. Ceci n'est pas le but de l'étude puisque nous cherchons, au contraire, à obtenir des systèmes d'androstérilité à déterminisme nucléo-cytoplasmique.

Pour éliminer les stérilités mâles dues à des aberrations chromosomiques, l'analyse cytogénétique est indispensable ; elle sera effectuée de façon systématique en 8^e ou 9^e génération.

Ce choix de ne réaliser qu'un sondage au lieu d'une analyse systématique du comportement méiotique entre la 2^e et la 8^e génération permettra de consacrer plus de temps à l'étude de la stérilité mâle et de la restauration des diverses familles et d'en conserver un plus grand nombre.

L'obtention d'un système d'androstérilité cytoplasmique nécessite 3 types de géniteurs (mâle, stérile, mainteneur et restaurateur). Les résultats concernant la fertilité et la stérilité pollinique en G2 nous permettent de croire à l'obtention d'un tel système. D'après l'analyse bibliographique concernant ce type d'androstérilité, en particulier dans le cas du blé et du tournesol, le rétrocroisement systématique apparaît comme une méthode rapide et efficace pour l'obtention des familles androstériles, les mainteneurs ayant été trouvés par prospection dans l'espèce. Par contre, le rétrocroisement strict limite les possibilités d'obtenir des lignées à restauration efficace, cette méthode réduisant les recombinaisons. La lignée restauratrice de fertilité de la famille androstérile issue du croisement interspécifique A × B possède le cytoplasme de l'espèce A et la presque totalité du génome de l'espèce B, une fraction de ce génome étant recombiné avec celui de A. Le système de sélection que nous proposons repose donc sur le principe suivant : les plantes ayant l'indice de fertilité le plus élevé sont les plus aptes à la restauration. Il faut donc alterner les générations de rétrocroisement avec le colza et les générations défavorisant moins la recombinaison. Ainsi nous proposons le cycle suivant :

- en 2^e génération, les plantes les plus fertiles sont rétrocroisées par le colza.

- la 3^e génération permet de trier les plantes les plus fertiles et de les autoféconder.

- en 4^e génération, l'aptitude à la restauration de la fertilité est jugée par croisement sur les familles stériles et les plantes sont intercroisées pour obtenir la génération suivante.

Le cycle reprend l'année suivante avec le rétrocroisement par le colza. Le test de fertilité est cependant remplacé par une analyse de l'aptitude à la restauration à chaque génération. Le test de l'aptitude à la restauration a l'avantage d'être plus près de la réalité mais son résultat est décalé d'un an. Ce système doit nous permettre de réaliser une sélection combinée du mâle-stérile et du restaurateur.

Reçu le 10 mars 1982.

Accepté le 12 octobre 1982.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Auriau P., Pluchard P., de Buyser J., 1973. Héritéité de la restauration de la fertilité mâle chez les blés hybrides. I. Résultats préliminaires. *Ann. Amélior. Plantes*, 23, 315-332.
- Auriau P., Pluchard P., Chapuset T., Tallon P., 1979. Quel est l'avenir des blés hybrides ? *Ann. Amélior. Plantes*, 29, 131-144.
- Bannerot H., Boulidard L., Cauderon Y., Tempe J., 1974. Cytoplasmic male sterility transfer from *Raphanus* to *Brassica*. *Proc. Eucarpia Meeting Cruciferae Vegetable. Crops Sect.*, 25-27th Sept. 1974, 52-54.
- Dosba F., Doussinault G., 1978. Création de lignées de blé présentant les caractéristiques agronomiques favorables d'*Aegilops ventricosa*. *Ann. Amélior. Plantes*, 28, 27-44.
- Dickson M. H., 1975. G 1117 A, G 1102 A and G 1106 A cytoplasmic male sterility brocoli inbreds. *Hortscience*, 10, 535.
- Edwardson J. R., 1970. Cytoplasmic male sterility. *Bot. Rev.*, 36, 341-420.
- Heyn F. W., 1977. Analysis of unreduced gametes in the *Brassicaceae* by the crosses with species and ploidy levels. *Z. Pflanzenzücht*, 78, 13-30.
- Howard H. W., 1942. Self incompatibility in polyploid forms of *Brassica* and *Raphanus*. *Nature*, 149, 302-303.
- Iwasa S., 1951. Studies on artificial triploid and hexaploid *Brassica* types having the three genomes ABC (in Japanese). *Sci. Bull. Fac. Agric. Kyushu Univ.*, 13, 90-99 (in *Plant Breed. Abstr.*, 24, 1202).
- Kihara H., 1951. Substitution of nucleus and its effects on genome manifestations. *Cytologia*, 16, 177-198.
- Leclercq P., 1969. Une stérilité mâle cytoplasmique chez le tournesol. *Ann. Amélior. Plantes*, 19, 99-106.
- Leclercq P., 1971. La stérilité mâle cytoplasmique du tournesol. I. Premières études sur la restauration de la fertilité. *Ann. Amélior. Plantes*, 21, 45-54.
- Mizushima U., 1944. Studies of some auto and allopolyploids made in *Brassica*, *Eruca* and *Raphanus*. *Agric. and Hort. Tokyo*, 19, 743-774 (Abstr. in *Heredity*, 4, 399).
- Mizushima U., 1950. On several artificial allopolyploids obtained in the tribe *Brassicaceae* of *Cruciferae*. *Tohoku J. Agric. Res.*, 1, 15-27.
- Monnier M., 1974. *Culture in vitro de l'embryon immature de Capsella bursa pastoris Moench*. Thèse d'état — Université de Paris VI, 186 p.
- Morice J., 1963. Les relations entre les espèces cultivées du genre *Brassica* et les possibilités d'amélioration du colza au moyen de croisements interspécifiques. *Ann. Amélior. Plantes*, 13, 221-252.
- Morinaga T., 1929. Interspecific hybridization in *Brassica*. I. The cytology of F1 hybrids of *Brassica napella* and various other species with 10 chromosomes. *Cytologia*, 1, 16-27.
- Morinaga T., 1931. Interspecific hybridization in *Brassica*. IV. The cytology of F1 hybrids of *Brassica carinata* and some other species with 10 chromosomes. *Cytologia*, 3, 77-83.
- Ogura H., 1968. Studies of the new male-sterility in Japanese radish, with special reference to the utilization of this sterility towards the practical raising of hybrid seeds. *Mem. Fac. Agric. Kagoshima Univ.*, 6, 39-78.
- Pearson O. H., 1972. Cytoplasmically inherited male sterility characters and flavor components from the species cross *Brassica nigra* × *Brassica oleracea*. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 97, 397-402.
- Rousselle P., 1981. *Etude de systèmes d'androsterilité chez le colza (Brassica napus)*. Thèse Doctorat d'Ingénieur, ENSA Rennes, 81-2, 109 p.
- Roy N. N., 1978. A study on disease variation in the populations of an interspecific cross of *Brassica juncea* × *Brassica napus*. *Euphytica*, 27, 145-149.
- Shiga T., 1970. Rape breeding by interspecific crossing between *Brassica napus* and *Brassica campestris* in Japan. *Jap. Agric. Res. Quarterly*, 5, 5-10.
- Shiga T., 1976. Studies on heterosis breeding using cytoplasmic male sterility in rapeseed *Brassica napus* L. *Bull. Nat. Inst. Agric. Sci. Tokyo*, Série D 27, 1-101.
- Sinskala E. N., 1927. Geno-systematical investigations of cultivated *Brassica*. *Bull. appl. Bot. Genet. Pl. Breed.*, 17, 3-166.
- Thompson K. F., 1972. Cytoplasmic male sterility in oil-seed rape. *Heredity*, 29, 253-257.
- Tsunewaki K., 1978. Genetic effects of 25 alien cytoplasm on plant height and its component parts in common wheat. *Wheat Inf. Serv.*, 47-48, 56-58.
- U N., 1935. Genome analysis in *Brassica* with special reference to the experimental formation of *Brassica napus* and peculiar mode of fertilization. *Jap. J. Bot.*, 7, 389-452.
- Wilson J. A., Ross W. M., 1962. Male sterility interaction of the *Triticum aestivum* nucleus and *Triticum timopheevi* cytoplasm. *Wheat Inf. Ser.*, 14, 29.