Banding C et biométrie appliqués à l'analyse du caryotype de carotte (*Daucus carota* L.)

Sadi Essad, Claire Maunoury

► To cite this version:

Sadi Essad, Claire Maunoury. Banding C et biométrie appliqués à l'analyse du caryotype de carotte (*Daucus carota* L.). *Agronomie*, 1985, 5 (10), pp.871-876. hal-00884715

HAL Id: hal-00884715

<https://hal.science/hal-00884715>

Submitted on 1 Jan 1985

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.

Banding C et biométrie appliqués à l'analyse du caryotype de carotte (*Daucus carota* L.)

Sadi ESSAD

avec la collaboration technique de Claire MAUNOURY

I.N.R.A., Station de Génétique et d'Amélioration des Plantes, route de Saint-Cyr, F 78000 Versailles

RÉSUMÉ

L'application aux chromosomes de carotte d'une méthode de banding par la baryte (banding dit « C ») fait apparaître une bande par chromosome et colore également le satellite. Ces bandes sont bien localisées, sensiblement isomorphes et sujettes à des variations, par extension ou par effacement, qui concernent préférentiellement certains types de chromosomes. Les 8 paires non porteuses d'un satellite ($2n = 18$) se répartissent en 4 paires à bande subterminale et 4 paires à bande submédiane, régulièrement alternées. Les rapports de longueur des chromosomes dans chacune des catégories exprimant une variation continue, une méthode est proposée pour réduire l'indétermination au maximum dans le cas particulier de ce matériel.

SUMMARY

C Banding and biometry applied to karyotype analysis in Daucus carota L.

Treating carrot chromosomes by a banding method using barium hydroxide (C-banding) revealed one band per chromosome and also stained the satellite. These bands were well localized with about the same width, but were liable to some modification (enlargement or fading). Some types of chromosomes seemed to be particularly affected by such variations. Of the 8 satelliteless pairs ($2n = 18$), 4 had a subterminal band and 4 a median one, with regular alternation. Since chromosome length ratios showed continuous variation, a method is presented to reduce uncertainty as much as possible in the particular species studied.

I. INTRODUCTION

Différentes méthodes de banding chromosomique ont été proposées depuis 1968 (CASPERSSON *et al.*). Elles constituent un nouvel outil d'analyse structurale des chromosomes de par le simple fait qu'elles établissent l'existence de différents types de chromatine (cf. STACK *et al.*, 1974). Elles peuvent également aider à l'identification des chromosomes, soit en complément des caractères de morphologie classiques (longueur, position du centromère) soit par la seule diversification apportée entre les chromosomes d'un stock par le nombre, la dimension et la position des bandes.

Le présent travail doit être considéré comme une contribution à une meilleure connaissance, donc à une meilleure possibilité d'utilisation, de la carotte (*Daucus carota* L., $2n = 2x = 18$) considérée comme une plante modèle diploïde dans le cadre d'un programme plus large, notamment en raison de son aptitude particulière à la culture *in vitro* et à la régénération à partir de cellules isolées ainsi que de son nombre de chromosomes relativement faible.

II. MATÉRIEL ET MÉTHODES

Nous avons utilisé une souche de radicules de carotte, transformée par *Agrobacterium rhizogenes*, maintenue par culture *in vitro*, sous la référence 8196 TC (J. TEMPÉ, I.N.R.A., Faculté des Sciences, Bât. 409, 91400 Orsay).

Les boîtes de culture sont placées dans la glace fondante pendant 16 h. Après un passage de 30 mn dans une solution de glucose 0,20 M à 20 °C environ, les racines sont fixées dans l'alcool-acétique 3 : 1 à 5 °C pendant 24 h, hydrolysées dans l'acide acétique à 45 p. 100 à 60 °C pendant 3 mn, rincées à l'eau bipermutée, macérées 30 mn dans une solution de Driselase (Sigma) à 0,5 p. 100, dilacérées et écrasées sur lames dégraissées. Celles-ci sont ensuite délamellées avec passage au froid ≤ -40 °C, immergées immédiatement dans EtOH absolu pendant 1 h et séchées. Conservation des préparations dans cet état pendant une semaine. Dénaturation dans $\text{Ba(OH)}_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ à 3 p. 100 dans l'eau permutée, 40 mn à 20 °C. Rinçage dans NaOH 0,1 M pendant 30 s (CHOW

& LARTER, 1981) et conservation pendant quelques minutes dans $2 \times \text{SSC}$ à 20°C ($\text{SSC} = \text{solution saline citrate} = 0,15 \text{ M NaCl} + 0,015 \text{ M citrate trisodique}$). Transfert des lames dans $2 \times \text{SSC}$ pH 7,0 à 60°C pendant 60 mn, rinçage à l'eau permutée, passage dans EtOH 70-95-100 et séchage. Coloration dans une solution de Giemsa Merck à 2 p. 100 dans un tampon de Sørensen M/15, pH 6,7 pendant 40 mn. Rinçage à l'eau permutée et séchage en soufflerie.

Les observations et mesures sont effectuées sur agrandissements photographiques de $4\,500 \times$.

III. RÉSULTATS

A. Caractérisation des chromosomes

Trois critères objectifs ont pu être utilisés pour la caractérisation des chromosomes de carotte en vue de leur identification :

- 1) présence-absence d'un satellite,
- 2) rapport de la longueur totale de chaque chromosome à la longueur de l'ensemble des chromosomes du stock,
- 3) nombre et position des bandes qui se présentent comme des segments de chromosomes densément colorés.

Le traitement de banding ne permet pas de repérer les centromères avec certitude.

Une seule paire de chromosomes (*a*) comporte un satellite (chromosome SAT) et nous avons tenu compte, dans la mesure de la longueur des chromosomes, du segment de chromatine, parfois nettement visible, qui relie le satellite au reste du chromosome et dont le degré d'élongation est extrêmement variable : élongation parfois nulle, parfois sans trace visible de chromatine (fig. 1 à comparer aux figures 2 et 3 où les chromosomes sont sans traitement de banding et respectivement préfixés par le froid et par l' α -chloronaphtalène).

La longueur totale *T* des chromosomes est aussi très variable : pour les seules plaques métaphasiques utilisées, la longueur moyenne θ qui les caractérise est comprise entre 2,3 (et peut même descendre à $1,23 \mu\text{m}$, ce qui exclut l'utilisation de ces plaques) et $6,9 \mu\text{m}$. La longueur relative des paires de chromosomes d'une même plaque est cependant relativement stable, d'où l'emploi habituel d'un rapport tel que longueur totale du chromosome sur longueur moyenne des chromosomes de la plaque métaphasique, T/θ (ESSAD, 1962).

Les 16 chromosomes non porteurs du satellite sont en outre caractérisables par la position de la bande qui est soit submédiane (chromosomes SM *c e g i*),

Figure 1
3 caryotypes bandifiés de carotte $\times 2\,800$.
3 banded karyotypes of carrot.

Figures 2-3
Les 18 chromosomes de la carotte non soumis au traitement de banding ($\times 2\,800$).
The 18 chromosomes of carrot without banding treatment ($\times 2\,800$).

soit subterminale (chromosomes ST *b d f h*). Dans tous ces cas, la bande (f) sépare 2 zones claires (c) et chaque chromosome peut être représenté par la succession $c_1f_1c_2$ où c_1 correspond au segment apparemment le plus long (ESSAD *et al.*, 1966). Le chromosome *a* (SAT) est représenté par la succession $c_1f_1c_2f_2$ où f_2 correspond au satellite. La bande f est de largeur sensiblement constante sauf chez les 2 plus petits sub-médians *g i* où cette bande paraît plus étroite.

On notera également que le chromosome SAT présente une bande f_1 de largeur équivalente à f_1c_2 des chromosomes ST et que le satellite (f_2) présente les mêmes dimensions que les bandes f_1 des autres chromosomes (cf. tabl. 4).

B. Identification des chromosomes

Les 3 critères objectifs de description des chromosomes (satellite, T/θ , position de la bande colorée) auxquels il faut cependant ajouter l'utilisation de critères subjectifs d'appariement, ont permis de classer les $2n = 18$ chromosomes de 7 cellules en 9 paires (fig. 1, tabl. 1) désignés provisoirement par les lettres *a* (SAT) à *i*.

L'analyse factorielle portant sur la longueur relative de ces 9 paires dans les 7 cellules, après transformation en arc sinus des rapports élémentaires $T/\Sigma T$ aboutit au tableau 2 qui met en évidence un effet « Paires » ou « Types de chromosomes » hautement significatif. Le reste de la variation ne diffère pas significativement de la variation résiduelle. Nous avons alors adopté la variance « Total moins Paires » comme étant la meilleure estimation de la variation

aléatoire ($V = 0,5830$). La plus petite différence significative est alors de 0,540 : appliquée aux moyennes « Paires » du tableau 1, elle fait ressortir des différences significatives entre tous les types de chromosomes morphologiquement proches : *b d, d f, f h* pour les chromosomes ST (à bande subterminale) et *c e, e g, g i* pour les chromosomes SM (à bande submédiane). Toutefois il faut considérer que dans une population d'individus structuralement identiques, soumis seulement à des influences aléatoires et distribués normalement il est toujours possible de répartir des séries de 4 tirages (par exemple) en 2 « grands » et 2 « petits ». Chacune de ces populations présentera une variance significativement plus faible que celle de la population homogène de départ et les nouvelles moyennes obtenues seront significativement différentes l'une de l'autre. Cette différence ne constituera une preuve de la validité de la distinction obtenue que vis-à-vis de la fluctuation, c'est-à-dire du hasard de l'intervention de facteurs multiples incontrôlés et non pas de la structure fondamentale de ces individus.

Ces éléments, déjà mis en évidence par ESSAD *et al.* (1966), ont été confirmés par de REFFYE (GERDAT, Montpellier) au moyen d'une expérience de simulation de distribution établie selon une loi normale avec une moyenne arbitraire de 40 et un écart type de 10 sur un échantillon de $1\,000 \times 4$ tirages. La population totale étant (1), les populations de tirages « grands » (2) et « petits » (3) se répartissent selon la figure 4. Les valeurs obtenues sont les suivantes :

$$\begin{aligned}x_1 &= 39,542 \pm 9,857 \\x_2 &= 46,228 \pm 7,260 \\x_3 &= 32,857 \pm 7,228 .\end{aligned}$$

TABLEAU 1

Répartition en paires des chromosomes de la carotte.
Pair distribution among carrot chromosomes.

Chromosomes	a	b	c	d	e	f	g	h	i
Caractéristique	SAT	ST	SM	ST	SM	ST	SM	ST	SM
$\Sigma \text{ arc sin } T$	16,35	14,84	14,30	14,05	13,34	13,12	12,33	12,23	11,34
$\frac{N}{\Sigma T/\theta}$	1,43	1,18	1,10	1,06	0,96	0,93	0,82	0,81	0,70
N									

TABLEAU 2

Analyse de variances de la répartition des chromosomes correspondant au tableau 1 après transformation $(T/\Sigma T) \times 100$.
Analysis of variance of the chromosome distribution presented in table 1, after the transformation $(T/\Sigma T) \times 100$.
T = Longueur du chromosome ; chromosome length.

Effets	ddl	SCE	Variance	F	Signification
Cellule	6	0,049747	0,008291	—	
Paires	8	260,890720	32,611340	65	S 0,01
P × C	48	36,599081	0,762481	1,52	NS
Résiduelle	63	31,569896	0,501110	—	
Total	125	329,109440	2,632875	—	
Total—Paires	117	68,218720	0,583066

Figure 4

Etude par simulation de la répartition des 2 plus grandes (M3) et des 2 plus petites valeurs (M2) dans des tirages aléatoires de 4 provenant d'une seule population de valeurs (M1) ne différant que par une variation aléatoire (contribution personnelle de de REFFYE)

Computer simulation study of the random distribution of the 2 larger (M3) and the 2 lower (M2) values obtained in drawings of 4 values taken out of one population of values (M1) differing only by random variation (de REFFYE, personal contribution).

Les moyennes x_2 et x_3 sont significativement différentes l'une de l'autre au seuil de 1 p. 100 de même que les valeurs de F correspondant aux rapports de variances V_1/V_2 et V_1/V_3 , ce qui confirme bien la réalité de l'instauration de 2 sous-populations de paramètres significativement distincts à partir d'une population de mesures strictement homogène dont on trie les éléments 2 à 2 à la manière de l'établissement d'un caryogramme. Le test F de comparaison de variance devrait permettre de définir de façon plus sensible que les comparaisons de moyennes la réalité de la distinction effectuée *a posteriori* entre 2 populations de chromosomes en comparant la variance individuelle de ces 2 populations à la variance de leur distribution commune.

Le tableau 3 met en évidence les relations biométriques unissant les 4 types de chromosomes dans chacun des groupes ST (bande subterminale) et SM (bande submédiane). Il est donc évident que, dans chaque groupe, chaque chromosome d'une cellule ne peut être

TABLEAU 3

Intervalle (Δ) entre moyennes de longueurs relatives des paires de chromosomes de carotte exprimés en T/θ . Signification par le test F des variances, obtenues en associant les mêmes paires de chromosomes, relativement à la variance résiduelle générale (tabl. 2).

Intervals (Δ) between relative mean lengths of carrot chromosome pairs expressed in T/θ unit and significance of the variances obtained by associating these chromosome pairs, using the F test, relative to the general residual variance in table 2.

	ST			SM				
	b	d	f	h	c	e	g	i
Δ	0,12	0,13	0,12		0,14	0,14	0,13	
F	1,49	1,09	1,04		1,19	1,27	1,16	
	b		f		c		g	
Δ		0,25				0,28		
F		2,39**				2,49**		
		d		h		e		i
Δ			0,25				0,26	
F			2,20**				2,50**	

réparti à coup sûr dans un des 4 types possibles. Par contre, nous pouvons faire l'hypothèse d'identité de chacun des couples extrêmes b et d d'une part, f et h d'autre part (ST), de même que pour c et e et g et i (SM) qui bénéficient par leur situation d'une portion de leur distribution sans interférence avec d'autres.

La variance de chaque couple ne différant pas significativement de celles des autres (tabl. 4) nous simplifions en adoptant une variance moyenne donnant un écart type commun ($s = 0,841$). Il est alors possible, à partir de la moyenne de chaque couple, de déterminer des intervalles $1,96 S$ (et $2,58 S$) au-delà desquels la probabilité de rencontrer un chromosome appartenant à ce couple n'est plus que de 0,05 (ou 0,01). Ce qui signifie que la probabilité d'y rencontrer des chromosomes de l'autre couple y est de 0,95 (ou 0,99) (tabl. 4).

Il devrait être ainsi possible de s'assurer, au moyen de l'observation de quelques plaques métaphasiques, de la situation d'un chromosome marqué artificiellement d'une façon particulière au sein d'un couple tel que nous les avons définis. Ceci marque en tout cas les limites des possibilités d'identification des chromosomes de la carotte compte tenu des caractéristiques dont nous disposons.

TABLEAU 4

Caryotype condensé de la carotte.

Condensed karyotype of carrot.

Paires	Caractéristique primaire	arc sin 100 T/θ			T/θ p > 0,95	Longueur (μm) totale					
		$\bar{x}$	±	Sx			$\bar{x}$	c ₁	f ₁	c ₂	f ₂
a	SAT	16,35	±	1,11	1,43	(SAT)	5,19 ± 1,14	3,03	1,11	0,40	0,63
bd	ST	14,45	±	0,93	1,12	> 1,14	4,06 ± 1,36	3,06	0,65	0,41	—
ce	SM	13,82	±	0,83	1,03	> 1,00	3,73 ± 0,77	1,87	0,66	1,19	—
fh	ST	12,68	±	0,75	0,87	< 0,89	3,16 ± 0,70	2,02	0,66	0,46	—
gi	SM	11,84	±	0,82	0,76	< 0,81	2,77 ± 0,68	1,24	0,53	0,98	—

T = Longueur totale du chromosome ; θ = Longueur moyenne d'un chromosome de la même plaque métaphasique.

C. Variations d'expression des bandes

Les variations présentées par les bandes claires (c) et foncées (f) n'interfèrent pas, au moins dans les cas observés au cours de ce travail, avec le classement des chromosomes. Cette variabilité correspond soit à une densité partielle (r) ou totale (f) des bandes C, soit à un éclaircissement (c) de bandes f. Ces phénomènes peuvent affecter partiellement ou totalement la bande considérée. Nous remarquerons que l'appréciation c, r ou f s'exerce dans chaque chromosome.

Chaque caryotype présentant normalement 36 bandes c (18c₁ et 18c₂) et 20 bandes f (dont 2 sur chaque chromosome a) on a relevé 14 modifications de c₁, 13 de c₂, soit environ 10 p. 100 et 10 modifications de f₁ (soit 7 p. 100) pour les 7 caryotypes analysés. Certaines modifications mal définissables n'ont pas été répertoriées. Le détail de ces variations est présenté dans le tableau 5 qui met en évidence le caractère non absolu des bandes chromosomiques observées sur notre matériel, bien que leur stabilité demeure satisfaisante pour la plupart des repérages.

Il est intéressant de remarquer que la distribution de ces anomalies ne se répartit pas de façon aléatoire entre les différents types de chromosomes. Pour ce qui est du phénomène de coloration des bandes claires, le χ^2 d'homogénéité est significatif à moins de 1 p. 100, avec ou sans le chromosome a. Le maximum de variations s'observe pour les chromosomes b d, puis f h, puis a ; les chromosomes à bande submédiane ne présentent pratiquement aucune variation. D'autre part, seuls les satellites (chromosomes a) manifestent le phénomène d'effacement de façon significativement plus fréquente que les autres et l'on peut encore remarquer que les chromosomes g i demeurent, comme pour le phénomène de coloration, totalement indemnes de variations (tabl. 5).

Il faut aussi noter que, dans une même cellule, 2 chromosomes du couple c e semblent présenter un phénomène de spiralisation qui transforme les mesures de c₁f₁ pour l'un, f₁c₂ pour l'autre, en cfcf et fcfc respectivement.

Enfin, sur 14 chromosomes a observés, 8 seulement présentent un filet c₂ mesurable ; un satellite manque.

IV. DISCUSSION

A. Les caractères des bandes

Chez les végétaux, le banding obtenu par des méthodes analogues à celle que nous utilisons ici (banding dit « C ») se traduit par l'apparition de 0 (rare), 1 (cas plus fréquent) ou plusieurs bandes. Ce dernier cas, plus habituel dans les espèces à chromosomes longs (les plus étudiées) n'est cependant pas exclu des espèces à petits chromosomes (e.g. *Cichorium intybus*, TILQUIN *et al.*, 1979). Le cas de la carotte correspond donc à un cas fréquent, avec une bande (f) par chromosome, plus une qui correspond au satellite pour le chromosome a. La position de ces bandes relativement aux centromères ne peut être donnée sur la base de cette seule étude en raison de la difficulté à distinguer ceux-ci sur nos images. Une telle limitation, déjà signalée (LA COUR, 1978, sur *Fritillaria* sp.) est susceptible de faire perdre une possibilité supplémentaire d'identification. On peut cependant tirer des indications d'un travail récent où KUMAR & WIDHOLM (1984) établissent le caryotype de la carotte à partir d'une culture de cellules haploïdes. L'accord est satisfaisant entre les valeurs de T/θ des 2 analyses, la correspondance est bonne entre la position des centromères établie par les auteurs précités et celle des bandes sauf pour les chromosomes b d (fig. 5).

La longueur totale des bandes (f) correspond à 20,6 p. 100 de la longueur totale des chromosomes. Nous pouvons rapprocher cette valeur de celles qui ont été signalées dans la littérature : 6 à 12 p. 100 chez *Secale* sp. (BENNET *et al.*, 1977) ; 4,9 à 7,8 p. 100 chez *Lolium* sp. (THOMAS, 1981) ; 17 à 32 p. 100 chez *Lathyrus* sp. (LAVANIA & SHARMA, 1980) ; 11 à 20 p. 100 chez *Scilla* (DEUMLING & GREILHUBER, 1982).

Des autres caractères de bandes étudiés on relèvera simplement la largeur uniforme de la plupart des bandes et l'existence de différences significatives de l'aptitude de chaque type de chromosomes à subir des variations d'expression du caractère. Rappelons pour mémoire la plus grande instabilité des chromosomes à bande subterminale et tout particulièrement du type

TABLEAU 5

Distribution et analyse statistique des principales variations de bandes incluant ou non le chromosome a (SAT).
Distribution and statistical analysis of the main band variations with or without the SAT chromosome.

Amplification de bandes (c → r ou f)						Eclaircissement (f → r ou c)				
Chromosomes	obs.	calc.	χ^2	calc.	χ^2	obs.	calc.	χ^2	calc.	χ^2
SAT	2	2,7	0,17	—	—	7	2,4	8,81	—	—
ST { a	13	5,3	11,03	5,5	10,22	2	2,4	0,07	1,25	0,45
{ b d	8	5,3	1,33	5,5	1,14	2	2,4	0,07	1,25	0,45
{ f h	1	5,3	3,51	5,5	3,68	1	2,4	0,81	1,25	0,05
SM { c e	0	5,3	5,33	5,5	5,50	0	2,4	2,40	1,25	1,25
{ g i	24	—	21,37	—	20,54	12	—	12,16	—	2,20
Totaux			S 0,01		S 0,01			S 0,05		NS

Figure 5
Comparaison des caractéristiques chromosomiques de la carotte. Position des centromères (●) selon KUMAR & WIDHOLM (1984) et position des bandes F1 et f2 (—) selon ESSAD (présent article) en relation avec les valeurs de T/θ .

C = bras court ; L = bras long ; T = longueur totale du chromosome ; θ = longueur moyenne de l'ensemble des chromosomes de la plaque métaphasique.

Comparison of chromosome characteristics in carrot. Centromere position (●) after KUMAR & WIDHOLM (1984) and f1 and f2 band localization (—) after ESSAD (present work) in relation with T/θ values.

C = short arm ; L = long arm ; T = length of the chromosome ; θ = mean length of all chromosomes on a metaphase plate.

b d, le plus long, avec une tendance à l'amplification des bandes f. L'éclaircissement concerne surtout le satellite (chromosome a). Des comportements analogues ont été signalés chez *Vicia faba* (DÖBEL *et al.*, 1973) et chez *Secale cereale* (BENNET *et al.*, 1977).

Des bandes additionnelles intercalaires accidentelles ont aussi été signalées chez différentes espèces (DÖBEL *et al.*, 1973 ; MARKS & SCHWEIZER, 1974 ; THOMAS, 1977).

B. L'identification des chromosomes

Les bandes chromosomiques induites chez la carotte ne permettent pas l'identification des chromosomes par paires. Outre le chromosome SAT, de toute façon identifiable, le banding ne permet de distinguer que 2 catégories de chromosomes selon que la bande est subterminale ou submédiane. Chacun de ces groupes est constitué de 4 paires de chromosomes entre lesquelles il serait souhaitable d'établir de nouvelles catégories. La conjonction d'un classement par la longueur et par des « caractères subjectifs » de ressemblance entre chromosomes de taille équivalente pourrait apporter une solution à ce problème d'identification par paires. Mais la valeur des « caractères subjectifs » n'est pas démontrée et les problèmes de validité de l'identification des chromosomes par l'analyse quantitative n'ont été que rarement abordés (ESSAD *et al.*, 1966 ; ESSAD & NAJCEVSKA, 1969 ; CHÈVRE *et al.*, 1985). Si le procédé de classement des chromosomes par ordre de taille et par paires (utilisation du caractère de position du centromère, ou des bandes) est parfaitement valable pour la caractérisation cytologique globale d'une espèce, ce procédé n'est qu'exceptionnellement fiable pour l'identification de chromosomes particuliers. La méthode que nous proposons ici apporte une solution où l'indétermination, dans le cas d'une variation apparemment continue entre 4 paires, peut être limitée à 2, tout en accroissant au maximum le nombre de chromosomes réellement classifiables, en présentant un classement facile à définir et en évitant à l'utilisateur de prendre des vessies pour des lanternes.

Reçu le 26 octobre 1984.

Accepté le 26 juin 1985.

REMERCIEMENTS

Outre Ph. de REFFYE (CIRAD Montpellier) qui nous a fourni le modèle de distribution aléatoire qui illustre cet article, nous tenons à remercier G. FOUILLOUX (I.N.R.A. Versailles) pour l'utilisation que nous avons faite de son programme de transformation et pour nos entretiens.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Bennet M. D., Gustafson J. P., Smith J. B., 1977. Variation in nuclear DNA in the genus *Secale*. *Chromosoma*, **61**, 149-176.
- Caspersson T., Farber S., Foley G. E., Kudynowski J., Modest E. J., Simonsson E., Wagh U., Zech L., 1968. Chemical differentiation along metaphase chromosomes. *Exp. Cell Res.*, **49**, 219-222.
- Chèvre A. M., Mouras A., Salesses G., 1985. Caryotype de *Castanea sativa* étudié après traitement à la cycloheximide et obtention de protoplastes, avec emploi d'un algorithme pour classer les chromosomes. *C. R. Acad. Sci.*, Paris, **301**, série 3, n° 10 : 535-538.
- Chow C., Larter E. N., 1981. Centromeric banding in maize. *Can. J. Genet. Cytol.*, **23**, 255-258.
- Deumling B., Greilhuber J., 1982. Characterisation of heterochromatin in different species of the *Scilla sibirica* group *Liliaceae* by *in situ* hybridization of satellite DNA and fluorochrome banding. *Chromosoma*, **84**, 535-556.
- Döbel P., Rieger R., Michaelis A., 1973. The Giemsa banding patterns of the standard and four reconstructed karyotypes of *Vicia faba*. *Chromosoma*, **43**, 409-422.
- Essad S., 1962. Morphologie comparée des chromosomes de *Lolium perenne* L. et de *Festuca pratensis* Huds. Position phylogénique des deux espèces. *Rev. Cytol. Biol. Vég.*, **25**, 391-396.
- Essad S., Arnoux J., Maïa N., 1966. Contrôle de validité des caryogrammes. Application au caryotype de *Lolium perenne* L. *Chromosoma*, **20**, 202-220.
- Essad S., Najcevska C., 1969. Analyse statistique d'un caryotype de *Festuca pratensis* Huds. *Ann. Amélior. Plantes*, **19**, 15-22.
- Kumar P., Widholm J. M., 1984. Techniques for chromosome analysis of carrot culture cells. *Plant Mol. Biol. Rep.*, **2**, 37-42.
- La Cour L. F., 1978. The constitutive heterochromatin in chromosomes of *Fritillaria* sp. as revealed by Giemsa banding. *Phil. Trans. R. Soc. London, B*, **285**, 1003, 61-71.
- Lavania U. C., Sharma A. K., 1980. Giemsa C-banding in *Lathyrus* L. *Bot. Gaz.*, **141**, 199-203.
- Marks G. E., Schweizer D., 1974. Giemsa banding karyotype differences in some species of *Anemone* and *Hepatica nobilis*. *Chromosoma*, **44**, 405-416.
- Stack S. M., Clarke C. R., Cary W. E., Muffly J. T., 1974. Different kinds of heterochromatin in higher plant chromosomes. *J. Cell. Sci.*, **14**, 499-504.
- Thomas H. M., 1977. Giemsa banding in *Lolium temulentum*. *Can. J. Genet. Cytol.*, **19**, 663-666.
- Thomas H. M., 1981. The Giemsa C-band karyotypes of six *Lolium* species. *Heredity*, **46**, 263-267.
- Tilquin J. P., Dujardin M., Louant B. P., 1979. L'observation des chromosomes de *Cichorium intybus* L. au moyen de la technique du Giemsa C-banding. *Ann. Amélior. Plantes*, **29**, 419-425.