

Étude cytogénétique du triticales cv. Beagle

Bachir Oudjehih, Amar Boukaboub

Le triticales (\times triticosecal Wittmack) est une céréale synthétique dérivant de l'hybridation entre le blé cultivé (*Triticum aestivum* ou *Triticum durum*) et le seigle (*Secale cereale*). Depuis les premières formes fertiles réussies par Rimpau en 1891 [1], plusieurs types ont été obtenus. Gupta [2] distingue quatre groupes sur la base du niveau de ploïdie : les triticales tétraploïdes ($2n = 4x = 28$), hexaploïdes ($2n = 6x = 42$), octoploïdes ($2n = 8x = 56$) et décuploïdes ($2n = 10x = 70$). Mac Key [3] propose l'appellation de *Triticum krolowi* (Mk) ($4x = 28$, A/B/DR), *Triticum turgidocereale* (Kiss) ($6x = 42$, ABR) et *Triticum rimpau* (Wittm./Mk) ($8x = 28$, ABDR).

En considérant les types de croisement, on différencie les triticales primaires, issus soit directement de l'amphiploïdisation des hybrides *Triticum* \times *Secale* [4], soit de l'intercroisement entre deux triticales produits par les mêmes espèces de *Triticum* et de *Secale* [5], des triticales secondaires, résultant du croisement entre triticales de même niveau de ploïdie ou de parents différents, avec un génome de seigle complet (triticales secondaires vrais ou complets) ou partiel (triticales secondaires de substitution) [4].

Le triticales est plus performant que le parent blé dans des conditions agroclimatiques marginales [6-8]. Cependant, cette céréale reste sujette à certaines

contraintes, comme le grain échaudé, l'instabilité méiotique, l'aneuploïdie et la stérilité partielle, dépréciant sa valeur technologique et commerciale.

L'échaudage du grain, apprécié par le poids spécifique [9], serait dû à la forte activité de l' α -amylase durant la maturation [10-12], à l'hétérochromatine télomérique des chromosomes de seigle [10, 11, 13], à l'aneuploïdie [11] et à l'environnement cultural [14, 15].

L'irrégularité méiotique mâle, caractérisée par la fréquence d'univalents [16], de micronoyaux [17, 18] et de chromosomes retardataires [19] est influencée par l'hétérochromatine des chromosomes de seigle [17] et conduit à l'aneuploïdie [18, 20, 21]. Plusieurs caractères agronomiques sont considérés pour apprécier l'effet des anomalies cytologiques. Cependant, les corrélations positives établies entre les perturbations chromosomiques et la mauvaise qualité agronomique des plantes, comme la réduction de la fertilité [17, 21] et de la taille [22], sont controversées. Les méthodes différentes utilisées pour l'expression de la fertilité et la diversité du matériel expérimental seraient à l'origine de ces divergences [23, 24]. À cet égard, les caractéristiques des grains semés ne sont pas prises en considération par les auteurs, ce qui complique la comparaison des résultats.

La présente étude montre que, outre le degré de ploïdie, le type de lignée et la génération du matériel examiné, les caractéristiques physiques du grain semé, comme le poids et l'échaudage, peuvent aussi influencer la nature et l'ampleur des perturbations chromosomiques observées.

Matériel et méthodes

Le cultivar Beagle est un triticales primaire hexaploïde, présentant un génome complet du seigle [25, 26] ; il est sensible à l'échaudage. Nous avons comparé trois types de grains définis par leur taille et leur degré d'échaudage : gros normal (poids de mille grains = 57,32 g, poids spécifique = 67,30 g/ml), gros échaudé (PMG = 53,44 g, PS = 58,08 g/ml), et petit normal (PMG = 20,56 g, PS = 44,16 g/ml).

Le dénombrement des chromosomes somatiques est effectué dans les cellules des méristèmes racinaires. Les graines sont incubées pendant 42 heures à température ambiante ; les racines de 8 à 12 mm sont prélevées le matin et placées dans l'eau au congélateur pendant 24 heures, puis transférées dans l'alcool acétique (3 volumes d'éthanol pur pour 1 volume d'acide acétique glacial) et conservées au froid jusqu'à utilisation.

Avant le montage des pointes racinaires entre lame et lamelle dans une goutte de carmin acétique, les racines sont préalablement ramollies dans un mélange à volume égal d'HCl 1 N et d'éthanol à 95 % pendant 15 min. Les couches monocellulaires et la dispersion des chromosomes s'obtiennent aisément par écrasement (*squash*) précédé d'un léger chauffage de la préparation.

Le comptage des chromosomes dans les meilleures plaques métaphasiques de 20 individus par type de grains est effectué sous l'objectif $\times 40$ d'un microscope optique. L'examen des chromosomes méiotiques est pratiqué sur les cellules mères de pollen des plantes issues de gros grains normaux ou échaudés.

B. Oudjehih, A. Boukaboub : Institut d'agronomie, Université de Batna, route de Tazoult, 05000 Batna, Algérie.

Tirés à part : B. Oudjehih

Tableau 1

Proportions (%) des anomalies mitotiques chez le triticale cv. Beagle

Anomalie mitotique	Hypoaneuploïdie (nombre d'individus et %)						Euploïdie (2n = 42)		
	Nullisomie et/ou double monosomie (2n = 40)		Monosomie (2n = 41)		Total (2n = 40 ou 41)				
	Nombre d'individus	%	Nombre d'individus	%	Nombre d'individus	%	Nombre d'individus	%	
Type de grains	Gros normal	0	0	1	5	1	5	19	95
	Gros échaudé	0	0	3	15	3	15	17	85
	Petit normal	3	15	5	25	8	40	12	60
Total individus et pourcentage moyen		3	5	9	15	12	20	48	80

Proportions (%) of mitotic anomalies in the triticale cv. Beagle

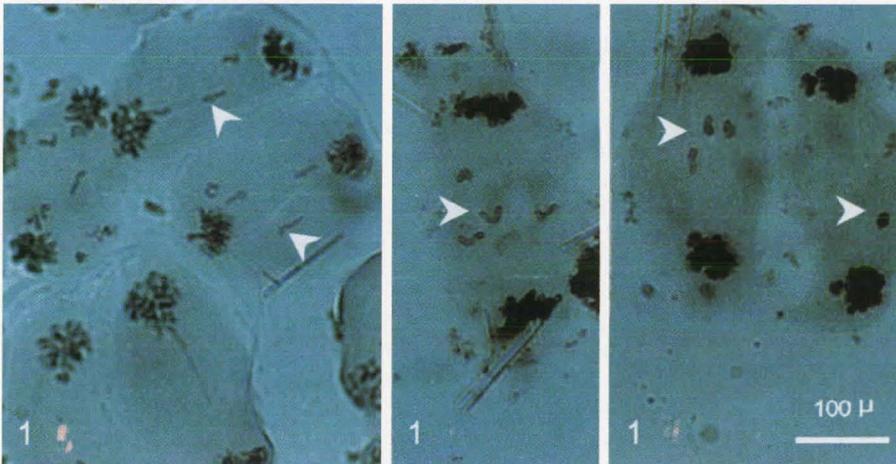


Photo 1. Chromosomes et/ou fragments retardataires dans les anaphases II du pollen des gros grains échaudés.

Photo 1. Chromosomes and/or delayed fragments in anaphase II of pollen from large shrivelled seeds.

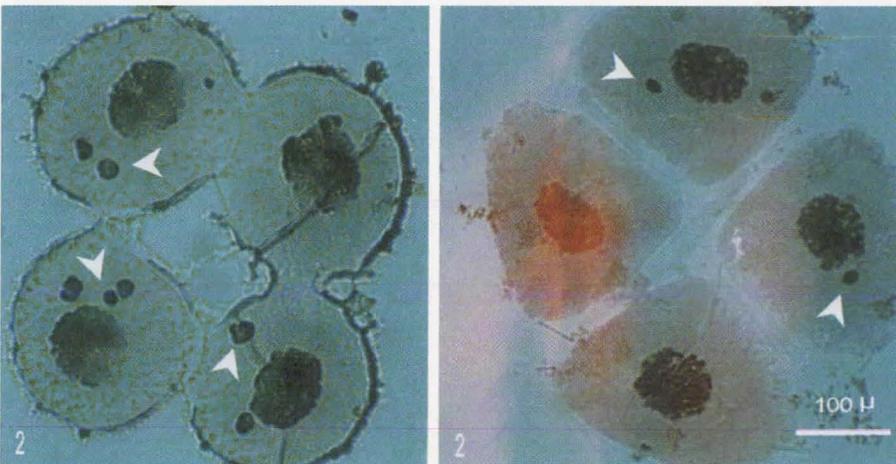


Photo 2. Micronoyaux dans les quarts de tétrade du pollen des gros grains échaudés.

Photo 2. Micro-kernels in tetrad quarters of pollen from large shrivelled seeds.

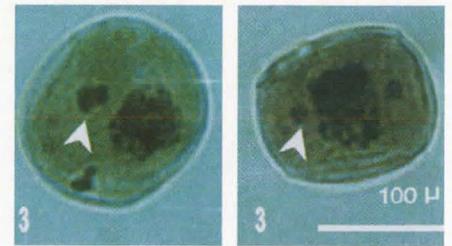


Photo 3. Micronoyaux dans un jeune grain de pollen (gros grains échaudés).

Photo 1. Micro-kernels in a young pollen grain (large shrivelled seeds).

Les épis récoltés au stade gonflement, entre 6 et 9 heures du matin, sont directement fixés dans l'alcool acétique (3 vol. éthanol pur pour 1 vol. acide acétique glacial) pendant 24 heures au réfrigérateur. Les anthères des fleurs du milieu de l'épi sont montées, colorées et observées comme pour les méristèmes racinaires. Le nombre d'individus issus de gros grains normaux ou échaudés analysés est fixé à 8. Les anomalies quantifiées sont les chromosomes entiers ou fragmentés retardataires à l'anaphase II et les micronoyaux dans les tétrades et les jeunes grains de pollen.

Résultats et discussion

Les dénombrements chromosomiques (tableau 1) révèlent un taux d'hypoaneuploïdie de 20 % au moins. Les individus comptant $2n = 42$ ne sont pas forcément euploïdes, la compensation éventuelle de l'hyperaneuploïdie par l'hypoaneuploïdie n'étant pas à exclure. La forme d'aneuploïdie la plus fréquente est la monosomie (15 % des individus semés produisent des cellules somatiques comptant 41 chromosomes). La nullisomie et/ou la double monosomie concernent 5 % de l'ensemble des individus examinés.

La proportion d'individus aneuploïdes dépend, d'une part, du poids du grain semé et, d'autre part, de l'échaudage [11, 21, 27].

Les grains non échaudés de faible poids (PMG = 20,6 g) sont plus sujets à une déficience chromosomique, 2 grains sur 5 produisant des individus avec 1 ou 2 chromosomes en moins (tableau 1). Par ailleurs, seuls les individus issus de ce

Tableau 2

Proportions (%) d'anaphases II avec éléments chromosomiques retardataires chez le triticale cv. Beagle et valeurs de χ^2 calculé

Type de grains		Gros échaudé		Gros normal		Total		χ^2 calculé
		Nombre anaph. II	%	Nombre anaph. II	%	Nombre anaph. II	%	
Nombre de chromosomes et/ou fragments retardataires par anaphase II	0	270	63,08	277	64,71	547	63,90	-
	1	85	19,85	82	19,15	167	19,50	0,06 (-)
	2	44	10,28	37	08,64	81	09,46	0,66 (-)
	3	18	04,20	29	06,77	47	05,49	2,72 (-)
	4	11	02,57	03	0,70	14	01,63	4,64 (*)
Total	Anormales Observées	158 428	36,91 100	151 428	35,28 100	309 856	36,09 100	-
Moyenne des éléments chromosomiques par anaphase II		0,63		0,59		0,61		

(-) non significatif, (*) significatif au seuil de 5 %.

Proportions (%) of anaphase II with delayed chromosomal elements in the triticale cv. Beagle and calculated values χ^2

type de semence manifestent une nullisomie et/ou une double monosomie, estimée à 15 %.

Comme cela a été observé [24], la fréquence des individus anormaux baisse

fortement (1 gros grain non échaudé seulement sur 20 est défectueux), lorsque les grains semés sont plus lourds (PMG = 57,32 g), alors que les grains échaudés présentent davantage d'anomalies (3 gros

Tableau 3

Proportions (%) des quarts de tétrade avec micronoyaux chez le triticale cv. Beagle et valeurs de χ^2 calculé

Type de grains		Gros échaudé		Gros normal		Total		χ^2 calculé
		Nombre de 1/4 tétrade	%	Nombre de 1/4 tétrade	%	Nombre de 1/4 tétrade	%	
Nombre de micronoyaux observés par quart de tétrade	0	793	51,46	1 074	69,69	1 867	60,57	-
	1	422	27,38	305	19,79	727	23,58	24,64 (***)
	2	240	15,57	128	08,30	368	11,94	38,70 (***)
	3	70	04,54	32	02,07	102	03,30	14,64 (***)
	4	16	01,03	02	00,12	18	00,58	10,95 (***)
Total	Anormales Observées	748 1 541	48,53 100	467 1 541	30,30 100	1 215 3 082	39,42 100	-
Moyenne de micronoyaux par quart de tétrade		0,76		0,43		0,59		

(***) significatif au seuil de 1 %.

Proportions (%) of tetrad quarter with microkernel in the triticale cv. Beagle and calculated values χ^2

grains échaudés sur 20 perdent un chromosome), l'aneuploïdie étant considérée comme facteur d'échaudage [11].

La semence du triticale cv. Beagle produit des plants dont la méiose mâle est fortement perturbée. La méiose équationnelle des plants issus de gros grains montre que 36,09 % des anaphases II (photo 1), 39,42 % des quarts de tétrade (photo 2) et 33,91 % des grains de pollen (photo 3) présentent un ou plusieurs chromosomes et/ou fragments retardataires ou micronoyaux. La fréquence des chromosomes retardataires à l'anaphase II est corrélée positivement à celle des micronoyaux dans les quarts de tétrade et les grains de pollen, tant pour les plants normaux que échaudés (r = 0,96 à 0,99) [19, 28].

La méiose pollinique des plantes issues de grains échaudés paraît plus irrégulière que celle des grains normaux : à l'anaphase II, le nombre de chromosomes et/ou de fragments retardataires par cellule est de 0,63 pour les premières et 0,59 pour les secondes (tableau 2). La proportion d'anaphases II déséquilibrées est de 36,91 % pour les plantes de grains échaudés, contre 35,28 % pour celles de grains normaux. Les deux populations diffèrent significativement par la proportion d'anaphases II comportant quatre éléments chromosomiques retardataires (2,57 % pour les plantes des grains échaudés et 0,70 % pour celles des grains normaux, tableau 2).

Au stade tétrade, les futurs gamètes des plantes produits par les grains échaudés sont très aberrants (48,53 % de quarts de tétrade avec au moins un micronoyau, contre 30,30 % pour les plantes de grains normaux). Le nombre moyen de micronoyaux par quart de tétrade est de 0,76 chez les sujets issus de grains échaudés et 0,43 pour ceux issus de grains normaux (tableau 3) ; la différence entre ces deux valeurs est très hautement significative quel que soit le nombre de micronoyaux comptés par quart de tétrade (tableau 3).

À une phase plus avancée (mitose post-méiotique), la fréquence des cellules (quart de tétrade ou grain de pollen) avec micronoyaux diminue sensiblement chez les plantes de grains échaudés (48,53 % au stade tétrade et 33,31 % à la mitose pollinique) et augmente au contraire chez celles des semences normales (30,30 % au stade tétrade et 34,51 % à la mitose pollinique) (tableau 4), ce qui peut s'expliquer par une redistribution fondée sur la fusion

Tableau 4

Proportions (%) de grains de pollen avec micronoyaux chez le triticale cv. Beagle et valeurs de χ^2 calculé

Type de grains		Gros échaudé		Gros normal		Total		χ^2 calculé
		Nombre de grains de pollen	%	Nombre de grains de pollen	%	Nombre de grains de pollen	%	
Nombre de micronoyaux observés par grain de pollen	0	1 227	66,68	1 205	65,48	2 432	66,08	-
	1	432	23,42	414	22,50	845	22,96	0,44 (-)
	2	152	08,26	168	09,13	320	08,69	0,87 (-)
	3	28	01,52	39	02,11	67	01,82	1,83 (-)
	4	2	00,10	14	00,76	16	00,43	9,03 (**)
Total grains de pollen	Anormaux Observés	613 1 840	33,31 100	635 1 840	34,51 100	1248 3 680	33,91 100	-
Moyenne de micronoyaux par grain de pollen		0,44		0,50		0,47		

(-) non significatif, (**) significatif au seuil de 1 %.

Proportions (%) of pollen grains with micro-kernels in the triticale cv. Beagle and calculated values χ^2

(cas des grains échaudés) ou l'individuation (cas des grains normaux) des éléments chromosomiques composant les micronoyaux et les noyaux [19]. Ce flux des éléments chromosomiques, dont les mécanismes restent peu clairs, peut se produire soit entre les micronoyaux, soit entre le noyau et les micronoyaux, soit encore entre l'ensemble de ces structures, les deux populations de plantes ne différant significativement que par la proportion de grains de pollen renfermant quatre micronoyaux (tableau 4).

Conclusion

Le cultivar de triticale Beagle présente une instabilité chromosomique, des anomalies affectant la mitose racinaire et les différentes phases de la méiose pollinique. L'hypoaneuploïdie de type monosomique, les chromosomes retardataires et les micronoyaux sont fréquents. L'échaudage et le poids du grain semé influencent l'ampleur et la nature des

Summary

Cytogenetic studies on the Beagle triticale variety

B. Oudjehih, A. Boukaboub

The chromosomal behaviour of triticale is frequently disturbed. When chromosomal abnormalities in cereals are evaluated, the morphological characteristics of the seeds sown are usually ignored. This situation is particularly true as far as triticale is concerned.

Cytogenetic study of the Beagle variety of primary hexaploid triticale was carried out and the nature and importance of chromosomal rearrangements was established for three types of seeds as defined by weight and extent of shrivelling. Somatic chromosomes were counted in root meristems. Meiotic abnormalities were determined in the mother cells of pollen from the flowers of mid-ears in plants with large shrivelled seeds or normal seeds at the swelling stage. Plant material was fixed in acetic alcohol (3:1) and coloured by carmine acetic.

Results (Table 1) revealed that hypoaneuploidy affects at least 20% of examined individuals, the monosomic being more frequent (15%) than the nullisomic and/or the double monosomic (5%). The importance of aneuploidy depends on seed morphological characteristics: plants from unshrivelled small seeds were more affected (40%) than those from large normal seeds (5%) or large shrivelled seeds (15%).

Pollen meiosis of plants from large normal seeds or shrivelled seeds was also unbalanced: 36.06% of anaphase II (Photo 1 and Table 2), 39.42% of tetrad quarters (Photo 2 and Table 3) and 33.91% of pollen grains (Photo 3 and Table 4) indicating one or more delayed chromosomal elements or micro-kernels. The meiotic aberration rate depends as well on the morphology of the sown seeds from which the plants grow. Shrivelled seeds showed 36.91% of anaphase II, with at least one delayed chromosomal element, versus 35.28% and 4 delayed chromosomal elements for normal seeds (Table 2).

Noticeable disturbances in plants from shrivelled seed persisted at the tetrad stage. All categories of tetrad quarters with micro-kernels were significantly higher in the plants from shrivelled seeds than in normal seeds (Table 3). The level of abnormal germ cells at the post-meiotic mitosis decreased from 48.53% to 33.31% in the plants from shrivelled seeds and increased from 30.30% to 34.51% in plants from normal seeds (Table 3 and 4). The two plant populations did not differ significantly, except in the proportion of pollen grains with 4 micro-kernels. Fusion (shrivelled seeds) or individualization (normal seeds) of chromosomal elements composing micro-kernels and kernels may be involved.

In Beagle triticale the seed is partly defective. Both the magnitude and nature of mitoses and meioses are related to seed morphology, with plants from small seeds or large shrivelled seeds being the most affected. It is thus recommended that the physical qualities of seeds used in cytogenetic studies be taken into account to facilitate the comparison of the results obtained.

Cahiers Agricultures 2000 ; 9 : 519-23.

aberrations chromosomiques, les anomalies mitotiques étant plus marquées chez les petits grains. Comparés aux gros grains normaux, les grains échaudés de même catégorie présentent une méiose plus irrégulière. Nous suggérons que l'analyse cytogénétique chez le triticale et d'autres céréales devrait prendre en considération les caractéristiques physiques du grain semé, en vue de faciliter la comparaison éventuelle des résultats.

Sur le plan des pratiques agricoles, cette note suggère, comme cela a été déjà proposé [24], que les gros grains soient séparés des petits par criblage pour obtenir un pourcentage élevé de plantes euploïdes. Pour parer au problème d'échaudage, on pourrait employer notamment le triage gravimétrique [15] ■

Références

- Villareal RL, Varughese G, Abdalla OS. Advances in spring triticale breeding. *Plant Bred Rev* 1990 ; 8 : 43-88.
- Gupta PK. Nomenclature, taxonomy and classification of triticales. In : Darvey NL, ed. *Triticale : International Symposium*. Sydney : Australian Institute of Agricultural Science, 1986 : 22-30.
- Mac Key J. Taxonomy of rye wheat. In : McNab A, ed. *Proceedings of the 2nd International Triticale Symposium*. Passo Fundo (Brazil) : CIMMYT Mexico DF, 1991 : 36-40.
- Gupta PK, Priyadarshan PM. Triticale : present status and future prospects. *Adv Genet* 1982 ; 21 : 255-345.
- Bushuk W. Proteins of triticale : chemical and physical characteristics. In : Tsen CC, ed. *Triticale : first man-made cereal*. St Paul Minnesota : Amer Assoc Cer Chem, 1974 : 128-136.
- Varughese G, Saari EE, Abdalla OS. Two decades of triticale breeding and research at CIMMYT. In : Darvey NL, ed. *Triticale : International Symposium*. Sydney : Australian Institute of Agricultural Science, 1986 : 148-69.
- Giunta F, Motzo R, Deidda M. Effect of drought on yield and yield components of durum wheat and triticale in a mediterranean environment. *Field Crops Res* 1993 ; 33 : 399-409.
- Jessop RS. Stress tolerance in newer triticales compared to other cereals. In : Guedes-Pinto H, Darvey N, Carnide VP, eds. *Triticale : today and tomorrow*. Dordrecht, Boston, London : Kluwer Academic Publishers, 1996 : 419-27.
- Varughese G, Barker T, Saari E. *Triticale*. CIMMYT, Mexico DF, 1987 ; 32 p.
- Weipert D. Triticale processing in milling and baking. In : Darvey NL, ed. *Triticale : International Symposium*. Sydney : Australian Institute of Agricultural Science, 1986 : 402-41.
- Seal AG. Causes of grain shrivelling in triticale. In : Darvey NL, ed. *Triticale : International Symposium*. Sydney : Australian Institute of Agricultural Science, 1986 : 31-4.
- Hill RD, Klassen AJ, Dedio W. Metabolic factors influencing kernel development in triticale. In : McIntyre R, Campbell M, eds. *Triticale : Proceedings of an International Symposium*. El Batán (Mexico) : Int Develop Res Centre Monogr, 1974 : 149-54.
- Sowa W. The effect of chromosome substitution on grain yield and its structure in triticale. In : Darvey NL, ed. *Triticale : International Symposium*. Sydney : Australian Institute of Agricultural Science, 1986 : 412-22.
- Boyd WRJ, Sisodia NS, Larter EN. A comparative study of the cytological and reproductive behaviour of wheat and triticale subjected to two temperature regimes. *Euphytica* 1970 ; 19 : 470-97.
- Zillinsky FJ. Improving seed formation in triticales. In : McIntyre R, Campbell M, eds. *Triticale : Proceedings of an International Symposium*. El Batán (Mexico) : Int Develop Res Centre Monogr, 1974 : 155-7.
- Kaltsikes PS. Univalency in triticale. In : McIntyre R, Campbell M, eds. *Triticale : Proceedings of an International Symposium*. El Batán (Mexico) : Int Develop Res Centre Monogr, 1974 : 159-67.
- Martin J. Cytogenetic and agronomic interactions in primary triticale derived from genetically defined parents. *EUCARPIA-Triticale : Meeting of the Cereal Section on Triticale of EUCARPIA*. Schwerin (GDR) : Akad Landwirtschaft DDR Berlin, 1988 : 159-67.
- Falcao TMM, Moraes-Fernandes MIB, Zanetini MHB. Genotypic and environmental effects on chromosomal abnormalities in hexaploid triticale grown in southern Brazil and correlation between meiotic behavior and fertility of progenies. In : McNab A, ed. *Proceedings of the 2nd International Triticale Symposium*. Passo Fundo (Brazil) : CIMMYT Mexico DF, 1991 : 320-8.
- Sasaki M, Muraoka S, Nakata N, Yasumuro Y. Could *ae caudata* cytoplasm be used in triticale breeding. In : Darvey NL, ed. *Triticale : International Symposium*. Sydney : Australian Institute of Agricultural Science, 1986 : 436-41.
- Mahmoud AA, Lelley T, Fayed AH, Ismail AH. Cytogenetic investigation in some primary and developmental hexaploid strains of triticale. In : Darvey NL, ed. *Triticale : International Symposium*. Sydney : Australian Institute of Agricultural Science, 1986 : 327-34.
- Huelgenhof E, Pershina L, Schlegel R. The contribution of heterochromatin variations and chromosome replacements to breeding research of hexaploid triticale. *EUCARPIA-Triticale : Meeting of the Cereal Section on Triticale of EUCARPIA*. Schwerin (GDR) : Akad Landwirtschaft DDR Berlin, 1988 : 95-103.
- Lelley L. Significance of the genome combining ability of parental wheat and rye in triticale. In : McNab A, ed. *Proceedings of the 2nd International Triticale Symposium*. Passo Fundo (Brazil) : CIMMYT Mexico DF, 1991 : 352-8.
- Hainer A. Cytogenetic investigations in different alloplasmic wheats and triticales. *EUCARPIA-Triticale : Meeting of the Cereal Section on Triticale of EUCARPIA*. Schwerin (GDR) : Akad Landwirtschaft DDR Berlin, 1988 : 179-87.
- Tsukia T. Cytological stability of triticale. In : Tsen CC, ed. *Triticale : first man-made cereal*. St Paul Minnesota : Amer Assoc Cer Chem, 1974 : 62-89.
- Skovmand B, Braun HJ, Fox PN. Genetics and breeding of triticale. In : Bernard M, Bernard S, eds. *Genetics and breeding of triticale. Proceedings of Eucarpia meeting*. Clermont Ferrand (France) : INRA Paris, 1985 : 15-27.
- Sinha RP, Joshi MG. Induced variation in primary hexaploid triticale. In : Darvey NL, ed. *Triticale : International Symposium* (suppl.). Sydney : Australian Institute of Agricultural Science, 1987 : 179-83.
- Bernard M. Quelques remarques concernant la formation du caryopse chez le triticale et ses hybrides avec le blé tendre. *Bull Soc Bot Fr* 1978 ; 1-2 : 85-90.
- Micka B. Cytology and fertility of 6x autoallopolyploid triticale. *EUCARPIA-Triticale : Meeting of the Cereal Section on Triticale of EUCARPIA*. Schwerin (GDR) : Akad Landwirtschaft DDR Berlin, 1988 : 149-57.