

Morphologie comparée de grains de pollen chez *Brassica juncea* (L.) Czern. et Coss., *Brassica nigra* (L.) Koch et *Brassica rapa* L.

He Zhou, Laurent Greffier, Jean-Paul Maitre

La tétraploïdisation est une voie d'amélioration des espèces végétales cultivées, lorsqu'il s'agit d'obtenir une augmentation de la taille de certains organes ou une augmentation de la teneur des graines en certaines substances. Elle peut prendre trois formes principales :

- l'autotétraploïdisation par voie somatique, méthode la plus ancienne et encore employée ;
- la création d'amphiploïdes par croisements entre espèces proches suivis de rétrocroisements ;
- la tétraploïdisation par voie gamétophytique utilisant l'aptitude de certains génotypes à produire naturellement par voie sexuelle des gamètes non réduits ou diplogamètes [1].

Dans le cadre de l'amélioration génétique des moutardes condimentaires menée dans notre laboratoire, nous nous sommes intéressés aux possibilités de tétraploïdisation de la moutarde noire, *Brassica nigra* (L.) Koch, par la voie

somatique et par la voie gamétophytique. Chez cette espèce, dont la qualité condimentaire pourrait être améliorée par doublement du nombre chromosomique, la tétraploïdisation n'a été appliquée que pour les *Brassica* phylogénétiquement apparentés à *Brassica nigra* [2]. Sur base de la différence de taille entre les cellules haploïdes et les cellules diploïdes, l'observation des grains de pollen permet de trier les plantes productrices de diplogamètes mâles [3]. Aux fins d'identifier les générateurs de diplogamètes mâles chez *B. nigra* ($2n = 2x = 16$; génome B), nous avons observé des grains de pollen, comparativement à l'espèce diploïde apparentée *Brassica rapa* L. ($2n = 2x = 20$; génome A), ainsi qu'à l'espèce amphidiploïde

B. juncea ($2n = 4x = 36$; génome AB). Pour chaque espèce, nous avons utilisé des plantes isogéniques, issues de micropropagation de bourgeons axillaires polyploïdisés par la colchicine *in vitro* [4]. La ploïdie a été estimée par comptage chloroplastique, puis confirmée par dénombrement chromosomique en méiose. Pour chaque niveau de ploïdie et pour chaque espèce, une plante de ploïdie confirmée a été retenue ; trois fleurs par plante ont été prélevées et déposées en chambre humide. Les grains de pollen ont été observés à sec au microscope ($\times 525$) à l'aide d'un réticule de mesure ($1/100 = 4,07 \mu\text{m}$) ; la longueur et la largeur maximales ont été mesurées et le nombre de pores a été noté.

Tableau 1

Dimensions à sec des grains de pollen de plantes diploïdes et tétraploïdes de *Brassica nigra* et de *B. rapa*, comparativement à ceux de l'amphidiploïde *B. juncea* normal ($2n = 4x$) et tétraploïdisé ($4n = 8x$)

Espèce		Dimension moyenne (μm) \pm ES			Différence %
		2x	4x	8x	
<i>B. nigra</i>	L	35,90 \pm 0,30	43 \pm 0,50		+ 19,81*
	I	17,71 \pm 0,36	23,51 \pm 0,50		+ 32,74*
<i>B. rapa</i>	L	36,78 \pm 0,21	43 \pm 0,49		+ 18,22*
	I	16,62 \pm 0,15	23,02 \pm 0,46		+ 38,57*
<i>B. juncea</i>	L		42,07 \pm 0,42	50,29 \pm 0,59	+ 19,56*
	I		21,74 \pm 0,36	30,43 \pm 0,64	+ 39,95*

Nombre de grains de pollen observés : 20 grains par fleur, soit 60 grains de pollen par espèce.

L = longueur ; I = largeur ; ES = erreur standard.

* Différence entre moyennes, significative au seuil $\alpha = 0,05$.

Pollen sizes for diploid and tetraploid genotypes of *Brassica nigra* and *B. rapa* in comparison with diploid and tetraploid genotypes of *B. juncea*

He Zhou : Institute of Grassland Science, China Agricultural University, 100094, Beijing, PR, Chine.

L. Greffier : Établissement national d'enseignement supérieur agronomique de Dijon (ENESAD), Centre de Quétigny, 21, boulevard Olivier-de-Serres, 21800 Quétigny, France.

J.-P. Maitre : Laboratoire de botanique et d'écologie végétale, Département de sciences biologiques, Institut national d'horticulture, 2, rue Le-Nôtre, 49045 Angers cedex 01, France.

Tirés à part : J.-P. Maitre

Tableau 2

Nombre de pores des grains de pollen observés à sec chez les diploïdes et tétraploïdes de *Brassica nigra*, *B. rapa* et *B. juncea*

Espèces	Ploïdie	N	Pourcentage de grains de pollen présentant		
			3 pores	4 pores	5 pores
<i>B. nigra</i>	2x	483	100	0	0
	4x	312	65,1	34,9	0
<i>B. rapa</i>	2x	163	99,4	0,6	0
	4x	16	62,5	37,5	0
<i>B. juncea</i>	4x	200	100	0	0
	8x	77	5,2	79,2	15,6

N = nombre de grains de pollen observés.

Number of pores of 2n and 4n pollen in *Brasica nigra*, *B. rapa* and *B. juncea*

Pour les trois espèces étudiées, l'augmentation de la ploïdie se traduit par une augmentation hautement significative de la taille du grain de pollen, aussi bien en longueur (18-20 %) qu'en largeur (32-40 %) (tableau 1). Chez l'allotétraploïde, *B. juncea*, les dimensions sont très proches de celles des autotétraploïdes de *B. nigra* et *B. rapa*. Ceci confirme des résultats antérieurs obtenus chez *B. napus* [5]. Les deux types de grains de pollen se différencient également de façon très nette par le nombre de pores (tableau 2). Chez les diploïdes observés, les grains de pollen présentent normalement 3 pores (rarement 4), tandis que chez les autotétraploïdes, le pollen à 4 pores est en proportion nettement plus élevée, comme c'est le cas pour *B. oleracea* [6]. Chez le tétraploïde de *B. nigra*, les grains de pollen à 3 pores et ceux à 4 pores sont de dimensions analogues, supérieures à celles des grains de pollen à 3 pores du diploïde. L'observation du pollen chez 54 plantes de *B. nigra* diploïdes provenant de sept populations différentes a permis d'identifier un génotype dont la fréquence d'émission de gros grains de

pollen à 4 pores atteignait 5,27 % [2]. Des croisements 4x-2x, au nombre de dix, ont fourni une descendance où la présence de gros grains de pollen détectée chez le parent 2x a permis, par cytométrie en flux et électrophorèse d'isozymes, de déceler 5,5 % de tétraploïdes issus de la fécondation de l'oosphère 2x du parent tétraploïde par du pollen non réduit du parent diploïde. En conclusion, l'augmentation des dimensions du grain de pollen, corrélativement à une fréquence significative de grains à 4 pores, serait un critère d'identification de pollen diploïde chez *B. nigra* et *B. rapa* ■

Références

1. Veilleux R. Diploid and polyploid gametes in crop plants : mechanism of formation and utilization in plant breeding. *Plant Breeding Rev* 1985 ; 3 : 253-88.
2. Greffier L. *Obtention et caractérisation d'autotétraploïdes chez trois espèces de Brassica apparentées : B. nigra (L.) Koch., B. rapa (L.) et B. juncea (L.) Czern et Coss.* Thèse de doctorat, Université de Bourgogne, 1994.

Summary

Comparative study of pollen morphology in *Brassica juncea* (L.) Czern. and Coss., *Brassica nigra* (L.) Koch. and *Brassica rapa* L.

He Zhou, L. Greffier, J.-P. Maitre

The aim of this study was to measure pollen size in diploid and autotetraploid genotypes of *Brassica nigra* and *B. rapa*, and the results were compared with the allotetraploid *B. juncea*. In the two diploid species, autotetraploidisation was responsible for a significant increase in pollen size, similar to allotetraploids. The increase in pollen width was twofold (32-40%) that of the pollen length (18-20%) when the chromosome number was doubled (from 2x to 4x, or 4x to 8x); 2n pollen had 3 pores while 4n pollen sometimes exhibited 3 or 4 pores. These results could be useful for identifying 2n pollen producers in diploid *Brassica* sp., with a view to obtaining tetraploid genotypes by gametophytic crosses.

Cahiers Agricultures 1998 ; 7 : 401-2.

3. Calderini O, Mariani A. Identification of meiotic mutants producing 2n pollen in the *Medicago sativa* complex. *J Genet Breed* 1994 ; 48 : 317-20.
4. Anderson JA, Mousset-Declas C, Williams EG, Taylor NL. An *in vitro* chromosome doubling method for clovers (*Trifolium* sp.). *Genome* 1991 ; 34 : 1-5.
5. Ramanujan S, Deshmukh MJ. Colchicine induced polyploidy in crop plants. III oleiferous *Brassicaceae*. *Indian J Genet* 1945 ; 5 : 63-81.
6. Ockendon DJ. The ploidy of plants obtained from another culture of cauliflowers (*Brassica oleracea* var. *botrytis*). *Ann Appl Biol* 1988 ; 113 : 319-25.