

COMMUNAUTE FRANCAISE DE BELGIQUE  
ACADEMIE UNIVERSITAIRE WALLONIE-EUROPE  
FACULTE UNIVERSITAIRE DES SCIENCES AGRONOMIQUES DE GEMBLoux

**UTILISATION DE L'ESPECE SAUVAGE DIPLOIDE *Gossypium australe*  
F. MUELL. POUR L'AMELIORATION DE L'ESPECE CULTIVEE  
TETRAPLOÏDE *G. hirsutum* L. PAR LA METHODE DES LIGNEES  
MONOSOMIQUES D'ADDITION**

Djibril SARR

Dissertation originale présentée en vue de l'obtention du grade  
de docteur en sciences agronomiques et ingénierie biologique

Promoteur : Pr . Guy MERGEAI

2008

## INTRODUCTION

Le genre *Gossypium* est composé d'espèces diploïdes ( $2n = 2x = 26$ ) et tétraploïdes ( $2n = 4x = 52$ ). Tous les deux groupes incluent des espèces cultivées et des espèces sauvages. Les deux seules espèces diploïdes cultivées (*G. arboreum* L. et *G. herbaceum* L.) appartiennent au génome A. En fonction de leur affinité avec ce génome A, la quarantaine d'autres espèces diploïdes sont réparties dans sept autres classes génomiques désignées par les lettres B, C, D, E, F, G et K (Endrizzi et al. 1985 ; Stewart 1995). Les espèces tétraploïdes sont apparues il y a 1 à 2 millions d'années à la suite d'une hybridation entre une espèce de génome A et une espèce de génome D suivie d'un doublement chromosomique (Wendel and Cronn 2003). Parmi les cinq espèces tétraploïdes, deux (*G. barbadense* et *G. hirsutum*) sont cultivées.

A elle seule, l'espèce *G. hirsutum* représente au niveau mondial plus de 85% des superficies cultivées et près de 90% de la production ; ce qui en fait la principale espèce de cotonnier cultivé (Berti et al. 2006). La Chine, les Etats-Unis, l'Inde et le Pakistan, représentent près de 80% de cette production mais c'est dans les pays francophones d'Afrique de l'Ouest, qui ne représentent que 5% de la production mondiale mais 15% des échanges mondiaux, que son poids économique est le plus élevé notamment comme importante pourvoyeuse d'emplois, principale source de devises et facteur essentiel de modernisation des sociétés et économies rurales (Berti et al. 2006 ; Zagbaï et al. 2006).

L'extension de la culture de *G. hirsutum* a été accompagnée d'une importante érosion génétique se traduisant par une faible variabilité génétique (Wendel et al. 1992 ; Tatineni et al. 1996 ; Iqbal et al. 1997 ; Liu et al. 2000). Cependant, même si ce rétrécissement de la base génétique n'a pas empêché des progrès génétiques significatifs (Van Esbrock and Bowman 1998), les nombreuses espèces diploïdes sauvages du genre *Gossypium* constituent une importante source de variabilité pour répondre aux défis que constituent la nécessité d'augmenter la productivité, d'améliorer la qualité des fibres et de mieux valoriser les sous-produits de la récolte (Stewart 1995, Mergeai 2006).

Parmi les espèces diploïdes sauvages, les espèces endémiques australiennes montrent un certain nombre de caractères agronomiques intéressants (forte ténacité de la fibre, haut rendement à l'égrenage, tolérance à des facteurs abiotiques et biotiques défavorables, inhibition de la synthèse du gossypol uniquement dans la graine etc.) qu'il serait intéressant d'intégrer dans la principale espèce cultivée (Brubaker et al. 1996 ; Vroh bi et al. 1999 ; McFadden et al. 2004). Une des stratégies consiste à utiliser la méthode des lignées monosomiques d'addition (LMA) (Ahoton et al 2003 ; Becerra Lopez-Lavalle and Brubaker

2007). Celles-ci sont constituées de plantes présentant en plus du jeu chromosomique normal de l'espèce cultivée un chromosome d'une espèce sauvage. Les LMA sont un matériel génétique important aussi bien pour l'introgression de caractères agronomiques d'intérêt que pour l'étude de l'histoire évolutive des espèces.

En limitant le génome de l'espèce donneuse à un seul chromosome, l'utilisation des LMA permet de réduire la quantité de matériel génétique étranger dans le fond génétique et en conséquence permet de réduire le temps nécessaire pour obtenir un génotype équilibré.

Au niveau de l'Unité de Phytotechnie Tropicale a été mis en place un programme d'amélioration génétique de la principale espèce cultivée *Gossypium hirsutum* L. par l'utilisation de l'espèce *G. australe*. Six LMA et une lignée disomique d'addition ayant déjà été isolées, l'objectif de nos travaux est de poursuivre l'isolement de la série complète des LMA de *G. australe* F. Muell. sur *G. hirsutum* L. et d'évaluer les possibilités d'introgression au niveau des LMA par la mesure, en régime d'autofécondation, des transferts du chromosome surnuméraire sur les lignées isolées et les taux de recombinaison allosyndétique. Le présent document s'articulera autour de trois parties. D'abord une synthèse bibliographique où il sera passé en revue la problématique de l'élargissement de la base génétique de la principale espèce de cotonnier cultivé *G. hirsutum* par la création et l'exploitation des lignées monosomiques d'addition. Ensuite nous décrivons dans la deuxième partie les travaux menés et les résultats obtenus pour isoler avec des marqueurs SSR et par hybridation génomique *in situ* (GISH) cinq nouvelles LMA de *G. australe* dans *G. hirsutum*. Enfin dans une troisième partie il sera exposé les résultats obtenus sur la transmission du chromosome surnuméraire dans cinq LMA et sur l'élimination somatique du chromosome surnuméraire qui a été observée dans une des lignées.

# CHAPITRE 1 : ELARGISSEMENT DE LA BASE GÉNÉTIQUE DE LA PRINCIPALE ESPÈCE DE COTONNIER CULTIVÉ *GOSSYPIUM HIRSUTUM* L., PAR LA CRÉATION ET L'EXPLOITATION DE LIGNÉES MONOSOMIQUES D'ADDITION

## 1. Introduction

S'il est sans doute exagéré de dire que la variabilité de la principale espèce de cotonnier cultivé *Gossypium hirsutum* L., est aujourd'hui trop étroite pour permettre des progrès génétiques significatifs, la quarantaine d'espèces diploïdes sauvages que compte le genre pourraient être utilisées comme source de gènes. Ces cotonniers diploïdes présentent en effet une série de caractères agronomiques intéressants dont le transfert dans la principale espèce cultivée permettrait l'augmentation de la productivité, l'amélioration de la qualité et la valorisation des sous-produits. Ce faisant, un grand pas serait ainsi franchi dans l'objectif de maintenir le cotonnier comme première culture textile et comme moteur du développement dans les pays d'Afrique francophone où il occupe une place centrale dans l'économie nationale et dans l'économie rurale, en particulier.

Une voie potentielle de mobilisation des ressources génétiques que constituent ces espèces diploïdes consiste en l'utilisation de la technique des lignées monosomiques d'addition. Comme toute méthode d'amélioration par hybridation interspécifique, celle-ci pose des problèmes liés à l'existence de barrières à la reproduction, à la faiblesse des taux de recombinaison et à la formation de produits non équilibrés qui rendent souvent l'exercice laborieux.

L'identification et l'exploitation de ces lignées ont pendant longtemps été basées sur une caractérisation morphologique peu fiable et sur les techniques de la cytogénétique classique très lourdes à mettre en œuvre. Elles bénéficient aujourd'hui des grandes avancées enregistrées dans le domaine de la biologie moléculaire à travers le développement des marqueurs de l'ADN et de la cytogénétique moléculaire. Ces progrès font de l'exploitation des lignées monosomiques d'addition une voie prometteuse pour l'amélioration génétique de la principale espèce de cotonnier cultivé.

## **2. AMELIORATION GENETIQUE DU COTONNIER CULTIVE *G. hirsutum* L. PAR HYBRIDATION INTERSPECIFIQUE**

Le recours à l'hybridation interspécifique permet d'élargir la base génétique de la principale espèce de cotonnier cultivé en augmentant les possibilités de choix dans une gamme de génotypes plus large que celle permise par l'hybridation intraspécifique qui n'exploite que la variabilité existant à l'intérieur de *G. hirsutum* (Baudoin 2001).

Suivant les principes dégagés par Harlan and De Wet (1971), Stewart (1995) répartit les ressources génétiques de la principale espèce de cotonnier cultivé, en pools géniques primaire, secondaire et tertiaire suivant la difficulté croissante à surmonter les barrières d'incompatibilité qui empêchent le transfert de matériel génétique entre espèces. Le pool génique primaire est constitué de toutes les formes cultivées, subspontanés et sauvages de *G. hirsutum* et de *G. barbadense* ainsi que des trois autres espèces tétraploïdes du genre (*G. tomentosum*, *G. mustelinum* et *G. darwinii*). Les croisements avec ces espèces sont relativement faciles et les fréquences de recombinaison sont élevées. Le pool génique secondaire comprend les espèces diploïdes de génome A, D, B et F. L'obtention d'un hybride avec ces espèces est plus difficile qu'avec le premier pool, mais une fois l'hybride obtenu, les fréquences de recombinaison observées sont élevées. Cependant comme ces espèces sont diploïdes, l'hybride est, à quelques rares exceptions, un triploïde stérile dont le stock chromosomique doit être doublé pour la production d'un hexaploïde fertile. Le pool génique tertiaire renferme toutes les autres espèces du genre *Gossypium* (espèces de génome E, C, G ou K). Ce sont les espèces dont l'utilisation pose le plus de difficultés en raison des obstacles à surmonter pour créer l'hybride et à la faiblesse des taux de recombinaison (Mergeai 1992 ; Brubaker et al. 1999a).

Les premières tentatives d'amélioration par hybridation interspécifique de la principale espèce de cotonnier cultivé ont d'abord fait appel à l'espèce tétraploïde cultivée *G. barbadense* afin de cumuler les bonnes qualités technologiques de la fibre de *G. barbadense* aux qualités agronomiques de *G. hirsutum* (Schwendiman 1978). Ces hybrides n'ont cependant que très rarement donné des résultats intéressants à cause d'un retour rapide vers le parent récurrent.

La mise au point de techniques permettant de contourner les fortes barrières d'incompatibilité existant entre l'espèce cultivée et les quarante-quatre espèces diploïdes du genre *Gossypium* ouvrent d'immenses sources potentielles de variabilité pour la principale espèce cultivée.

Trois principales voies sont utilisées pour exploiter cette source de variabilité (Mergeai 2006) : (i) une voie trispécifique (paraphylétique) qui procède par l'utilisation d'une espèce-pont de génome A ou D croisée avec l'espèce donneuse pour créer par colchipoïdisation un

allotétraploïde qui sera rétrocroisé avec l'espèce cultivée ; (ii) une voie trispécifique (pseudophylétique) au cours de laquelle l'espèce-pont est d'abord croisée avec l'espèce cultivée pour donner un triploïde dont le nombre chromosomique sera ensuite doublé pour fournir un allohexaploïde. Ce dernier sera ensuite croisé avec l'espèce donneuse pour produire un tétraploïde ; (iii) une voie bispécifique ou aphyllétique d'introgression (Figure 1) qui procède par croisement de *G. hirsutum* avec l'espèce donneuse. Le triploïde résultant est colchipoïdisé pour donner un allohexaploïde qui sera croisé avec l'espèce cultivée pour donner un pentaploïde. Des rétrocroisements avec l'espèce tétraploïde ou des autofécondations de ce pentaploïde et de ses descendants donneront des lignées monosomiques d'addition (LMA) constituées de plantes possédant en plus du jeu chromosomique normal de l'espèce cultivée un chromosome additionnel de l'espèce sauvage diploïde. Pour chaque espèce diploïde sauvage il est donc possible d'obtenir treize lignées monosomiques d'addition correspondant au nombre haploïde de chromosomes.

### **3. UTILISATION DE LA MÉTHODE DES LMA POUR L'AMÉLIORATION GÉNÉTIQUE DE *G. hirsutum***

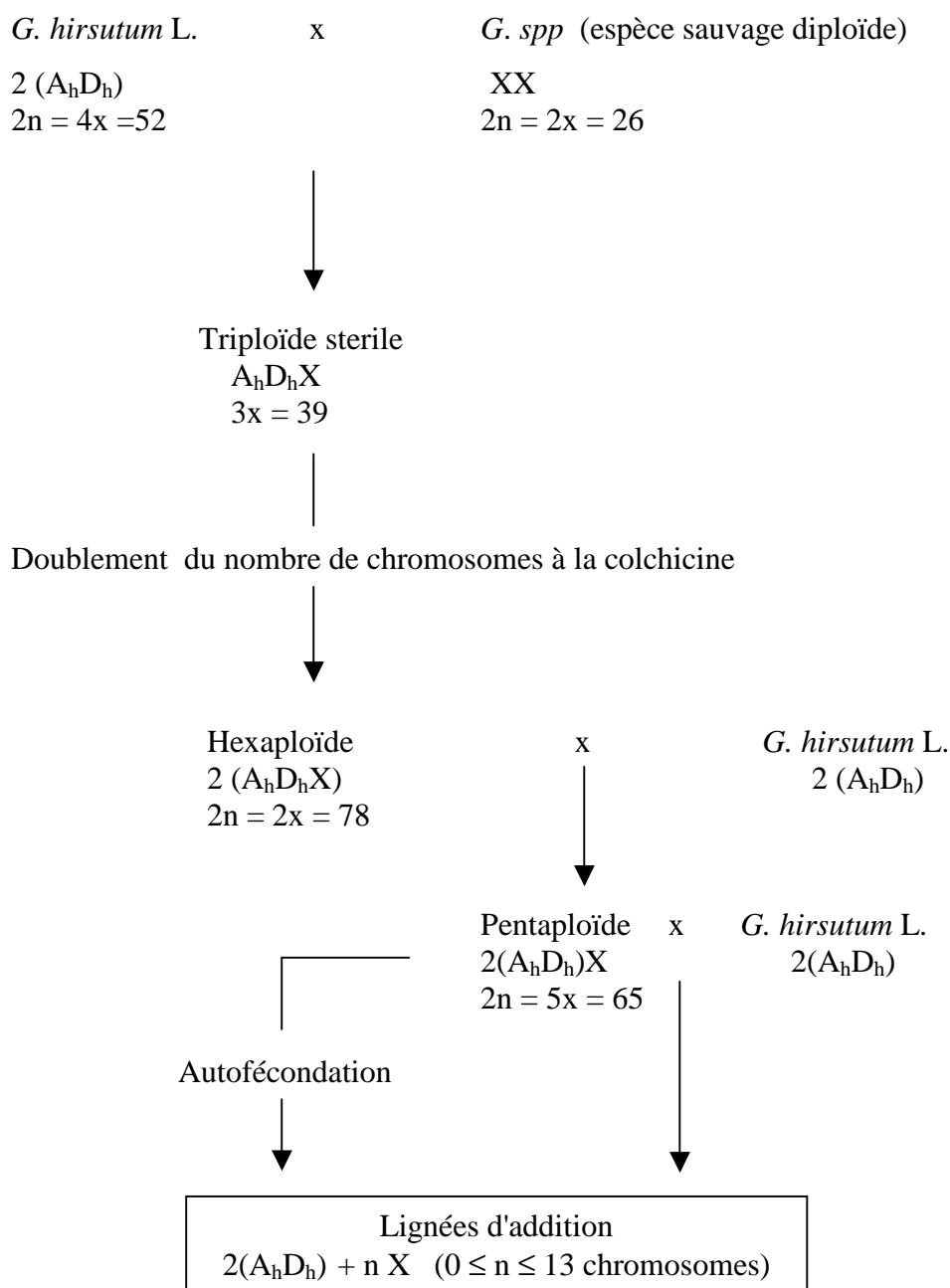
#### **3.1. Génomes diploïdes utilisables par la méthode des LMA**

L'utilisation des LMA pour l'amélioration de la principale espèce de cotonnier cultivé a d'abord concerné les espèces des génomes A, D, B et F (Baudoin 1973 ; Louant et al. 1977 ; Koto 1983) mais elle s'avère également particulièrement appropriée pour l'exploitation des espèces phylogénétiquement plus éloignées (André and Verschraege 1983 ; Rooney et al. 1991a ; Mergeai 1992 ; Brubaker et al. 1999a ; Ahoton et al. 2003). Plusieurs travaux ont déjà été menés pour étudier les possibilités d'utiliser par cette méthode les espèces diploïdes sauvages du genre *Gossypium*. Le Tableau 1 donne un résumé de ces travaux.

#### **3.2. Utilisation des LMA pour l'introgression de caractères agronomiques d'intérêt**

La voie classique d'utilisation de l'hybridation interspécifique consiste à produire par reproduction sexuée ou hybridation somatique un hybride qui est porteur de nombreux gènes indésirables et qui doit par conséquent être rétrocroisé à plusieurs reprises sur l'espèce cultivée. L'objectif d'atteindre la quasi-isogénicité des génotypes introgressés avec les variétés récurrentes de l'espèce cultivée nécessite alors un nombre très élevé de rétrocroisements pour éliminer les fragments de chromosomes indésirables provenant de l'espèce donneuse du caractère d'intérêt recherché. Du fait qu'elles ne portent qu'un seul

chromosome de l’espèce donneuse, les LMA limitent les possibilités de recombinaison à ce seul chromosome et peuvent donner des produits équilibrés après un nombre de rétrocroisements limité. La principale utilisation des LMA en amélioration génétique du cotonnier vise ainsi le transfert précis à l'espèce cultivée de gènes d'intérêt portés par un chromosome surnuméraire d'une espèce sauvage donneuse (Hau, 1981a). Il faut reconnaître cependant qu'elle n'est surtout envisageable que pour l'introgession de caractères à déterminisme génétique simple.



**Figure 1 :** Schéma de création de lignées monosomiques d’addition dans le genre *Gossypium*.

**Tableau 1 : Travaux menés pour l'exploitation des espèces sauvages diploïdes du genre *Gossypium* par la méthode des lignées monosomiques d'addition.**

Espèce diploïde sauvage	Objectifs, Résultats	Références
<i>G. anomalum</i>	Etude cytogénétique du pentaploïde et production de LMA	Deodikar (1949, 1950)
<i>Gossypium spp.</i>	Etude théorique sur l'aneuploïdie ; isole des lignées d'addition des espèces de génomes A, B, C, D et E	Brown (1965)
<i>G. stocksii</i>	Etude d'une lignée disomique d'addition	Kammacher and schwendiman (1969)
<i>G. anomalum</i>	Description de 8 lignées d'addition , Etude des taux de transmission, obtention de lignées introgressées	Poisson (1970)
<i>G. raimondii</i>	Description de 7 lignées d'addition	Baudoin (1973)
<i>G. stocksii</i>	Isolement de 6 lignées d'addition	Schwendiman (1978)
<i>G. anomalum</i> <i>G. stocksii</i>	Caractérisation morphologique et identification de lignées d'addition ; Etude des possibilités d'introgression sur plusieurs générations d'autofécondation, Etude des relations phylogénétiques	Hau (1981b ; 1982)
<i>G. areysianum</i>	Création de LMA et introgressions chez deux lignées exceptionnelles	Maréchal (1972) ; André and Verschraege (1983) ; Mergeai (1992)
<i>G. longicalyx</i>	Création et description de 13 lignées	Koto (1983)
<i>G. sturtianum</i>	Description de 4 lignées d'addition, élimination somatique du chromosome additionnel	Rooney and Stelly (1991) Rooney et al. (1991)
<i>G. australe</i> <i>G. sturtianum</i>	Production de la première génération du pentaploïde	Brubaker et al. (1999a)
<i>G. australe</i>	Création, identification et introgressions	Ahoton (2002)



### 3.3. Identification de gènes d'intérêt chez les espèces sauvages et cartographie chromosomique

Au-delà de son utilisation pour l'introgression de gènes, la production de LMA, comparable à une dissection du génome, permet de soustraire le chromosome de toutes les actions épistatiques des autres chromosomes auxquels il est naturellement confronté et d'analyser l'expression de chacun de ses gènes dans un fonds génétique homogène.

Par comparaison de LMA avec les espèces parentales, des marqueurs ou des gènes peuvent être attribués au chromosome en addition. Les marqueurs ou gènes simultanément présents chez l'espèce sauvage et chez la LMA mais absents de l'espèce cultivée sont considérés comme étant portés par le chromosome surnuméraire.

### 3.4. Intérêt phylogénétique

Il part de la théorie de Hutchinson et al., (1947) cité par Hau (1981a) sur la faible différenciation du contenu génique des chromosomes des espèces diploïdes du genre *Gossypium* et de l'hypothèse que si celle-ci est valide, la mise en parallèle des lignées d'addition d'une espèce diploïde avec celles d'une autre espèce diploïde doit montrer des ressemblances morphologiques traduisant l'homéologie existant entre les chromosomes surnuméraires. Ce qui semble être vérifié par Koto (1983) qui a observé une similitude d'action du chromosome surnuméraire entre des LMA de *G. longicalyx*, d'une part, et de *G. anomalum* et de *G. stocksii*, d'autre part, aussi bien sur des caractères qualitatifs que quantitatifs. Mergeai (1992) fait la même observation en comparant les phénotypes de deux LMA de *G. areysianum* sur *G. hirsutum* avec ceux de deux lignées impliquant respectivement un chromosome additionnel de *G. longicalyx* et un chromosome additionnel de *G. anomalum* décrites par Hau (1981b) et par Koto (1983).

Poisson (1969) propose en plus des comparaisons de phénotypes la création de disomiques complexes constitués de plantes possédant deux chromosomes supplémentaires supposés homéologues provenant de deux espèces diploïdes différentes. La confrontation de ces chromosomes dans une même plante devrait fournir, par les niveaux d'appariement observés, des résultats plus précis que lors d'une confrontation dans des garnitures chromosomiques entières. Cette méthode lui permet de trouver des relations d'homéologie entre chromosomes de *G. anomalum* et *G. stocksii*.

Les progrès récents réalisés dans le domaine de la biologie moléculaire et particulièrement dans le domaine de la cartographie génétique, permettent grâce à la transférabilité des

marqueurs développés chez l'espèce cultivée tétraploïde vers les espèces diploïdes sauvages, de mesurer le degré de syntenie et de conservation de la colinéarité entre chromosomes des sous-génomes A et D de l'espèce cultivée tétraploïde et leurs homéologues des espèces sauvages isolés sous forme de LMA.

En permettant ainsi l'étude des relations d'homéologie à l'échelle du chromosome, les LMA représentent un outil efficace pour une meilleure compréhension de l'organisation des génomes et de leurs relations dans le genre *Gossypium*.

## **4. PRODUCTION DES LMA**

### **4.1 Production du triploïde**

Presque toutes les espèces diploïdes peuvent être croisées avec l'allotétraploïde pour produire un triploïde. La plus ou moins grande difficulté à créer le triploïde dépend du pool génique auquel appartient l'espèce diploïde. Brubaker et al (1999a) travaillant sur plusieurs espèces appartenant aux 3 génomes australiens C, G et K qu'ils croisent avec *G. hirsutum* dans les deux sens montrent qu'il est plus facile d'obtenir des hybrides avec les espèces de génome C qu'avec les espèces de génome G et que celles de génome K se situent dans une situation intermédiaire entre ces deux génomes. Ils montrent en outre que l'hybride triploïde est plus difficile à obtenir lorsque l'espèce sauvage est utilisée comme parent femelle. Ce qui confirme la théorie de Beasley (1940) selon laquelle dans le genre *Gossypium* les chances de réussite dans les hybridations sont d'autant plus grandes qu'on prendra comme parent femelle la plante qui a le plus haut niveau de ploïdie. L'explication se trouverait dans le rapport de ploïdie entre l'albumen et le zygote qui serait un facteur essentiel pour le développement de ce dernier.

### **4.2 Production de l'hexaploïde et du pentaploïde**

En raison de la forte stérilité du triploïde due aux mésappariements entre chromosomes de génomes différents, le nombre chromosomique de celui-ci doit être doublé à la colchicine pour produire un hexaploïde qui, par rétrocroisement avec l'allotétraploïde donnera un pentaploïde. Même si elle exige parfois beaucoup de croisements, l'obtention de ce pentaploïde ne pose généralement pas de problèmes insurmontables (Koto 1983 ; Brubaker 1999a; Ahoton 2003). Altman et al. (1987), contrairement à d'autres auteurs (Brubaker 1999a ; Ahoton, 2003) ont cependant dû recourir au sauvetage d'embryons pour produire le pentaploïde impliquant l'espèce *G. sturtianum*. Il serait également possible d'obtenir le pentaploïde avec certaines espèces sans passer par l'hexaploïde. Il semble en effet que les

triploïdes impliquant les espèces diploïdes de génome K présentent un fort taux de gamètes non réduits. Partant de ce constat Stewart (1995) prédit l'obtention de pentaploïdes par rétrocroisement de ces triploïdes sur *G. hirsutum*. Brubaker (1999a) rapporte des travaux non publiés de Stewart dans lesquels ce dernier obtient des pentaploïdes par cette méthode.

#### 4.3 Production de la descendance de première génération du pentaploïde

La fertilité du pentaploïde autofécondé ou rétrocroisé à plusieurs reprises avec *G. hirsutum* pour produire les lignées d'addition apparaît comme la principale contrainte à l'utilisation de certaines espèces diploïdes. S'il est en effet facile pour des pentaploïdes impliquant les espèces diploïdes du pool génique secondaire comme *G. herbaceum*, *G. arboreum* et *G. anomalum* (Brown 1965 ; Poisson 1970) d'obtenir par autofécondation une assez importante descendance, la fertilité est nulle pour le pentaploïde impliquant *G. sturtianum* et très faible pour celui concernant *G. australe*, deux espèces appartenant au pool génique tertiaire (Ahoton 2002 ; Brubaker 1999). Le recours à des croisements avec l'espèce cultivée permet cependant, même pour les pentaploïdes stériles en autofécondation comme celui impliquant l'espèce *G. sturtianum*, d'obtenir une descendance plus ou moins importante selon l'espèce diploïde concernée. Le succès de ces croisements dépend en grande partie du sens du croisement. Comme pour l'obtention des triploïdes, il est généralement admis que les croisements qui donnent les meilleurs résultats correspondent à ceux au cours desquels le parent ayant le niveau de ploïdie le plus élevé est pris comme parent femelle. De ce point de vue le pentaploïde impliquant *G. australe* constitue une exception dans la mesure où toutes les études concernant cette espèce (Ahoton 2002; Brubaker 1999a) ont montré que les meilleurs résultats sont obtenus lorsque le pentaploïde est pris comme parent mâle.

Koto (1983), pour générer des LMA de *G. longicalyx* sur *G. hirsutum* obtient, en partant de plusieurs pentaploïdes des résultats irréguliers : pour certains pentaploïdes aucune descendance n'est obtenue en autofécondation tandis que pour d'autres des plantes viables sont recouvrées. Il obtient des plantes viables en croisement dans les deux sens avec presque toujours une descendance plus importante quand le pentaploïde est pris comme parent femelle plutôt que comme parent mâle. Ahoton (2003) donne la description la plus exhaustive du schéma suivi pour la production de LMA impliquant les espèces *G. australe* et *G. sturtianum*. Pour le pentaploïde impliquant la première espèce, des graines sont obtenues aussi bien en autofécondation qu'en croisement. Par contre avec le pentaploïde impliquant *G. sturtianum*, aucune descendance n'est obtenue par autofécondation alors que des graines sont produites en rétrocroisant le pentaploïde par *G. hirsutum* ; le nombre de graines obtenues quand le

pentaploïde est pris comme parent mâle étant nettement plus faible que lorsqu'il est pris comme parent femelle. Altman et al. (1987) travaillant sur l'hybride *G. hirsutum* x *G. sturtianum* ont recours au sauvetage d'embryons pour recouvrer, avec un taux de réussite de 1 %, des plantes issues du rétrocroisement du pentaploïde pris comme parent femelle.

Les produits issus du pentaploïde sont constitués en plus des plantes euploïdes caractéristiques de l'espèce cultivée, des "souches introgressées" (Louant et al. 1977) composées des plantes euploïdes présentant un phénotype distinct de celui de la variété de l'espèce cultivée impliquée dans la création de l'hybride interspécifique et d'aneuploïdes (les lignées d'addition).

#### **4.4. Origines des plantes euploïdes introgressées de la descendance du pentaploïde**

Il est établi que pour les espèces diploïdes proches de l'espèce cultivée, particulièrement celles de génome A ou D, on observe à la phase triploïde de nombreux multivalents qui témoignent, en dépit l'existence d'un facteur de diploïdisation chez l'espèce cultivée, d'échanges de matériel génétique. Ainsi Baudoin (1973) cite Kammacher qui a observé qu'à la métaphase I de la méiose du triploïde *G. hirsutum* x *G. raimondi*, la presque totalité des chromosomes de *G. raimondii* s'apparient avec ceux du génome D de *G. hirsutum*. Le nombre d'appariements observé en métaphase I tend cependant à diminuer avec l'éloignement génétique de l'espèce diploïde par rapport aux chromosomes des deux sous-génomes constitutifs du tétraploïde cultivé.

Au stade hexaploïde un nombre important d'appariements hétérogénétiques peuvent être observés, particulièrement lorsque l'espèce diploïde appartient aux génomes ancestraux ou dans une moindre mesure aux autres espèces du pool génique secondaire (Kammacher 1956 ; Maréchal 1972). Louant (1977) montre en outre que ce stade est particulièrement propice à des échanges intergénomiques lorsqu'on procède à des générations d'autofécondation, schéma qu'il a d'ailleurs préconisé comme méthode d'introgression. La preuve de l'occurrence de ces échanges est donnée par l'évolution vers la stérilité des hexaploïdes impliquant des espèces des génomes A et D maintenus en autofécondation. Cette stérilité serait le résultat de l'accumulation des échanges intergénomiques qui perturbent la méiose (Baudoin 1973).

La probabilité d'échanges intergénomiques au stade pentaploïde semble être intermédiaire entre celle observée au stade triploïde et celle notée au stade hexaploïde. Elle est d'autant plus grande que l'affinité génomique de l'espèce sauvage avec l'espèce cultivée est importante.

Pour celui qui vise à isoler des LMA, ces échanges intergénomiques, quel que soit le moment auquel ils se produisent, constituent un obstacle à l'isolement de LMA stables.

#### 4.5. Composition, fertilité et fréquence d'apparition des différents aneuploïdes dans la descendance de première génération des pentaploïdes

Très peu de travaux se sont intéressés à décrire de manière systématique la descendance de première génération des pentaploïdes. Quand ces études ont été menées, elles ont souvent porté sur un faible nombre d'individus. L'explication de cette situation est sans doute à trouver dans la lourdeur des études cytogénétiques nécessaires à mettre en œuvre. Cet obstacle a été souvent contourné en combinant l'observation des caractères morphologiques et l'évaluation de la fertilité pour inférer le génotype des différents individus.

Chez le cotonnier, la fertilité des aneuploïdes est en étroite corrélation avec le nombre de chromosomes qu'ils portent. La stérilité croît régulièrement avec le nombre de chromosomes surnuméraires. Celle-ci pourrait être expliquée par la loi de Darlington qui stipule que la stérilité découle plus d'interactions géniques entre chromosomes qu'à des problèmes de comportement méiotique (Baudoin 1973 ; Louant et al. 1977). La stérilité la plus sévère traduisant un nombre maximal d'interactions serait alors obtenue lorsque la moitié des gènes est dupliquée. Il faut toutefois noter que la stérilité ne semble pas uniquement liée au nombre de chromosomes additionnels. La spécificité du chromosome semble également jouer un rôle non négligeable (Schwendiman 1978). On peut cependant retenir que l'espèce *G. hirsutum* supporte l'addition d'un assez grand nombre de chromosomes supplémentaires. Schwendiman (1978) indique des lignées d'addition possédant de 1 à 9 chromosomes surnuméraires de *G. stocksii*, Altman et al. (1987) signalent des aneuploïdes qui comportent 10 chromosomes de *G. sturtianum*. Ahoton (2003), analysant 27 plantes de la descendance de première génération du pentaploïde impliquant *G. sturtianum* note 25 individus stériles portant tous plus d'un chromosome surnuméraire. André et Verschraege (1983) observent chez 35 plantes de la descendance de première génération de *G. areysianum* sur *G. hirsutum* une proportion variable de plantes présentant de un à 6 Chromosomes surnuméraires. Tous les travaux portant sur la production de LMA dans le genre *Gossypium* notent aussi des fréquences d'apparition très inégales entre les différentes formules caryologiques. Beccara Lopez-Lavalle et Brubaker (2007) montrent ainsi qu'au niveau de la descendance du pentaploïde *G. hirsutum* x *G. australe*, les fréquences de transmission des 13 groupes de liaison supposés correspondre aux 13 chromosomes de *G. australe* varient entre 11 et 100 % alors que dans la descendance de première génération du pentaploïde *G. hirsutum* x *G. sturtianum*, les fréquences de transmission varient entre 0 et 91 %. Des conclusions similaires peuvent être tirées des observations réalisées par Ahoton (2002) concernant le nombre d'individus au sein des

différentes classes phénotypiques isolées dans la descendance du pentaploïde *G. hirsutum* x *G. australe*. Ces effectifs, reflet du taux de transmission des chromosomes de l'espèce sauvage varient d'un seul individu à 249 pour la classe phénotypique la plus importante.

La constitution caryologique de la descendance de première génération du pentaploïde pourrait dépendre du mode d'obtention de cette descendance. Comme chez le cotonnier le gamète mâle supporte moins de chromosomes supplémentaires que le gamète femelle, on peut supposer que la descendance obtenue en prenant le pentaploïde comme parent mâle donnera des aneuploïdes avec très peu de chromosomes supplémentaires voire uniquement des LMA alors que lorsque le pentaploïde est pris comme parent femelle la descendance aneuploïde sera en majorité constituée de plurisomiques. Altman et al. (1987) obtiennent ainsi par un rétrocroisement du pentaploïde *G. hirsutum* x *G. sturtianum* au cours duquel le pentaploïde a été pris comme parent femelle des plantes portant 6 à 10 chromosomes de *G. sturtianum*. Par contre dans la descendance rétrocroisée du pentaploïde *G. hirsutum* x *G. australe* utilisé comme parent mâle, Ahoton (2003) trouve que la descendance aneuploïde du pentaploïde est essentiellement constituée de plantes monosomiques d'addition.

Dans la plupart des études impliquant des espèces diploïdes du pool génique secondaire au cours desquelles le pentaploïde est pris comme parent femelle, on remarque que la descendance est en majorité stérile ou quasi stérile témoignant ainsi de la présence de plusieurs chromosomes (Poisson 1970 ; Koto 1983 ; André et Verschraege 1983) et de la grande tolérance des gamètes femelles pour les chromosomes additionnels.

#### **4.6. Intégrité des chromosomes surnuméraires dans la descendance aneuploïde de la première génération du pentaploïde**

Jusqu'avant Ahoton et al. (2003) toutes les études concernant les LMA dans le genre *Gossypium*, ont porté sur des analyses morphologiques et/ou cytogénétiques. En utilisant des marqueurs microsatellites cartographiés distribués tout le long du chromosome, les travaux de ces chercheurs intègrent une nouvelle dimension dans l'analyse des aneuploïdes, qui, si elle n'avait pas été ignorée ou était même souvent mise en évidence restait malgré tout difficile à évaluer. Cette nouvelle dimension concerne l'intégrité des chromosomes surnuméraires dans les descendance de première génération du pentaploïde. Partant de 13 plantes possédant un chromosome surnuméraire de *G. australe* mis en évidence par analyse cytogénétique classique, les travaux d'Ahoton et al. (2003) ont permis d'identifier six LMA dont les chromosomes additionnels sont homéologues des groupes de liaison c6-c25, c12-c26, c9-c23, c10-c20, c7-c16 et c3-c17 de *Gossypium hirsutum*. Becerra Lopez-Lavalle et Brubaker (2007)

ont réalisé une étude plus exhaustive en analysant avec des marqueurs AFLP la totalité de la descendance BC1 et BC2 des pentaploïdes impliquant les espèces *G.australe* et *G.sturtianum*.

La conclusion inédite de cette étude est que, s'il existe dans la descendance du pentaploïde des plantes monosomiques et plurisomiques avec des chromosomes entiers, une grande partie des plantes non-euploïdes portent des chromosomes incomplets, fragmentés.

Nos résultats (cf. chapitre 2) portant sur une quarantaine de plantes de la descendance de première génération du pentaploïde *G. hirsutum* x *G. australe* analysées avec des marqueurs SSR cartographiés concluent dans le même sens : une assez forte proportion des plantes aneuploïdes est en réalité constituée de ce que nous appellerons des plurisomiques segmentaires ou fragmentaires. Le nouveau défi consiste à identifier sous quelle forme (libre ou recombinaison) se trouvent ces fragments de chromosomes. Dès à présent de nombreux indices concourent à laisser penser que ces fragments ne sont pas recombinaisonnés.

#### **4.7. Production de la descendance de deuxième génération du pentaploïde**

Lorsque certaines lignées ne sont pas isolées dans la première génération de la descendance du pentaploïde, il est procédé à l'autofécondation ou au croisement (selon le niveau de fertilité) des plantes plurisomiques qui contiennent ces chromosomes non encore isolés. A ce stade, la fertilité s'est parfois améliorée et la production d'une importante descendance permet d'obtenir l'isolement de nombreuses souches monosomiques d'addition.

#### **4.8. Caractéristiques des LMA des espèces diploïdes sauvages de *Gossypium* sur *G. hirsutum***

##### 4.8.1 Morphologie des LMA

Les LMA présentent une très grande variabilité morphologique mais elles ressemblent souvent davantage à l'espèce cultivée qu'à l'espèce donneuse du chromosome en addition (Ahoton 2002). Elles montrent généralement une croissance ralentie comparée à celle de l'espèce cultivée. Chez certaines lignées les variations morphologiques paraissent indépendantes du chromosome en addition et semblent plus liées à leur nature trisomique. Cette configuration trisomique et/ou la faible différenciation génomique dans le genre *Gossypium* pourraient expliquer les grandes similitudes morphologiques parfois observées entre LMA issues d'espèces diploïdes différentes (Hau 1981b ; Koto 1983 ; Mergeai 1992).

#### 4.8.2 Fertilité des LMA

Selon l'espèce diploïde, le chromosome en addition et le gamète considéré, les LMA présentent une grande variabilité quant à leur fertilité (Hau 1982 ; Mergeai 1992). On peut cependant retenir que la fertilité des LMA est généralement moindre comparée à celle des plantes euploïdes mais nettement supérieure à celle des plantes présentant plusieurs chromosomes en addition. La fertilité femelle est généralement plus élevée que la fertilité mâle.

#### 4.8.3 Caractéristiques cytologiques des LMA

Les fréquences d'appariements intergénomiques représentent une mesure importante des possibilités d'introgesser par recombinaison un gène d'intérêt de l'espèce diploïde sauvage vers l'espèce cultivée. Les observations de ces appariements sont effectuées à la métaphase I ou à la prophase.

Les plaques métaphasiques présentent l'avantage d'être plus faciles à obtenir et à observer mais présentent l'inconvénient de ne montrer qu'imparfaitement les appariements qui ont lieu aux stades antérieurs. En effet, le nombre d'appariements homéologues observés a tendance à diminuer au fur et à mesure du déroulement de la première partie de la méiose et plus rapidement lorsque les espèces sont éloignées phylogénétiquement (Endrizzi et al. 1985, Mergeai, 1992). D'où, il apparaît que les appariements visibles à un stade tardif comme la métaphase I ne traduisent que très partiellement le nombre total de recombinaisons. C'est ainsi qu'observant des centaines de plaques métaphasiques, Mergeai (1992) travaillant sur des LMA de *Gossypium areysianum* sur *G. hirsutum* n'observe aucun trivalent alors qu'il note pourtant dans la descendance de ces lignées des euploïdes manifestement introgressés. L'absence de multivalents en métaphase I ne permet donc pas de conclure à une absence d'échanges intergénomiques pendant les étapes antérieures de la méiose. Cette situation s'explique quand on sait que *G. areysianum* appartient au génome E qui fait partie du pool génique tertiaire.

D'une manière générale, à cause des différences d'homologie entre chromosomes du fond génétique et du chromosome additionnel, les taux d'appariements allosyndétiques observés quel que soit le stade méiotique sont souvent très faibles.

Etant donné les difficultés d'évaluation des appariements méiotiques, on peut, pour estimer les chances de succès de transférer un gène d'intérêt, calculer directement le taux de plantes euploïdes recombinées dans la descendance de la LMA. Bien qu'elle soit assez lourde à mettre



en oeuvre, cette solution l'est cependant moins que l'analyse cytogénétique lorsqu'on dispose d'une méthode de criblage à haut débit comme les marqueurs moléculaires.

Rooney et Stelly (1991) soulignent l'élimination somatique du chromosome surnuméraire chez une LMA de *Gossypium sturtianum* sur *G. hirsutum* et proposent l'hypothèse que l'élimination somatique du chromosome surnuméraire doit survenir à un stade précoce. Au cours de nos travaux (cf. chapitre 3) nous avons également noté le même phénomène chez une LMA de *G. australe* sur *G. hirsutum*.

#### 4.8.4 Transmission du chromosome surnuméraire par les LMA

La transmission normale du chromosome additionnel est un phénomène rare. Les facteurs susceptibles d'expliquer ce constat sont les suivants : (i) irrégularités méiotiques qui se traduisent par le rejet du chromosome additionnel suivi de son élimination lors de la formation des gamètes; (ii) manque de viabilité des gamètes aneuploïdes; (iii) plus grande compétitivité des gamètes à  $n$  chromosomes par rapport aux gamètes à  $n+1$  chromosomes; (iv) avortement des zygotes à  $2n + 1$  chromosomes; (v) manque de viabilité des plantules monosomiques d'addition (Mergeai, 1992). Plusieurs autres facteurs influencent la transmission du chromosome surnuméraire.

Selon le chromosome en addition, les LMA présentent des taux de transmission du chromosome surnuméraire différents. Rooney et Stelly (1991) trouvent parmi les 4 LMA qu'ils ont étudiées un taux de transmission moyen de 23 % pour 3 LMA et de 90 % pour la quatrième. Chez une LMA de *G. australe* sur *G. hirsutum* nous avons trouvé un taux de transmission du chromosome additionnel de 100 % (cf. chapitre 3). Ces taux très élevés pourraient s'expliquer par la présence sur ces chromosomes d'un gène distorateur de ségrégation qui entraîne la transmission préférentielle du chromosome qui le porte en rendant non-fonctionnels les gamètes qui ne le contiennent pas. Ce phénomène est assez bien connu chez les espèces du genre *Aegilops* qui portent sur certains chromosomes des facteurs gamétocides qui causent des cassures aléatoires des chromosomes et induisent des aberrations chromosomiques ( Jiang et al. 1994 ; Nasuda et al. 1998).

Chez la plupart des LMA du genre *Gossypium*, le chromosome surnuméraire est mieux transmis par le gamète femelle que par les grains de pollen. Ce qui découle du fait déjà signalé que dans le genre *Gossypium* le gamète femelle supporte mieux les chromosomes supplémentaires que le gamète mâle. Mergeai (1992) note que le taux de transmission en autofécondation dans le genre *Gossypium* est souvent plus élevé que la somme des taux de transmission mâle et femelle.

Le taux de transfert du chromosome surnuméraire dépend de son comportement méiotique qui est influencé par sa nature recombinée ou non. Les recombinaisons subies par le chromosome additionnel, en augmentant son affinité avec les chromosomes de l'espèce cultivée peuvent donc influencer sur son taux de transmission.

Hau (1982) montre que le taux de transmission évolue de manière favorable au cours des générations d'autofécondation.

## **5. IDENTIFICATION DES LMA**

### **5.1. Approches possibles pour l'identification des LMA**

L'identification des LMA est un des aspects les plus importants pour leur utilisation comme moyen de transfert de gènes des espèces sauvages aux espèces cultivées. Cette identification se situe à deux niveaux : (i) identification des plantes monosomiques d'addition et (ii) identification du chromosome en addition. Toute différence morphologique, chromosomique, physiologique ou moléculaire entre plantes peut être utilisée pour procéder à cette identification. Les techniques utilisées se distinguent par leur fiabilité, leur rapidité, le niveau de technicité requis, leur coût, etc. D'abord fondées sur l'évaluation de la morphologie des plantes, elles utilisent aujourd'hui les techniques d'hybridation et de marquage moléculaires qui permettent une identification rapide et précise.

### **5.2. Caractérisation morphologique**

C'est la méthode la plus anciennement utilisée. Elle part du principe qu'un chromosome en addition, étranger de surcroît, par sa seule présence et/ou par l'expression des gènes qu'il porte entraîne une perturbation de l'équilibre génique et/ou de nature épigénétique qui induit des désordres physiologiques se traduisant par des effets phénotypiques visibles à l'œil nu.

Souvent associée à d'autres techniques, elle a servi à l'identification de plusieurs LMA d'espèces sauvages du genre *Gossypium* sur *G. hirsutum* L. (Baudoin 1973 ; Hau 1981b; André et Verschraege 1983 ; Koto 1983 ; Ahoton 2002 ). Cependant la plupart de ces auteurs indiquent l'insuffisance de la caractérisation morphologique. En effet, si les LMA sont souvent caractérisées par une croissance ralentie, un manque de vigueur, une fertilité réduite ou par certains caractères particuliers (coloration particulière de la fibre ou des fleurs, forme des capsules, etc.), les caractères morphologiques sont souvent insuffisants pour permettre de distinguer de manière catégorique et fiable toute la série des LMA d'une espèce.

En effet, les caractères morphologiques analysés sont souvent des caractères quantitatifs donc très influencés par le milieu et la pénétrance des gènes que porte le chromosome n'est pas toujours complète. De plus, quand le fond génétique de l'espèce receveuse est un polyploïde comme l'est celui de *G. hirsutum*, il peut réprimer ou jouer un effet tampon qui empêche l'expression du chromosome surnuméraire. Les changements morphologiques ne sont également pas toujours spécifiques au chromosome en addition et seraient parfois plus liés à la configuration trisomique qu'associés à un chromosome particulier. Une ségrégation de caractères peut aussi s'observer au niveau de LMA dont la constitution a impliqué la réalisation de croisements entre plusieurs variétés et/ou accessions différentes. En outre, le chromosome surnuméraire peut subir au cours de la production de la LMA des remaniements (translocations et recombinaisons) susceptibles de modifier l'expression de ses gènes (Louant et al. 1977). A tous ces inconvénients, il faut ajouter la difficulté de procéder à un criblage précoce dans la mesure où plusieurs caractères descriptifs s'expriment à la fin du cycle de développement de la plante.

La caractérisation morphologique est efficace lorsque le chromosome en addition est stable et porte des gènes qui commandent un caractère qualitatif peu influencé par le milieu.

### **5.3. Caractérisation par la cytogénétique**

#### 5.3.1 Apports de la cytogénétique à la caractérisation des LMA

La cytogénétique est l'étude morphologique du matériel génétique organisé en chromosomes dont elle permet le dénombrement et l'identification (Jahier 1992). Utilisée dans l'identification des lignées monosomiques elle permet de s'assurer de la formule caryologique  $2n+1$ , de distinguer le chromosome en addition des chromosomes du fond génétique et de distinguer des chromosomes en addition entre eux. C'est une technique qui permet, lorsqu'elle s'adresse aux chromosomes mitotiques, un screening très précoce des lignées d'addition. Elle permet également de vérifier l'état recombiné ou en addition d'un fragment de chromosome en addition.

#### 5.3.2 Caractérisation par la cytogénétique classique

A la métaphase de la mitose et à la métaphase I méiotique, les chromosomes sont sur-enroulés et peuvent être intensément colorés avec des produits comme le réactif de Schiff, le carmin acétique, le Giemsa ou l'orcéine acétique.

La coloration simple des chromosomes permet de les compter et de reconnaître le chromosome surnuméraire lorsque : (i) pour cause de différences d'homologie entre les chromosomes du fond génétique et le chromosome additionnel, celui-ci est rejeté lors de la méiose de la plaque métaphasique, (ii) les chromosomes du fond génétique et celui du chromosome surnuméraire présentent une morphologie ou des tailles différentes.

Par contre, quand les chromosomes sont de petite taille et sont uniformément colorés, la distinction des chromosomes devient délicate et nécessite des observations à des phases méiotiques antérieures à la métaphase (pachytène, diacinèse). Ces phases présentent cependant l'inconvénient d'être plus difficiles à observer (Mergeai 1992)

L'appariement entre chromosomes dépend principalement de leur homologie. L'étude du comportement méiotique d'une LMA permet de trouver les relations homéologiques entre le chromosome étranger avec un ou plusieurs chromosomes du fond génétique. La métaphase est évidemment le stade où les chromosomes sont le plus faciles à observer parce que très contractés. Mais elle ne constitue pas le meilleur stade pour une bonne observation de ce que sont réellement les appariements. C'est au pachytène, stade pendant lequel les chromosomes sont appariés sur toute leur longueur, qu'une ressemblance ou une différence précise entre deux chromosomes d'une paire peuvent être observées (Jahier 1992). Les méthodes cytogénétiques classiques constituent dans l'identification des LMA une grande avancée par rapport à la caractérisation morphologique. Cependant, elles présentent le grand inconvénient d'être assez lourdes à mettre en oeuvre surtout lorsqu'il s'agit d'observer des chromosomes aux stades précoces de la méiose (Jahier 1992 ; Haider Ali et al. 2001).

### 5.3.3 Caractérisation par la cytogénétique moléculaire ou hybridation *in situ*

Les limites de la cytogénétique classique posent la nécessité de disposer de techniques d'identification plus précises. Les méthodes moléculaires qui s'adressent à la séquence d'ADN et permettent une coloration différentielle des chromosomes offrent cette précision. Le principe est basé sur la possibilité de rendre simple-brin les molécules d'ADN cibles et de les hybrider, suivant la loi de complémentarité des bases, avec une molécule d'ADN marquée (avec un marqueur radioactif ou chimique), également rendue monocaténaire, appelée sonde. L'hybridation *in situ* s'opère sur une coupe histologique, donnant ainsi des informations précises sur les relations homéologiques entre chromosomes et sur les remaniements d'une certaine taille. Elle permet de repérer ou de rechercher une molécule d'ADN spécifique dans une population hétérogène et de répondre à la question de la présence ou de l'absence d'un génome particulier dans une lignée d'addition ou une lignée recombinée (Tagu 1999). On

l'utilise sur des chromosomes mitotiques ou méiotiques. Le fait de travailler sur des chromosomes mitotiques en métaphase permet de localiser précisément sur des chromosomes les zones où se situent les séquences homologues de la sonde. L'hybridation *in situ* présente de nombreuses variantes selon le système de détection et le type de sonde utilisée (Ahoton 2002). Selon le système de détection on distingue l'hybridation *in situ* isotopique qui utilise des sondes radioactives et l'hybridation *in situ* à fluorescence (FISH) qui utilise des sondes marquées avec des haptènes telles que la biotine ou la digoxygénine. En fonction du type de sonde, on distingue l'hybridation génomique *in situ* (GISH) où la sonde est constituée de l'ADN total d'un parent de l'hybride et les techniques qui utilisent les séquences d'ADN répété.

Le principe de la GISH consiste à prendre comme sonde l'ADN génomique total marqué d'une des espèces (généralement l'espèce en addition) mélangé en excès avec de l'ADN non marqué de l'espèce du fond génétique (ADN compétiteur), à les digérer de sorte que la taille des fragments soit inférieure à 500 pb et à les hybrider sur la coupe histologique. L'ADN compétiteur s'hybridera alors sur toutes les séquences complémentaires communes aux deux espèces tandis que l'ADN marqué s'hybridera sur les séquences complémentaires spécifiques à l'ADN du chromosome en addition qui apparaît ainsi coloré (Ananthawat-Jonsson et al. 1990 ; Schwarzacher et al. 1992 ; Ahoton 2002).

La GISH présente de multiples avantages (Schwarzacher et al. 1992 ; Ahoton 2002) : (i) il n'est pas nécessaire de semer les plantes ni d'extraire l'ADN car le criblage peut se faire sur les cellules de graines pré-germées ; (ii) de faibles remaniements chromosomiques peuvent être détectés (iii) si les deux espèces sont très éloignées, il n'est pas nécessaire d'ajouter de l'ADN compétiteur ; (iv) il n'est pas nécessaire de connaître l'espèce du chromosome en addition pour la détecter. Il suffit juste de marquer l'ADN de l'espèce du fond génétique (ADN compétiteur). Ainsi, ce sera le chromosome en addition qui prendra la couleur de la contre-coloration. Même si elle sert surtout à établir la formule caryologique des plantes, elle peut, combinée à des analyses avec des marqueurs moléculaires, permettre d'identifier le chromosome en addition. Elle a ainsi permis à Ahoton (2002) d'identifier des chromosomes de *Gossypium australe* sur *Gossypium hirsutum*.

Les limites de la GISH sont liées au degré de parenté entre l'espèce receveuse et l'espèce donneuse : un lien de parenté étroit entre les deux espèces empêche une différenciation des deux types de chromatine.

#### 5.4 Caractérisation par les marqueurs génomiques de l'ADN

Les marqueurs génomiques plus communément appelés marqueurs moléculaires révèlent directement le polymorphisme au niveau des séquences de l'ADN. Deux principales techniques sont utilisées pour révéler ce polymorphisme. La première est basée sur l'hybridation moléculaire (RFLP) tandis que la seconde est fondée sur la PCR (RAPD, AFLP, SSR etc.) (De Vienne 1998). L'une des principales voies d'utilisation de ces marqueurs est la réalisation de cartes génétiques denses. Il existe à l'heure actuelle plusieurs cartes de l'espèce *G. hirsutum* (Reinisch et al. 1994 ; Lacape et al. 2003 ; Nguyen et al. 2004 ; Han et al. 2006 ; Jiwen et al. 2007) comportant des marqueurs RFLP, AFLP, SSR etc. Cette profusion de cartes consacrées à la principale espèce cultivée contraste cependant avec la rareté des études consacrées aux espèces diploïdes sauvages (Altaf-Khan et al. 2006). Des marqueurs spécifiques des espèces diploïdes sauvages constitueraient pourtant un instrument fiable et rapide pour déceler les recombinaisons intergénomiques dans la descendance des LMA. Brubaker et al. (2003) ont, les premiers, cartographié à partir de la F2 d'un croisement *G. australe* x *G. nelsonii* le génome G de *Gossypium* avec des marqueurs AFLP qui ont ensuite été utilisés pour cribler des lignées d'addition.

Les marqueurs cartographiés sur l'espèce *G. hirsutum* sont néanmoins utilisables pour l'identification des LMA. Cette utilisation est basée sur leur transférabilité ou portabilité à travers le genre c'est-à-dire sur la possibilité que ces marqueurs développés pour l'espèce cultivée, puissent amplifier d'autres espèces du même genre et montrer du polymorphisme (Peakall et al. 1998). Le principal intérêt de cette portabilité est de disposer de marqueurs pour les espèces sauvages sans passer par le processus long et onéreux du développement des marqueurs qui serait difficile à réaliser pour chacune des espèces diploïdes sauvages. Les travaux de Altaf-Khan et al. (2006) sont les premiers qui aient porté sur la transférabilité vers les espèces diploïdes des marqueurs SSR développés sur *G. hirsutum*. Avec un taux d'amplification croisée de 83 % et 85 % de polymorphisme entre espèces diploïdes, ils démontrent que les séquences flanquantes des microsatellites sont bien conservées entre le tétraploïde et les espèces diploïdes. Guo et al. (2006) en étudiant la transférabilité d'EST-SSR (séquences SSR dérivées de régions codantes) de l'espèce diploïde *G. arboreum* vers 23 autres espèces diploïdes appartenant à 7 génomes différents trouvent encore des taux supérieurs à ceux trouvés avec les SSR génomiques.

L'identification des LMA avec les marqueurs cartographiés se fait par criblage des individus avec des marqueurs répartis sur l'ensemble du chromosome. Toutefois dans le cas où les

marqueurs utilisés n'ont pas été cartographiés sur l'espèce diploïde en addition, Il faut tenir compte du fait qu'entre l'espèce cultivée et l'espèce sauvage, la synténie et la collinéarité des marqueurs entre les deux espèces peuvent ne pas être respectées. Ahoton et al. (2003) sont parvenus avec des marqueurs SSR cartographiés sur l'espèce tétraploïde à identifier des LMA de *G. australe* sur *G. hirsutum*. De même Becerra Lopez-Lavalle et Brubaker (2007) ont identifié des LMA de *G. australe* et de *G. sturtianum* sur *Gossypium hirsutum* avec des marqueurs AFLP.

## **6. TECHNIQUES D'EXPLOITATION DES LMA POUR L'AMÉLIORATION DU COTONNIER CULTIVÉ**

Les LMA constituent un outil de choix pour l'amélioration génétique mais ne peuvent être utilisées telles quelles pour les raisons suivantes : (i) le chromosome surnuméraire porte plusieurs caractères indésirables ; (ii) la présence du chromosome entier signifie une duplication, au niveau de la plante, de tous les gènes situés sur ce chromosome; (iii) la LMA ne peut être maintenue du fait de la ségrégation du chromosome additionnel dont le taux de transfert par reproduction sexuée ne peut excéder plus de 50% (sauf pour les cas de transmission préférentielle du chromosome additionnel); (iv) le chromosome en addition peut perdre son intégrité suite à des recombinaisons avec un chromosome homéologue ou suite à sa fragmentation.

L'exploitation des LMA du genre *Gossypium* passe, après le choix des meilleurs types d'addition, c'est-à-dire ceux présentant des caractères agronomiques intéressants, par la multiplication des générations par autofécondation d'après le schéma proposé par Baudoin (1973) (Figure 2). Le but visé est de favoriser les échanges intergénomiques. Ceux-ci dépendent principalement de la distance phylogénétique entre les deux espèces. Plus elles sont phylogénétiquement proches, plus les probabilités de recombinaison seront élevées.

Le cotonnier étant une espèce tétraploïde mais ayant le comportement d'un diploïde, cette diploïdisation limite les appariements hétérogénétiques. Le facteur à l'origine de cette diploïdisation est spécifique de l'amphidiploïde mais l'intensité de son influence serait déterminée par la spécificité des génomes des espèces diploïdes intervenant dans la constitution de l'hybride (Louant et al. 1977). Cette hypothèse renforcée par le fait que les LMA sont le siège d'échanges géniques limités et qu'elles présentent, d'après la loi de Darlington, un déséquilibre génique minimal, est à la base de l'intérêt de l'utilisation des LMA comme méthode d'introgession de caractères d'intérêt des espèces diploïdes sauvages sur la principale espèce cultivée. Mergeai (1992) a ainsi obtenu par utilisation de LMA de

*Gossypium areysianum* sur *G. hirsutum* l'introgession de gènes induisant une amélioration simultanée de la résistance et de l'allongement de rupture de la fibre, deux caractères corrélés négativement.

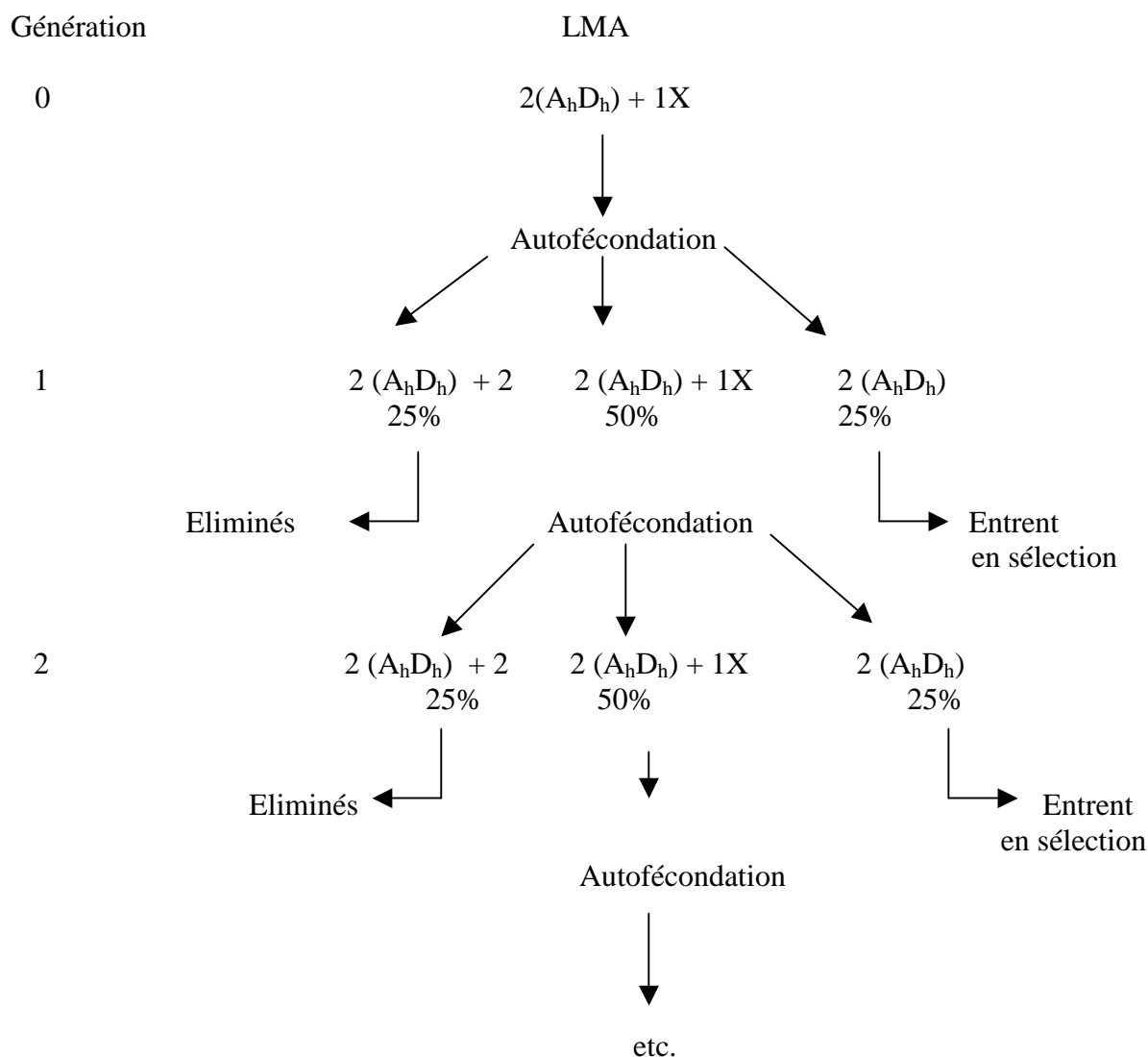


Figure 2 : Schéma d'exploitation théorique des lignées monosomiques d'addition (d'après Baudoin, 1973).

Dans la lignée de substitution un chromosome entier de l'espèce receveuse est remplacé par un chromosome de l'espèce donneuse. Pour obtenir une lignée de substitution on peut croiser une lignée monosomique d'addition avec une lignée monosomique (Koto 1983). La lignée de substitution présente l'inconvénient de perdre les gènes situés sur le chromosome de l'espèce receveuse substitué; situation qui entraîne un déséquilibre génique avec ses effets délétères.



Le chromosome substituant peut également présenter un défaut d'appariement qui induirait une certaine stérilité (Jena et al. 1990). Pour obtenir des lignées recombinées, les lignées de substitution présentent l'avantage par rapport aux LMA de montrer un taux de recombinaison plus élevé. En effet, dans les LMA la présence de deux chromosomes homologues favorise une association entre homologues plutôt qu'entre homéologues alors que dans la lignée substituée un chromosome ne trouvant plus son homologue aura plus tendance à s'apparier avec le chromosome homéologue.

## BIBLIOGRAPHIE

- Adams K. L.**, and Wendel J. F. 2005. Polyploidy and genome evolution in plants. *Curr. Opin. Plant Biology*. **8**: 135-141.
- Ahoton L.** 2002. Utilisation des espèces sauvages *Gossypium struttianum* J.H. Willis et *G. australe* F. Muell pour l'amélioration du cotonnier cultivé *G. hirsutum* L. PhD thesis. Fac. Univ. Sci. Agron. Gembloux. Belgium. 175 p.
- Ahoton L.**, Lacape J. M., Baudoin J. P., and Mergeai G. (2003). Introduction of Australian diploid cotton genetic variation into Upland Cotton. *Crop. Sci.* **43** : 1999-2005.
- Altaf-Khan M.**, Quereshi S. N., Saha S., Jenkins J. N., Brabaker C. L., and Reddy O. U. K. (2006). Usefulness of SSR derived from tetraploid *Gossypium spp.* for analyses of diploid *Gossypium spp.* *J. Crop Improv.* **16** :1-20.
- Altman D. W.**, Stelly D. M., and Kohel R. J. (1987). Introgression of the Glanded-Plant and Glandless-Seed Trait from *Gossypium sturtianum* into cultivated Upland cotton using ovule culture. *Crop. Sci.* **27**: 880-884.
- Altman D.W.**, 1988. Exogenous hormone applications at pollination for *in vitro* and *in vivo* production of cotton interspecific hybrids. *Plant Cell Reports*, **7**: 257-261.
- Anamthawat-Jonsson K.**, S. T., Leitch A. R, Bennett M. D, and Heslop-Harrison (1990). Discrimination between closely related species *Triticeae* species using genomic DNA as a probe. *Theor. Appl. Genet* **79**: 721-728.
- André B.**, and Verschraege L., (1983). Amélioration du cotonnier *Gossypium hirsutum* L. par hybridation interspécifique : utilisation de l'espèce *G. areysianum* (Delph.) Hutch. *Bull. Rech. Agron. Gembloux* **18** : 151-164.
- Bai D.**, Scoles G. J., and Knott D. R. 1994. Rust resistance in *Triticum cylindricum* Ces. (CCDD) and its transfer into durum and hexaploid wheats. *Genome*. **38**: 8-16.
- Baudoin J. P** (1973). L'aneuploïdie chez les végétaux et les possibilités d'application dans l'amélioration du cotonnier par introgression. Travaux de fin d'Etudes, Gembloux. Faculté des Sciences Agronomiques, 111p.
- Baudoin J. P.** (2001). Contribution des ressources phylogénétiques à la sélection variétale de légumineuses alimentaires tropicales. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* **5** : 221-230.
- Beasley J. O.** 1940. The production of polyploids in *Gossypium*. *J. Hered.* **31**: 39-48.
- Beasley J. O.** 1942. Meiotic chromosome behavior in species, species hybrids, haploids, and induced polyploids of *Gossypium*. *Genetics*. **27**: 25-54.
- Becerra Lopez-Lavalle L. A** and Brubaker C. L. 2007. Frequency and fidelity of alien chromosome transmission in *Gossypium* hexaploid bridging populations. *Genome*. **50**: 479-491.
- Becerra Lopez-Lavalle L. A.**, McFadden and Brubaker C. L. 2007. The effect of *Gossypium* C-genome chromosomes on resistance to fusarium wilt in allotetraploid cotton. *Theor. Appl. Genet.* **115**: 477 – 488.
- Benbouza H.**, Baudoin J.P., and Mergeai G. 2006a. Amélioration de la méthode d'extraction d'AND au CTAB appliqué aux feuilles de cotonnier. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* **10**: 73 – 76.
- Benbouza H.**, Jacquemin J.M., Baudoin J.P., and Mergeai G. 2006b. Optimization of a reliable, fast, cheap and sensitive silver staining method to detect SSR markers in polyacrylamide gels. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* **10**: 77 – 81.
- Berti F.**, Hofs J. L., Zagbaï H.S., and Lebailly P. (2006). Le coton dans le monde, place du coton africain et principaux enjeux. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* **10** : 271-280.
- Blanc G.** and Wolfe K. H. 2004. Widespread paleopolyploidy in model plant species inferred from age distributions of duplicate genes. *Plant Cell*. **16**:1667–1678.

- Brown (1965)** chromosome manipulations and plant genetics. Attributes of intra and interspecific aneuploidy in *Gossypium*. *Suppl. Heredity* **20**, 98-120.
- Brown M. S.**, and Menzel M. Y. 1952. Polygenomic hybrids in *Gossypium*. I. cytology of hexaploids, pentaploids and hexaploid combinations. *Genetics*. **37**: 242-263.
- Brubaker C. L.**, Benson C. G., Miller C., and Leach D. N. 1996. Occurrence of terpenoid aldehydes and lysigenous cavities in the glandless seeds of Australian *Gossypium* species. *Aust. J. Bot.* **44**: 601-612.
- Brubaker C. L.**, Brown A. H. D., Stewart J. McD., Kilby M. J., and Grace J. P. 1999a. Production of fertile hybrid germplasm with diploid Australian *Gossypium* species for cotton improvement. *Euphytica*. **108**: 199-213.
- Brubaker C. L.**, Paterson A. H., and Wendel J. F. 1999b. Comparative genetic mapping of allotetraploid and its diploid progenitors. *Genome*. **42**: 184-203.
- Brubaker C. L.** and Brown A. H. D. 2003. The use of multiple alien chromosome addition aneuploids facilitates genetic linkage mapping of the *Gossypium* G genome. *Genome* **46**: 774-791.
- Cameron D. R.** and Moav R. 1957. Inheritance in *Nicotiana tabacum*. XXVII. Pollen killer, an alien genetic locus inducing abortion of microspores not carrying it. *Genetics*. **42**: 326-335.
- Chen B. Y.**, Cheng B. F., Jorgensen R. B., and Heneen W. K. 1997. Production and cytogenetics of *Brassica campestris -alboglabra* chromosome addition lines. *Theor. Appl. Genet.* **94**: 633-640.
- Chen P. D.**, Tsujimoto H., and Gill B. S. 1994. Transfer of genes promoting homeologous pairing from *Triticum speltoides* to common wheat. *Theor. Appl. Genet.* **88**: 97-101.
- Chetelat R. T.**, Rick C. M., Cisneros P., Alpert K. B., and DeVerna J. W. 1998. Identification, transmission and cytological behavior of *Solanum lycopersicoides* Dun. monosomic alien addition lines in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Genome*. **41**: 40-50.
- Da silva F.P.**, Endrizzi J. E., Stith L. S., and Muramoto H. 1975. Chromosome pairing in triploid F1 and hexaploid F1, F2 and F3 generations of *Gossypium hirsutum* L. x *G. sturtianum* Willis. *Crop. Sci.* **15**: 872-873.
- De Vienne D.**, (1998). Les marqueurs moléculaires en génétique et biotechnologies végétales. 2e éd. Paris : INRA.
- Deodikar (1949)** Cytogenetic studies on crosses of *Gossypium anomalum* with cultivated cottons I. *Indian J. agric. Sci.* **19**: 389-399.
- Deodikar (1950)** Cytogenetic studies on crosses of *Gossypium anomalum* with cultivated cottons II. *Indian J. agric. Sci.* **20**: 399.
- Desai A.**, Chee P. W., Rong J., May O. L., and Paterson A. H. 2006. Chromosome structural changes in diploid and tetraploid genomes of *Gossypium*. *Genome*. **49**: 336-345.
- Devos K. M.** 2005. Updating the crop circle. *Curr. Opin. Plant Biology*. **8**:155-162.
- Dhaliwal H. S.**, Friebe B., Gill. K. S., and Gill B. S. 1990. Cytogenetic identification of *Aegilops squarrosa* chromosome additions in durum wheat. *Theor. Appl. Genet.* **79**: 769-774.
- D'hont A.**, Rao P. S., Feldman P., Grivet L., Islam-Faridi., Taylor P., and Glaszmann J. C. 1995. Identification and characterization of sugarcane intergeneric hybrids, *Saccharum officinarum* x *Erianthus arundinaceus*, with molecular markers and DNA in situ hybridisation. *Theor. Appl. Genet.* **91**: 320-326.
- Eberl D. F.**, Duyf J. B., and Hilliker J. A. 1993. The role of heterochromatin in the expression of a heterochromatic gene, the rolled locus of *Drosophila melanogaster*. *Genetics*. **134**: 277-292.
- Endrizzi J.E.**, Turcotte E.L., and Kohel R.J. (1985) Genetics, cytology, and evolution of *Gossypium*. *Adv Agron.* **23**:271–375.

- Fedak G.** 1999. Molecular aids for integration of alien chromatin through wide crosses. *Genome*. **42**: 584-591.
- Friebe B., Qi L. L., Nasuda S., Zhang P., Tuleen N. A., and Gill B. S.** 2000. Development of a complete set of *Triticum aestivum*-*Aegilops speltoides* chromosome addition lines. *Theor. Appl. Genet.* **101**: 51-58.
- Gao D., and Jung C.** 2002. Monosomic addition lines of *Beta corolliflora* in sugar beet : plant morphology and leaf spot resistance. *Plant Breeding*. **121**: 81-86.
- Gao D., Guo D., and Jung C.** 2001. Monosomic addition lines of *Beta corolliflora* Zoss in sugar beet : cytological and molecular-analysis. *Theor. Appl. Genet.* **103**: 240-247.
- Gao D., and Jung C.** 2002. Monosomic addition lines of *Beta corolliflora* in sugar beet : plant morphology and leaf spot resistance. *Plant Breeding* **121**: 81-86.
- Garriga-Cald  r   F.** 1998. Introgression of tomato chromosomes into the potato genome : an analysis through molecular marker and in situ hybridisation techniques. Ph-D Thesis, Wageningen.
- Gernand D., Rutten T., Varshney A., Rubtsova M., Prodanovic S., Br    C., Kumlehn J., Matzk F., and Houben A.** 2005. Uniparental chromosome elimination at mitosis and interphase in Wheat and Pearl Millet crosses involves micronucleus formation, progressive heterochromatinization, and DNA fragmentation. *Plant Cell*. **17**: 2431–2438.
- Guangxun T., Huajun J., Gang L., Ruifeng H., Lili Z., and Guangcun H.** 2005. Production and characterization of a complete set of individual chromosome additions from *Oryza officinalis* to *Oryza sativa* using RFLP and GISH analyzes. *Theor. Appl. Genet.* **111**: 1585-1595.
- Guo W., Wang W., Zhou B., and Zhang T.** 2006. Cross-species transferability of *G. arboreum*-derived EST-SSRs in the diploid species of *Gossypium*. *Theor. Appl. Genet.* **112**: 1573–1581.
- Gupta S. B** 1968. The unstable behavior of a chromosomal fragment of *Nicotiana plumbaginifolia* responsible for chlorophyll variegation in *N. tabacum*. *Genetics*. **59**: 453-463.
- Gupta S. B and Gupta B.** 1973. Selective somatic elimination of *Nicotiana glutinosa* chromosomes in the F1 hybrids of *N. suaveolens* and *N. glutinosa*. *Genetics*. **73**: 605-612.
- Guyomarc'h. H., Sourdille P., Charmet G., Edwards J., and Bernard M.** 2002. Characterization of polymorphic microsatellite markers from *Aegilops tauschii* and transferability to the D-genome of bread wheat. *Theor. Appl. Genet.* **104**:1164–1172.
- Haider Ali S. N., Ramana M. S., Jacobsen E., and Visser R. G. F.** (2001). Establishment of a complete series of a monosomic tomato chromosome addition lines in the cultivated potato using RFLP and GISH analyses. *Theor. Appl. Genet* **103**: 687-695.
- Han Z, Wang C, Song X, Guo W, Gou J, Li C, Chen X, and Zhang T.** (2006) Characteristics, development and mapping of *Gossypium hirsutum* derived EST-SSRs in allotetraploid cotton: **112** : 430-439 *Theor. Appl. Genet.*
- Harlan J. R. and De Wet J. M. J.** (1971). Towards a rational classification of cultivated plants. *Taxon*. **20** : 509-517.
- Hau B.** (1981a). Lignées d'addition sur *Gossypium hirsutum* L. I. Utilisation de l'hybridation interspécifique et de la méthode des lignées d'addition pour l'amélioration du cotonnier. *Cot. Fib. Trop.* **26**: 247-258.
- Hau, B.** (1981b). Lignées d'addition sur *Gossypium hirsutum* L. II. Description phénotypique de quelques lignées d'addition monosomiques de *Gossypium anomalum* et de *Gossypium stocksii*. *Cot. Fib. Trop.* **36**: 285-295.
- Hau B.** (1982). Lignées d'addition sur l'espèce *G. hirsutum* L. III. Evolution d'une collection de lignées d'addition de *G. anomalum* et de *G. stocksii* sur *G. hirsutum* après plusieurs générations d'autofécondation. *Cot. Fib.Trop.* **37**: 163-177.

- Heneen** W. K., and Jorgensen R. B. 2001. Cytology, RAPD, and seed colour of progeny plants from *Brassica rapa-alboglabra* aneuploids and development of monosomic addition lines. *Genome*. **44**: 1007-1021.
- Hutchinson** J. B., Silow R. A., and Stephens S. C. (1947). The evolution of *Gossypium*. Oxford : Univ. Press London. 160 pp.
- Iqbal** M. J., Aziz N., Saeed N. A., Zafar Y., and Malik K. A. 1997. Genetic diversity evaluation of some elite cotton varieties by RAPD analysis. *Theor. Appl. Genet.* **94** : 139-144.
- Islam** A. K. M. R., Shepherd K. W., and Sparrow D. H. B. 1981. Isolation and characterization of euplasmic wheat-barley chromosome addition lines. *Heredity*. **46**:161-174.
- Jahier** J. (1992). Techniques de cytogénétique végétale. Paris : INRA.
- Jena** K. K., and Khush S. G., (1989). Monosomic alien addition lines of rice : production, morphology, cytology and breeding behavior. *Genome* **32**: 449-455.
- Jiang** C., Wright R. J., El-Zik K., and Paterson A. H. 1998. Polyploid formation created unique avenues for response to selection in *Gossypium* (cotton). *Proc Natl. Acad. Sci. USA*. **95**: 4419-4424.
- Jiang** J., and Gill B. S. 2006. Current status and the future of fluorescence in situ hybridization (FISH) in plant genome research. *Genome*. **49**: 1057-1068.
- Jiang** J., Friebe B., and Gill B. S. 1994. Recent advances in alien gene transfer in wheat. *Euphytica*. **73**:199-212.
- Jiwen** Y., Shuxun Y. , Cairui L., Wu W, Shuli F., Meizhen S., Zhongxu L., Xianlong Z., and Jinfu Z. (2007). High-density Linkage Map of Cultivated Allotetraploid Cotton Based on SSR, TRAP, SRAP and AFLP Markers. *J. Integr. Plant Biol.* **49** : 716-724.
- Kammacher** P. 1956 Les possibilités actuelles d'application de l'hybridation interspécifique à l'amélioration du cotonnier en milieu africain. *Cot. Fib. Trop.* **11**: 101-136.
- Kammacher** P., and Schwendiman J. 1969. Addition au génome de l'espèce de cotonnier *Gossypium hirsutum* de deux chromosomes de l'espèce sauvage *G. stocksii*. *Can. J. Genet. Cytol.* **11**: 169-183.
- Kaneko** Y., Natsuaki T., Bang S. W., and Matsuzawa Y. 1996. Identification and evaluation of Turnip Mosaic Virus (TuMV) resistance gene in kale monosomic addition lines of radish. *Breeding science*. **46**: 117-124.
- Kato** A., Vega J. M., Han F., Lamb J. C. and Birchler J. A. 2005. Advances in plant chromosome identification and cytogenetic techniques. *Curr. Opin. Plant Biology*. **8**: 148-154.
- Koba** T, Handa T., and Shimada T. 1991. Efficient production of wheat-barley hybrids and preferential elimination of barley chromosomes. *Theor. Appl. Genet.* **81**: 285-292.
- Koto** E. (1983). Tentative d'utilisation de l'espèce sauvage diploïde *G. longicalyx* pour l'amélioration de l'espèce cultivée tétraploïde *G. hirsutum* L. par la méthode des lignées d'addition et de substitution. Thèse de doctorat. Université d'Orsay, 91p.
- Kynast** R.G., Riera-Lizarazu O., Vales M.I., Okagaki R.J., Maquieira S.B., Chen G., Ananiev E.V., Odland W.E., Russell C.D., Stec A.O., Livingston S.M., Zaia H.A., Rines H.W., and Phillips R.L. 2001. A complete set of maize individual chromosome additions to the oat genome. *Plant Physiol.* **125**:1216-27.
- Lacape**, J. M., Nguyen T. B., Thibivilliers S., Courtois B., Bojinov B.M. , Cantrell R.G., Burr B., and Hau B. (2003). A combined RFLP-SSR-AFLP map of tetraploid cotton based on a *Gossypium hirsutum* x *Gossypium barbadense* backcross population. *Genome* **46**: 612-626.
- Lapitan** N. L. V., Sears R. G., and Gill B. S. 1984. Translocations and other karyotypic structural changes in wheat x rye hybrids regenerated from tissue culture. *Theor. Appl. Genet.* **68**: 547-554.
- Laurie** D. A. and Bennett M. D. 1989. The timing of chromosome elimination in hexaploid wheat × maize crosses. *Genome*. **32**: 953–961.

- Liu S.**, Cantrell R. G., McCarty Jr. J. C., and Stewart J. McD. 2000 Simple sequence repeat-based assessment of genetic diversity in cotton race stock accessions. *Crop Sci.* **40**: 1459 – 1469.
- Louant B. P.**, Maréchal R., and Baudoin J. P. (1977). Les facteurs agissant sur les transferts de matériel génétique chez les hybrides bispécifiques. Principes utiles aux sélectionneurs et perspectives dérivant de l'étude des croisements interspécifiques dans le genre *Gossypium*. *Cot. Fib. Trop.* **32**: 39-57.
- Maan S.S.** 1975 Exclusive preferential transmission of an alien chromosome in common wheat. *Crop. Sci.* **15**: 287-292.
- Maguire M. P.** 1963. High transmission frequency of a *Tripsacum* chromosome in corn. *Genetics.* **48**: 1185-1194.
- Marechal (1972)** Comportement méiotique chez l'hybride *Gossypium hirsutum* L. x *Gossypium areysianum* (DEF). HUTCH. aux niveaux triploïde, hexaploïde et pentaploïde. *Cot. Fib.Trop.* **27**: 205-211.
- Masoudi-Nedjad A.**, Nasuda S., Bihoreau M. T., Waugh R., and Endo T. R. 2005. An alternative to radiation hybrid mapping for large-scale genome analysis in barley. *Mol. Gen. Genomics.* **274**: 589-594.
- Masoudi-Nedjad A.**, Nasuda S., McIntosh R. A., and Endo T. R. 2002. Transfer of rye chromosome segments to wheat by a gametocidal system. *Chrom. Res.***10**: 349-357.
- McClintock B.** 1941. The stability of Broken ends of chromosomes in *Zea mays*. *Genetics.* **26**: 234-282.
- McClintock B.** 1950. The origin and behavior of mutable loci in maize. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **36**: 344-355.
- McFadden H.**, Beasley D., and Brubaker C. L. 2004. Assessment of *Gossypium sturtianum* as potential sources of Fusarium wilt resistance. *Euphytica.* **138**: 61-72.
- Menzel M. Y.** 1952. Polygenomic hybrids in *Gossypium*. III. Somatic reduction in a phenotypically-altered branch of a three-species hexaploid. *Amer. Jour. Bot.* **39**: 625-633.
- Menzel, M.Y.** and Brown, M.S. 1954. The significance of multivalent formation in three-species *Gossypium* hybrids. *Genetics.* **39**: 546–557.
- Menzel, M.Y.**, and Brown, M.S. 1952. Viable deficiency-duplications from a translocation in *Gossypium hirsutum*. *Genetics.* **37**: 678–692.
- Mergeai G.** 1992. Utilisation du cotonnier sauvage *Gossypium areysianum* (Defl.) Hutch. Pour l'amélioration de l'espèce cultivée *Gossypium hirsutum* L. Thèse de doctorat. Faculté des Sciences Agronomiques. Gembloux. 168 p.
- Mergeai G.** 2006 Introgressions interspécifiques chez le cotonnier. *Cah. Agric.* **15**: 135-143.
- Mergeai G.**, Noel J.M., Louwagie J., and Baudoin J. P. 1993. Utilisation du cotonnier sauvage *Gossypium areysianum* pour l'amélioration de l'espèce cultivée *G. hirsutum* : description de deux nouvelles lignées d'addition monosomiques. *Cot. Fib. Trop.* **49**:231-251.
- Miller T. E** , Hutchinson J., and Chapman V. 1982. Investigation of a preferentially transmitted *Aegilops sharonensis* chromosome in wheat. *Theor. Appl. Genet.* **61**: 27-33.
- Moore R. C.** and Purugganan M. D. 2005. The evolutionary dynamics of duplicate genes. *Curr.Opin. Plant Biology.* **8**: 122-128.
- N'Guessan O. K.**, Baudoin J. P., D'Hont A., and Mergeai G. Classical and molecular cytogenetics of *Gossypium*. In : Genetics and Genomics of Cotton. Paterson, Andrew H. (Ed.). Springer, New York, USA, 2008, 500 p
- Nasuda S.**, Friebe B., and Gill B. S. 1998. Gametocidal genes induce chromosome breakage in the interphase prior to the first mitotic cell division of the male gametophyte in wheat. *Genetics* **149**: 1115-1124.

- Nguyen T. B.**, Giband M., Brottier P., Risterucci A.M., and Lacape J.M. 2004. Wide Coverage of the tetraploid cotton genome using newly developed microsatellite markers. *Theor. Appl. Genet.* **109** : 167-75.
- Peakall R.**, Gilmore S., Keys W., Morgante M., and Rafalski A. 1998. Cross-species amplification of soybean (*Glycine max*) simple sequence repeats within the genus and other legume genera : Implications for the transferability of SSRs in plants. *Mol. Biol. Evol.* **15**: 1275-1287.
- Pedersen C.**, and Linde-Laursen I. 1995. The relationship between physical and genetic distances at the *Hor1* and *Hor2* loci of barley estimated by two-colour fluorescent in situ hybridization. *Theor. Appl. Genet.* **91**: 941-946.
- Poisson C.** 1970. Contribution à l'étude de l'hybridation interspécifique dans le genre *Gossypium* : transfert de matériel génétique de l'espèce diploïde sauvage *G. anomalum* à l'espèce cultivée *G. hirsutum*. Thèse Doct. Université d'Orsay, 76 p.
- Poisson C.**, Schwendiman J., and Kammacher P. 1969. Mise en évidence d'une homéologie chromosomique entre *Gossypium anomalum* Wav. et Peyr. Et *G. stocksii*. *C. R. Acad. Sc. Paris.* **268** : 1597-1599.
- Potz H.**, Schubert V., Houben A., Schubert I., and Weber W. E. 1996. Aneuploids as a key for new molecular cloning strategies: development of DNA markers by microdissection using *Triticum aestivum*-*Aegilops markgrafii* chromosome addition line. *Euphytica.* **89**: 41-47.
- Reinisch A. J.**, Dong J. M., Brubaker C. L., Stelly D. M., Wendel J. F., Paterson A. H. 1994 A detailed RFLP map of cotton, *Gossypium hirsutum* x *Gossypium barbadense* : chromosome organization and evolution in a disomic polyploid genome. *Genetics.* **138**: 829-847.
- Rhoades M. M.** 1940. Studies of a telocentric chromosome in maize with reference to the stability of its centromere. *Genetics.* **25**: 483-520.
- Rhoades M. M.** 1942. Preferential segregation in maize. *Genetics.* **27**: 395-407.
- Riera-Lizarazu O.**, Rines H. W., Philips R. P. 1996. Cytological and molecular characterization of oat x maize partial hybrids. *Theor. Appl. Genet.* **93**: 123-135.
- Rong J.**, Abbey C., Bowers J. E., Brubaker C. L., Chang C., Chee P. W., Delmonte T. A., Ding X., Garza J. J., Marler B. S., Park C., Pierce G. J., Rainey K. M., Rastogi V. K., Schulze S. R., Trolinder N. L., Wendel, J. F., Wilkins T. A., Williams-Coplin T. D., Wing R. A., Wright R. J., Zhao X., Zhu L., Paterson A. H., 2004. A 3347-locus genetic recombination map of sequence-tagged sites reveals features of genome organization, transmission and evolution of cotton (*Gossypium*). *Genetics.* **166**: 389-417.
- Rooney W. L.**, Stelly D. M., and Altman D. W. 1991a. Identification of four *Gossypium sturtianum* monosomic alien addition derivatives from a backcrossing program with *G. hirsutum*. *Crop Sci.* **31**: 337-341.
- Rooney W. L.** and Stelly D. M. 1991b. Preferential transmission and somatic elimination of a *Gossypium sturtianum* chromosome chromosome in *G. hirsutum*. *Crop Sci.* **82**: 151-155.
- Schwarzacher T.**, Ananthawat-Jonsson. K., Harrison G. E., Islam A. K. M. R., Jia J. Z., King I. P., Leitch A. R., Miller T. E., Reader S. M., Rogers W. J., Shi M., and Heslop-Harrison J. S. (1992). Genomic in situ hybridisation to identify alien chromosomes and chromosome segments in wheat. *Theor. Appl. Genet.* **84**: 778-786.
- Schwendiman** (1978) L'amélioration du cotonnier *Gossypium hirsutum* par hybridation interspécifique : utilisation des espèces *G. barbadense* et *G. stocksii*. Thèse de Doctorat. Université d'Orsay, 164 p.
- Sears E. R** 1993. Use of radiation to transfer alien chromosome segments to wheat. *Crop. Sci.* **33**: 897-901.
- Shi F.** and Endo T. R. 2000. Genetic induction of chromosomal rearrangements in barley chromosome 7H added to common wheat. *Chromosoma.* **109**:358-363.

- Stewart J.M.** 1995. Potential for crop improvement with exotic germplasm and genetic engineering. p. 313-337. In G.A. Constable and N.W. Forrester (ed.) Challenging the future. Proc. World Cotton Res. Conf.- 1, Brisbane, Australia. 14-17 Feb. 1994. CSIRO, Narrabri, NSW, Australia.
- Suen D. F., Wang. C. K., Lin R. F., Kao Y. Y., Lee F. M., and Chen C. C.** 1997. Assignment of DNA markers to *Nicotiana sylvestris* chromosomes using monosomic alien addition lines. *Theor. Appl. Genet.* **94**: 331-337.
- Tagu D.** (1999). Principes des techniques de biologie moléculaire. Paris : INRA.
- Tatineni V, Cantrell R. G., and Davis D. D.** 1996. Genetic diversity in elite cotton germplasm determined by morphological characteristics and RAPDs. *Crop Sci.* **36**: 186 – 192.
- Tsujimoto H., Usami N., Hasegawa K., Yamada T., Nagaki K., and Sasakuma T.** 1999. De novo synthesis of telomere sequences at the healed breakpoints of wheat deletion chromosomes. *Mol. Gen. Genet.* **262**: 851-856.
- Van Esbroeck G., and Bowman D. T.** 1998. Cotton germplasm diversity and its importance to cultivar development. *The Journal of Cotton Science.* **2**: 121-129.
- Vroh Bi I., Baudoin J. P., Hau B., and Mergeai G.** 1999. Development of high-gossypol cotton plants with low-gossypol seeds using tri-species bridge crosses and in vitro culture of seed embryos. *Euphytica.* **106**: 243-251.
- Walters M. S.** 1950. Spontaneous breakage and reunion of meiotic chromosomes in the hybrid *Bromus trinii x B. maritimus*. *Genetics.* **35**: 11-37
- Wang K., Song X, Han Z., Guo W., Yu J. Z., Pan J. S. J., Kohel R. J., and Zhang T.** 2006. Complete assignment of the chromosomes of *Gossypium hirsutum* L. by translocation and fluorescence *in situ* hybridization mapping. *Theor. Appl. Genet.* **113**: 73-80.
- Wendel J. F., Brubaker C. L., and Percival A. E.** 1992. Genetic diversity in *Gossypium hirsutum* and the origin of Upland cotton. *Amer. J. Bot.* **79**: 1291 – 1310.
- Wendel, J. F., and Cronn R. C.,** (2003) Polyploidy and the evolutionary history of cotton. *Adv. in Agron.* **78**: 139-186.
- Zagbaï H. S., Berti F., and Lebailly P.**(2006). Impact de la dynamique cotonnière sur le développement rural. Etude de cas de la région de Korhogo, au Nord et au centre de la Côte-d'Ivoire. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* **10** : 325-334.



