

**Potentiel d'amélioration de la finesse de la fibre du
cotonnier cultivé (*Gossypium hirsutum* L.) par
exploitation de lignées monosomiques d'addition de
cotonnier sauvage (*Gossypium longicalyx* Hutch. &
Lee).**

Nafissatou Lalaïssa Nacoulima



Promoteurs : Dr Ludivine Lassois

COMMUNAUTE FRANCAISE DE BELGIQUE
UNIVERSITE DE LIEGE-GEMBLOUX AGRO-BIO TECH

**Potentiel d'amélioration de la finesse de la fibre du
cotonnier cultivé (*Gossypium hirsutum* L.) par
exploitation lignées monosomiques d'addition de
cotonnier sauvage (*Gossypium longicalyx* Hutch. &
Lee).**

Nafissatou Lalaïssa Nacoulima

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

Promoteur: Dr Ludivine Lassois

2026

Copyright. Aux termes de la loi belge du 30 juin 1994, sur le droit d'auteur et les droits voisins, seul l'auteur a le droit de reproduire partiellement ou complètement cet ouvrage de quelque façon et forme que ce soit ou d'en autoriser la reproduction partielle ou complète de quelque manière et sous quelque forme que ce soit. Toute photocopie ou reproduction sous autre forme est donc faite en violation de la dite loi et des modifications ultérieures.

A mon père,
Kéoulé Nacoulima

Résumé

NACOUIMA N. L. (2025). Potentiel d'amélioration de la finesse de la fibre du cotonnier cultivé (*Gossypium hirsutum* L.) par exploitation de lignées monosomiques d'addition de cotonnier sauvage (*Gossypium longicalyx* Hutch. Lee). Thèse de Doctorat. (Belgique): Gembloux Agro-Biotech.

La qualité de la fibre du cotonnier cultivé *G. hirsutum* doit être continuellement améliorée en raison de son importance économique majeure. La finesse de la fibre est désormais considérée, avec la longueur et la maturité, comme le principal composant de la qualité de la fibre de cotonnier. La finesse de la fibre, directement liée au diamètre des fibres influence la vitesse de la filature, la résistance, l'uniformité, la brillance, le toucher du fil et la productivité de la filature.

L'espèce cultivée *Gossypium hirsutum*, bien qu'elle fournisse près de 95 % de la production mondiale, présente une diversité génétique étroite en raison d'une domestication ancienne focalisée principalement sur le rendement et la résistance aux contraintes biotiques. En revanche, les espèces sauvages de *Gossypium*, notamment *G. longicalyx*, constitue un réservoir important de gènes d'intérêt. Leur intégration dans le cotonnier cultivé *G. hirsutum* reste toutefois complexe en raison de barrières d'incompatibilité qui existent entre ces espèces. Le schéma de création de lignées monosomiques d'addition (LMA) se présentent comme une voie efficace pour surmonter ces barrières et transférer des gènes d'intérêt.

Afin d'évaluer le potentiel d'utilisation des lignées monosomiques d'addition (LMA) de *G. longicalyx* sur *G. hirsutum* dans un programme d'amélioration de la finesse de la fibre de la principale espèce cultivée de cotonnier, les descendances de dix LMA de *G. longicalyx* sur *G. hirsutum* fournies par la banque de gènes du CIRAD (France) ont été semées en vue de caractériser morphologiquement, cytogénétiquement et moléculairement les plantes porteuses d'un chromosome surnuméraire de l'espèce diploïde.

La nature monosomique d'addition de quatre des lignées étudiées a été confirmée. L'analyse des configurations chromosomiques en métaphase 1 de la méiose a mis en évidence la présence de multivalents impliquant les chromosomes surnuméraires de *G. longicalyx*, indice de l'occurrence de recombinaisons importantes entre ceux-ci et ceux de *G. hirsutum*. Ce taux élevé de recombinaison a été confirmé au moyen de marqueurs microsatellites par la mise en évidence d'introgressions multiples de fragments d'ADN provenant de plusieurs chromosomes de l'espèce diploïde. La finesse de la fibre des LMA et de leurs espèces parentales a été estimée par mesure de la largeur du ruban de leurs fibres.

Cette étude atteste que le génome de l'espèce sauvage *G. longicalyx* permet de réduire drastiquement la finesse de la fibre dans le fond génétique de *G. hirsutum*.

Les plantes euploïdes identifiées constituent un matériel d'étude important pour l'introgression de caractères de finesse chez *G. hirsutum*.

Mots clés : Cotonnier, *Gossypium hirsutum*, Lignées monosomiques d'addition, *G. longicalyx*, finesse, fibre

Abstract

NACOULIMA N. L. (2025). Potential for improving the fineness of cultivated cotton fiber (*Gossypium hirsutum* L.) by exploiting monosomic alien addition lines of wild cotton (*Gossypium longicalyx* Hutch. Lee). Philosophiae Doctor (Ph. D.) Thesis. Belgium: Gembloux Agro-Biotech.

The cotton fiber quality has to be continually improved because of its large economic importance. Among all fiber properties, fineness is now considered with length and maturity as the main component of cotton fiber quality

The cultivated species *Gossypium hirsutum*, although it accounts for nearly 95% of global production, has limited genetic diversity due to a historical genetic bottleneck and ancient domestication focused mainly on yield and resistance to biotic stresses.

In contrast, wild species of *Gossypium*, particularly *G. longicalyx*, constitute an important reservoir of genes of interest. However, their integration into the cultivated cotton plant *G. hirsutum* remains complex due to incompatibility barriers between these species. The creation of monosomic alien addition lines (MAAL) appears to be an effective way to overcome these barriers and transfer genes of interest.

In order to assess the potential of using monosomic alien addition lines (MAALs) of *G. longicalyx* in *G. hirsutum* within an interspecific breeding program aimed at improving the fiber fineness of cultivated cotton, the progenies of ten MAALs provided by the CIRAD gene bank (France) were planted with the objective of characterizing them morphologically, cytologically, and molecularly.

This study confirmed the monosomic addition nature of four of the lines. Analysis of chromosomal configurations at metaphase I of meiosis revealed multivalent associations involving the extra chromosomes from *G. longicalyx*, indicating extensive recombination between these chromosomes and those of *G. hirsutum*. This high rate of recombination was further confirmed using microsatellite markers, which revealed multiple introgressions of *G. longicalyx* DNA into the recipient species. The MAALs and their parental species were also evaluated for fiber fineness based on ribbon width measurements.

The results demonstrated that the genome of *G. longicalyx* when associated with the genetic background of *G. hirsutum*, significantly reduced fiber fineness. The euploid plants developed in this study constitute valuable genetic material for introgressing fiber fineness traits into *G. hirsutum*.

Key words: Cotton, *Gossypium hirsutum*, Monosomic alien addition line, *G. longicalyx* fineness, fiber

Remerciements

Interrompue puis reprise, cette thèse s'est écrite en plusieurs souffles : ceux de l'effort, du doute, de l'apprentissage, de la lassitude parfois, puis du renouveau. Un parcours non linéaire, mais profondément formateur et jalonné de rencontres précieuses.

À la mémoire du Professeur Guy Mergeai, véritable architecte de ce travail, j'adresse une gratitude toute particulière. Je lui suis profondément reconnaissante de m'avoir accueillie dans son laboratoire. Pour son encadrement, sa disponibilité, sa rigueur et son exigence du travail bien fait, je lui dis merci. Son rire puissant et communicatif emplissait toujours l'espace et savait arracher un sourire même aux plus agélastes.

J'exprime également ma reconnaissance au Professeur Jean-Pierre Baudoin, chef de l'Unité de Phytotechnie Tropicale et d'Horticulture, pour m'avoir acceptée au sein de son unité.

Ma gratitude va aussi au Docteur J.-M. Jacquemin du Centre de Recherche Agronomique de Gembloux (CRA), ainsi qu'au Professeur André Toussaint, pour leurs remarques et suggestions à l'occasion des différentes présentations de l'avancement de mes travaux.

Je remercie très sincèrement l'ensemble du personnel de l'Unité de Phytotechnie Tropicale et d'Horticulture, en particulier le Dr Ir. Benbouza, Luc Bolyn, Didier Leurquin et Valérie Jaumin, pour leur bienveillance et leur disponibilité.

Un chaleureux merci au Dr Olivier Konan pour son soutien constant, sa disponibilité, les formations en cytogénétique classique et moléculaire, son aide pour le repotage des plantes (les lombrics me terrifiaient), ainsi que pour ses précieux conseils.

La réalisation de ce doctorat a été rendue possible en partie grâce à une bourse des autorités du Burkina-Faso, je les remercie pour le soutien financier.

Je tiens à exprimer mes vifs remerciements aux membres du jury :
– au Professeur Yves Beckers, pour avoir accepté d'en assurer la présidence ;
– au Dr Adrien Blum, au Dr Yordan Muhovski et au Dr Caroline De Clerck, pour leur participation au comité de thèse et leur présence au sein du jury ;
– au Professeur Nicolas Gengler, pour avoir accepté la charge de secrétaire du jury.

Je remercie tout particulièrement le Professeur Patrick du Jardin, qui a accepté à deux reprises de m'accompagner dans ce travail doctoral.

Vos remarques éclairées, vos conseils et vos encouragements à tous ont permis d'enrichir ce manuscrit, dont la portée scientifique demeure pleinement actuelle.

Mon inexprimable gratitude va au Dr Ludivine Lassois, ma promotrice. Cette thèse n'aurait jamais pu aboutir sans elle, sans son soutien indéfectible, son humanité, sa gentillesse, sa disponibilité, ainsi que sa rigueur et son sens aigu du travail bien accompli. Merci.

Je remercie également toutes celles et ceux dont les encouragements ont rendu possible l'achèvement de ce travail :

Binta Diouf et Khady Ba, mes sœurs sénégalaises. Ma mère Euphémie, mon père Kéoulé, ma sœur André Michèle Liliane : mes joies et mes peines ont toujours été vôtres, votre soutien constant ne m'a jamais quittée.

Je suis reconnaissante à toute ma famille: à mon oncle Djibril Konaté et son épouse Marie-Claude pour m'avoir accueillie et traitée comme leur fille, à ma tante Léa pour ses nombreux encouragements, à mes frères et soeurs Aziz, Kader et Marlène, à Eric mon époux pour toutes ces années, ainsi qu'à mes enfants Félicia, Yohan et Evan etc. Vous avez toujours été présents. Merci du fond du cœur.

Une page se tourne, une nouvelle s'ouvre. Chaque fin porte déjà la promesse d'un chemin qui recommence autrement.

Table des matières

Chapitre 1	3
INTRODUCTION GENERALE.....	5
1. Importance de la culture cotonnière	7
2. Contraintes pesant sur la production cotonnière	8
3. La fibre de cotonnier	10
4. Qualité de la fibre de cotonnier	13
5. Finesse des fibres	15
6. Amélioration génétique de la finesse du cotonnier cultivé	21
7. Stratégies d'hybridation interspécifique.....	24
8. Les lignées monosomiques d'addition (LMA).....	27
9. Méthodes d'identification et de suivi des LMA.....	30
10. Sélection assistée par marqueurs moléculaires	31
11. La transcriptomique et la protéomique	39
12. La transgénèse.....	40
13. La mutagénèse	41
Chapitre 2	43
Objectifs	44
Chapitre 3	46
Introduction of East African diploid cotton genetic variation into Upland cotton ..	48
1. Résumé.....	50
2. Abstract	50
3. . Introduction.....	51
4. Materials and Methods.....	52
5. Results.....	55
6. Discussion	68
Chapitre 4	70

Production of new cotton interspecific hybrids with improved fiber fineness.....	72
1. Résumé.....	74
2. Abstract.....	74
3. Introduction.....	74
4. Material and Methods	76
5. Results and Discussion.....	79
Chapitre 5	95
Discussion générale.....	97
1. Production des LMA.....	97
2. Caractéristiques phénotypiques des LMA.....	97
3. Cytologie des LMA.....	98
4. Possibilités de recombinaison entre <i>G. longicalyx</i> et <i>G. hirsutum</i>	99
5. Déterminisme génétique de la finesse de la fibre.....	100
Chapitre 6	102
Conclusion générale et perspectives.....	104
1. Conclusion.....	104
2. Perspectives.....	105
Bibliographie	107

Liste des figures

Figure 1. <i>Helicoverpa armigera</i>	8
Figure 2. Diagramme général de la structure d'une fibre de cotonnier	11
Figure 3. Le cotonnier <i>Gossypim hirsutum</i>	23
Figure 4. Schéma de création d'un hybride trispécifique par la méthode pseudophylétique d'introgression	25
Figure 5. Schéma de création d'un hybride trispécifique par la méthode paraphylétique d'introgression	26
Figure 6. Schéma de création d'un hybride bispécifique par la méthode aphylétique d'introgression	27
Figure 7. Schéma d'obtention des LMA par le Cirad	45
Figure 8. Scheme of the aphyletic method	53
Figure 9. Morphology of the monosomic alien addition lines.....	59
Figure 10. Chromosomal configuration at the somatic metaphase.....	61
Figure 11. Meiotic metaphase plates	62
Figure 12. SSR electrophoresis profile of the primer BNL4030 showing allele of <i>G. longicalyx</i> present in the MAAL progeny.....	67
Figure 13. Scheme of the aphyletic method	77
Figure 14. Scheme of the pseudophyletic method.....	78
Figure 15. RW distribution of some MAALs	85

Liste des tableaux

Tableau 1. Importance des caractères technologiques de la fibre en fonction de la technique de filature-	15
Tableau 2. Inventaire de QTL influençant la finesse de la fibre	35
Table 3. MAALs seed germination and plant development	56
Table 4. MAALs morphological traits.....	58
Table 5. Frequency of chromosome number in the MAAL progenies	60
Table 6. Mean meiotic chromosome configurations in bispecific hybrids of <i>Gossypium</i>	63
Table 7. Segregation of SSR polymorphic loci in the alien addition lines	66
Table 8. Seed germination and number of seedlings of plants	80
Table 9. Skewness and Kurtosis values of MAALs and their parental species	84
Table 10. Skewness and Kurtosis value of HTL plants and their parental species	86
Table 11. Average RW (μm) of the fibers of the MAALs and their parental species	87
Table 12. Average RW (μm) of the fibers of the HTL progenies and parental species	91

Liste des abréviations

ADN	Acide Désoxyribonucléique
AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism
ARN	Acide Ribonucléique
BAC	Bacterial Artificial chromosome
BIL	Backcross Inbred Lines
BNL	Brookhaven National Laboratory
CIR	CIRAD: Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique
CSSL	Chromosome Segment Substitution Line
PMC	Pollen Mother Cell :cellules-mères de polle
DAPI	4',6'-diamidino-2-phénylindole
FAO	Food and Agriculture Organization
EST	Expressed Sequence Tags
GxE	Génotype x Environnement
GISH	Genomic <i>in situ</i> Hybridization
GWAS	Genome-Wide Association Study
HTL	(<i>G. hirsutum</i> x <i>G. thurberi</i>) ² x <i>G. longicalyx</i>
ISSR	Inter Simple Sequence Repeat
LMA	Lignée Monosomique d'Addition
MAAL	Monosomic Alien Addition Lines
PCR	Réaction en chaîne par polymérase
QTL	Locus à effets quantitatifs (Quantitative Trait <i>Loci</i>)
RAPD	Random-Amplified Polmorphism DNA
REMAP	Retrotransposon-Microsatellite Amplified Polymorphism
RIL	Recombinant Inbred Lines
RFLP	Polymorphisme de Longueur des Fragments de Restriction
RW	Ribbon Widht
SCAR	Sequence Characterized Amplified Region
SDS	Sodium Dodecyl Sulfate
SNP	Single-Nucleotide Polymorphism
SRAP	Sequence-Related Amplified Polymorphism
SSR	Simple Sequence Repeats
STS	Sequence-Tagged Site
TBE	Tris, Borate, EDTA
YACs	Yeast Artificial Chromosomes

Chapitre 1

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

Objectifs du chapitre

Le cotonnier est une plante industrielle de première importance, jouant un rôle majeur dans l'économie mondiale. Il constitue l'une des cultures agricoles les plus répandues en Afrique, en Asie et en Amérique, où sa production génère des millions d'emplois. Au-delà de son statut de matière première agricole essentielle, la fibre de cotonnier est un véritable moteur économique influençant l'emploi, les échanges commerciaux et, de plus en plus, les enjeux de durabilité. Représentant plus de 80 % de la valeur du coton-graine, la fibre doit sa valeur marchande à ses caractéristiques technologiques, qui déterminent sa qualité et son prix sur le marché.

Parmi ces caractéristiques, la finesse de la fibre occupe une place centrale. Directement liée au diamètre de la fibre, elle influence des propriétés clés telles que la douceur, la légèreté, la souplesse et la respirabilité des textiles. Des fibres plus fines permettent l'obtention de tissus plus soyeux, plus agréables au toucher, mais aussi plus résistants, ce qui en fait un critère fondamental dans les programmes d'amélioration variétale.

Ce chapitre a pour objectif de :

- présenter la fibre de cotonnier, sa morphologie et les principales étapes de son développement ;
- définir la qualité de la fibre de cotonnier et souligner l'importance du caractère technologique qu'est la finesse ;
- mettre en lumière le potentiel que représentent les espèces du genre *Gossypium* pour l'introgession de gènes d'intérêt visant l'amélioration de la finesse chez l'espèce cultivée *G. hirsutum*.

Le contenu de ce chapitre s'appuie notamment sur la publication suivante : Nacoulima N., Mergeai G. (2014). *Étude des possibilités d'amélioration de la finesse de la fibre de coton. Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 18(4).



Étude des possibilités d'amélioration de la finesse de la fibre de coton (synthèse bibliographique)

Nafissatou Lalaïssa Nacoulima, Guy Mergeai

Université de Liège - Gembloux Agro-Bio Tech. Unité de Phytotechnie tropicale et Horticulture. 2, Passage des Déportés.
B-5030 Gembloux (Belgique). E-mail : nacoulima@gmail.com

Reçu le 27 janvier 2014, accepté le 8 septembre 2014.

1. Importance de la culture cotonnière

Le cotonnier est une plante industrielle d'une importance économique et sociale majeure. Grâce à sa fibre cellulosique, il constitue la première source mondiale de textile végétal (Bachelier & Gourlot, 2021). Ses graines, une fois dégossypolisées, fournissent des protéines et une huile comestible, offrant des débouchés variés dans les industries textile, alimentaire et cosmétique. Néanmoins, c'est avant tout pour sa fibre que le cotonnier est cultivé : celle-ci représente la principale valeur économique de la plante et reste la raison première de son implantation sur tous les continents. Ses propriétés naturelles – douceur, respirabilité, résistance et biodégradabilité – en font la fibre végétale la plus utilisée par l'industrie textile, ce qui explique qu'elle capte à elle seule la majorité des revenus tirés de la culture du coton, loin devant les usages secondaires liés aux graines. La valeur économique du coton provient très largement de la fibre, qui représente environ 85 % du revenu global de la culture, tandis que les sous-produits comme les graines n'en contribuent qu'à environ 15 % (Wu *et al.*, 2022). Chaque année, la production mondiale de fibre atteint près de 25 millions de tonnes, contre environ 15 millions de tonnes de graines, ces dernières étant surtout valorisées pour l'huile et les tourteaux destinés à l'alimentation animale (Wu *et al.*, 2022).

Les principaux pays exportateurs de coton sont la Chine, l'Inde, les États-Unis, le Pakistan et le Brésil, qui assurent ensemble près de 70 % des exportations mondiales grâce à une production intensive, mécanisée et souvent irriguée. À l'inverse, la production en Afrique subsaharienne repose principalement sur des exploitations familiales de petite taille, conduites en culture pluviale et récoltées manuellement ; ces pays représentent environ 15 % des exportations mondiales. En Europe, la production cotonnière reste marginale, avec une part inférieure à 0,2 % de la valeur agricole totale. Les principaux pays producteurs sont la Grèce, l'Espagne et la Bulgarie, qui ne représentent ensemble qu'environ 1 % de la production mondiale (OCDE/FAO, 2024).

Malgré ces disparités régionales, la culture du coton demeure cruciale pour les zones productrices. Elle mobilise un large éventail d'acteurs : producteurs, organisations professionnelles, industries de transformation (égrenage, filature, tissage, teinture, confection, trituration), fournisseurs d'intrants et de matériel agricole, acteurs du transport et de la commercialisation, et services de recherche agronomique. En 2022, on estimait que, rien qu'en tenant compte des activités directement liées à la culture, au transport, à l'égrenage et au stockage, entre 150 et 190 millions de personnes dans le monde travaillaient dans le secteur du coton, générant une production évaluée à près de 46 milliards USD (FAO, 2022). Ces chiffres soulignent le poids socio-économique considérable de cette filière à l'échelle mondiale.

2. Contraintes pesant sur la production cotonnière

La culture du coton est confrontée à de multiples contraintes qui limitent la productivité et affectent la qualité de la fibre. Ces contraintes peuvent être regroupées en deux grandes catégories : les contraintes biotiques, liées aux organismes nuisibles et maladies, et les contraintes abiotiques, qui incluent à la fois les facteurs environnementaux défavorables et l'impact croissant du changement climatique. Enfin, des contraintes d'ordre économique telles que la concurrence des fibres chimiques, pèsent également sur cette filière stratégique.

2.1. Contraintes biotiques

La production de coton-graine est fortement affectée par de nombreux bioagresseurs : adventices, champignons, bactéries, virus, nématodes phytopathogènes, ainsi que divers insectes et acariens (Kiobia *et al.*, 2023 ; Silvie & Papierok, 2025). Ces organismes nuisibles sont responsables d'importantes pertes de rendement et altèrent la qualité de la fibre.

Certains ravageurs, comme le ver de la capsule *Helicoverpa armigera* (Figure 1), ont une distribution géographique très large. Ce lépidoptère, présent en Afrique, Europe, Asie, Australie et Amérique du Sud, est à l'origine de dommages considérables sur les cultures, notamment au Brésil. D'autres agents biotiques ont une importance régionale : aux États-Unis, on note la présence d'insectes comme *Pseudatomoscelis seriatus*, de bactéries phytopathogènes telles que *Xanthomonas citri* pv. *Malvacearum* et *Verticillium dahliae*, et d'adventices problématiques telles que *Kochia scoparia* ou *Amaranthus palmeri*.

En Afrique, les chenilles du genre *Diparopsis*, *Helicoverpa* et *Thaumatotibia* sont particulièrement nuisibles. Elles provoquent la chute des boutons floraux et des jeunes capsules et dégradent les fibres des capsules matures. S'y ajoutent les pucerons (*Aphis gossypii* Glover), les aleurodes (*Bemisia tabaci* Gennadius), les jassides (*Empoasca* spp.) et les punaises (*Dysdercus* spp.), qui affaiblissent la plante, provoquent l'abscission des organes reproducteurs et transmettent diverses maladies.



Figure 1. *Helicoverpa armigera*

(Source/ Silvie JP. 2011. Ravageurs et ennemis naturels rencontrés sur le coton- IRD/ CIRAD).

Les pertes dues aux ravageurs sont estimées en moyenne à 47,96 % dans les cultures conventionnelles et à 15,5 % dans les cultures transgéniques en Afrique de l'Ouest, (PR-PICA, 2013).

Pour limiter ces pertes, la lutte chimique reste le principal moyen de protection. Cependant, ce recours massif aux pesticides présente des limites et des effets indésirables : apparition de résistances chez les ravageurs, risques pour la santé humaine et effets néfastes sur les écosystèmes (Barzman *et al.*, 2015). Aux États-Unis, où l'utilisation d'intrants est particulièrement intensive et l'épandage aérien courant, les pertes dues aux bioagresseurs s'élevaient encore à 5,4 % de la production de coton-graine en 2024 (USDA, 2024).

2.2. Contraintes abiotiques

Les contraintes abiotiques regroupent les conditions environnementales défavorables susceptibles de perturber le développement des plants et la qualité de la production. Ces contraintes incluent principalement la disponibilité en eau, les températures extrêmes, la salinité des sols et les déséquilibres en éléments minéraux.

2.2.1. Facteurs abiotiques directs

La sécheresse ou le stress hydrique, de même qu'un excès d'eau lié aux inondations, perturbent profondément la croissance et la physiologie du cotonnier. La chaleur excessive, le froid ou encore le gel affectent également son développement. Ces conditions défavorables ont des conséquences directes sur les processus morphologiques, physiologiques et biochimiques de la plante, avec pour résultat une baisse significative du rendement en coton-graine et une dégradation de la qualité des fibres (Snowden *et al.*, 2014; Liu *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2014; Gull *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2021). Ainsi, il a été démontré qu'un déficit hydrique important entre le 45^e et le 75^e jour après la levée des plants entraîne une réduction de 56 % du rendement (Gnofam *et al.*, 2014).

2.2.2. Effets du changement climatique

À ces contraintes environnementales s'ajoute une menace majeure : le changement climatique. Ce phénomène, par les perturbations qu'il induit sur la température, les précipitations et la teneur atmosphérique en CO₂, a des effets profonds sur la culture du coton. L'impact se traduit déjà par une diminution sensible des rendements (Diouf *et al.*, 2017) et par l'émergence de nouveaux bioagresseurs, tel qu'un nouveau jasside (*Amrasca biguttula*) observé en Afrique (CIRAD, 2023).

Pour répondre à ces défis, des leviers d'adaptation existent. Parmi les stratégies proposées figurent : une gestion durable des sols et de la matière organique afin d'améliorer la rétention d'eau et la disponibilité en nutriments ; l'adoption de pratiques agroécologiques visant à préserver la biodiversité fonctionnelle et donc à mieux réguler les ravageurs ; et enfin, le développement de variétés tolérantes aux conditions climatiques défavorables, sélectionnées pour leur précocité, leur adaptabilité et leur résistance à la sécheresse (Bachelier *et al.*, 2018).

2.3. Concurrence des fibres chimiques

En plus des contraintes biotiques et abiotiques, la filière cotonnière doit faire face à une concurrence croissante des fibres chimiques. Alors qu'au début du XX^e siècle le coton dominait largement le marché mondial des fibres textiles, sa part n'était plus que de 21,8 % en 2023, les fibres chimiques (polyester, viscose, etc.) représentant désormais 78 % de la consommation mondiale (OCDE/FAO, 2024). Les fibres chimiques sont privilégiées pour leur coût plus faible, leur meilleure résistance au froissage et leur durabilité. Ces atouts, combinés aux tendances de la « fast fashion », ont favorisé leur adoption par l'industrie textile au détriment des fibres naturelles. Dans ce contexte, les acteurs de la filière coton doivent sans cesse travailler à l'amélioration des caractéristiques de la fibre afin de répondre aux exigences techniques et esthétiques des consommateurs et maintenir la compétitivité du coton (Islam *et al.*, 2016 ; Shang *et al.*, 2016 ; Ayubov *et al.*, 2018).

Toutefois, les fibres naturelles, et notamment celles issues du coton, conservent des atouts importants. Leur confort, leur douceur et leur capacité à absorber l'humidité offrent une respirabilité supérieure aux fibres chimiques. De plus, leur biodégradabilité et leur origine renouvelable répondent à une demande croissante pour des textiles plus respectueux de l'environnement. Ces caractéristiques, associées à une bonne capacité de teinture et à l'absence d'électricité statique, maintiennent l'attrait du coton sur le marché, à condition d'améliorer continuellement la fibre.

3. La fibre de cotonnier

3.1. Morphologie de la fibre

Ce qui est appelé fibre chez le cotonnier est un poil unicellulaire présentant l'aspect d'un ruban vrillé dont la longueur peut dépasser 3 cm. La fibre a une section variant de 10 µm à 30 µm (Roehrich, 1947). Large à sa base, la fibre présente une forme effilée vers son extrémité. La coupe transversale d'une fibre montre une structure en plusieurs couches (Figure 2). De l'extérieur vers l'intérieur, la fibre est formée d'une cuticule constituée de cires recouvrant une paroi primaire mince ou paroi d'étirement composée de pectine, de cellulose, de phosphatides et de lipides disposés en bandes. A cette paroi primaire fait suite une paroi secondaire plus épaisse formée de trois couches de cellulose disposées en spirale. La paroi secondaire est composée de lamelles de 0,25 µm d'épaisseur décomposées en fibrilles. Ces fibrilles sont réparties en microfibrilles de 80 à 150 Å d'épaisseur et 0,25 µm de longueur. Le centre de la fibre est constitué du cytoplasme renfermant les constituants cellulaires. Au cours de la maturation de la fibre, le cytoplasme se résorbe et laisse un canal : le lumen.

3.2. Développement de la fibre

La fibre de cotonnier constitue une cellule unique hautement spécialisée, issue l'expansion des cellules épidermiques de la graine de cotonnier (Roehrich, 1947). Il existe deux types de fibres de coton : des fibres moyennes et longues utilisées pour la filature et des fibres courtes. Les fibres moyennes et longues appelées soies ou lint

peuvent dépasser 30 mm de longueur. Les fibres courtes, appelées duvet ou linter, font, par définition, moins de ½ pouces (soit 1,27 cm) de longueur (Lang, 1938).

Le développement s'étend sur environ cinquante à soixante jours après la fécondation et se subdivise en 4 grandes phases qui se chevauchent: l'initiation, l'élongation, et la synthèse de la paroi secondaire, auxquelles s'ajoute la phase terminale de maturation (Guo *et al.*, 2003 ; Kim, 2015; Kim, 2018). Chacune de ces étapes est régie par des processus cellulaires, physiologiques et hormonaux distincts, qui conditionnent au final les caractères technologiques de la fibre.

Le développement des fibres de « lint » est amorcé dès l'ouverture de la fleur tandis que le développement des fibres de « linter » commence 5 à 10 jours après l'anthèse.

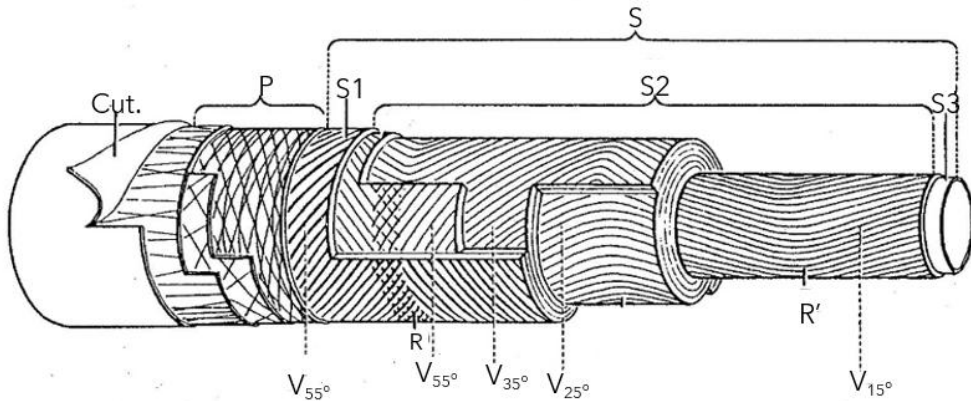


Figure 2. Diagramme général de la structure d'une fibre de cotonnier

Waterkeyn (1985). (cut. = cuticule; P = paroi primaire; SI, S2, S3 = parois secondaires; R, R' Retournements) – General diagram of cotton fiber structure (Waterkeyn, 1985) (cut. = cuticle; P = primary wall; SI, S2, S3 = secondary wall; R, R' Reversa

La première phase de développement est l'initiation ; elle commence un jour avant l'anthèse, d'abord du côté de la chalaze, puis elle se poursuit vers le micropyle (Butterworth *et al.*, 2009). Elle se caractérise par le gonflement et l'expansion sphérique de quelques cellules épidermiques de la membrane de la graine sous l'effet combiné de signaux hormonaux et de cascades de régulation transcriptionnelle. En s'allongeant les cellules forment un tube cylindrique au-dessus de la surface épidermique. Les fibres initiées se développent de façon isodiamétrique à partir de la surface de l'épiderme et s'allongent de façon anisotrope, elles sont visibles 24 heures après la pollinisation. Elles subissent un affinement de leurs extrémités entre 1-2 jours après l'anthèse (Graham et Haigler, 2021). A l'initiation succède une phase

d'élongation des cellules qui commence généralement le jour de l'anthèse et dure 25 jours (Applequist *et al.*, 2001; Haigler *et al.*, 2012; Kim, 2018; Graham & Haigler, 2021). Cette étape est déterminée par des facteurs génétiques et environnementaux. A ce stade, la fibre n'est formée que d'une fine cuticule entourant une paroi primaire qui contient le reste de la cellule composée d'une vacuole et d'une paroi cytoplasmique (Seagull et Alpspaugh, 2001). La paroi primaire alors mince s'épaissit au cours de cette phase. La fibre qui a une grande activité métabolique fait face à un important besoin en nutriments et en eau. Elle grandit de 1000 à 3000 fois son diamètre au cours de l'élongation. C'est la pression de turgescence qui conduit l'expansion des cellules, en longueur et en diamètre, laquelle est limitée par l'extensibilité de la paroi primaire. La pression de turgescence est modifiée par le potentiel osmotique qui est déterminé par les concentrations en malate et en K⁺.

La longueur finale de la fibre, caractère majeur, se détermine principalement durant cette étape. La longueur moyenne des fibres varie en fonction de leur position sur la graine : elle décroît lorsqu'on passe de la chalaze vers le micropyle. Les fibres situées au niveau de la chalaze ont un plus large diamètre que les fibres de la région micropylaire (Davidonis et Hinojosa, 1994).

La troisième phase de développement est la phase d'épaississement de la fibre, elle correspond à la formation de la paroi secondaire. Elle débute entre le 15^{ème} et le 20^{ème} jour après l'anthèse et se poursuit 40 voire 50 jours après l'anthèse (Guo *et al.*, 2003, Haigler *et al.*, 2012; Kim, 2018). Au cours de cette étape, des microfibrilles de cellulose se disposent de façon hélicoïdale sur la paroi primaire (Haigler *et al.*, 2009; Tuttle *et al.*, 2015). Ces dépôts de couches pecto-cellulosiques se produisent avec des inversions de l'angle de dépôt. L'orientation des microfibrilles de cellulose est déterminée par l'orientation des microtubules dans le cytosquelette des cellules (Haigler, 2010). D'abord disposés de façon aléatoire lors de l'initiation, les microfibrilles s'orientent en cerceaux parallèles. La synthèse des microfibrilles des couches les plus basales commence autour de la circonférence de la fibre lors de son allongement. En même temps que se dépose la cellulose, le cytoplasme et la vacuole disparaissent peu à peu. Selon Haigler (2010), les microtubules seraient importants dans le contrôle du périmètre de la fibre. Les microtubules contribuent à restreindre l'expansion des fibres probablement à cause de leur impact sur l'orientation des microfibrilles de cellulose. Seagull *et al.*, (2000) ont rapporté que la fibre de cotonnier se développe par croissance diffuse. La majorité des cellules qui présente ce type de croissance se développe en longueur et en diamètre. Chez les cellules à croissance diffuse, la production de la paroi secondaire marque la fin de la croissance cellulaire. La paroi secondaire des cellules végétales renferme habituellement en plus des constituants de la paroi primaire des insertions de lignine. La lignine est le constituant qui donne à la paroi secondaire sa rigidité. La paroi secondaire des fibres de coton formée essentiellement de cellulose ne contient pas de lignine (Kim et Tripplet, 2001). L'absence de lignine dans la paroi de la fibre lui confère sa flexibilité et lui permet de croître à la fois en diamètre et en longueur. En cela, la fibre de cotonnier est un système unique car l'augmentation du diamètre continue pendant sa phase d'épaississement qui correspond à la synthèse de la paroi secondaire (Seagull *et al.*, 2007). Le diamètre de la fibre n'est pas fixe et maximal à la fin de la phase d'initiation comme cela a été longtemps admis mais il évolue tout au long des trois premières phases de son

développement. Les travaux de Seagull *et al.*, (2000) sur 4 variétés de cotonnier (*G. hirsutum* MD51ne, *G. hirsutum* DP50, *G. hirsutum* DP90, et *G. barbadense*) l'étaient. Ces auteurs ont rapporté à partir de l'analyse du diamètre et de la biréfringence de la paroi que le diamètre augmente avec la croissance de la fibre et le développement de la paroi secondaire. Le diamètre croît jusqu'à 30 jours après l'anthèse pour les 4 génotypes analysés et cette augmentation se poursuit au-delà de 40 jours après l'anthèse pour *G. hirsutum* DP90 et *G. barbadense*.

A la phase d'épaississement fait suite la dernière étape de développement de la fibre : la maturation. Elle est déclenchée par l'ouverture des capsules entre 45 à 60 jours après l'anthèse. Elle est dominée par un processus de dessiccation progressive, lié à l'assèchement de la capsule et de l'environnement immédiat de la graine. Les fibres cylindriques exposées à l'air et au soleil se déshydratent, s'affaissent et se tordent pour donner des structures vrillées caractéristiques. Cette torsion typique du coton est essentielle à la filabilité des fibres. (Constable *et al.*, 2015; Tuttle *et al.*, 2015). Parallèlement, des pigments naturels confèrent à la fibre sa teinte crème ou légèrement jaunâtre. Lorsque la capsule arrive à maturité et s'ouvre, les fibres sont prêtes à la récolte.

Des fibres issues d'un même génotype peuvent présenter des finesses différentes, cette variation dépendrait des conditions de croissance, de la position de la capsule, de la position de la graine dans la capsule et de position de la fibre sur la graine (Davidonis et Hinojosa, 1994). Les fibres situées au niveau de la chalaze auraient un plus large diamètre que les fibres de la région micropylaire.

Chacune des phases du développement de la fibre contribue de manière spécifique et déterminante à la qualité finale des fibres de cotonnier. La qualité, loin d'être un paramètre isolé, reflète donc la somme intégrée de processus cellulaires successifs, eux-mêmes sensibles aux déterminants génétiques et environnementaux.

4. Qualité de la fibre de cotonnier

La fibre de cotonnier est un produit stratégique qui représente près de 85 % de la valeur économique du coton-graine (Liu *et al.*, 2012). La qualité de cette fibre, déterminée par ses caractéristiques technologiques, est un facteur clé dans la fixation des prix sur le marché international. Historiquement, ces prix étaient établis principalement en fonction de la longueur, de la couleur et du grade de propreté des fibres : les lots présentant des fibres longues et régulières étaient primés, tandis que les lots de qualité inférieure étaient sanctionnés par des rabais (Bradow & Davidonis, 2000 ; Ge *et al.*, 2008).

L'évolution des technologies de filature a profondément modifié ces critères de qualité. Avec l'augmentation des vitesses de transformation et les exigences accrues des industriels, de nouvelles propriétés sont devenues déterminantes : résistance mécanique, indice micronaire, uniformité, maturité et finesse des fibres (Ijaz *et al.*, 2019 ; Yang *et al.*, 2016). Ces paramètres influencent directement la qualité des fils

obtenus, la régularité de la production et les pertes lors des opérations de transformation.

4.1. Principaux caractères technologiques de la fibre de cotonnier

Les propriétés technologiques des fibres de coton sont généralement mesurées grâce à des instruments normalisés tels que le HVI (High Volume Instrument) et l'AFIS (Advanced Fiber Information System). Parmi les indices les plus déterminants, on retrouve :

- Longueur et uniformité

La longueur de la fibre est l'un des caractères les plus déterminants dans l'évaluation de la qualité du coton et joue un rôle majeur dans la fixation de son prix. Elle s'exprime en pouces ou en millimètres. L'analyse des fibres parallélisées permet de mesurer la distribution des longueurs, à partir de laquelle on calcule plusieurs paramètres :

- la longueur moyenne de la moitié supérieure des fibres de l'échantillon (Upper Half Mean Length, UHML),
- la longueur moyenne de l'ensemble des fibres (Mean Length, ML), et
- l'indice d'uniformité (Uniformity Index, UI), exprimé en pourcentage et correspondant au rapport ML/UHML.

Ces indicateurs, qui caractérisent la longueur et l'uniformité des fibres, ont un impact direct sur la finesse du fil, la résistance et l'efficacité de la filature. L'uniformité des fibres peut également être évaluée par le rapport, exprimé en pourcentage, entre deux longueurs caractéristiques mesurées dans la barbe d'essai. Une meilleure uniformité améliore la régularité du fil, sa résistance et l'efficacité du processus de filage (CottonWorks, 2018).

- Grade de couleur et de propreté

Le grade de couleur mesure la réflectance (Rd%), et le degré de jaunissement de la fibre (+b), influençant les propriétés de teinture et affectant négativement l'efficacité de la filature. Le grade de déchets quant à lui indique le degré de propreté et mesure la quantité d'impuretés dans le coton (débris végétaux, poussière). Les déchets présents dans le coton dégradent la résistance et l'aspect du tissu ainsi que le traitement des textiles (Xu *et al.*, 1996).

- Résistance des fibres

La résistance, ou ténacité, est mesurée en grammes par tex (où le tex exprime la densité linéaire en grammes par kilomètre). Ce caractère conditionne la résistance finale du fil et est indispensable aux procédés modernes de filature (Bradow & Davidonis, 2010).

- Maturité et micronaire

La maturité reflète le degré d'épaississement en cellulose de la paroi secondaire des fibres. Elle est estimée par le rapport de maturité (MR), le pourcentage de fibres mûres (PM %) et par l'indice micronaire. Ce dernier, largement utilisé car il affecte la qualité

de filature et l'apparence du produit fini, combine la finesse et la maturité et se mesure par la résistance d'un échantillon de fibres au passage d'un flux d'air (Rodgers *et al.*, 2017)."

5. Finesse des fibres

La finesse de la fibre fait référence à son diamètre ou à sa masse linéique. Elle constitue avec la longueur, la résistance, la couleur et la maturité un élément essentiel de la qualité de la fibre de cotonnier. La finesse joue un rôle central dans l'amélioration de la qualité et de la compétitivité du coton sur les marchés (Bradow & Davidonis, 2000 ; Konan & Mergeai, 2020).

Le tableau 1 reprend, par ordre d'importance et en fonction du système de filature, les principaux caractères technologiques de la fibre. Dans les systèmes de filature classique comme la filature à anneau l'importance de la finesse de la fibre apparaît moindre, elle est plus importante pour les systèmes de filage plus modernes comme l'open end ROTOR. Pour le système de filature le plus innovant (filature à jet d'air) la finesse est le caractère primordial à prendre en compte pour la transformation de la fibre en fil, au détriment de la longueur des fibres.

La finesse de la fibre détermine le nombre de fibres présentes dans la section transversale du fil. Plus les fibres sont fines, mieux elles s'entrelacent, plus leur nombre est important dans la section du fil et par conséquent plus le fil est résistant.

La finesse de la fibre influence à la fois la vitesse de la filature, la résistance, l'uniformité, la brillance, le toucher du fil et la productivité de la filature en réduisant les pertes de production. Les fibres les plus fines produisent par ailleurs des fils et des tissus plus souples et plus agréables au toucher (Lawrence, 2003 ; Ahmad *et al.*, 2003 ; Islam *et al.*, 2016).

Tableau 1. Importance des caractères technologiques de la fibre en fonction de la technique de filature-

Ordre d'importance	Filature à anneau	Filature à rotor	Filature par friction	Filature par jet d'air
1	Longueur et uniformité de longueur	Résistance	Friction	Finesse
2	Résistance	Finesse	Résistance	Propreté
3	Finesse	Longueur et uniformité de longueur	Finesse	Résistance

La finesse de la fibre de cotonnier peut être estimée par différentes méthodes, directes ou indirectes (Gawrisiak et Ali, 2020).

5.1. Mesures de la finesse

5.1.1. Les méthodes directes de mesure

Les méthodes gravimétriques permettent de déterminer la finesse linéique (H), exprimée en millitex (mtex), qui correspond à la masse réelle de fibre par unité de longueur. Pour ce faire, un ensemble de fibres de longueur standard est pesé. Le nombre de fibres constituant le faisceau est évalué au microscope. De ces mesures est déduite la densité linéaire qui est obtenue en divisant le poids du faisceau par le nombre de fibres. Cette mesure représente la masse par unité de longueur exprimée en milligrammes pour 1000 mètres ou millitex (Fournier et Gutknecht, 1991).

Les méthodes microscopiques reposent sur l'analyse d'images de coupes transversales obtenues après un traitement à l'hydroxyde de sodium.

La finesse standard (Hs), déduite de ces analyses et également exprimée en mtex, est une caractéristique variétale estimée à partir du périmètre, du diamètre ou de la surface de la section des fibres (Haigler, 2010 ; Rodgers et Thibodeaux, 2012).

D'autres outils plus modernes permettent d'établir expérimentalement la finesse de fibres individuelles. Elles s'appuient sur des systèmes d'analyses d'images et de diffusion de la lumière (Huang *et al.*, 2002 ; Aslan *et al.*, 2003 ; Ayodeyin et Li, 2011 ; Rodgers *et al.*, 2012, Tesema *et al.*, 2024).

L'observation au microscope des sections de fibres prélevées après la déhiscence des capsules montre une grande hétérogénéité, avec la coexistence de fibres normales, mortes, immatures et mûres. Cette variabilité morphologique, combinée au temps et au travail considérables qu'exigent les méthodes gravimétriques et microscopiques, limitent leur utilisation courante.

Dans un contexte industriel, il est indispensable d'obtenir une mesure rapide de la finesse, d'où l'adoption des méthodes indirectes qui donnent une estimation de la finesse à partir de faisceaux de fibres.

5.1.2. Les méthodes indirectes de mesure

Les méthodes indirectes ont émergé avec le développement d'instruments qui utilisent le principe de la résistance au passage d'un flux d'air pour une estimation indirecte de la finesse. L'aréalomètre développé par Hertel et Craven, (1951) est un instrument à flux d'air qui donne une estimation de la superficie d'une masse spécifique de fibre, c'est la surface externe des fibres par unité de volume. De cette surface spécifique est déduit par une formule empirique le périmètre moyen des fibres. L'expérimentation nécessite 4 à 5 répétitions et est sensible aux variations de l'échantillonnage.

La mesure de la finesse la plus répandue consiste à mesurer l'indice micronaire avec des appareils à flux d'air. Cet indice est basé sur la résistance à l'air d'un échantillon de fibre de cotonnier. Sur une échelle graduée en fonction des variations du débit d'air ou de la pression, la résistance au passage d'un flux d'air d'un échantillon de fibre de masse connue est estimée par l'appareil de mesure. De cette résistance découle l'indice micronaire qui est proportionnel à la surface spécifique des fibres. Le nombre de fibres pour une masse donnée sera plus élevé pour des fibres fines que pour des fibres épaisses. Un ensemble de fibres fines offrant une plus grande résistance au

passage de l'air qu'un ensemble de fibres épaisses toutes autres caractéristiques égales par ailleurs, il aura un indice micronaire plus faible.

De nombreux instruments exploitant le principe de la résistance au flux d'air des fibres ont été développés pour estimer le micronaire. Ces mesures peuvent être faites sur appareil individuel (l'AFIS® : Advanced Fibre Information System (Delhom *et al.*, 2020), le FMT (Fineness and maturity tester (ASTM D 3818-92, 1994), le Micromat (Montalvo *et al.*, 2002) ou sur les chaînes de mesures intégrées (CMI), l'HVI (Delhom *et al.*, 2018). L'indice micronaire des fibres de coton peut aussi être évalué en réalisant des analyses thermogravimétriques des fibres et en utilisant la spectroscopie infrarouge par transformation de Fourier (Abidi et Hequet, 2007). La mesure du micronaire est standardisée, rapide, peu coûteuse et rapide, ce qui facilite le traitement de gros volumes d'échantillons.

Cependant bien que très courante dans l'industrie textile, l'utilisation de l'indice micronaire comme mesure de la finesse est très approximative voire erronée. En effet, l'indice micronaire mesure simultanément la finesse et la maturité, de sorte qu'un indice micronaire faible peut indiquer la présence de fibres à la fois fines et mûres ou *a contrario* révéler des fibres épaisses et immatures. Montalvo (2005) note, dans l'étude des relations entre le micronaire, la finesse et la maturité de fibres de coton que le micronaire est plus sensible aux variations de l'épaisseur de la fibre qu'à celles de son périmètre. Dans le cas de fibres immatures, l'indice micronaire ne serait pas affecté par le périmètre et sa valeur serait d'autant plus sensible aux variations du périmètre que la fibre est mûre. De plus, il s'agit d'une moyenne sur un faisceau de fibres, Cela masque la variabilité individuelle est donc masquée. Le micronaire ne serait pas un indicateur fort de la performance du fil.

5.2. Déterminisme de la finesse

Les caractères quantitatifs comme la finesse de la fibre sont contrôlés par de nombreux gènes. Plus le nombre de gènes gouvernant un caractère est élevé, plus la probabilité est faible d'isoler des individus présentant les allèles intéressants pour tous les loci.

L'une des exigences liées à l'étude du déterminisme d'un caractère quantitatif est l'estimation de son héritabilité qui renseigne sur le degré d'influence probable des facteurs génétiques. Une faible héritabilité signifie une faible variation génétique dans une population et / ou une forte variation de l'environnement. Les caractères hautement héréditaires sont moins difficiles à améliorer que les caractères à faible héritabilité.

En ce qui concerne la finesse de la fibre de cotonnier, de nombreux travaux ont conclu à une héritabilité modérée à élevée (de 0,43 à 0,8) pour ce caractère suivant qu'il était exprimé en terme de périmètre, de densité linéaire, de surface de la fibre ou d'indice micronaire (May, 1999; Ulloa, 2006 ; Aktar, 2008, Liu *et al.*, 2011 ; Liu *et al.*, 2020; Rehman *et al.*, 2020, Song *et al.*, 2021). De nombreux écrits ont rapporté que la finesse est sous le contrôle de gènes additifs (May, 1999 ; Wu *et al.*, 2009 ; Zhang

et al., 2012), de gènes non-additifs (Ahuja et Dhayal, 2007) ; de gènes dominants (An *et al.*, 2010) ; de gènes récessifs (Kohel *et al.*, 2001). Selon Wang *et al.*, (2007) l'effet des gènes sur la finesse est à la fois additif et dominant. La finesse modérément à hautement transmissible serait donc un caractère sélectionnable.

La qualité de la fibre d'une plante est certes déterminée par le potentiel génétique de la plante mais les variations de son environnement (E) et l'interaction du génotype (G) avec cet environnement influencent également celle-ci (Bradow et Davidonis, 2010). La présence d'interactions GxE signifie que l'environnement peut influencer de façon variable l'expression de la finesse en activant ou désactivant des gènes contrôlant ce caractère et en modifiant leur niveau d'expression.

5.2.1. Influence du patrimoine génétique

Plusieurs familles de facteurs de transcription, voies de signalisation hormonale et mécanismes épigénétiques jouent un rôle majeur durant le développement de la fibre de cotonnier (Bai *et al.*, 2024).

La famille des facteurs de transcription MYB occupe une place majeure; ce sont des régulateurs clés du développement des fibres. La suppression de *GhMYB25* entraîne une diminution du nombre d'initiation de fibres et un retard dans leur expansion, tandis que sa surexpression conduit à une augmentation du nombre de fibres initiées sans modifier la longueur finale des fibres.

Les gènes *GhMYB25*, *GhMYB25-like* sont fortement exprimés durant la phase d'élongation et activent des gènes codant pour des protéines de la paroi telles que les expansines et les sucrose synthases (Pu *et al.*, 2019). Leur surexpression favorise une élongation cellulaire prolongée, conduisant à des fibres plus longues et plus fines.

Les facteurs de transcription *bHLH* (*GhbHLH18* et *GhDEL65*) interviennent de manière complémentaire, en interagissant avec des MYB. Ces interactions *MYB-bHLH* assurent une coordination entre la croissance longitudinale et radiale, ce qui est crucial pour obtenir une fibre fine tout en préservant sa résistance. Des études sur *GhbHLH18* et *GhDEL65* ont mis en évidence leur rôle dans la différenciation et la croissance des cellules de fibre, souvent en interaction avec des *MYB* (Shangguan *et al.*, 2016).

Les facteurs *HD-Zip*, notamment *GhHOX3* et *GhHDI*, participent également à la régulation de l'élongation des fibres. En réponse aux signaux hormonaux de l'auxine et des brassinostéroïdes, leur activation stimule l'expression de gènes impliqués dans la plasticité de la paroi, tels que les expansines, (Chen *et al.*, 2017). Une expression prolongée de ces gènes contribue à retarder la transition de l'élongation vers la phase d'épaississement favorisant ainsi la production de fibres plus fines.

À l'inverse, les facteurs de transcription NAC (*GhFSNI*) activent la transcription des synthases de cellulose (CESA) (Zhang *et al.*, 2018). Une surexpression de ces facteurs entraîne une diminution de leur longueur et une accumulation accrue de la quantité de myofibrilles de cellulose, augmentant l'épaisseur de la paroi secondaire et donc le diamètre de la fibre. Une répression de l'expression de ces facteurs de transcription est ainsi favorable à une meilleure finesse.

Des phytohormones, notamment les brassinostéroïdes interviennent avec d'autres phytohormones telles que l'auxine, l'acide abscissique, et l'acide jasmonique (JA), l'éthylène, l'acide gibbérillique dans les réseaux de signalisation cellulaire et participent à la régulation de la différenciation cellulaire et de l'élongation (Xiao *et al.*, 2019).

La première phase de développement de la fibre, l'initiation n'est pas déterminante pour la finesse finale de la fibre, en effet seule la densité et la compétition spatiale des fibres dans les locules pourrait avoir un effet indirect sur le diamètre de la fibre.

Durant la phase d'élongation la paroi primaire s'épaissit et la fibre grandit mais c'est surtout pendant la troisième phase d'épaississement (entre le 16^{ème} et 19^{ème} jour après l'anthèse jusqu'à 50 jours) que le diamètre de la fibre est déterminé. Il y'a au cours de cette phase une synthèse de la cellulose au niveau de la membrane plasmique par des complexes de cellulose synthases (CESA) (Somerville, 2006; Lampugnani *et al.*, 2018). La quantité de cellulose déposée dans la paroi donne l'épaisseur finale et donc le diamètre final de la fibre. Plus le dépôt de cellulose est important, plus la fibre est large.

Ainsi les gènes liés à la régulation de la croissance cellulaire durant l'élongation et l'épaississement de la fibre détermine en partie le diamètre final.

De nombreux phénomènes épigénétiques modulent l'expression des gènes et sont impliqués dans la régulation du diamètre des fibres :notamment les méthylations et déméthylations de gènes, l'acétylation des histones influencent la finesse de la fibre.

La méthylation de promoteurs de gènes d'élongation (ex. *GhEXP*, *GhCESA1/3/6*) peut réduire la croissance radiale et produire des fibres plus fines.

Les cellulose synthases (CESA) codent pour les sous-unités catalytiques du complexe de synthèse de la cellulose (*Cellulose Synthase Complex, CSC*) produisant les microfibrilles de cellulose, (Lampugnani *et al.*, 2018). La méthylation des gènes CESA peut réprimer l'activité des gènes CSC et entraîner la production de fibres fines ; a contrario leur déméthylation favorise la formation de fibres à paroi plus épaisse (Huang *et al.*, 2021).

Les modifications post-traductionnelles des histones sont des acteurs majeurs dans les mécanismes de régulation transcriptionnelle des gènes gouvernant le développement de la fibre. Cependant, à l'exception de quelques études sur les régulateurs épigénétiques, leur rôle dans le développement des fibres reste encore peu connu.

La modification des histones par acétylation, méthylation phosphorylation ou ubiquitinylation agissent sur la compaction de la chromatine et contrôlent ainsi les gènes de biosynthèse de la cellulose (Song *et al.* , 2015 ; Wang *et al.*, 2016)

L'acétylation des histones est maintenue de manière dynamique par les histones acétyltransférases et les histone désacétylases (HDAC). L'activité de l'histone désacétylase GhHDA5 exprimée de manière significative au moment de l'initiation des fibres est essentielle à la bonne initiation des fibres de coton. Son action sur

l'histone H3K9ac active des gènes contrôlant la synthèse de la paroi cellulaire, la réduction de l'expression de GhHDA5 supprime l'initiation des fibres

Les ARN non codants (les micro-ARN (ARNmi) et ARN interférents (ARNsi) qui remplissent entre autres fonctions l'inhibition post-transcriptionnelle de l'expression des gènes peuvent agir indirectement sur le diamètre et la maturation des fibres (Liu *et al.*, 2014 ; Sun *et al.*, 2017). Ainsi miR156, miR828 et miR858 en ciblant les gènes MYB25 chez *G. hirsutum* (Guan *et al.*, 2014) régulent l'expression de gènes *GhMYB25-like* et *GhCESA*. Les miARN156/157 sont essentiels à l'élongation des fibres chez *G. barbadense* (Liu *et al.*, 2014). De même, le siRNA est impliqué dans l'initiation des fibres de cotonnier (Wan *et al.*, 2016).

En somme, les facteurs de transcription (MYB, bHLH, NAC, HD-ZIP, WRKY) contrôlent l'expression des gènes structuraux ; les voies hormonales coordonnent les différentes phases de développement de la fibre et les mécanismes épigénétiques ajustent l'expression des gènes selon la phase.

5.2.2. Influence des facteurs environnementaux

La photosynthèse est le processus au cours duquel est produit le glucose qui est converti en amidon, en lignine et en cellulose. Cette dernière est le constituant majeur de la fibre de cotonnier, le glucose produit dans les feuilles par photosynthèse est transporté vers les ovules en croissance via le phloème, puis converti en UDP-glucose, le précurseur direct de la cellulose. Des enzymes, les cellulose synthases (CESA), localisées dans la membrane plasmique des cellules fibreuses, polymérisent ce glucose en microfibrilles de cellulose.

Tout effet sur la photosynthèse se répercute sur la production de cellulose et par conséquent sur la formation de la paroi secondaire et influence donc la maturité et le diamètre de la fibre.

Ainsi un déficit hydrique et/ou une insolation insuffisante durant la synthèse de la paroi secondaire peut entraîner une réduction de l'UDP-glucose, et une diminution de l'expression des gènes CESA. L'accumulation de cellulose dans les fibres se voit altérer, avec pour conséquence une réduction de la maturité, de la résistance, et de la finesse de la fibre (Wang *et al.*, 2005 ; Abidi *et al.*, 2010 ; Gao *et al.*, 2020 ; Hu *et al.*, 2022 ; Zhu *et al.*, 2024 ; Han *et al.*, 2025). A contrario, des températures élevées (>35 °C) pendant la phase d'élongation favorisent un dépôt précoce de cellulose dans la paroi secondaire par activation des gènes CESA et augmente la finesse (Darawsheh *et al.*, 2022).

Les macro-éléments (potassium, calcium) et les micro-éléments (zinc, bore, fer) jouent des rôles complémentaires dans la turgescence cellulaire, la stabilité de la membrane et de la paroi, les voies de signalisation et le métabolisme énergétique. Un déficit en nutriments réduit l'approvisionnement en substrats carbonés, ralentit la synthèse et le dépôt de la cellulose au niveau de la paroi secondaire, affectant ainsi directement la finesse de la fibre et sa qualité finale (Wang *et al.*, 2016; Guo *et al.*, 2017; Abdelraheem *et al.*, 2020, Mehran *et al.*, 2023 ; Xu *et al.*, 2025).

5.2.3. Influence des pratiques culturales

Outre les facteurs génétiques et environnementaux, la gestion culturale exerce une influence majeure sur la finesse, la longueur et la maturité des fibres (Constable *et al.*,

2023). Les pratiques telles que la densité de semis, la fertilisation, l'irrigation, l'emploi de régulateurs de croissance et la date de semis modifient la physiologie de la plante et les conditions de développement des capsules. Ce faisant, la structure cellulaire et le diamètre de la fibre sont impactés (Constable *et al.*, 2023, Ali *et al.*, 2021, Zhu *et al.*, 2022). Une densité de semis trop élevée limite à la fois la lumière et les nutriments disponibles par plante, tandis que des semis trop tardifs peuvent exposer les fibres à des températures élevées en fin de cycle, avec pour conséquence de raccourcir la phase d'élongation. Ainsi, l'optimisation des pratiques culturales constitue un levier agronomique non négligeable pour améliorer ou stabiliser la finesse de la fibre, notamment en complément de la sélection génétique.

Les pratiques de récolte, d'usinage, de stockage et de transformation peuvent modifier la qualité de la fibre notamment la longueur, la ténacité et l'uniformité de longueur, mais en ce qui concerne la finesse ces pratiques n'ont montré pas d'effet notables.

La finesse résulte ainsi d'un équilibre dynamique entre activation et répression de ces différents facteurs de transcription au cours du développement. Les interactions complexes entre *GhMYB25*, *GhHOX3*, *GhNAC1* et les gènes cibles (expansines, CESA...) déterminent le moment et l'intensité de la transition entre l'élongation et le dépôt de paroi. Ce réseau est lui-même modulé par des phénomènes épigénétiques (méthylation de l'ADN, modifications d'histones, microARN...), qui ajustent les niveaux d'expression en réponse à des facteurs environnementaux tels que la température, la salinité ou la disponibilité hydrique (Song *et al.*, 2017).

La voie génétique est la plus prometteuse pour l'amélioration de la finesse de la fibre de cotonnier.

6. Amélioration génétique de la finesse du cotonnier cultivé

6.1. Ressources génétiques et amélioration du cotonnier

Les nombreuses contraintes qui affectent la culture du coton imposent de relever un double défi : assurer une production durable et rentable tout en fournissant une fibre répondant aux standards de plus en plus exigeants de l'industrie textile. Or, la qualité technologique du coton – incluant des paramètres clés tels que la finesse – ne peut être garantie par les seules pratiques culturales, et l'amélioration génétique s'affirme comme une réponse incontournable.

Dans ce contexte, l'amélioration variétale du cotonnier repose sur une exploitation raisonnée de la diversité génétique du genre *Gossypium*, sur la mobilisation des espèces apparentées et sur l'intégration d'outils de sélection. Ces stratégies visent à développer des variétés plus performantes et résilientes, capables de fournir une fibre de qualité supérieure, condition indispensable pour assurer la durabilité et la compétitivité de la culture cotonnière dans un contexte mondial en mutation.

Ainsi, la connaissance et la valorisation des ressources génétiques disponibles constituent aujourd'hui les fondations de l'innovation pour répondre aux défis présents et futurs d'une filière cotonnière confrontée à des conditions environnementales changeantes et à une concurrence accrue sur le marché mondial. Ce chapitre est consacré à l'exploration de ces ressources génétiques, à leur diversité et à leur potentiel d'utilisation, ainsi qu'aux approches développées pour les mobiliser dans les programmes d'amélioration variétale.

6.1.1. Le genre *Gossypium*

Le cotonnier cultivé est une plante arbustive (genre *Gossypium*, famille des Malvacées) originaire des régions tropicales et subtropicales (Wendel & Grover, 2015). Les espèces du genre *Gossypium* présentent une grande diversité de répartition géographique, de morphologie et de caractéristiques des fibres. Ce genre, constitué majoritairement d'arbustes, comprend également des espèces rampantes, des vivaces herbacées et même des plantes arborescentes (Fryxell, 1979 ; Wendel *et al.*, 2010 ; Wendel & Grover, 2015).

Le genre *Gossypium* descendrait d'un phylum ancestral de nature polyploïde, formé par la juxtaposition de 6 + 7 chromosomes ($n = 13$) (Parry, 1982 ; N'Dungo, 198x), présent en Afrique centrale et aujourd'hui disparu, qui se serait ultérieurement scindé en huit génomes distincts à la suite d'un isolement géographique prolongé. Ainsi, la séparation des continents, les modifications climatiques et l'isolement des génomes sont à l'origine des importants remaniements chromosomiques ayant conduit à la diversification du genre *Gossypium* en cytotypes diploïdes (Stewart, 1995 ; Brown *et al.*, 1997).

Toutes les espèces de cotonnier se caractérisent par la présence, sur la graine, de poils cellulotiques constituant la fibre de cotonnier (Hutchinson *et al.*, 1947). Les espèces sauvages portent des poils peu abondants, courts et non vrillés, impropres à la filature (Parry, 1982).

Parmi la cinquantaine d'espèces que compte le genre *Gossypium*, seules deux espèces allotétraploïdes ($2n = 4x = 52$) – *G. hirsutum* L. (AD)1 et *G. barbadense* L. (AD)2 – et deux espèces diploïdes ($2n = 2x = 26$), comme *G. herbaceum* L. (A1), produisant des poils filables, ont été domestiquées (Fryxell, 1992 ; Wendel & Grover, 2015 ; Gallagher *et al.*, 2017 ; Wang *et al.*, 2018).

G. barbadense, ou cotonnier égyptien, produit des fibres longues, fines et résistantes dont la filature permet d'obtenir un fil et un tissu plus soyeux, utilisés pour fabriquer des textiles haut de gamme (Avci *et al.*, 2013 ; Alagarsamy, 2023). Cependant, cette espèce présente un faible rendement, une faible adaptabilité et une sensibilité élevée aux ravageurs piqueurs-suceurs (Alagarsamy, 2023), ce qui explique qu'elle ne représente que 4 % de la production mondiale de coton.

G. hirsutum (Figure 3) produit des fibres intermédiaires mais présente l'avantage d'avoir un rendement élevé et une grande adaptabilité à divers environnements (Chen *et al.*, 2007). Cette espèce fournit plus de 90 % de la production mondiale de coton.

Les espèces diploïdes *G. herbaceum* et *G. arboreum* produisent quant à elles le « coton indien », caractérisé par des fibres épaisses et courtes (Wendel *et al.*, 2010 ; Shim *et al.*, 2018 ; Aslam *et al.*, 2020).

Les espèces diploïdes ($2n = 2x = 26$ chromosomes) du genre *Gossypium* sont classées sur la base de leurs affinités d'appariement chromosomique en huit groupes génomiques désignés par les lettres A, B, C, D, E, F, G et K, tandis que les sept espèces tétraploïdes ($2n = 4x = 52$ chromosomes) sont rattachées au génome AD (Paterson *et al.*, 2001 ; Wang *et al.*, 2012 ; Gallagher *et al.*, 2017 ; Shim *et al.*, 2018).

Les affinités chromosomiques entre espèces diploïdes et tétraploïdes décroissent selon l'ordre suivant : $A > D > F > B > C > G > E$ (Mergeai, 2006).

6.1.2. Réservoirs génétiques du genre *Gossypium*

Les espèces de *Gossypium* sont classées en trois catégories en fonction de leur proximité génétique avec *G. hirsutum* (Stewart, 1995) :

Le pool génique primaire comprend *G. hirsutum*, *G. barbadense* et toutes les espèces tétraploïdes apparentées. Les croisements entre ces espèces sont aisés et donnent des recombinaisons fréquentes.

Le pool génique secondaire inclut les espèces diploïdes des groupes A, D, B et F. Les croisements avec *G. hirsutum* sont plus difficiles mais restent réalisables, et la recombinaison génétique est encore relativement élevée.



Figure 3. Le cotonnier *Gossypim hirsutum*

Le pool génique tertiaire regroupe les espèces les plus éloignées, originaires d'Australie (groupes E, C, G et K). Les chromosomes de ces espèces ont une faible homologie avec les chromosomes de *G. hirsutum*, elles sont phylétiquement distantes

de l'espèce cultivée. L'obtention d'un hybride avec ces espèces est très difficile et donne des fréquences de recombinaisons très faibles (Mergeai *et al*, 1992 ; Brubaker *et al*, 1999).

Ces réservoirs constituent une source précieuse de variabilité pour introduire de nouveaux caractères d'intérêt, tels que la résistance aux maladies, la tolérance aux stress environnementaux et l'amélioration de la qualité de la fibre.

6.1.3. Valorisation de la diversité génétique

Pendant longtemps, les programmes d'amélioration du cotonnier se sont appuyés presque exclusivement sur la variabilité présente au sein de *Gossypium hirsutum*. Or, cette variabilité restreinte limite la capacité d'adaptation de l'espèce et freine les progrès sur des caractères clés, qu'il s'agisse de résistance aux bioagresseurs, de tolérance aux stress abiotiques ou de qualité technologique de la fibre (Hau, 1981).

Pour dépasser ces limites, les sélectionneurs mobilisent désormais les ressources génétiques offertes par les autres espèces du genre *Gossypium* – espèces tétraploïdes proches, comme *G. barbadense*, mais aussi espèces diploïdes plus éloignées. Ces réservoirs constituent une source précieuse de gènes nouveaux. Leur intégration dans les variétés cultivées est généralement complexe et repose sur des stratégies spécifiques d'hybridation et d'introgession.

7. Stratégies d'hybridation interspécifique

L'hybridation interspécifique constitue l'approche principale pour élargir la base génétique du cotonnier cultivé. Elle vise à combiner, dans un même génotype, les caractères favorables présents chez différentes espèces.

7.1. Exploitation des espèces tétraploïdes

Les croisements entre *G. hirsutum* et *G. barbadense* sont relativement aisés grâce à la proximité génomique des deux espèces. Ils ont été utilisés pour transférer les fibres longues et fines de *G. barbadense* tout en conservant le rendement élevé et la plasticité écologique de *G. hirsutum*. Néanmoins, les résultats obtenus jusqu'ici sont mitigés : on observe souvent une baisse de rendement dans les générations hybrides et une tendance rapide au retour vers les caractéristiques du parent récurrent (Schwendiman, 1978).

7.2. Exploitation des espèces diploïdes

Les espèces diploïdes, plus éloignées génétiquement, offrent une variabilité considérable, notamment pour des caractères liés à la résistance aux stress biotiques et abiotiques. Cependant, leur utilisation est beaucoup plus complexe en raison de la présence de barrières d'incompatibilité. En effet, dans les croisements interspécifiques impliquant des espèces diploïdes, des barrières pré-zygotiques apparaissent fréquemment. Elles se traduisent par une germination limitée du pollen sur le stigmate et une croissance anormale du tube pollinique, empêchant la fécondation. Ces phénomènes ont été documentés notamment dans les croisements entre *G. barbadense* et des espèces diploïdes telles que *G. triphyllum*, *G. davidsonii*, *G. thurberi* et *G.*

armourianum, où le tube pollinique devient tordu, gonflé ou bloqué avant d'atteindre l'ovaire (Vroh Bi, 1999 ; Ganesh Ram *et al.*, 2007).

Lorsque la fécondation réussit mais que l'embryon se développe mal ou dégénère, ou lorsque les hybrides obtenus sont viables mais stériles, il s'agit de barrières post-zygotiques. Ces incompatibilités sont particulièrement marquées lorsque les génomes mis en présence sont très éloignés.

7.2.1. Voies d'hybridation : bi-spécifique et tri-spécifique

Deux voies principales sont employées pour organiser les croisements chez le cotonnier cultivé. La **voie tri-spécifique** (Figure 4 et 5) consiste à utiliser une espèce pont appartenant au génome A ou D qui est croisée soit avec l'espèce donneuse pour créer un tétraploïde artificiel (méthode paraphylétique) soit avec l'espèce cultivée pour créer un allohexaploïde transitoire (méthode pseudophylétique). L'hybride intermédiaire ainsi formé contient des chromosomes issus de trois espèces. Cette stratégie, plus complexe, est utilisée lorsque les caractères recherchés sont polygéniques et répartis sur plusieurs chromosomes (Mergeai, 2008).

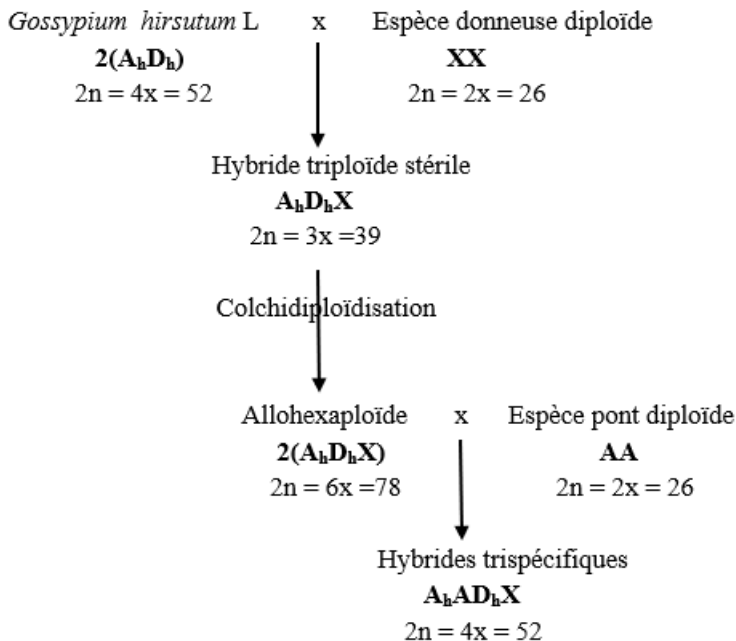


Figure 4. Schéma de création d'un hybride trispécifique par la méthode pseudophylétique d'introgression

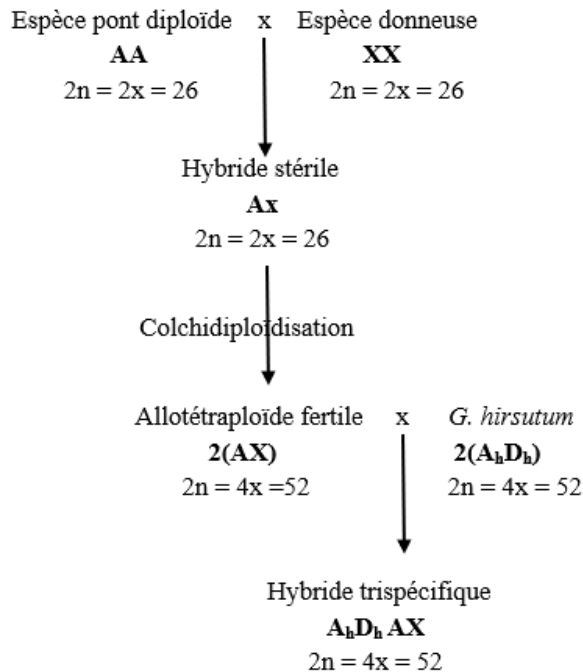


Figure 5. Schéma de création d'un hybride trispécifique par la méthode paraphylétique d'introgression

La **voie bi-spécifique**, ou méthode aphyllétique, repose sur un croisement direct entre *G. hirsutum* et une espèce donneuse (Figure 6). Elle est plus adaptée à l'introgression de caractères monogéniques. Ce type de croisement produit une descendance composée d'individus euploïdes, possédant un génome complet et équilibré, et d'individus aneuploïdes présentant un nombre irrégulier de chromosomes.

Parmi ces derniers, certaines plantes portent un chromosome additionnel provenant de l'espèce donneuse ; ces lignées particulières, appelées lignées monosomiques d'addition (LMA), constituent un outil spécifique qui sera détaillé dans le chapitre suivant.

Ces stratégies d'hybridation représentent le socle des approches visant à élargir et exploiter la diversité génétique du cotonnier cultivé.

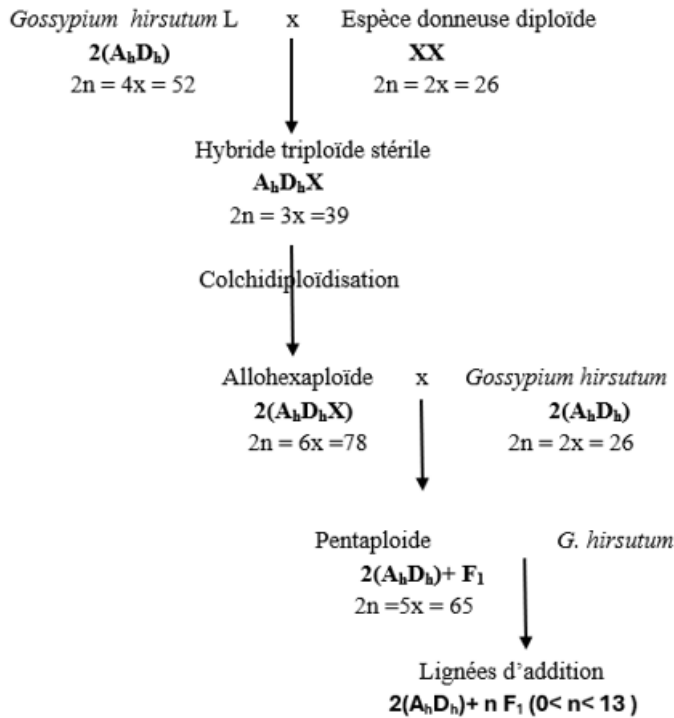


Figure 6. Schéma de création d'un hybride bispécifique par la méthode aphylétique d'introgression

8. Les lignées monosomiques d'addition (LMA)

Les lignées monosomiques d'addition (LMA) constituent un outil original et puissant dans les programmes d'hybridation interspécifique. Elles résultent de l'intégration, dans le génome complet d'une espèce receveuse, d'un chromosome isolé provenant d'une espèce donneuse. Dans le cas du cotonnier, elles permettent d'introduire dans *Gossypium hirsutum* un chromosome issu d'une autre espèce tout en maintenant la structure génétique globale du parent récurrent. Ces lignées, qui combinent l'intégrité génomique de *G. hirsutum* avec une contribution ciblée d'ADN étranger, facilitent l'étude et l'introgression de caractères d'intérêt.

8.1. Définition et intérêt des LMA

Une lignée monosomique d'addition est une plante aneuploïde dont le jeu chromosomique complet du parent receveur (euploïde) est enrichi par un seul

chromosome supplémentaire provenant d'une espèce donneuse. Ce chromosome additionnel est transmis de génération en génération avec des fréquences variables.

L'intérêt des LMA réside dans leur rôle d'outil d'introggression : elles permettent d'étudier l'influence d'un chromosome particulier sur les caractéristiques morphologiques et agronomiques de la plante. Ainsi, elles sont utilisées pour transférer de façon ciblée des caractères d'intérêt (résistance à une maladie, tolérance à un stress abiotique, ou encore amélioration de la fibre) depuis une espèce sauvage vers une espèce cultivée. Elles sont également très utiles pour la cartographie de gènes et pour la création de populations expérimentales permettant d'étudier l'expression génique et l'influence d'un chromosome étranger.

8.2. Méthodes de production des LMA

Les LMA sont obtenues par hybridations interspécifiques, principalement via la voie bi-spécifique. Dans un premier temps, *G. hirsutum* est croisé avec une espèce donneuse, souvent diploïde. Les hybrides ainsi obtenus, après plusieurs générations d'autofécondations et de rétrocroisements, présentent une grande diversité chromosomique : certaines plantes deviennent euploïdes, d'autres demeurent aneuploïdes avec un ou plusieurs chromosomes supplémentaires issus de l'espèce donneuse.

Pour obtenir une LMA stable, l'objectif est de sélectionner les individus aneuploïdes qui portent un seul chromosome additionnel. Ce processus est progressif et exige un suivi précis sur plusieurs générations, car les chromosomes étrangers peuvent être perdus ou remaniés au cours des divisions cellulaires.

La mise en place de lignées d'hybridation interspécifique suppose tout d'abord de surmonter les barrières d'incompatibilité entre espèces. Une fois les hybrides obtenus, ceux-ci sont rétrocroisés à plusieurs reprises avec le parent récurrent (*G. hirsutum*) en assurant un suivi cytogénétique précis afin d'identifier et de conserver les individus porteurs d'un chromosome additionnel. Pour lever les incompatibilités initiales, plusieurs techniques sont utilisées : la réalisation de croisements réciproques, qui consiste à inverser les rôles de plante mâle et femelle, peut parfois permettre la fécondation ; l'emploi de « pollen mentor », c'est-à-dire l'ajout d'un pollen compatible en mélange avec le pollen donneur, stimule la croissance du tube pollinique ; l'application d'hormones végétales comme les gibbérellines et les auxines sur les ovaires ou les pédicelles favorise également l'élongation du tube pollinique et réduit l'avortement des jeunes capsules (Mallikarjuna, 1999). Dans d'autres cas, le doublement du génome (polyploïdisation) restaure la fertilité en assurant un meilleur appariement chromosomique, tandis que les techniques de biologie cellulaire, telles que la fusion de protoplastes, permettent de combiner un génome complet avec des fragments chromosomiques d'une autre espèce ; cette approche a permis de produire des hybrides asymétriques entre *G. hirsutum* et *G. bickii*, *G. stockii*, *G. davidsonii* (Sun *et al.*, 2005 ; 2006) ainsi qu'avec *G. klotzschianum* (Yang *et al.*, 2007). Enfin, lorsque le développement normal des graines est compromis par une incompatibilité liée à l'albumen, le sauvetage d'embryons constitue une solution efficace : les embryons immatures sont prélevés puis cultivés *in vitro*, ce qui a permis d'obtenir des hybrides viables dans des croisements particulièrement difficiles, y compris

intergénériques, comme ceux entre le cotonnier et le gombo *Abelmoschus esculentus* (Vlachostergios, 2007).

8.3. Difficultés et limites

La production et le maintien des LMA présentent plusieurs difficultés. D'une part, leur viabilité et leur fertilité peuvent être réduites : l'addition d'un chromosome étranger perturbe parfois le comportement méiotique, entraînant une faible transmission de ce chromosome lors de la formation des gamètes. En effet, des irrégularités méiotiques peuvent se traduire par le rejet du chromosome en addition suivi de son élimination lors de la formation des gamètes.

Un manque de viabilité des gamètes aneuploïdes à $n+1$ chromosomes, des avortements des zygotes $2n+1$ chromosomes et un manque de viabilité des plantules monosomiques d'addition pourraient expliquer la faible viabilité et fertilité des LMA (Mergeai, 1992).

D'autre part la taille du chromosome étranger peut faire varier sa transmission, plus le chromosome étranger est petit moins le déséquilibre qu'il entraîne est important et son taux de transmission est élevé. L'ajout de chromosomes supplémentaires peut compliquer l'interaction entre les gènes, rendant difficile la prévision des résultats phénotypiques.

Enfin, la création et le maintien de lignées monosomiques d'addition nécessitent des ressources considérables en termes de temps, d'espace et de matériel.

Ces contraintes exigent l'utilisation de méthodes rigoureuses de sélection et de suivi de l'introgression.

8.4. Apport des LMA dans les programmes d'amélioration

Malgré ces limitations, les LMA représentent un outil central dans l'introgression ciblée de caractères spécifiques depuis des espèces sauvages vers *G. hirsutum*. Elles offrent la possibilité de transférer des caractères en limitant au maximum l'introduction d'ADN non désiré (linkage drag), puisque seul un chromosome ou un fragment chromosomique est conservé.

Une fois les gènes d'intérêt identifiés sur le chromosome étranger, celui-ci peut être stabilisé, voire intégré de façon plus permanente par des recombinaisons contrôlées. Ainsi, les LMA jouent un rôle stratégique dans les programmes d'amélioration, en complément des autres techniques telles que la sélection assistée par marqueurs et les approches biotechnologiques.

La mise en œuvre des LMA ne peut se faire efficacement qu'à condition de pouvoir identifier et suivre avec précision le chromosome étranger. Le chapitre suivant présente les différentes méthodes utilisées pour caractériser ces lignées : approches phénotypiques, cytogénétiques et moléculaires.

9. Méthodes d'identification et de suivi des LMA

L'exploitation des lignées monosomiques d'addition (LMA) nécessite une identification précise et un suivi rigoureux pour confirmer la présence d'un chromosome additionnel et en assurer la transmission au fil des générations.

Plusieurs approches complémentaires sont utilisées : l'analyse phénotypique, la cytogénétique et les marqueurs biochimiques et moléculaires. Ensemble, elles constituent une base indispensable pour tirer pleinement parti du potentiel de ces lignées :

- le **phénotypage** oriente la détection,
- la **cytogénétique** confirme et visualise,
- les **marqueurs moléculaires** assurent un suivi précis et rapide.

9.1. Caractérisation phénotypique

Le phénotype, qui résulte des interactions entre le génome d'une plante et son environnement, constitue certainement la méthode la plus ancienne utilisée pour caractériser les hybrides. Dans le cas des lignées monosomiques d'addition (LMA), il est admis que la présence d'un chromosome additionnel, par sa simple insertion et/ou par l'expression des gènes qu'il porte, peut perturber l'équilibre génique et épigénétique de la plante, entraînant des désordres physiologiques qui se traduisent parfois par des modifications morphologiques visibles à l'œil nu.

Cependant, cette approche reste peu fiable : plusieurs auteurs ont rapporté la présence de matériel génétique étranger sans qu'aucune modification phénotypique notable ne soit observée chez les plantes concernées. En effet, les caractères morphologiques sont des critères peu précis et peu fiables, car il s'agit souvent de caractères quantitatifs fortement influencés par l'environnement. La pénétrance du ou des chromosomes étrangers peut également être incomplète et leur expression variable selon les génotypes qui les portent. Enfin, l'expression des gènes du chromosome additionnel peut être altérée lorsque son intégrité est compromise par des remaniements chromosomiques (délétions, recombinaisons, translocations, etc.) survenant au cours des générations d'autofécondations et de rétrocroisements.

9.2. Caractérisation cytogénétique

La cytogénétique est l'étude des phénomènes génétiques au niveau cellulaire, et plus particulièrement des chromosomes : variations du nombre, anomalies structurales, recombinaisons et comportements lors de la division cellulaire.

La cytogénétique classique permet d'établir le caryotype par comptage du nombre de chromosomes et d'étudier l'appariement chromosomique afin d'évaluer les possibilités de recombinaison entre chromosomes homéologues. La cytogénétique moléculaire, ou hybridation *in situ*, repose quant à elle sur la capacité des acides nucléiques à s'hybrider spécifiquement avec des séquences complémentaires. Cette approche utilise des fragments d'ADN marqués comme sondes et permet de révéler et de distinguer un chromosome ou un fragment chromosomique d'origine étrangère dans le fond génétique du receveur.

Différents types de sondes sont utilisés :

-**Sondes centromériques**, qui s'hybrident au niveau des centromères et permettent d'identifier et de dénombrer précisément les chromosomes ;

-**Sondes de peinture chromosomique**, constituées d'un ensemble de petites sondes couvrant l'ensemble d'un chromosome. Elles peuvent être spécifiques d'un bras ou même de quelques bandes chromosomiques et sont particulièrement utiles pour détecter des translocations complexes, des échanges de petite taille et pour identifier précisément l'origine d'un fragment chromosomique non identifié ;

-**Sondes locus-spécifiques**, qui ciblent une région très précise du génome. Elles sont obtenues par marquage d'ADN cloné dans différents vecteurs (plasmides, cosmides, YACs, BACs, etc.) et sont particulièrement efficaces pour mettre en évidence rapidement des remaniements impliquant une région donnée (microdélétions, translocations, inversions).

Dans le cas de la GISH (*Genomic In Situ Hybridization*), la sonde utilisée est constituée de l'ADN génomique total d'une espèce donneuse. Cette technique, rapide et sensible, permet une détection fiable des chromosomes étrangers chez les hybrides (Mukai & Gill, 1991 ; Schwarzacher *et al.*, 1992 ; Friebe *et al.*, 1993 ; Jiang & Gill, 1994), de déterminer le niveau d'appariement chromosomique (King *et al.*, 1994), d'évaluer l'introgression de fragments chromosomiques et de localiser physiquement les points de translocation (Fukui *et al.*, 1997 ; Shishido *et al.*, 1998).

9.3. Caractérisation par les marqueurs

La caractérisation et le suivi des hybrides et des lignées monosomiques d'addition (LMA) reposent aussi sur l'utilisation de marqueurs géniques, qui sont regroupés en deux grandes catégories : les marqueurs biochimiques dont les plus utilisés sont les isoenzymes et les marqueurs moléculaires. Ces marqueurs correspondent à des séquences codantes ou non codantes présentant un polymorphisme entre individus et permettant d'identifier et de suivre l'introgression de gènes ou de fragments chromosomiques.

10. Sélection assistée par marqueurs moléculaires

La sélection assistée par marqueurs moléculaires (SAM) est basée sur l'utilisation de marqueurs moléculaires, de petits segments d'ADN situés près d'un gène d'intérêt pour marquer des régions chromosomiques et suivre leur transmission dans la population. Ils permettent de mettre en évidence la position de loci liés à des caractères quantitatifs appelés QTL (Quantitative trait Loci) sur une carte génique, et de suivre ces QTL tout au long de la sélection. La SAM est utilisée pour améliorer des caractères difficiles à sélectionner phénotypiquement, elle permet de sélectionner à un stade précoce, même avant l'expression phénotypique du trait, ce qui accélère le programme d'amélioration.

10.1. Les marqueurs moléculaires

Les marqueurs moléculaires correspondent à des loci polymorphes au sein du génome dont les variations permettent une identification précise des génotypes. Un marqueur pertinent doit se caractériser par une hérédité simple, une grande stabilité, un niveau élevé de polymorphisme et une expression co-dominante. Leur utilisation est devenue indispensable dans les programmes contemporains d'amélioration des plantes à intérêt agronomique, où ils jouent un rôle majeur dans l'analyse de la diversité, la cartographie génétique et le suivi de l'introgression de gènes d'intérêt (Eagles *et al.*, 2001 ; Langridge *et al.*, 2001 ; Dekkers & Hospital, 2002).

Le recours à des marqueurs cartographiés permet d'étudier finement les recombinaisons entre génomes distincts et de suivre, génération après génération, le devenir des fragments introgressés. Cette approche offre une évaluation précise du niveau d'introgression et des relations entre certaines régions génomiques et des caractères d'intérêt, constituant ainsi un outil privilégié pour l'analyse des transferts interspécifiques.

Historiquement, les premiers marqueurs développés ont reposé sur les polymorphismes de longueur de fragments de restriction (RFLP), une technologie basée sur la digestion de l'ADN par des enzymes de restriction puis l'hybridation avec des sondes spécifiques. Bien que robuste, cette méthode s'est avérée coûteuse, laborieuse et peu adaptée aux approches à grande échelle. L'avènement des marqueurs basés sur la PCR — notamment les RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), les AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) et les SSR (Simple Sequence Repeats) — a permis d'augmenter la rapidité et l'accessibilité du génotypage. Parmi eux, les SSR, constitués de répétitions de di-, tri- ou tétranucléotides et caractérisés par un fort polymorphisme, une co-dominance marquée et une excellente reproductibilité, ont été largement employés pour la construction de cartes génétiques et l'étude de la diversité chez le cotonnier (Lacape *et al.*, 2010). Les autres approches traditionnelles, moins adaptées au traitement de grands jeux d'échantillons, ont souvent été converties en marqueurs dérivés tels que les SCAR (Sequence Characterized Amplified Regions) et les STS (Sequence Tagged Sites), plus simples, plus rapides et moins coûteux à mettre en œuvre (Paran & Michelmore, 1993 ; Olson *et al.*, 1989 ; Najimi *et al.*, 2003).

L'évolution récente des techniques de biologie moléculaire a profondément transformé le paysage du génotypage, conduisant à l'émergence de marqueurs de nouvelle génération. Les marqueurs SNP (Single Nucleotide Polymorphisms), qui correspondent à des substitutions ponctuelles d'un nucléotide, constituent aujourd'hui les marqueurs les plus abondants et les plus utilisés. Leur détection est désormais facilitée par des plateformes de génotypage ciblé telles que le KASP, ainsi que par les méthodes de séquençage haut débit, permettant l'établissement de cartes génétiques de très haute densité et la réalisation d'analyses d'association à l'échelle du génome (Gore *et al.*, 2014).

Les technologies de séquençage de nouvelle génération (NGS) — incluant notamment le GBS (Genotyping-by-Sequencing), le RAD-seq (Restriction site Associated DNA sequencing) ou encore le DArTseq — ont par ailleurs considérablement accru la capacité de génération de données génétiques. Elles

permettent la production rapide de milliers de SNP, souvent sans connaissance préalable du génome, tout en réduisant les coûts et en offrant une résolution nettement supérieure à celle des marqueurs traditionnels. Ces approches s'avèrent particulièrement efficaces pour la détection de régions introgressées, l'identification de QTL et la mise en place de stratégies de sélection assistée par marqueurs avec une précision inégalée (Paterson *et al.*, 2012 ; Yu *et al.*, 2019).

10.2. Les marqueurs moléculaires et la mise en évidence de QTL

La puissance des marqueurs moléculaires s'exprime pleinement lorsqu'ils sont intégrés dans des analyses de détection de QTL, qui associent variations génotypiques et phénotypiques au sein de populations présentant une variabilité génétique suffisante. La cartographie de QTL repose sur la co-ségrégation entre marqueurs et caractères phénotypiques, permettant ainsi d'identifier les régions génomiques impliquées dans le contrôle des caractères quantitatifs, d'estimer leur position et de mesurer leurs effets.

Les premiers travaux ont principalement eu recours à des approches de cartographie de liaison utilisant des populations biparentales telles que les RIL (Recombinant Inbred Lines) ou les BIL (Backcross Inbred Lines), dans lesquelles la descendance issue de deux parents contrastés est analysée génération après génération. Ces approches ont permis de mettre en évidence les premières régions génomiques contrôlant les caractères technologiques de la fibre. L'essor récent de populations plus diversifiées, notamment les panels d'association, les populations multiparentales de type MAGIC (Multi-parent Advanced Generation Inter-Cross) ou NAM (Nested Association Mapping), combiné à l'utilisation de technologies de génotypage à haut débit telles que le GBS ou le séquençage complet du génome (WGS), a considérablement augmenté la résolution des analyses. Le GWAS (Genome-Wide Association Study), qui exploite la variation naturelle au sein d'individus non apparentés, offre en particulier une finesse de résolution supérieure et permet une meilleure estimation de la variabilité naturelle associée aux caractères d'intérêt.

À ce jour, environ 1800 QTL associés aux caractères technologiques de la fibre ont été identifiés à travers les 26 chromosomes du génome allotétraploïde du coton (Baghyalakshmi *et al.*, 2024). Toutefois, seule une fraction d'entre eux se révèle stable entre environnements, soulignant l'importance d'études multi-environnements et multi-génomiques pour identifier les régions robustes. De manière générale, une proportion plus importante de QTL liés à la longueur de la fibre se situe sur le sous-génome D, tandis que le sous-génome A semble porter davantage de QTL associés à la finesse. Les chromosomes A7, D1 et D12 se distinguent par une concentration plus élevée de régions impliquées dans les caractères de qualité. En comparaison avec la longueur, relativement peu de QTL spécifiquement associés à la finesse mesurée en termes de diamètre ou de périmètre ont été identifiés, la majorité des études s'étant focalisées sur l'indice micronaire (Tableau 2).

Les caractères quantitatifs de la fibre ne sont pas indépendants les uns des autres. Plusieurs études ont mis en évidence des corrélations entre QTL contrôlant différents traits : l'indice micronaire est généralement corrélé positivement au rendement et à la ténacité, et négativement à la longueur (Frelichowski *et al.*, 2006 ; An *et al.*, 2010). Le périmètre de la fibre présente quant à lui des corrélations positives avec la longueur et la ténacité (Ulloa & Meredith, 2000). Selon Zhang *et al.* (2011), la finesse mesurée via le micronaire serait également associée à l'uniformité de longueur, et des chevauchements significatifs existent entre QTL impliqués dans l'élongation et la finesse des fibres.

Tableau 2. Inventaire de QTL influençant la finesse de la fibre

Croisement	Caractère	Type marqueurs	Chromosome	Référence
Gh (MD5678ne) × Gh (Prema)	Micronaire	RFLP	C1	Ulloa et Meredith., 2000
Gh (MD5678ne) × Gh (Prema)	Périmètre	RFLP	C1, C5, C7, C10	Ulloa et Meredith., 2000
Gh (Yumian 1) × Gh (T586)	Micronaire	SSR AFLP	C5, C6	Zhang <i>et al.</i> , 2005
Gh (TM1) × Gh (7235)	Micronaire	SSR	C24, C11	Shen <i>et al.</i> , 2006
Gh (Xiangzamian 2) × Gh (Zhongmiansuo I2)	Micronaire	SSR, AFLP, RAPD, SRAP	C21	Wang <i>et al.</i> 2007
Gh (7235) × Gh (TM-1)	Micronaire	SSR	C19	Shen <i>et al.</i> , 2007
Gh (HS46 (P1) 9)x Gh(MARCABUCAG8US-1- 88)	Micronaire	SSR	C3, C5, C13	Wu <i>et al.</i> , 2009
Gh (HS46 (P1) 9)x Gh(MARCABUCAG8US-1- 88)	Périmètre	SSR	C10, C14	Wu <i>et al.</i> , 2009
Gh (HS46 (P1) 9)x Gh(MARCABUCAG8US-1- 88)	Densité linéaire	SSR	C10, C14, C20	Wu <i>et al.</i> , 2009

Gh (Yumian 1) × Gh (T586)	Micronaire	SSR, SRAP	C7, C23	Zhang <i>et al.</i> , 2009
Gh (MD17) × Gh(FM966)	Micronaire	SSR, SNP	C2, C26	An <i>et al.</i> , 2010
Gh (Yumian) x Gh (CRI 35) x Gh (7235)	Micronaire	SSR	C3, C7, C12, C23, C24	Zhang <i>et al.</i> , 2012
Gh (TM 1) × Gb (3-79)	Micronaire	RFLP, RAPD, SSR	C1	Kohel <i>et al.</i> , 2001
Gh (TM 1) × Gb (3-79)	Finesse	RFLP, RAPD, SSR	C25	Kohel <i>et al.</i> , 2001
Gh (Siv'on) × Gb (F-177)	Micronaire	RFLP	C2	Paterson <i>et al.</i> , 2003
Gh (Handan208) × Gb (Pima90)	Micronaire	SSR, SRAP, RAPD REMAPs	C14	He <i>et al.</i> , 2005
Gh (TM1) × Gb (Pima 3-79)	Micronaire	EST SSR	C3	Park <i>et al.</i> , 2005
Gh (Handan208) x Gb (Pima 90)	Micronaire	SSR, SRAP,RAPD	C8, C14, C10, C11, C24	Lin <i>et al.</i> ,2005
HS427-10 × TM-1	Micronaire	SSR	C25	Shen <i>et al.</i> , 2005
Gh (Yumian 1) × Gh (T586)	Micronaire	SSR, AFLP	C5	Zhang <i>et al.</i> , 2005
Gh (TM 1) × Gb (3-79)	Finesse	SSR	C3, C5, C12, C17	Frelichowski <i>et al.</i> , 2006

Gh (Handan 210) x Gb (Pima90)	Micronaire	SRAP, SSR, RAPD	C8, C11, C10, C14, C24,	Lin <i>et al.</i> , 2005
Gh (Guazuncho 2) x Gb (VH8-4602)	Micronaire	RFLP, SSR, AFLP	C3, C6, C10, C16, C20	Lacape <i>et al.</i> , 2007
Gh (CA3084, CA3093) x Gt acc. WT936	Micronaire	RFLP	C4, C5, C7, C13, C14, C15, C19, C21	Zhang <i>et al.</i> , 2011
G h (GX1135×GX100-2)	Micronaire	SSR	C3, C9, C19, C26	Liang <i>et al.</i> 2013
Gh (acc. TM-1)	Micronaire	SSR, SNP	C25	Zhang <i>et al.</i> , 2015
Gh Lumianyan28(LMY28) x GB Xinluzao24 (XLZ24)	Micronaire	SSR	C25	Liu <i>et al.</i> , 2018
Gb accessions	Micronaire	SNP	C1, C19	Su <i>et al.</i> , 2020)
Gh (CRI36) × Gb (Hai7124)	Micronaire	SNP	C3	(Pei <i>et al.</i> , 2021
Gh (CRI35 x Gb (Pima S-7)	Micronaire	SSR	C17	Yang <i>et al.</i> , 2022
Gb accessions	Micronaire	SNP	C1	Song <i>et al.</i> , 2024

Gh (acc. 4105) x Gt

Micronaire

SLAF-seq and
Linkage mapping

C3

Chang *et al.* (2023)

Gh : Gossypium hirsutum ; Gb : Gossypium barbadense ; Gt : Gossypium tomentosum

La détection de QTL constitue une étape clé pour comprendre la base génétique des caractères quantitatifs tels que la finesse. L'identification de gènes candidats nécessite un affinement progressif de la cartographie afin de réduire la taille des régions QTL à quelques centaines de kilobases. L'augmentation de la densité des marqueurs, rendue possible par les technologies de génotypage modernes, permet de limiter le nombre de gènes potentiellement impliqués. L'analyse fonctionnelle des gènes situés dans ces régions, incluant leur niveau d'expression dans les fibres et leur rôle potentiel dans la biosynthèse de la cellulose ou l'élongation cellulaire, constitue une étape essentielle. L'intégration de données issues de la transcriptomique, de la protéomique et de la génomique comparée permet ensuite d'affiner la liste des gènes candidats et d'établir les liens fonctionnels entre variation génétique et variation phénotypique, ouvrant ainsi la voie à la sélection génomique et à une compréhension plus fine des mécanismes moléculaires impliqués dans la qualité de la fibre.

11. La transcriptomique et la protéomique

La transcriptomique appliquée à la fibre de cotonnier vise à comprendre les profils d'expression des gènes au cours du développement de la fibre, afin d'identifier les gènes différentiellement exprimés durant l'initiation, l'élongation, l'épaississement de la paroi et la maturation des fibres, etc. Les gènes exprimés pendant les phases critiques du développement de la fibre et dont les homologues dans d'autres espèces contrôlent la longueur ou la finesse deviennent des gènes candidats privilégiés.

La transcriptomique consiste à séquencer les ARN messagers (ARNm) extraits des fibres à différents stades en utilisant différentes techniques comme les RNA-Seq (Illumina, PacBio, Nanopore), les Single-cell RNA-Seq, etc. L'analyse transcriptomique (ARN-seq) permet de comparer par exemple les profils d'expression entre variétés à fibres fines et grossières pour cibler les gènes d'intérêt.

La protéomique complète la transcriptomique en identifiant les protéines synthétisées dans la fibre, leur abondance et leurs modifications post-traductionnelles. L'intégration multi-omique, apporte une dimension supplémentaire à l'étude des caractères quantitatifs, elle permet de corrélérer les niveaux d'ARNm et de protéines afin d'identifier les points de régulation post-transcriptionnels.

Par le biais de ces techniques, des facteurs de transcription régulant l'initiation et l'élongation ; de gènes impliqués dans la biosynthèse de la cellulose, des ARN non codants (miRNA, siRNA) contrôlant le développement des fibres. ont été identifiés (Li *et al.*, 2013; Yang *et al.*, 2014 ; Liu, *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2016 ; Nawaz *et al.*, 2017 ; Qin *et al.*, 2017). Les gènes GhEXPA8 régulant l'élongation cellulaire se révèlent particulièrement intéressants pour l'amélioration de la finesse, en effet la surexpression de ces gènes conduit à une production de fibres plus fines chez les génotypes de la finesse (Bajwa *et al.*, 2015 ; Li *et al.*, 2024),

L'analyse de l'expression de ces gènes candidats, leur validation fonctionnelle par des approches moléculaires (transgénèse, mutagenèse ciblée...) sont pour la suite essentielles pour confirmer leur implication dans le contrôle du caractère d'intérêt.

12. La transgénèse

La transgénèse appliquée à l'amélioration des caractères polygéniques de la fibre du cotonnier constitue un domaine de recherche particulièrement complexe. Les propriétés technologiques de la fibre — longueur, finesse, résistance et uniformité — résultent en effet d'interactions entre de multiples réseaux géniques et métaboliques, incluant la biosynthèse de la cellulose, la régulation de la mise en place de la paroi secondaire, les flux énergétiques associés au métabolisme des sucres, la dynamique du cytosquelette et divers chemins de signalisation hormonale. Dans ce contexte, la modification d'un gène isolé ne suffit généralement pas à produire une amélioration durable ou significative, et les stratégies transgéniques doivent cibler des gènes majeurs, des régulateurs clés ou des facteurs de transcription capables de modifier simultanément l'expression d'ensembles de gènes. La manipulation de régulateurs tels que les facteurs de la famille MYB ou HD-Zip constitue une approche particulièrement prometteuse pour moduler de manière coordonnée les processus d'élongation cellulaire et de biosynthèse pariétale.

La complexité des caractères visés a conduit au développement de vecteurs multicassettes permettant d'agir sur plusieurs voies moléculaires de manière simultanée. Néanmoins, l'une des contributions majeures de la transgénèse demeure la validation fonctionnelle des gènes candidats issus des études de QTL ou d'analyses transcriptomiques. En modifiant de manière contrôlée l'expression d'un gène donné, il devient possible d'évaluer son rôle direct dans la formation ou la qualité de la fibre.

Plusieurs travaux ont démontré qu'une modification ciblée de l'expression d'un seul gène peut néanmoins conduire à des améliorations mesurables de caractères tels que la longueur, la résistance ou même le micronaire. Ainsi, l'introduction du gène *GhUGPI* (Uridine Diphosphate Glucose Pyrophosphorylase), fortement exprimé durant l'élongation, a permis d'augmenter simultanément la longueur et la résistance des fibres chez *G. hirsutum* (Jiang *et al.*, 2012 ; Li *et al.*, 2015). De même, l'expression du transgène *35S::expansin* (Mishra *et al.*, 2001) ou des gènes *acsA* et *acsB* d'*Acetobacter xylinum*, impliqués dans la biosynthèse de la cellulose, a conduit à la production de fibres plus résistantes (Li *et al.*, 2004). Par ailleurs, l'introduction du gène *WLIM1a*, qui intervient dans l'organisation des filaments d'actine, a permis d'obtenir des fibres présentant une augmentation de longueur de 5 à 10 % et une réduction du micronaire de 4 à 20 % (Han *et al.*, 2013 ; Bajwa *et al.*, 2015).

Ainsi, même si la transgénèse ne peut à elle seule résoudre l'ensemble des contraintes liées à la nature polygénique des caractères de la fibre, elle constitue un outil précieux en sélection. Elle permet d'intervenir directement sur des voies métaboliques ou régulatrices déterminantes, d'analyser la fonction des gènes candidats et, dans certains cas, d'améliorer efficacement des caractères d'intérêt. À ce titre, elle complète utilement les approches classiques de sélection et ouvre la voie à une amélioration plus fine, plus rapide et mieux ciblée du cotonnier cultivé.

13. La mutagenèse

La mutagenèse constitue une approche complémentaire des méthodes classiques d'amélioration génétique. Elle vise à modifier un gène existant, à altérer sa fonction ou à générer une nouvelle variation allélique, le tout sans nécessairement introduire de séquence exogène. Selon les objectifs, deux stratégies principales peuvent être employées : la mutagenèse aléatoire, qui induit des variations non ciblées dans l'ensemble du génome, et la mutagenèse ciblée, qui permet d'introduire intentionnellement des modifications dans des séquences précises.

13.1. *La mutagenèse aléatoire*

La mutagenèse aléatoire repose sur l'introduction non dirigée de mutations au sein du génome, générant une diversité importante, bien que difficilement prévisible. Les mutations peuvent être induites par des agents chimiques tels que l'éthyl méthansulfonate (EMS) ou l'azide de sodium, ou par des agents physiques comme les rayons gamma, les particules ioniques lourdes ou les UV. Cette approche présente plusieurs avantages : elle permet de créer rapidement une variabilité génétique et n'implique pas l'introduction d'ADN étranger, ce qui permet de s'affranchir des contraintes réglementaires associées à la transgénèse.

Cependant, l'absence de ciblage implique que de vastes populations doivent être criblées afin d'identifier les mutants présentant des phénotypes d'intérêt. Dans le cas du cotonnier allotétraploïde (AADD), la présence de copies homéologues issues des sous-génomes A et D tend en outre à masquer l'expression de mutations simples par des phénomènes de compensation génique, ce qui réduit l'efficacité phénotypique de la mutagenèse aléatoire. Cette dernière peut néanmoins constituer une ressource précieuse pour l'identification de gènes impliqués dans des caractères complexes en amont d'approches de validation fonctionnelle.

13.2. *La mutagenèse ciblée*

La mutagenèse ciblée représente une avancée majeure dans les biotechnologies végétales, en permettant d'introduire des mutations intentionnelles dans des séquences génétiques définies. Elle repose sur l'utilisation de nucléases programmables — principalement les systèmes CRISPR/Cas, mais également les TALENs et les ZFNs — capables de provoquer une cassure double brin à un site spécifique du génome. La réparation naturelle de l'ADN induit alors des insertions, délétions ou substitutions localisées. Cette stratégie permet de moduler de manière précise la structure ou l'expression de gènes d'intérêt, notamment ceux impliqués dans l'élongation cellulaire, la synthèse de cellulose ou l'épaississement de la paroi des fibres.

CRISPR/Cas9 constitue aujourd'hui l'outil d'édition le plus performant chez *Gossypium hirsutum*. Son fonctionnement combine en pratique mutagenèse et

transgénèse : une étape transgénique initiale est nécessaire pour introduire les composants du système, qui induisent ensuite des mutations héréditaires pouvant être conservées même après élimination du transgène. Cette approche offre une résolution fonctionnelle très fine, permettant d'ajuster un caractère complexe ou de valider la fonction d'un gène candidat issu d'études QTL, transcriptomiques ou génomiques.

Des applications réussies ont été rapportées chez le cotonnier pour améliorer la résistance à *Verticillium dahliae* (Zhang *et al.*, 2018 ; Zhu *et al.*, 2022), la tolérance à la sécheresse (Yu *et al.*, 2023) ou pour obtenir des graines dépourvues de gossypol (Li *et al.*, 2021 ; Lin *et al.*, 2023). Concernant la qualité des fibres, l'édition de gènes impliqués dans la croissance cellulaire ou la biosynthèse de la paroi a permis d'obtenir des fibres plus longues, fines ou résistantes (Chang *et al.*, 2023 ; Li *et al.*, 2016).

L'efficacité de CRISPR dépend de la capacité à cibler précisément la séquence souhaitée, du taux de mutations obtenues, de l'absence d'effets hors cible, et de la stabilité héréditaire des modifications. Plusieurs contraintes demeurent toutefois, liées notamment à la polyploïdie allotétraploïde du coton et à la présence de copies homéologues fortement conservées, qui compliquent la conception d'ARN guides spécifiques (Han *et al.*, 2022 ; Peng *et al.*, 2022). Des efficacités d'édition plus faibles sont observées lorsque les séquences cibles sont identiques sur les deux sous-génomes. De plus, Cas12a (Cpf1), bien que prometteur pour l'édition multiplexée, présente des efficacités plus variables. À cela s'ajoutent les difficultés de régénération et les phénomènes de chimérisme, qui peuvent réduire l'efficacité apparente et compliquer l'obtention de lignées uniformément éditées. Les taux d'édition rapportés varient ainsi de 28 à 100 % avec Cas9, autour de 6 % avec Cas12a, et environ 26 % avec nCas9 (Sheri *et al.*, 2025).

Chapitre 2

Objectifs

Objectifs

La culture du cotonnier occupe une place essentielle dans l'économie mondiale. La fibre de cotonnier constitue l'une des principales matières premières végétales de l'industrie textile et son exploitation génère des millions d'emplois, depuis la production jusqu'à la transformation et au recyclage. Compte tenu de cette importance socio-économique, l'amélioration génétique du cotonnier représente un enjeu majeur, visant à développer des variétés performantes combinant productivité, qualité de fibre, résistance aux maladies, aux ravageurs et aux contraintes environnementales.

Dans cette perspective, le présent travail s'inscrit dans l'évaluation du potentiel des lignées monosomiques d'addition issues de croisements entre *Gossypium longicalyx* et *G. hirsutum*. L'objectif principal est d'analyser leur aptitude à introduire dans le cotonnier cultivé des caractères d'intérêt agronomique, et plus particulièrement ceux liés à la finesse de la fibre. Cette démarche s'écarte des approches classiques basées sur la variabilité limitée des espèces tétraploïdes *G. hirsutum* et *G. barbadense*, dont la diversité génétique a été réduite par des siècles de domestication et de sélection. L'utilisation de l'espèce sauvage diploïde *G. longicalyx* (génome F), caractérisée notamment par une fibre fine et résistante malgré sa courte longueur, constitue ainsi une voie originale et prometteuse pour élargir la variabilité disponible pour l'amélioration de la qualité technologique des fibres.

Plusieurs hypothèses ont été formulées pour orienter ce travail. Il est supposé, d'une part, que les espèces sauvages du genre *Gossypium* présentent une diversité génétique largement supérieure à celle observée chez *G. hirsutum*, incluant des allèles favorables à la réduction du diamètre de la fibre. Sur le plan phénotypique, il est attendu que les contrastes morphologiques entre *G. longicalyx* et le coton cultivé se traduisent dans leur descendance par des variations significatives de finesse de fibre permettant l'identification de génotypes d'intérêt. Sur le plan cytogénétique, l'hypothèse est posée que les hybrides interspécifiques présentent un comportement méiotique suffisamment régulier pour permettre des recombinaisons efficaces entre chromosomes des deux espèces et conduire à une introgression stable de gènes d'intérêt. De plus, il est envisagé que la technique d'hybridation génomique in situ (GISH) permette de détecter avec précision les chromosomes ou fragments chromosomiques sauvages introgressés et d'établir leur association éventuelle avec des modifications du diamètre de la fibre. Enfin, au niveau moléculaire, il est attendu que les marqueurs microsatellites (SSR) permettent d'identifier les polymorphismes associés à la finesse, de caractériser la diversité génétique entre l'espèce sauvage et l'espèce cultivée, et de suivre l'introgression des allèles favorables au sein des lignées hybrides.

Afin de vérifier ces hypothèses, cette étude a consisté à caractériser sur les plans morphologique, cytogénétique et moléculaire, les génotypes créés selon le schéma repris figure 7 dans le but :

- de confirmer ou non leur nature monosomique à partir de critères morphologiques (chapitre 3);
- d'établir leur caryotype par le comptage du nombre de chromosomes (chapitre 3);
- d'observer leur comportement méiotique afin d'analyser les possibilités de

recombinaison entre chromosomes de *G. longicalyx* et de *G. hirsutum* (chapitre 2);

- d'identifier, à l'aide de la technique GISH, les chromosomes ou fragments de chromosomes de *G. longicalyx* présents dans le fond génétique cultivé et de confirmer l'introgression de chromatine sauvage (chapitre 2);
- de suivre l'introgression des chromosomes ou fragments chromosomiques de *G. longicalyx* au moyen de marqueurs microsatellites (SSR) dans les génotypes montrant une amélioration de la finesse de la fibre (chapitre 2).

- et enfin de caractériser la finesse de la fibre des génotypes présentant des signes d'introgressions par la mesure de la largeur du ruban et d'identifier les génotypes présentant une modification significative (chapitre 3);

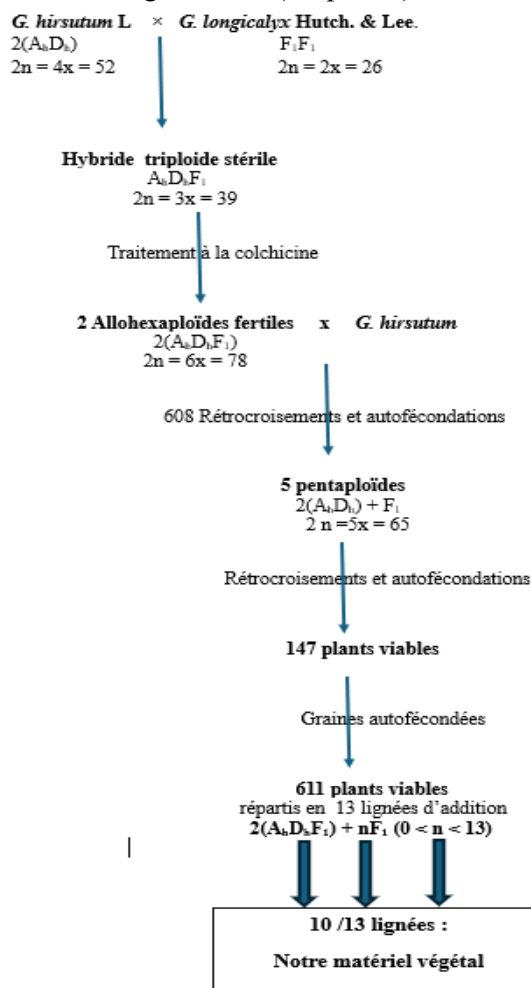


Figure 7. Schéma d'obtention des LMA par le Cirad

Chapitre 3

Introduction of East African diploid cotton
genetic variation into Upland cotton

Introduction of East African diploid cotton genetic variation into Upland cotton

Objectif de ce chapitre :

Le chapitre premier a présenté la fibre de cotonnier et les fondements biologiques et génétiques de la finesse. Nous y avons décrit les principaux facteurs influençant ce caractère, ainsi que les potentialités qu'offrent les espèces du genre *Gossypium* pour l'introggression de gènes d'intérêt dans le génome de *G. hirsutum*. Nous avons également mis en évidence l'apport des approches moléculaires modernes, telles que la transgénèse et l'édition génomique, à l'amélioration de la finesse de la fibre.

Il ressort de cette synthèse que la finesse, caractère technologique majeur de la qualité de la fibre, présente une hérédité modérée à élevée et peut être améliorée par sélection. Toutefois, contrairement à ce qui a longtemps été admis, ce caractère n'est pas strictement déterminé par la génétique : les conditions environnementales prévalant durant la croissance et le développement des fibres influencent également leur finesse. Par ailleurs, les nombreux QTL identifiés dans différentes études — répartis selon les cas sur un à huit chromosomes — confirment le déterminisme polygénique de la finesse.

Sur ces bases, le présent chapitre expose les résultats relatifs à la caractérisation de dix lignées monosomiques d'addition issues de croisements entre *G. longicalyx* et *G. hirsutum*. Dans un premier temps, des observations morphologiques ont permis d'évaluer leur nature monosomique ou non, la présence d'un chromosome additionnel se traduisant parfois par des modifications phénotypiques visibles. Les analyses cytogénétiques et moléculaires — incluant le comptage du nombre de chromosomes, l'évaluation de la fertilité pollinique, l'observation du comportement méiotique et la technique de GISH (Genomic *in situ* Hybridization) — ont ensuite permis de confirmer ou d'infirmer ces hypothèses fondées sur des observations initiales. Enfin, l'utilisation de marqueurs microsatellites (SSR) a permis de suivre l'introggression de fragments chromosomiques de l'espèce sauvage au sein du génome cultivé.

Le contenu de ce chapitre s'appuie sur la publication suivante :
Nacoulima N., Diouf F.B.H., Konan O., Lassois L. (2024). *Introduction of East African Diploid Cotton*. *Journal of Agricultural Science*, 16(9). DOI : 10.5539/jas.v16n9p19.

Introduction of East African diploid cotton genetic variation into Upland cotton

Nafissatou Lalaissa Nacoulima¹, Fatimata Hassedine Diouf¹, Olivier N'guessan Konan², Ludivine Lassois¹

¹ Plant Genetics and Rhizosphere Processes Lab, Terra Research Center, Gembloux Agro-Biotech, University of Liège, Gembloux, Belgium

² Université Jean Lorougnon Guédé, Daloa, Côte d'Ivoire

³ ISRA Institut Sénégalais de recherche Agricole, Bel-air, Route Des Hydrocarbures, Bp 3120, Dakar, Sénégal

Corresponding author: Nafissatou Nacoulima, Plant Genetics and Rhizosphere Processes Lab, Terra Research Center, Gembloux Agro-Biotech, University of Liège, Gembloux, Belgium. Tel: 32-485-200-828. E-mail: nacoulima@gmail.com

Journal of Agricultural Science; Vol. 16, No. 9; 2024
ISSN 1916-9752 E-ISSN 1916-9760
Published by Canadian Center of Science and Education

Introduction of East African Diploid Cotton Genetic Variation Into Upland Cotton

Nafissatou Lalaissa Nacoulima¹, Fatimata Hassedine Diouf¹, Olivier N'guessan Konan² & Ludivine Lassois³

¹ Plant Genetics and Rhizosphere Processes Lab, Terra Research Center, Gembloux Agro-Biotech, University of Liège, Gembloux, Belgium

² Université Jean Lorougnon Guédé, Daloa, Côte d'Ivoire

³ Terra Research Center, Plant Genetics and Rhizosphere Processes Lab, Gembloux Agro-Biotech, University of Liège, Gembloux, Belgium

Correspondence: Nafissatou Nacoulima, Plant Genetics and Rhizosphere Processes Lab, Terra Research Center, Gembloux Agro-Biotech, University of Liège, Gembloux, Belgium. Tel: 32-485-200-828. E-mail: nacoulima@gmail.com

Received: June 6, 2024

Accepted: July 25, 2024

Online Published: August 15, 2024

doi:10.5539/jas.v16n9p19

URL: <https://doi.org/10.5539/jas.v16n9p19>

1. Résumé

L'espèce de cotonnier diploïde sauvage africain, *Gossypium longicalyx* Hutch. & Lee. ($2n = 2x = 26$, F_1F_1) présente de nombreux caractères intéressants qui peuvent être introduits dans *Gossypium hirsutum* pour améliorer sa base génétique qui est considérée étroite. Afin d'évaluer la possibilité d'utiliser des lignées d'addition allogène monosomique (LMA) de *G. longicalyx* sur *G. hirsutum* dans un programme de sélection interspécifique, la progéniture de dix MAAL a été caractérisée. Le comptage des chromosomes a permis d'identifier la présence d'un chromosome étranger dans 9 des 10 lignées étudiées. L'analyse des configurations chromosomiques en métaphase a montré la présence d'associations multivalentes impliquant le chromosome surnuméraire de *G. longicalyx*, indiquant l'occurrence d'une recombinaison entre les chromosomes de *G. longicalyx* et de *G. hirsutum*. L'utilisation de marqueurs microsatellites a fourni des preuves d'introgressions multiples de l'ADN de *G. longicalyx* dans l'espèce receveuse. L'analyse SSR a montré que seuls quatre chromosomes étrangers surnuméraires différents étaient présents chez les LMA étudiées. Ces résultats confirment la faible distance génétique existant entre les chromosomes de *G. longicalyx* et ceux du sous-génome A_h . Ils mettent en évidence les opportunités et les contraintes liées à l'utilisation de *G. longicalyx* dans un programme de sélection du cotonnier cultive.

2. Abstract

The African wild diploid cotton species, *Gossypium longicalyx* Hutch. & Lee. ($2n = 2x = 26$, F_1F_1) presents many valuable traits that can be introduced into *Gossypium hirsutum* to enhance its narrow genetic basis. To assess the possibility of using monosomic alien addition line (MAAL) of *G. longicalyx* in *G. hirsutum* in an interspecific breeding program, the progeny of ten MAALs was characterized. Chromosome counting allowed to identify the addition of single alien chromosome in 9 of the 10 lines studied. The analysis of the chromosome configurations at metaphase showed the presence of multivalent associations involving the supernumerary chromosome of *G. longicalyx*, indicating the occurrence of recombination between the *G. longicalyx* and *G. hirsutum* chromosomes. The use of microsatellite markers provided evidence of multiple introgressions of *G. longicalyx* DNA in the recipient species. It appeared from the SSR analysis that only four different supernumerary alien chromosomes were present in the studied MAALs. These results confirm the low genetic distance existing between the chromosomes of *G. longicalyx* and those of A_h sub-genome. They highlight the opportunities and constraints associated with the use of *G. longicalyx* in a breeding program of upland cotton.

Keywords: cotton, *Gossypium hirsutum*, monosomic alien addition line, *G. longicalyx*

3. . Introduction

Upland cotton belongs to the Malvaceae family and to genus *Gossypium* which consists of about 5 allotetraploid species ($2n = 4x = 52$) and more than 45 diploid species ($2n = 2x = 26$) (Fryxell *et al.*, 1992; Percival *et al.*, 1999; Ulloa *et al.*, 2007). They are distributed in 9 genomic types AD, A, B, C, D, E, F, G, and K (Percival *et al.*, 1999). *Gossypium* species are classified in gene pools depending on the fluency with which genes could be transferred from them to *G. hirsutum*. The primary gene pool contains all the *Gossypium* allotetraploids (2AD). Among these species, crosses are easy and the recombination frequencies are high. The secondary pool consists of A, D, B and F diploid genomes. A, B and F genomes are genetically close to A subgenome of AD cotton while D genome is directly related to D subgenome. Once a fertile hybrid is produced, these genomes have a relatively high recombination frequency. The crosses with the tertiary gene pool including C, E, G, K genome *Gossypium* species are difficult with low recombination rate (Mergeai, 2006).

The diversity of the *G. hirsutum* germplasm base is narrow because of its domestication (Brubaker *et al.*, 1999) and intensive selection for yield, early maturity and cultivation adaptation (May, 1999). Species belonging to primary, secondary, and tertiary gene pools constitute interesting sources of diversity. The sole F-genome species, *Gossypium longicalyx* can provide many desirable traits, such as a finer, longer and stronger fiber, with a resistance to drought and immunity to the reniform nematode *Rotylenchulus reniformis* Lind. & Oliveira (Demol *et al.*, 1978; Yik & Birchfield, 1984; Robinson *et al.*, 2005). *G. longicalyx* is geographically close to a point of the A genome area of extension; they both present similar chromosome and genome sizes. Considering the high number of bivalents counted in $AD \times F$ allotriploid, recombination is expected to take part with the chromosomes of the A subgenome more than with those of the D subgenome. The genomes of *G. longicalyx* and *G. hirsutum* may have a relatively high recombination frequency once a fertile hybrid is produced (Stewart, 1995).

Many attempts have been made to complete introgression of the economic traits of *G. longicalyx* into *G. hirsutum* (Phillips & Strickland, 1966; Demol, 1978; Koto, 1983; Frerich, 1995) through the exploitation of monosomic alien addition lines (MAALs) exploitations.

MAALs carry one chromosome of the wild species in the genetic background of *G. hirsutum*. They provide valuable material for gene introgression and study (Peterka *et al.*, 2004; Fang *et al.*, 2004; Becerra Lopez-Lavalle *et al.*, 2007; Fu *et al.*, 2012). Introgressions have been pursued and achieved using MAALs in many crops such as wheat (Kong *et al.*, 2008), rice (Jena et Khush, 1990; Multani *et al.*, 2003), sugar beet (Gao et Jung, 2002) and cucumber (Chen *et al.*, 2004). In the genus *Gossypium*, the development of MAALs has been reported from the following species. In the genus *Gossypium*, the development of MAALs has been reported from the following species: *G. stocksii* (Schewdiman, 1978; Hau, 1981); *G. anomalum* (Hau, 1981), *G. longicalyx* (Koto, 1983), *G. sturtianum* (Rooney & Stelly, 1991), *G. areysianum*

(Mergeai *et al.*, 1993), *G. sturtianum* (Ahoton *et al.*, 2003), *G. somalense* (Zhou *et al.*, 2004), *G. sturtianum* (Sarr *et al.*, 2011) and *G. anomalum* (Meng *et al.*, 2020)..

The objective of this work is i) to confirm the karyotype of the putative MAALs, and ii) to monitor the introgression of *G. longicalyx* chromosome fragments in the progenies of these stocks using SSR markers.

4. Materials and Methods

4.1. Plant Material

The plant material consisted of the following genotypes:

i) A variety of Congolese origin *G. hirsutum* L.: cultivar C2 ($2n = 4x = 52$, $A_hA_hD_hD_h$) (G107) and the accession G17 of *G. longicalyx* ($2n = 2x = 26$, F_1F_1) (G17) both present in the collections of Gembloux Agro Biotech's greenhouses were used for the creation of the allohexaploid (*Gossypium hirsutum* L. $\times$ *Gossypium longicalyx*)² (G368) by Koto (1983) according to the aphyletic introgression method (Figure 8) (Mergeai, 2003).

ii) The selfed progeny of the allohexaploid (*Gossypium hirsutum* L. $\times$ *Gossypium longicalyx*)² (G368).

iii) The selfed progeny of the 10 MAALs (monosomic alien addition lines), numbered I to XII, obtained by Koto (1983) in the progeny of the bispecific hexaploid (*G. hirsutum* cv. C2 $\times$ *G. longicalyx*)² (G368) that was created in Gembloux according to the aphyletic introgression scheme (Figure 8) (Mergeai, 2003). This plant material was provided by the gene bank of CIRAD (France).

G numbers correspond to the classification of the accessions and hybrids in the Gembloux Agro-BioTech Cotton Gene Bank (Maréchal, 1983).

The numbering of chromosomes was established from the phenotypic correlation between the isolated types and those of *G. anomalum* and *G. stocksii* MAALs described by Poisson (1970), Schwendiman (1978) and Hau (1981).

The progenies of MAALs (MAAL I to X) were pre-germinated in steam at 30 °C for 48 hours and then grown in pots in the Gembloux Agro-BioTech greenhouses where no effective control of the growing conditions was possible; light, temperature and relative humidity were mostly influenced by outside conditions and were very variable. The relative humidity was 25-45%, and the temperature in the greenhouse varied from 25 °C to 55 °C during the day and from 18 °C to 35 °C at night.

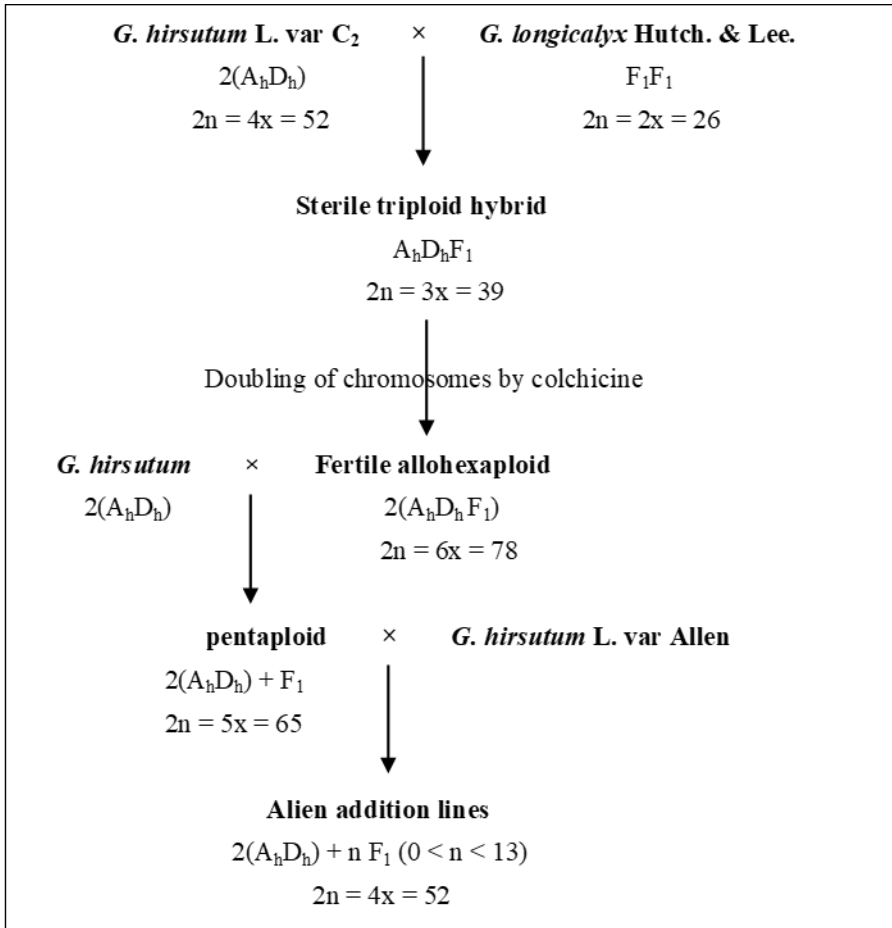


Figure 8. Scheme of the aphyletic method

4.2. DNA Extraction

Total genomic DNA was extracted from the young leaves of the two parents, *G. hirsutum* and *G. longicalyx*; the allohexaploid; and the MAAL progeny as described in the protocol of Benbouza *et al.* (2006). Total genomic DNA was extracted with chloroform isoamyl alcohol (24:1) and precipitated with isopropanol. Each extracted DNA pellet was suspended in 50 µl TE and incubated overnight at room temperature before being stored at -20 °C.

4.3. SSR Genotyping

The microsatellite (SSR) markers used in this study were developed at Brookhaven National Laboratory (prefix BNL) and at CIRAD (prefix CIR). The SSR markers were

tested on the plant material in order to monitor the introgression of *G. longicalyx* chromosome fragments in *G. hirsutum* genetic background. Total genomic DNA was extracted from young leaves of the plant material. PCR amplification was performed with PTC 100 and 200 Thermal Cyclers following the protocol by N'guyen *et al.* (2004).

After the addition of 10 µl of loading buffer (98% formamide, 10 mM EDTA, bromophenol blue, and xylene cyanol), the PCR products were denatured at 92 °C for 2 min. Then, 5 µl of each sample was loaded onto a 6% polyacrylamide gel with 7.5 M urea and electrophoresed in 1X TBE buffer at 110-120 W. Amplified SSR products were revealed by a silver staining technique (Benbouza *et al.*, 2006). Each of the thirteen linkage groups was screened with a minimum of five SSRs, except for the chromosome C3-C17, C9-C23, C11-C18 and C13-21, for which 3 SSR were used. Eighty-five pairs of SSR primers reported by N'guyen *et al.* (2004) were tested on the plant material.

4.4. Cytogenetic Identification

4.4.1. Mitotic Observations

Freshly emerged root tips were used to determine the chromosome number of plants according to the protocol of D'hont *et al.* (1995). Chromosomes were counted in mitotic cells at metaphase. Young roots were excised and treated in 0.04% hydroxyquinoline at room temperature for 4 hours in the dark. The roots were fixed at metaphase in ethanol/glacial acetic acid (3:1) for 48 hours. Then, the roots were stored in 70% ethanol at 4 °C. After being washed in distilled water, the roots were hydrolyzed in hydrochloric acid and washed in distilled water and citrate buffer. The root tips were subjected to enzymatic maceration in an enzyme (5% cellulose Onozuka R-10, 1% pectolyase Y-23 in citrate buffer) at 37 °C for 1 hour. The tissues were then squashed onto slides in fresh fixative (3:1 ethanol:acetic acid). Chromosome preparations were air dried and stained with 4', 6-diamidino-2-phenylindole (DAPI)/VECTASHIELD before visualization and chromosome counting with a fluorescent light microscope.

4.4.2. Meiotic Observation

Meiotic analysis was performed on the pollen mother cells. Flower buds were selected, fixed in fresh Carnoy's II fluid (glacial acetic acid 1: chloroform 3: and ethanol 6) for 72 hours at 4 °C and then stored in 70% ethanol at 4 °C until analysis. Stamens were lacerated, and anthers were stained with 1.5% acetocarmine solution on a microscope slide. Chromosome staining was enhanced by heating up the sample between slide and coverslip over a flame. Chromosome analyses were performed at metaphase I with a Nikon Eclipse E800 photomicroscope (Nikon, Tokyo, Japan) under oil immersion.

4.4.3. Genomic *in situ* hybridization

GISH (genomic *in situ* hybridization) was performed to identify the chromosomes or chromosome segments of the wild species *G. longicalyx* in the background of *G.*

hirsutum. Mitotic chromosome preparations as described above were used. For genomic DNA probe preparation, total genomic DNA was extracted according to the protocol of Murray and Thomas (1980), as modified by Vroh bi *et al* (1996). DNA from *G. longicalyx* was labelled by nick translation with digoxigenin-11-dUTP (Roche Biochemicals), and biotin-14-dATP (Invitrogen Life Technologies) was used for *G. hirsutum* labelling. Analysis was performed according to the methods of D'Hont *et al.* (1995). Mitotic metaphase chromosome preparations as described above were used. The preparations were denatured successively in 2 baths of 2 SSC for 10 min, in 70% formamide at 72°C for 2 min 30 s and dehydrated through ethanol series (50%, 70%, 100%) for 5 min at -20°C each and air-dried at room temperature for 20 min. The hybridization mixture for each slide consisted of 100% formamide, 20% SSC, 20% SDS, and 50% dextran sulfate; The 250 ng of labelled DNA was denatured at 100 °C for 10 min and then applied as for chromosome preparation, covered by cover slip, and incubated for hybridization overnight at 37 °C in a moisture chamber. Slides were successively placed in 2 SSC, 0,5 SSC and 0,1 SSC at 42°C and in 2 SSC for 10 min at room temperature. Slides with labelled probes were stained with DAPI. Biotin-14 dATP labelled probes were detected by Texas Red Avidin conjugate (Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA) and digoxigenin-11-dUTP probes were detected by fluorescein isothiocyanate (FITC). Chromosomes were counterstained with DAPI/VECTASHIELD. Slides were screened, and images were photographed with a Nikon Eclipse E800 epi-fluorescence microscope with suitable filters and fitted with a JVC KY-F 58E camera. Images were combined and processed with PhotoStudio 2000 and Paint Shop Pro 7 software.

5. Results

5.1. Morphological Traits of the MAALs

From seed setting and seedlings observed with the seed samples received from CIRAD are summarized in Table 3. The average germination rate of the seeds was high (70%), and the survival rate of the germinated seed was 52%. Most of the plants presented the morphological traits of *G. hirsutum* (i.e., putative 4x euploid plants with 52 chromosomes), and the other plants (38.5 %) had a distinctive phenotype (i.e., putative 4x + 1 monosomic addition plants with 53 chromosomes and putative 4x euploid plants carrying introgressed fragments). We noticed that plants of same and different lines presented a heterogenous development, particularly, plants of MAAL F₁ IX have a very slow growth rates (Figure 9). The morphological characters of the MAAL progeny, such as the leaf color, leaf shape, lobule number, shape and size of boll, and flowers, were observed (Table 4).

Table 3. MAALs seed germination and plant development

Putative MAALs	F _I I	F _I II	F _I III	F _I IV	F _I V	F _I VI	F _I VII	F _I VIII	F _I IX	F _I X
No. seeds sown	14	35	32	22	29	10	19	30	25	13
No. germinated seed (%)	10(71)	25(71)	26(81)	11(50)	23(79)	8(75)	11(58)	21(70)	14(56)	10(77)
No. plants grown (%)	4(40)	19(76)	11(42.3)	7(63.7)	19(82.6)	4(50)	2(18.2)	8(38)	2(14.3)	7(70)
No. (%) plants with <i>G. hirsutum</i> phenotype	1(25)	21(100)	9(64.28)	5(71.42)	7(33.33)	2(50)	7(70)	2(14.28)	4(80)	4(66.66)
No. (%) 53 chromosomes plants corresponding to the phenotype described by Koto 1983	1(25)	0	4(28.57)	1(14.28)	14(61.9)	2(50)	2(20)	12(71.42)	1(20)	2(33.33)
No. (%) 53 chromosomes plants with another phenotype					1(4.76)					

No. (%) 52 chromosomes introgressed plants	2(50)	0	3(21.42)	1(14.28)	0	0	1(10)	2(14.28)	0	0
No. of plants with a determined karyotype	4	21	16	7	21	4	10	16	5	6

Note. 1 Number of plants followed by the frequency (%).

Table 4. MAALs morphological traits

Genotype	Morphological features
<i>G. hirsutum</i> var Allen	Few vegetative branches, leaves with 3-5 lobes, white flower, rounded 4- to 5-celled boll.
<i>G. hirsutum</i> var C2	A shrub with leaves with 3-5 lobes, round or ovoid 3- to 5-celled boll
<i>G. longicalyx</i>	Crawling shrub, slender stem, pollen color deep yellow, leaves deeply divided triangular lobes, ovoid boll elongated with acute tip, 3 locules, 2 to 3 seeds per locule
Hexaploid	Crawling shrub, dark green small leaves, small ovoid boll with 3 lobes
MAAL F ₁ I	Small plant, well-branched, small and dark-green leaves with 3-5 lobes, globular boll
MAAL F ₁ II	Glabrous plant, many small leaves with 3-5 acute lobes, rounded three- or four-celled boll
MAAL F ₁ III	Slender stem, little branching, large leaves with 4-5 lobes, abundant anthers and pollen, few bolls produced, large amount of cottonseed per boll, ovoid capsule
MAAL F ₁ IV	Globular plant, few fruiting branches, small leaves, capsule globular and pointed
MAAL F ₁ V	Small plant, small leaves, slow growing, round boll
MAAL F ₁ VII	Light green leaves with 3-5 lobes, few fruiting branches, few bolls produced
MAAL F ₁ VIII	Small bushy plant, many vegetative branches, light green leaves with 3 lobes, small round boll with 3-4 locules
MAAL F ₁ IX	Slow-growing plant, large leaves with 5-7 lobes, low pollen production, short fruiting branches
MAAL F ₁ XI	Dark green leaves with 3-5 lobes, many vegetative branches, few small bolls, large number of cottonseeds

MAAL F ₁ XII	Slender stem, small leaves with 3 lobes, few fruiting branches, large number of small globular bolls
-------------------------	---



Figure 9. Morphology of the monosomic alien addition lines.

a) MAAL F₁ IX-6; b) MAAL F₁ III-1; c) MAAL F₁ III-10; d) MAAL F₁ VIII-4.

5.2. Cytogenetic Analysis

Classical cytogenetic analysis revealed plants with either 52, 53 or 54 chromosomes per cell (Figure 10). The chromosome number is shown in Table 5. The highest frequency of plants was found with chromosome number $2n = 52$. A large number of plants (41.3%) carried a supernumerary chromosome identify ($2n = 53$) (MAAL F₁ II, MAAL F₁ III, MAAL F₁ IV, MAAL F₁ VIII, MAAL F₁ XI, MAAL F₁ XII). The transmission rates varied widely among the MAALS, MAAL F₁ III showed the highest frequency of plants with 53 chromosomes (71.43%), followed by MAAL F₁ V and MAAL F₁ VIII (66.66%). No MAAL was isolated for MAAL F₁ II. Of the ten lines analyzed, an extra chromosome was found in the mitotic plates of plants belonging to 9 lines (Table 6). In total, the highest frequency of plant was found with chromosome number $2n = 52$ (56%), followed by $2n = 53$ (33%). Some plants exhibiting a

particular phenotype such as a slender steam, large leaves, small bushy plant, small boll was found to carry $2n = 52$ chromosomes (10%).

Table 5. Frequency of chromosome number in the MAAL progenies

Line	Number of plants observed	Frequency of plants (%)			
		Chromosome number			
		52	52 with particular phenotype	53	54
MAAL F ₁ I	4	25	50	25	
MAAL F ₁ II	21	100		0	
MAAL F ₁ III	14	64.28	21.42	28.57	7.14
MAAL F ₁ IV	7	71.42	14.28	14.28	
MAAL F ₁ V	21	33.33		66.66	
MAAL F ₁ VII	4	50		50	
MAAL F ₁ VIII	10	70	10	20	
MAAL F ₁ IX	17	14.28	14.28	71.42	
MAAL F ₁ XI	5	80		20	
MAAL F ₁ XII	6	66.66		33.33	
Total	109	56.10	10.28	33	0.72

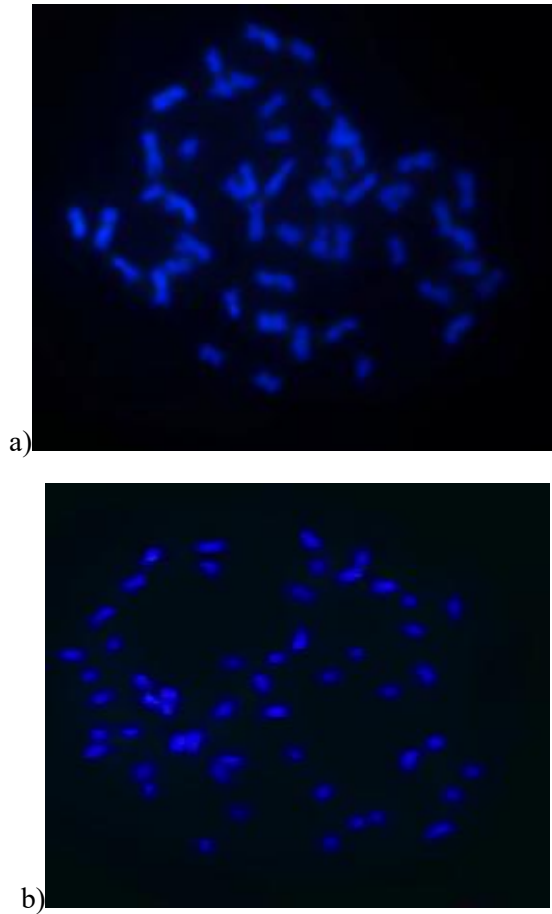


Figure 10. Chromosomal configuration at the somatic metaphase

. a) 52 chromosomes revealed by counterstaining with DAPI (X1000); b) 53 chromosomes revealed by counterstaining with DAPI ($\times 1000$)

We were concerned by the pairing of the chromosomes at metaphase I and how that might affect the recombination rate, which needed to be sufficient for introgression to occur between the alien chromosome and the recipient species *G. hirsutum*. The karyotype of the MAALS ($2n = 53$) and the euploids ($2n = 52$ chromosomes) presenting the introgressed phenotype were confirmed by chromosome counts in the PMCs at metaphase I (Figure 11). Meiotic analysis was undertaken on *G. hirsutum* as control. While the division was expected to be synchronized in the anther, we observed in MAAL progenies cells presenting different stages of development in the same anther, revealing that PMC meiosis was asynchronous.

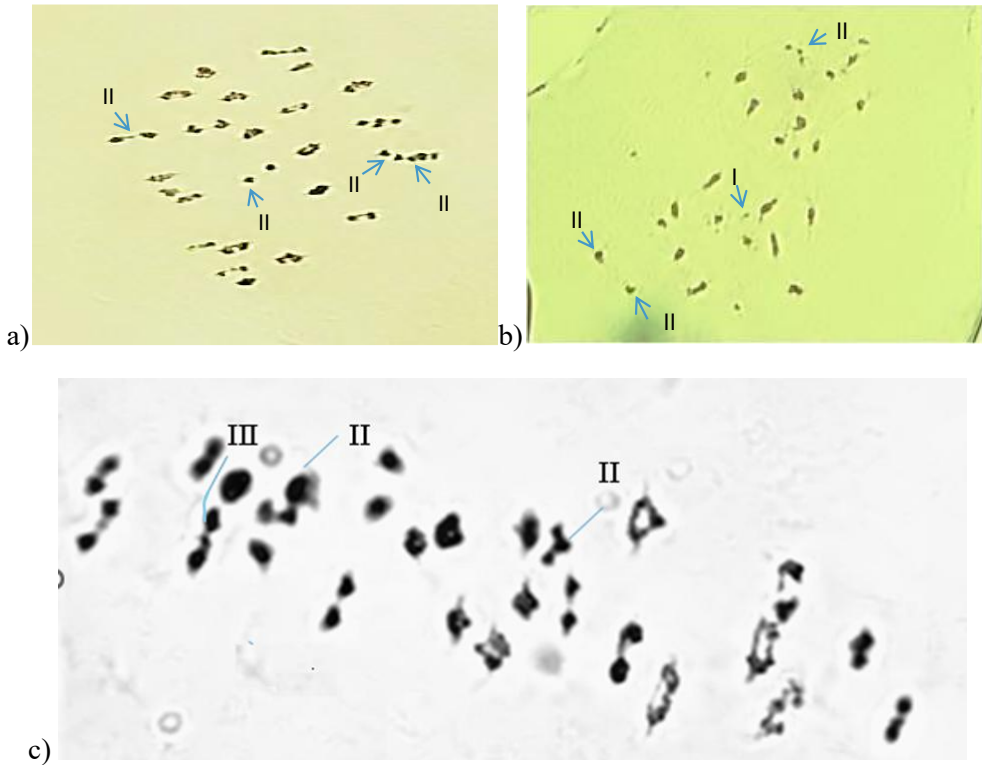


Figure 11. Meiotic metaphase plates

a) *G. hirsutum* (52 chromosomes): 26 bivalents ($\times 600$); b) MAAL F₁ XII-4 (53 chromosomes): 26 II + 1I; c) MAAL F₁ III-1 (53 chromosomes): 25II + 1III

G. hirsutum and euploid plants showed 26 bivalents at metaphase 1 (Figure 11a).

The MAALs presented variable associations with univalents, bivalents and multivalents (Figures 11b and 11c). In most cases, the MAALs presented 26 bivalents and 1 univalent. The trivalent configurations involving 2 chromosomes of *G. hirsutum* and the extra chromosome belonging to *G. longicalyx* were few (Table 6). Most chromosomes presented a loop configuration, but we also observed linear pairing.

Table 6. Mean meiotic chromosome configurations in bispecific hybrids of *Gossypium*

Génotype	Genomic formulae	Chromosome number	Number of plates	Chromosome configuration						
				I	II	III	IV	V	VI	VII
Triploïde ^a	ADF	39		22.5	6.78	0.93	0.09	0.01	0	0
Hexaploïde ^a	2(A _h D _h F ₁)a	78	-	1.47	35.28	0.28	1.22	0.03	0.02	0
Hexaploïde ^b	2(A _h D _h F ₁)b	78	-	2.04	35.75	0.33	0.8	0.03	0.02	0
MAAL II # 10	2(AD) _h + 1	53	13	0.77	25.62	0.23	0.08	0	0	0
MAAL II # 8	2(AD) _h	52	23	0.26	25.65	0.09	0.04	0	0	0
MAAL III # 2	2(AD) _h + 1	53	8	0.38	25.38	0.63	0	0	0	0
MAAL IV # 3	2(AD) _h + 1	53	20	0.7	25.6	0.3	0.05	0	0	0
MAAL VII # 3	2(AD) _h + 1	53	7	0.71	25.71	0.29	0	0	0	0
MAAL IX #2	2(AD) _h	52	20	0.1	25.85	0	0.05	0	0	0
MAAL IX # 6	2(AD) _h + 1	53	9	0.78	25.78	0.22	0	0	0	0
MAAL XI # 1	2(AD) _h + 1	53	22	0.91	25.36	0.45	0	0	0	0
MAAL XII # 6	2(AD) _h + 1	53	21	0.71	25.62	0.29	0.05	0	0	0

Note. a Phillips and Strickland (1966), Schwendiman *et al.* (1980); b Koto (1983)

GISH analyses were performed on plants carrying a supernumerary chromosome ($4x+1 = 53$). This analysis confirmed the presence of a single chromosome addition of *G. longicalyx*, with a complete set of 52 chromosomes of *G. hirsutum*. No recombination has been put in evidence.

5.3. *Molecular Analysis by SSR Markers*

Plants with $2n = 53$ and plants with $2n = 52$ that presented an introgressed phenotype were used for further characterization.

All primers used in this study were initially used to screen for genetic polymorphism between the parental species *G. longicalyx* (F1) and *G. hirsutum* (AD1). We observed that 34 SSRs were monomorphic. The remaining 51 SSRs presented an unequivocal polymorphism (60 % of the primers) between the parents and were used to determine the presence of specific chromosomes of *G. longicalyx* in the MAAL progeny. The plants were analyzed with at least two specific chromosome markers for each of thirteen linkage groups: 31 of the polymorphic SSRs could not be found in the MAALs, 1 was absent in both the hexaploid and the MAALs, 12 showed the presence of *G. longicalyx* alleles in the MAALs and the introgressed euploids, and the remaining were inconclusive (Table 7).

Table 7. Segregation of SSR polymorphic loci in the alien addition lines

Linkage Groups	Polymorphic loci	Alien additions lines									
		MAAL F ₁ I	MAAL F ₁ II	MAAL F ₁ III	MAAL F ₁ IV	MAAL F ₁ V	MAAL F ₁ VII	MAAL F ₁ VIII	MAAL F ₁ IX	MAAL F ₁ XI	MAAL F ₁ XII
C1-C15	BNL1693	-	-	-	-	-	-	-	X	-	-
	CIR009	-	-	-	-	-	-	-	X	-	-
	CIR222	x	-	x	x	-	-	-	x	x	x
	BNL530	x	-	x	-	-	-	-	x	x	x
	BNL4030	x	-	x	-	-	x	-	x	x	x
C6-C25	BNL3594	-	-	x	-	x	-	-	-	-	x
	BNL3103	-	-	x	-	-	-	-	-	-	-
	BNL1153	-	x	-	-	-	-	-	-	-	-
	BNL1417	-	-	x	-	-	-	-	-	-	-
	BNL1047	-	-	x	-	-	-	-	-	-	-
C7-C16	CIR141	-	x	-	-	-	-	-	-	-	-

C10- C20	BNL256	-	-	-	-	-	X	X	-	-	-
-------------	--------	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

Note. X: presence of *G. longicalyx*-specific locus marker; -: absence of *G. longicalyx*-specific locus marker.

An example of SSR electrophoresis profile of the primer BNL4030 showing allele of *G. longicalyx* present in the MAAL progeny is illustrated in Figure 12. None of the *G. longicalyx*-specific SSR markers located on the C2-C14, C3-C17, C5-C19, C8-C24, C9-C23, C11-C21, C12-C26, and C13-C18 were found in the MAALs progeny.

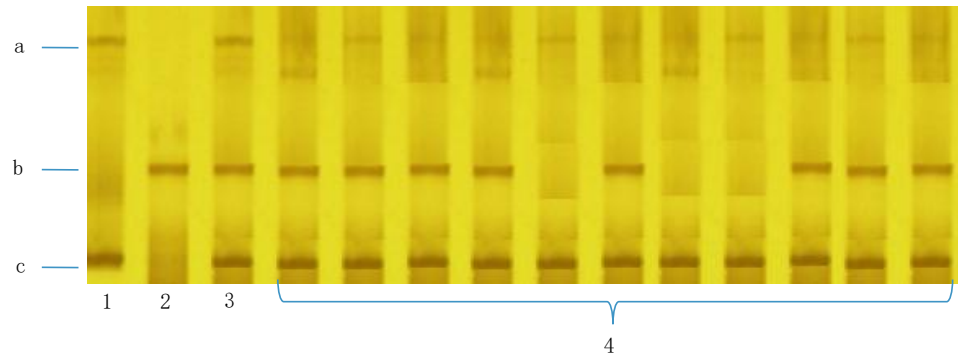


Figure 12. SSR electrophoresis profile of the primer BNL4030 showing allele of *G. longicalyx* present in the MAAL progeny.

1) *G. hirsutum*; 2) *G. longicalyx*; 3) hexaploid (*G. hirsutum* × *G. longicalyx*); and 4) MAAL progeny. a-c: *G. hirsutum*-specific alleles; b: *G. longicalyx*-specific alleles

;

6. Discussion

The transfer of agronomic traits from wild to cultivated species is laborious due to the genetic distance between the species. Many attempts have been made to isolate monosomic alien addition lines of diploid *Gossypium* species in *G. hirsutum*. These works used classical cytogenetic analysis combined with morphological observations (Hau, 1981; Koto, 1983; Rooney & Stelly, 1991; Mergeai, 1992). Using new methods, such as molecular genetic markers and molecular cytogenetic techniques, Zhou *et al.* (2004) isolated two MAALs of *G. somalense* in *G. hirsutum* (Ahoton *et al.*, 2003; Sarr *et al.*, 2011; Chen *et al.*, 2014).

Respectively identified six, five and thirteen of the possible MAALs of *G. australe* chromosomes in *G. hirsutum*, Meng *et al.* (2020) reported the development of a complete set of 13 MAALs of *G. anomalum* in *G. hirsutum*.

The difficulty in obtaining MAALs is in the triploid hybrid sterility and the production of first generation derivatives from pentaploids. Fertility is restored by colchicine treatment, and MAALs are obtained by repeated backcrossing of the hexaploid to *G. hirsutum*, followed by selection. In this study, pre-zygotic barriers can explain the low seed set observed in some MAALs.

A large proportion of the plants presenting a distinctive phenotype were found to be MAAL or euploid plants carrying introgressed fragments. The effect of single supernumerary chromosome on phenotype has been reported in cucumber (Chen *et al.*, 2004), allium (Vu *et al.*, 2012) and cotton (Hau, 1981; Koto, 1983; Mergeai, 1992; Ahoton, 2002; Sarr *et al.*, 2012; Chen *et al.*, 2014).

A low transmission of the alien chromosome was observed in all MAALs except for MAAL F₁ IX, MAAL F₁ V and MAAL F₁ VII carrying SSR markers associated respectively to the C1-C15, C4-C22 and C6-C25 linkage groups. The average alien chromosome transmission in this study was 33% (Table 8). The average alien chromosome transmission in the self-progeny of 3 MAALS of *G. sturtianum* in *G. hirsutum* was 23% (Rooney & Stelly, 1991). Two MAALS of *G. areysianum* in *G. hirsutum* presented an alien chromosome transmission of 52% (Mergeai, 1992).

Working on alien addition lines from *G. australe* in *G. hirsutum*, Sarr *et al.* (2011) reported a chromosome transmission rate of 100% for Chromosome 10Ga to 34% for chromosome 12Ga. For Chen *et al.* (2014) the highest incidence for an alien chromosome was 91.32 % for chromosome 10Ga and the lowest one was 1.37% for chromosome 5Ga.

Cytological analysis on chromosomal configuration at meiosis revealed multivalent associations in MAALs PMC. Indeed, the allohexaploid (2n = 78, 2(A_hD_hF₁)) presented tri-, quadri- and pentavalents, indicating that homoeologous recombination should happen between the F and AD chromosomes at the hexaploid and pentaploid stages at a high or low frequency (Koto, 1983).

Phylogenetic analysis suggested that the F genome of *G. longicalyx* is close to the A genome (Cronn *et al.*, 2002). The affinities existing between the F-genome and the D_h subgenome chromosomes were low (21.6 univalents per cell according to Endrizzi

et al. (1985). Recombination leading to introgression should have occurred with the A subgenome chromosomes.

The absence of recombination observed in the GISH does not indicate a lack of introgression as some plants carried *G. longicalyx* SSR specific loci. The detection of recombinant segments in the recipient genome is difficult, because cotton chromosomes are very small and there is very little or no repetitive DNA present in the euchromatic regions (Ali *et al.*, 2001). The failure to detect introgressed small fragments affecting plant morphology was reported in MAALs of *Orychophragmus* in *Brassica carinata* A. Braun (Hua *et al.*, 2006), and MAALs of *G. austral* in *G. hirsutum* (Sarr *et al.*, 2012). The GISH resolution is low for the metaphase chromosomes, which are very condensed (Jiang and Gill, 2006). This resolving power has not yet been studied in the genus *Gossypium*.

The amplification rate of *G. hirsutum* microsatellites in *G. longicalyx* (60%) provides evidence of the wide conservation of sequences between the A genome of *G. hirsutum* and the F-genome of *G. longicalyx*. This amplification rate between *G. australe* and *G. hirsutum* was 56% (Sarr *et al.*, 2011) and 66.2% (Chen *et al.*, 2014). The allohexaploid and the MAALs were found to be missing a specific locus of *G. longicalyx* BNL2589 (C11-C21). The elimination of some DNA fragments may have occurred during colchicine diploidization or backcrossing. This phenomenon has been reported previously in cotton (Jiang *et al.*, 2000), wheat (Shaked *et al.*, 2001) and tobacco (Skalicka *et al.*, 2005).

We noticed that BNL4030 and CIR222 mapped in the linkage group C4-C10 were highly transmitted. These findings may indicate that these alleles are transmitted or recombined preferentially in the background of *G. hirsutum*. Chromosome preferential transmission or elimination was observed in various studies on *Gossypium* (Lopez-Lavalle & Brubaker, 2007; Ahoton *et al.*, 2004; Benbouza *et al.*, 2008; Sarr *et al.*, 2012).

Chromosome transmission frequency is known to differ among chromosomes. This variation can be caused by differences in chromosome size or structure or by the presence of genes causing segregation distortion (Diouf *et al.*, 2014).

We noticed that MAALs considered different on the basis of their phenotypes carried the same extra chromosome of *G. longicalyx*. This can be explained by the simultaneous presence of introgressed fragments of other chromosomes of the wild species in the same *G. hirsutum* background (Table 7). Phenotypic variation can be explained by several mechanisms such as the loss, mutation or divergence of a gene, chromosomal breakages and rearrangements. Sequence elimination have been reported in wheat and *Tragopogon* allopolyploids (Shaked *et al.*, 2001; Tate *et al.*, 2006), in cotton (Sarr *et al.*, 2012); chromosomal translocations and transposition was observed in *Brassica* allopolyploids (Song *et al.*, 1995); and changes in gene expression appear to be a major consequence of phenotypic variation in *Arabidopsis* and cotton (Lee *et al.*, 2001; Wang *et al.*, 2004).

We identified four MAALs that will serve to achieve chromosome specific introgression.

Chapitre 4

Production of new cotton interspecific hybrids
with improved fiber fineness

Production of new cotton interspecific hybrids with improved fiber fineness

Objectif de ce chapitre :

Le précédent chapitre nous a permis de confirmer la présence de LMA ($2n = 4x = 52 + 1$ chromosomes) et d'euploïdes introgressées ($2n = 4x = 52$ chromosomes) dans notre matériel végétal. L'analyse morphologique de nos lignées a montré que le chromosome additionnel pouvait induire des modifications morphologiques spécifiques sur le phénotype des plantes qui le portent ; les troubles dus à l'addition monosomique sont très importants et se traduisent par un déséquilibre physiologique de la plante.

L'analyse des configurations chromosomiques à la métaphase a montré la présence d'associations multivalentes impliquant le chromosome surnuméraire de *G. longicalyx* et mettant en évidence l'existence de recombinaisons entre les chromosomes de *G. longicalyx* et ceux de *G. hirsutum*. L'utilisation de marqueurs microsatellites a par ailleurs fourni la preuve d'introgressions multiples de l'ADN de *G. longicalyx* chez l'espèce receveuse. Il est ressorti de l'analyse SSR que seuls quatre chromosomes surnuméraires différents sont présents dans les LMA étudiées.

Afin d'évaluer la possibilité d'utiliser *G. longicalyx* et *G. thurberi* Tod pour améliorer la finesse de la fibre du cotonnier *G. hirsutum*, la largeur du ruban (finesse) des hybrides présentant des signes d'introgression et de leur espèces parentales a été mesurée et une analyse statistique a été réalisée sur les données obtenues.

Les résultats de ce chapitre ont été publiés sous:

Production of new cotton interspecific hybrids with improved fiber fineness.
Journal of Agricultural Science 8(2). DOI:[10.5539/jas.v8n2p46](https://doi.org/10.5539/jas.v8n2p46)

Production of New Cotton Interspecific Hybrids with Enhanced Fiber Fineness

Nacoulima Lalaissa Nafissatou¹, Diouf Fatimata Hassedine¹, Konan N'guessan Olivier², Mergeai Guy¹

¹ Laboratory of Tropical Agroecology and Horticulture, Gembloux Agro-Biotech, University of Liège, Gembloux, Belgium

² Université Jean Lorougnon Guédé, Daloa, Côte d'Ivoire

Corresponding author: Nacoulima Lalaissa Nafissatou, Laboratory of Tropical Agroecology and Horticulture, Gembloux Agro-Biotech, University of Liège, Passage des Déportés, 2-B-5030 Gembloux, Belgium. E-mail: nacoulima@gmail.com

Journal of Agricultural Science; Vol. 8, No. 2; 2016

ISSN 1916-9752 E-ISSN 1916-9760

Published by Canadian Center of Science and Education

Production of New Cotton Interspecific Hybrids with Enhanced Fiber Fineness

Nacoulima Lalaissa Nafissatou¹, Diouf Fatimata Hassedine¹, Konan N'guessan Olivier² & Mergeai Guy¹

¹ Laboratory of Tropical Agroecology and Horticulture, Gembloux Agro-Biotech, University of Liège, Gembloux, Belgium

² Université Jean Lorougnon Guédé, Daloa, Côte d'Ivoire

Correspondence: Nacoulima Lalaissa Nafissatou, Laboratory of Tropical Agroecology and Horticulture, Gembloux Agro-Biotech, University of Liège, Passage des Déportés, 2-B-5030 Gembloux, Belgium. E-mail: nacoulima@gmail.com

Received: October 16, 2015 Accepted: December 22, 2015 Online Published: January 15, 2016

doi:10.5539/jas.v8n2p46

URL: <http://dx.doi.org/10.5539/jas.v8n2p46>

1. Résumé

Pour améliorer la finesse des fibres de coton, l'allohexaploïde (*Gossypium hirsutum* L. × *Gossypium longicalyx* Hutch. & Lee)² et l'allotetraploïde [(*Gossypium hirsutum* L. × *Gossypium thurberi* Tod.)² × *G. longicalyx*] ont été rétrocroisés avec *G. hirsutum* pour produire des stocks génétiques introgressés. La largeur de ruban (RW) de 600 fibres gonflées produites par les hybrides, leurs parents et leur descendance rétrocroisée a été analysée pour chaque génotype. La largeur des fibres gonflées variait entre 6,41±2,15 µm pour *G. longicalyx* et 17,45±2,98 µm pour le cultivar parent C2 de *G. hirsutum*. Les fibres produites par les hybrides trispécifiques et leur descendance étaient plus fines que le matériel hybride bispécifique. Pour les stocks introgressés, les plus faibles RW ont été observés pour l'hybride trispécifique (10,79±2,14 µm) et certains plants de sa descendance (entre 11,98±1,27 µm et 12,71±1,61 µm). La largeur du ruban de l'allohexaploïde était de 13,58±1,41 µm. Ces résultats montrent que *G. longicalyx* est un stock génétique potentiel pour l'amélioration de la finesse de la fibre de cotonnier. Les stocks génétiques produits sont des matériaux précieux pour améliorer la finesse de la fibre de cotonnier.

2. Abstract

To improve cotton fiber fineness, the (*Gossypium hirsutum* L. × *Gossypium longicalyx* Hutch. & Lee)² allohexaploid and the [(*Gossypium hirsutum* L. × *Gossypium thurberi* Tod.)² × *G. longicalyx*] allotetraploid were backcrossed to *G. hirsutum* to produce introgressed genetic stocks. The ribbon width (RW) of 600 swelled fibers produced by the hybrids, their parents, and their backcross progeny were analyzed for each compared genotype using an optical microscope. The RWs varied between 6.41±2.15 µm for *G. longicalyx* to 17.45±2.98 µm for the *G. hirsutum* parent cultivar C2. Fibers produced by the trispecific hybrids and their progeny were finer than the bispecific hybrid material. For the introgressed stocks, the lowest RWs were observed for the trispecific hybrid (10.79±2.14 µm) and certain backcross progenies (between 11.98±1.27 µm to 12.71±1.61 µm). The allohexaploid RW was 13.58±1.41 µm. One of its tetraploid progeny produced approximately the same value (13.94±2.48 µm). These results show that *G. longicalyx* is a potential genetic stock for cotton fiber fineness improvement. The genetic stocks produced are valuable materials for improve the fineness of cotton fiber.

Keywords: *Gossypium*, interspecific hybridization, fiber fineness, RW

3. Introduction

Cotton fiber is an important raw material for the textile industry. The world production of cotton fiber was estimated at 119.7 million bales in 2012/2013 (USDA, 2013). The cotton fiber price is determined based on the fiber quality. The quality is defined by parameters, such as length, strength, fineness, maturity, and color. These parameters are established during fiber development. Among the fiber physical

properties, fineness is considered as a major trait that determines the cotton fiber quality. This character influences the spinning limit, yarn strength, yarn uniformity and productivity. The fiber fineness determines the number of fibers required to spin a yarn at a particular thickness. The finer a fiber is, the more significant the quantity of fibers in the yarn cross-section. Spinning finer fibers produces stronger and uniform yarns (May, 1999). Long *et al.* (2010) found that the strongest yarns were produced from genotypes with the longest and finest fibers.

Cotton fiber fineness is expressed as the perimeter, diameter or RW, cross sectional area, and standard fiber weight (Gordon & Hsieh, 2006). Most cotton breeders and geneticists estimate cotton fiber fineness in terms of linear density (tex) values, which are conventionally determined using a gravimetric fineness method or AFIS, and micronaire values are measured using HVI. More recent methods have been verified for determining fiber fineness. The methods are based on an image analysis system (Huang *et al.*, 2002), electromagnetic scattering using a laser system (Thomasson *et al.*, 2009), light-scattering experiments (Aslan *et al.*, 2003; Adedoyin *et al.*, 2011) and vibroscopic techniques (Delhom *et al.*, 2010). An instrument was recently developed using polarized light microscopy and image analysis, wherein a cottonscope measures the fiber RW, maturity and linear density (Rodgers *et al.*, 2010, 2012).

The cotton genus *Gossypium* (Malvaceae) contains 45 diploid species ($2n = 2x = 26$) and five tetraploid species ($2n = 4x = 52$) (Fryxell *et al.*, 1992). The diploid species are differentiated into eight genome groups designated by the capital letters A, B, C, D, E, F, G and K (Stewart, 1995). The sole F genome species, *G. longicalyx*, is separated from the remaining genome groups based on its distinctive geography, morphology and ecology (Fryxell *et al.*, 1992). All diploid *Gossypium* genomes contain an exclusive wild species, except for the A genome. The tetraploid species contain two distinct subgenomes related to the A and D diploid genomes (Wendel & Cronn, 2003). The tetraploid species *G. hirsutum* L., which is cytogenetically known as (AhDh) or (AD)1, is the main cotton cultivated throughout the world; it accounts for 95% of the world lint production. The level of genetic diversity among agriculturally elite types of *G. hirsutum* is low (Gingle *et al.*, 2006a, 2006b). Diploid species are an important reservoir for alleles of interest that can be exploited to improve cotton fiber qualities (Mergeai, 2006). The results generated thus far in numerous interspecific breeding projects in different parts of the world show cryptic, beneficial alleles in wild germplasms and that multigenic traits can be introgressed through interspecific breeding using the main cultivated cotton species, irrespective of the donor species performance. According to Demol *et al.* (1978), cotton fiber fineness can be improved by using the African wild diploid species *G. longicalyx* Hutch & Lee. To verify this hypothesis, the (*Gossypium hirsutum* L. x *G. longicalyx*)² allohexaploid and [(*G. hirsutum* × *G. thurberi*Tod.)² × *G. longicalyx*] allotetraploid were created at GemblouxAgro Bio-Tech (University of Liège). The objective of this study was to evaluate the possibility of enhanced fineness through introgression in the backcross progenies of these two interspecific hybrids.

4. Material and Methods

4.1. Plants Material

The basic plant material includes the following:

i). The parents of the (*Gossypium hirsutum* L. $\times$ *Gossypium longicalyx*)² and [(*G. hirsutum* $\times$ *G. thurberi* Tod.)² $\times$ *G. longicalyx*] interspecific hybrids are the *G. hirsutum* cultivar C2 (2n = 4x = 52, A_h A_hD_hD_h) (G 107), RNR, and the two diploid species *G. longicalyx* (2n = 2x = 26, F₁F₁) (G 17) and *G. thurberi* (2n = 2x = 26, D₁D₁) (G 27). The G numbers correspond to the classification of the accessions and hybrids in the Gembloux Agro Bio-Tech cotton gene bank (Maréchal, 1983).

ii). Selfed progenies of MAALS (Monosomic Alien Addition Lines) obtained by Koto (1983) from the bi-specific hexaploid (*G. hirsutum* cv. C2 $\times$ *G. longicalyx*)² (G 368) were created in Gembloux using the scheme illustrated in Figure 13. 10 out of 13 possible MAALs of *G. longicalyx* on *G. hirsutum* numbered from I to XIII provided by the CIRAD (France) gene bank were used in this study.

iii). The BC1 and BC2 progenies of the tri-specific hybrid HTL {(*G. hirsutum* $\times$ *G. thurberi*)² $\times$ *G. longicalyx*} were created and backcrossed to the *G. hirsutum* var RNR variety following the pseudophyletic method (Mergeai, 2006) illustrated in Figure 14.

All plant materials were grown at the same time in Gembloux Agro Bio-tech greenhouses. The seed-cotton was randomly harvested without regard to the boll position.

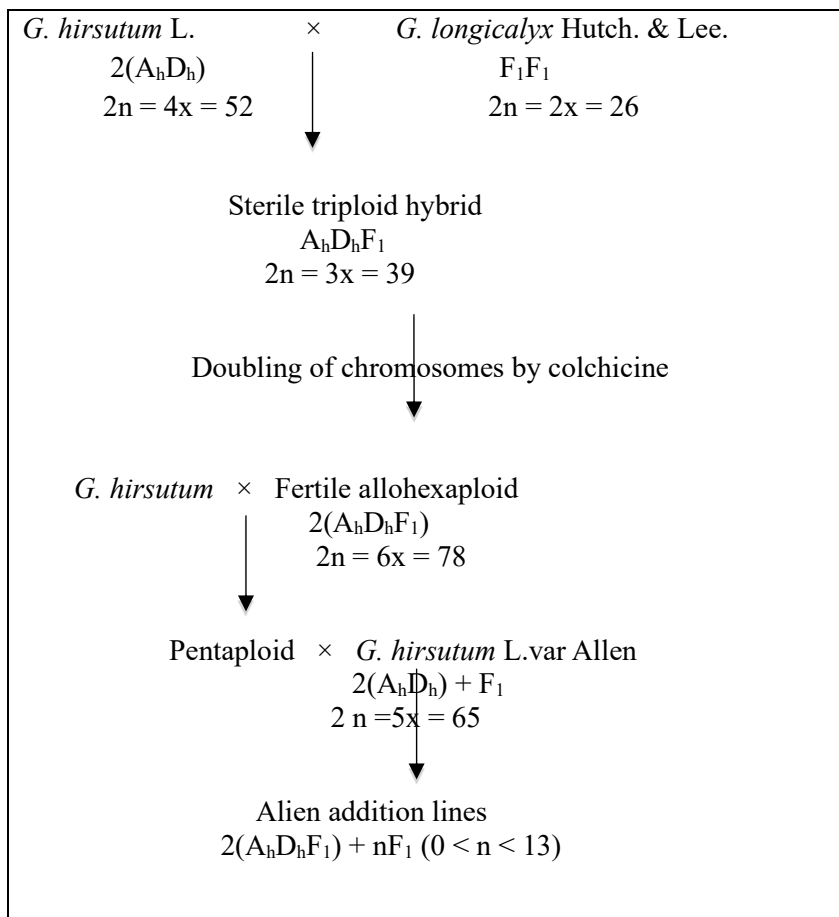


Figure 13. Scheme of the aphyletic method

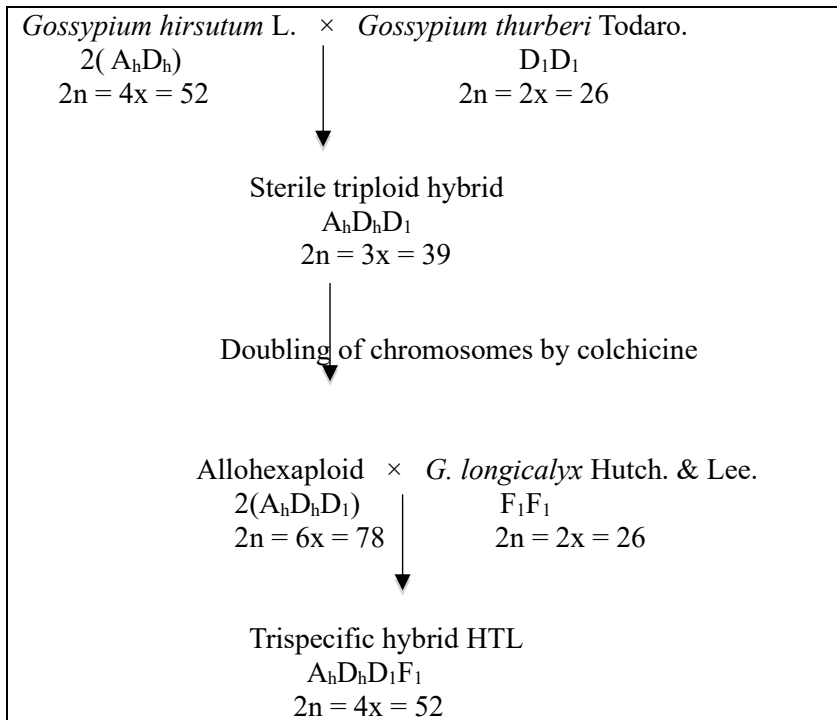


Figure 14. Scheme of the pseudophyletic method

4.2. Mitotic Observation

The karyotype of MAALS progenies likely to carry a supernumerary chromosome was determined based on their phenotype using mitotic cells and the method described by D'Hont *et al.* (1995). Roots were collected from growing seeds germinated in Petri dishes on filter paper at 30 °C for 48 hours. First, the roots were pre-treated in 0.04% Hydroxyquinoline at room temperature for 4 hours in the dark and were fixed at metaphase in Carnoy's I solution (glacial acetic acid 1: ethanol 3) for 48 hours. Thereafter, the roots were stored in 70% ethanol at 4 °C, the roots tips were digested in an enzyme solution (5% cellulose Onozuka R-10 and 1% pectolyase Y-23 in citrate buffer) at 37 °C for 1 hour, and they were compressed onto slides in a fresh fixative (3:1 ethanol: acetic acid). Chromosome preparations were visualized and counted under a fluorescent light microscope after staining with 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI)/Vecta-shield.

4.3. Ribbon Width Measurement

RW measurements were performed on fibers produced by three seeds randomly harvested without regard to the boll position and opening date. Certain HTL progenies were quasi sterile and did not produced sufficient seeds; thus, the measurements were performed on 2 seeds. For each seed, the diameters of 200 swollen fibers were

measured using the software NIS-Elements BR 2.30 and a Nikon Eclipse E800 microscope equipped with a digital Nikon camera. To perform the measurements, the fibers were straightened and paralleled through combing. The median region of the fibers was used for the observations. Each parallel fiber sample was drawn along a glass slide. The fibers were moistened and swollen in an 18% NaOH solution. The measurements were performed on one side of the slide, and the slide was moved across the field of vision to avoid repeating the measurements on any fiber based on Roehrich's (1947) recommendations. The fiber RWs were determined by dividing the mean of the measured diameters by the 1.3 Summers coefficient (Roehrich, 1947).

4.4. Statistical Analysis

The mean and standard deviation were calculated. The kurtosis and skewness of the fiber fineness frequency distributions (Pearson, 1895, 1905) were calculated using Minitab 17 Statistical Software 2010. ANOVA was performed to compare the RW means between and within genotypes. The multiple comparisons were examined for significance at $P < 0.05$ using Tukey's test, and the output was condensed into letter grouping.

5. Results and Discussion

Monosomic alien addition lines (MAALs) with only one chromosome from *G. longicalyx* in the genetic background of *G. hirsutum* and HTL trispecific hybrids containing the two wild diploid species genomes *G. longicalyx* and *G. thurberi* in a *G. hirsutum* genetic background were used in this study.

Seed setting and seedlings were obtained through backcrossing and selfing the MAALs progenies as well as the HTL trispecific hybrid to *G. hirsutum* (Table 8). The material morphological traits are also reported in Table 8.

The HTL plants presented no phenotypic segregation, and the BC1 plants exhibited segregation based on morphological characters. The leaf shape varied, and the number of lobes per leaf ranged from 1 to 5. The BC1 plant leaf size varied, but all were larger than the *G. thurberi* and *G. longicalyx* leaves and similar to *G. hirsutum*.

Most of the MAALS progeny plants presented *G. hirsutum* morphological traits. The remaining plants (38.5%) differed morphologically from the *G. hirsutum* plants.

Table 8. Seed germination and number of seedlings of plants

Line	Total number of seeds	Germinated seed(%)	Seedlings that survived(%)	Morphological traits
MAAL-I	14	71	40	Small plant, well-branched, small and dark-green leaves with 3-5 lobes, globular boll
MAAL-II	35	71	76	Glabrous plant, many small leaves with 3-5 pointed lobes, rounded three- or four-celled boll
MAAL-III	32	81	42.3	Slender stem, little branching, large leaves with 4-5 lobes, abundant anthers and pollen, few bolls produced, large amount of cottonseed per boll, ovoid capsule
MAAL-IV	22	50	63.7	Globular plant, few fruiting branches, small leaves, capsule globular and pointed
MAAL-V	29	79	82.6	Small plant, small leaves, slow growing, round boll

MAAL-VII	10	75	50	Light green leaves with 3-5 lobes, few fruiting branches, few bolls produced
MAAL-VIII	19	58	18.2	Small bushy plant, many vegetative branches, light green leaves with 3 lobes, small round boll with 3-4 lobes
MAAL-IX	30	70	38	Slow-growing plant, large leaves with 5-7 lobes, low pollen production, short fruiting branches
MAAL-XI	25	56	14.3	Dark green leaves with 3-5 lobes, many vegetative branches, few small bolls, large number of cottonseeds
MAAL-XII	13	77	70	Slender stem, small leaves with 3 lobes, few fruiting branches, large number of small globular bolls
HTL	10	90	100	Small plant, well-branched, small and dark-green leaves with 3-5 lobes, globular boll

BC1	27	48	92	Glabrous plant, many small leaves with 3-5 pointed lobes, rounded three- or four-celled boll
-----	----	----	----	--

The MAALS progeny karyotypes were determined. RW measurements were performed on plants with $2n = 53$ and plants with $2n = 52$, presenting a sign of introgression

.

We examined the normalities of the fiber RW distributions for all genotypes, and skewness and kurtosis were used to characterize the symmetry and peakedness of the fiber RW distributions. The skewness coefficient measures the degree of symmetry in the variable distribution. A positive or negative skewness, respectively, indicates a long asymmetric right tail and a long asymmetric left tail (Doane & Seward, 2011; Hall, 2014). A skewness value of zero indicates normal distribution, whereas a skewness value greater than 1 indicates that the distribution differs significantly from a normal distribution.

Genotypes that present a negative skewness exhibit a distribution with more coarse fibers, while genotypes with a positive skewness exhibit more fine fibers.

Kurtosis measures the degree to which a distribution is more or less peaked compared with a normal distribution. A high kurtosis value indicates a relatively peaked distribution with a long tail, and a low kurtosis signifies a relatively flat distribution with thinner tails (Zenga, 2014). A high kurtosis indicates a narrow fineness range for the fibers

The parental species *G. hirsutum* var. C2 and *G. longicalyx* exhibited positive skewness and opposite kurtosis. (Table 9). The *G. hirsutum* var C2 presented a negative skewness with larger fibers than the wild parental species *G. longicalyx*.

MAAL-V # 1, MAAL-V # 1, MAAL-V # 1 and MAAL-XII # 4 exhibit skewness values near 0 (-0.08 and -0.06), corresponds to a normal distribution. Among the genotypes presenting a reduced RW, MAAL-II-8 and MAAL-III # 2 showed positively skewed distributions, which indicates more fine fibers than coarser fibers, while MAAL-XII # 6 and MAAL-IV-3 exhibited negatively skewed distributions with many coarse fibers. The Skewness and the kurtosis valus are both negative for MAAL-XI # 1. This MAAL may shown a wide range of coarse fibers.

Table 9. Skewness and Kurtosis values of MAALs and their parental species

Genotype	Skewness	Kurtosis
<i>G. longicalyx</i>	0.67	0.58
<i>(G. hirsutum × G. longicalyx)</i> ²	0.10	-0.35
MAAL-I # 6	-0.13	-0.1
MAAL-I # 10	0.23	-0.19
MAAL-II # 8	0.20	0.09
MAAL-III # 2	0.13	0.01
MAAL-IV # 3	-0.41	-0.25
MAAL-V # 1	-0.08	-0.25
MAAL-VII # 3	0.65	0.74
MAAL-VIII # 10	0.40	0.83
MAAL-IX # 2	-0.44	0.21
MAAL-XI # 1	-0.14	-0.64
MAAL-XII # 4	-0.06	0.16
MAAL-XII # 6	-0.39	0.47

The genotypes MAAL-XII-6, MAAL-III # 2 and MAAL-IX # 2 exhibit approximately the same mean ($13.97 \pm 1.65 \mu\text{m}$, $13.94 \pm 2.48 \mu\text{m}$ and $13.85 \pm 2.79 \mu\text{m}$) but different skewness (0.13, -0.39, and -0.44) and kurtosis values (0.01, 0.47, and 0.21).

The RW distributions for these cotton samples are shown in Figure 15 wherein the x-axis represents the fiber RW, and the y-axis represents the fiber frequencies. Despite exhibiting the same mean, the three genotypes presented different distributions. We presume that MAAL III # 2 contains more fine fibers than the remaining genotypes, which indicates that the mean cannot be used to differentiate the cotton fineness levels.

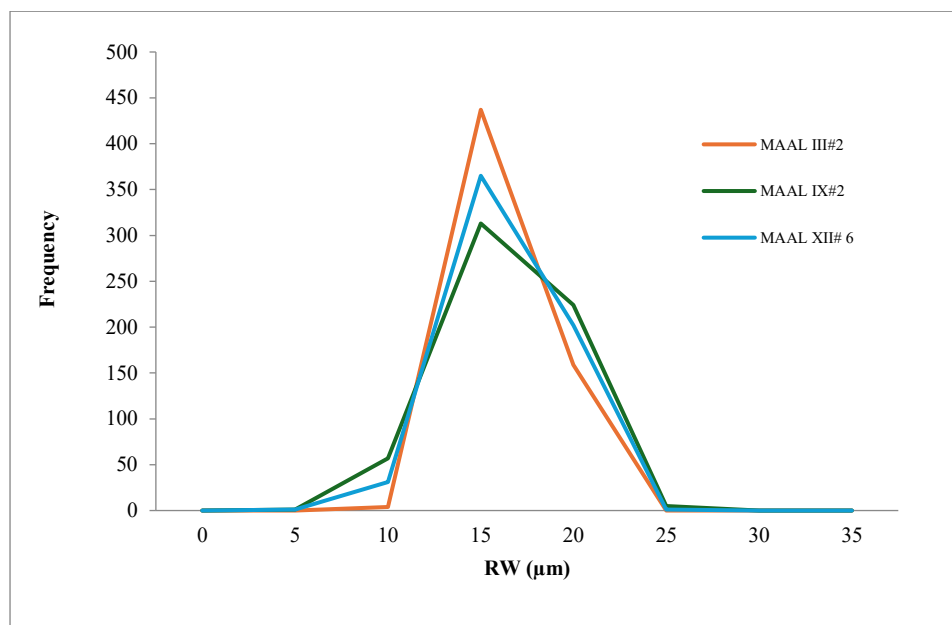


Figure 15. RW distribution of some MAALs

Statistical parameters such as skewness and kurtosis, are necessary to further characterize the RW of different cottons presenting the same mean. A fiber RW distribution that is symmetrical (skewness = 0) around the mean and as peaked (kurtosis > 0) as possible is necessary.

G. hirsutum var. RNR, *G. thurberi* and BC2-7 presented a leptokurtic distribution are positively skewed (< 1) and leptokurtic, which indicates a narrow range of distribution of fiber RWs less than the mean (Table 10). The hexaploid (*G. thurberi* × *G. longicalyx*) had a negative kurtosis (-0.16) a wide fineness range of fibers.

The HTL and the genotypes BC2-5 and BC1-6 exhibit a negative skewness and positive kurtosis value, which indicates a narrow range of fiber RWs with more coarse fibers than the mean.

The mean RWs of the fibers were similar for the three seeds of *G. hirsutum* var C2 and HTL F1 BC2-16 plants (Tables 9 and 10).

Table 10. Skewness and Kurtosis value of HTL plants and their parental species

Genotype	Skewness	Kurtosis
<i>G. hirsutum</i> var RNR	0.01	0.13
<i>G. longicalyx</i>	0.67	0.58
<i>G. thurberi</i>	0.61	0.93
(<i>G. hirsutum</i> × <i>G. thurberi</i>) ²	-0.15	-0.16
HTL	-0.52	0.40
HTL F1 BC2-16	0.26	0.93
HTL F1 BC2-7	0.07	0.14
HTL F1 BC2-5	-0.13	0.26
HTL F1 BC1-6	-0.38	0.78

Bradow *et al.* (1997) observed significant variations in Pee Dee cotton (*G. hirsutum* L.) fiber diameters, cross-sections, and circularities at the boll and locule levels measured on 2500 fibers with the AFIS lengths and diameter modules (Zellweger-Uster, Knoxville, TN). In this study, the overall average Pee Dee 3 fiber diameter was 12.7±0.9 µm. Studying the influence of seed location on fiber quality, Davidonis and Hinojosa (1994) found that fiber perimeters of apical seeds were thinner in the micropylar region than the chalazal regions, and, conversely, the fiber perimeter of basal seeds were larger in the micropylar region than the chalazal regions. These authors hypothesized that each fiber cell receives a certain allotment of assimilates for development.

G. hirsutum var. C2 presented an average fiber RW of 17.45±2.98 µm, and *G. longicalyx* exhibited the finest fiber with an average RW of 6.41±1.39 µm (Table 11). The hexaploid (*G. hirsutum* L. × *G. longicalyx*)² exhibited a RW of 13.58±1.41 µm. The MAAL-III # 2 (2n = 53 chromosomes) and the following euploids (2n = 52 chromosomes) MAAL-II # 8, MAAL-II # 8, MAAL-IX # 2 and MAAL-XII # 6 exhibited means similar to the hexaploid with, respectively 14.07±2.53 µm, 13.85±2.79 µm and 13.94±2.48 µm. The MAAL-XI # 1 exhibited the largest RW (18.09±3.56 µm).

According to Tukey's test, MAAL-III # 2 (2n = 53) and three introgressed stocks (2n = 52) produced through the bi-specific introgression method did not exhibit significantly different fiber RWs compared to the hexaploid (*G. hirsutum* L. × *G. longicalyx*)

Table 11. Average RW (μm) of the fibers of the MAALs and their parental species

Genotype	Chr Nb	Genomic formula	RW $\pm$ standard deviation			F value	RW $\pm$ SD for 600 fibers	Tukey Grouping
			200 fibers Seed 1	200 fibers Seed 2	200 fibers Seed 3			
<i>G. hirsutum</i> var C2	52	2(AD) _h	17.59a $\pm$ 3.45	17.59a $\pm$ 2.41	17.17a $\pm$ 2.98	1.40	17.45 $\pm$ 2.98	B
<i>G. longicalyx</i>	26	2F ₁	6.00a $\pm$ 1.29	6.37b $\pm$ 2.20	6.84b $\pm$ 1.46	20.03*	6.41 $\pm$ 1.39	H
(<i>G. hirsutum</i> $\times$ <i>G. longicalyx</i>) ²	78	2(A _h D _h F ₁)	13.41a $\pm$ 1.27	13.29b $\pm$ 1.15	14.03b $\pm$ 1.66	15.22*	13.58 $\pm$ 1.41	G †
MAAL-I # 6	52	2(AD) _h	15.74a $\pm$ 1.40	15.39ab $\pm$ 1.51	15.92b $\pm$ 1.63	6.07*	15.69 $\pm$ 1.53	D
MAAL-I # 10	53	2(AD) _h +1F ₁	15.31a $\pm$ 2.26	14.4ab $\pm$ 1.79	14.85b $\pm$ 2.07	8.64*	14.86 $\pm$ 2.08	F
MAAL-II # 8	52	2(AD) _h	14.69a $\pm$ 1.74	13.80b $\pm$ 2.90	13.73b $\pm$ 2.69	10.79*	14.07 $\pm$ 2.53	G†

MAAL III # 2	53	2(AD) _h + 1F ₁	14.07a±1. 65	14.52b±1.4 9	13.31c±1. 59	30.32 *	13.97±1. 65	G†
MAAL-IV # 3	53	2(AD) _h + 1F ₁	15.91a±3. 02	17.79b±2.5 0	16.93c±2. 90	22.49 *	16.89±2. 91	C
MAAL-V # 1	53	2(AD) _h + 1F ₁	15.93a±2. 75	16.01a±3.3 8	14.91b±3 .39	7.83*	15.62±3. 22	DE
MAAL-VII # 3	53	2(AD) _h + 1F ₁	14.83a±1. 51	15.31a±2.7 8	16.49a±2. 68	1.86*	15.54±2. 38	EF
MAAL-VIII # 10	53	2(AD) _h + 1F ₁	15.67a±1. 81	15.78b±2.9 9	16.86b±2 .41	14.62 *	16.10±2. 51	D
MAAL-IX # 2	52	2(AD) _h	13.46a±2. 86	14.13ab±3. 06	13.97b±2 .39	2.94*	13.85±2. 79	G†
MAAL-XI # 1	53	2(AD) _h + 1F ₁	17.56a±3. 88	18.14ab±3. 44	18.31b±3 .32	3.89*	18.09±3. 56	A
MAAL-XII # 4	53	2(AD) _h + 1F ₁	14.84a±3. 46	15.11a±3.4 2	15.56a±3. 08	2.74*	15.17±3. 33	EF
MAAL-XII # 6	52	2(AD) _h	13.96a±2. 21	13.53ab±2. 54	14.35b±2 .62	4.94*	13.94±2. 48	G†

Note. * Significant at the 0.05 probability level; † Means followed by the same letter are not significantly different from each other; Chr Nb: Chromosome number; SD: Standard deviation.

The tri-specific hybrid parents *G. hirsutum* (cv. 11240-RNR) and *G. thurberi* exhibited the RW $19.75 \pm 3.55 \mu\text{m}$ and $9.09 \pm 1.82 \mu\text{m}$ (Table 12), respectively.

The *G. hirsutum* variety RWs ranged from 15.1 to 17.5 μm , consistent with other studies, which indicate that Upland cotton fiber RWs vary between 17 to 20 μm (Roehrich *et al.*, 1947) and 12 to 25 μm (Mishra, 2000).

The (*G. hirsutum* L. $\times$ *G. thurberi* Tod.)² allohexaploid presented a RW of $14.78 \pm 1.67 \mu\text{m}$, which is consistent with Demol *et al.* (1978), who estimated that the fiber RW of the hexaploid (*G. hirsutum* cv. C2 $\times$ *G. thurberi*)² is 15.20 μm . These authors also reported RWs for allohexaploids involving *G. hirsutum* cv. C2 and certain wild diploid species. The mean RWs of hexaploids involving *G. anomalum* (B₁), *G. sturtianum* (C₁), *G. harknessi* (D₄), *G. raimondii* (D₃), and *G. areysianum* (E) genomes were 20.30 μm , 22.30 μm , 20.90 μm , 19.00 μm and 22.80 μm , respectively.

The HTL and HTL F1 BC2-5 RWs were, respectively, 10.79 ± 2.14 and $12.71 \pm 1.61 \mu\text{m}$. These values were lower than the average hexaploid RW; these genotypes carry several *G. longicalyx* and *G. thurberi* chromosomes in a *G. hirsutum* background. Tukey's test showed a significant difference between the progenies of [(*G. hirsutum* $\times$ *G. thurberi*)² $\times$ *G. longicalyx*] hybrids and their parental species

Table 12. Average RW (μm) of the fibers of the HTL progenies and parental species

Genotype	Chr Nb	Genomic formula	RW±standard deviation			F value	RW±SD for 600 fibers	Tukey Grouping
			200 fibers Seed 1	200 fibers Seed 2	200 fibers Seed 3			
<i>G. hirsutum</i> var C2	52	2(AD) _h	17.59a±3.45	17.59a±2.41	17.17a±2.98	1.40	17.45±2.98	B
<i>G. hirsutum</i> var RNR	52	2(AD) _h	17.95a±9.43	20.41a±3.62	20.88b±2.79	72.77*	19.55±3.55	A
<i>G. longicalyx</i>	26	2 F ₁	6.00a±1.29	6.37b±2.20	6.84b±1.46	20.03*	6.41±1.39	H
<i>G. thurberi</i>	26	2(AD) ₁	8.81a ± 1.83	9.34ab±1.90	9.13b ± 1.71	4.38*	9.09±1.82	G
(<i>G. hirsutum</i> × <i>G. thurberi</i>) ₂	78	2(A _h D _h D ₁)	14.94a±1.70	14.86ab±1.68	14.55b±1.66	3.96*	14.78±1.67	C
HTL	52	A _h D _h D ₁ F ₁	12.52a±1.22	9.06b±1.31		651.51*kjm	10.79±2.14	F
HTL F ₁ BC2 - 16	52	A _h D _h D ₁ F ₁	17.67a±1.64	17.28ab±2.16	17.03b±2.12	5.02*	17.32±1.94	B
HTL F ₁ BC2 - 7	52	A _h D _h D ₁ F ₁	11.84a±1.42	12.12b±1.12	-	5.39*	11.98±1.27	E†

HTL F1 BC2 - 5	52	A _h D _h D ₁ F ₁	12.68a±1.32	12.75a±1.86	-	0.026	12.71±1.61	D†
HTL F1 BC1 - 6	52	A _h D _h D ₁ F ₁	12.83a±1.24	11.83b±1.09	12.33c±1.19	35.20*	12.33±1.24	DE†

Note. *Significant at the 0.05 probability level; † Means with the same letter are not significantly different from each other;
Chr Nb: Chromosome number; SD: Standard deviation

The coefficients of variation ranged from 9.26 to 21.44%; this value ranged between 21.04 and 21.44% for the wild species *G. longicalyx* and was lower at 12% for the hexaploid MAAL-I-6, MAAL-III # 2, and HTL F₁-BC1. The high variation observed in this study is first due to the large variation within the cotton seed. A source of error with a lower effect may be the microscope measurement, but the reliability of the fiber RW measurements greatly increased through mercerization of the fibers before the measurements.

Huang *et al.* (2002) performed longitudinal measurements of 25 cotton fiber samples from one bale; they analyzed 1.000 to 4.000 fibers for each sample using an imaging analysis method, and the coefficient of variation for the mean fiber width from one cotton bale was 2.91%.

Adedoyin *et al.* (2011) reported that the coefficient of variation from laser diffraction system measurements on 20 fibers from one bale of cotton was 9.35%.

Few studies have focused on cotton fiber quality measurements at the seed level because modern instruments require a large sample size, and non-instrumental measurement methods are tedious and time consuming. As a result, the full differences in fiber quality within a single plant and seed have not been estimated. The cotton scope was recently developed and only requires 50 mg of lint per replication, which would be useful for fiber fineness characterization at the seed level.

Baezinger *et al.* (2007) reported that to enhance the probability of genetic improvement for a specific trait of interest, the trait must be satisfactorily measured and heritable, and sufficient genetic variability must exist to ultimately realize long-term genetic improvement for the trait through plant breeding. Cotton fineness measured as perimeter, linear density or micronaire is moderately to highly heritable (May, 1999). Enhanced fineness is particularly important because selecting a smaller perimeter could facilitate selection of a low-micronaire, longer, and stronger fiber (Kloth, 1998).

According to Long and Bange (2012), RW provides the best average indication of fiber fineness or coarseness regardless of how the external fiber architecture is influenced by other components, such as convolutions, level of fullness affected by fiber maturity, and fiber perimeter. RW is an attribute that relates to how fibers will best pack together in yarn. RW is more related to yarn strength than either micronaire or gravimetrically determined linear density; that is, fibers with smaller RWs spin stronger yarns (Bange *et al.*, 2010). These authors found that less mature cotton from a cooler growing season produced stronger yarns and fabric partly due to the fiber's smaller RW, which had a greater effect on fiber packing density and inter-fiber friction. RW measurements through microscope analysis remains a reliable and accurate means for highlighting the broad differences observed in the analyzed material.

Although a genetic basis for the fiber fineness is unknown, many studies have localized the QTL associated with this trait to 1 to 8 different chromosomes (Nacoulima & Mergeai, 2014), which indicates that the cotton fiber fineness is a trait controlled by several genes. The tri-specific introgression pathway is more suitable for introgression of genes located on several chromosomes (Mergeai *et al.*, 1997).

Under this approach, all of the chromosomes for the wild diploid species encountered the *G. hirsutum* chromosomes. The recombination frequency for homoeologous chromosomes between the donor species and the sub-genomes Ah and Dh is typically higher for trispecific hybrids than bispecific hybrids (Mergeai, 2006).

However, exploiting trispecific hybrids is difficult because this genetic material is highly unbalanced with low fertility. Linkages among desirable and undesirable traits by the donor and bridge species also complicate successful use of this genetic material. Several backcrossing and selection schemes are necessary to produce fertile offspring and eliminate uninteresting traits as well as fix the selected agronomic traits.

Within the (*G. hirsutum* × *G. longicalyx*)² allohexaploid progeny, three introgressed stocks (2n = 52) present enhanced fineness, which suggests that multiple introgressions likely occurred in these plants; thus, they are valuable material for fineness introgression into Upland cotton.

The introgressed stocks with enhanced fiber fineness are from three different MAALs. Presumably; one or several QTLs from the *G. longicalyx* chromosomes that influence fineness were integrated into the *G. hirsutum* background. Another hypothesis is that the different MAALs carry the same alien chromosome, which was preferentially transmitted to the pentaploid progenies. This phenomenon was observed in various studies (Ahoton *et al.*, 2004; Benbouza *et al.*, 2008; Sarr *et al.*, 2012).

Recombination may also have occurred at the hexaploid level. *G. longicalyx* loci from different linkage groups were detected on different MAALs (data not shown), which highlights the importance of using molecular markers to monitor chromosome fragment introgression.

Chapitre 5

Discussion générale

Discussion générale

1. Production des LMA

Au sein du genre *Gossypium*, le transfert de caractères d'intérêt agronomique des espèces sauvages vers les espèces cultivées est rendu difficile par la distance génétique qui les sépare et par les barrières d'incompatibilité. Pour contourner ces obstacles, deux voies principales sont classiquement utilisées : une voie tri-spécifique indirecte et une voie bi-spécifique directe (Mergeai, 2006), toutes deux fondées sur la colchidiploïdisation d'hybrides intermédiaires stériles afin de restaurer leur fertilité.

La voie tri-spécifique repose sur l'utilisation d'une espèce pont de génome A ou D, croisée soit avec l'espèce donneuse pour créer un tétraploïde artificiel, soit avec l'espèce cultivée pour obtenir un allohexaploïde transitoire. Elle permet de confronter l'ensemble des chromosomes de l'espèce diploïde au fond génétique de *G. hirsutum*. La voie bi-spécifique, ou méthode aphylétique d'introggression, consiste quant à elle à croiser directement *G. hirsutum* avec une espèce diploïde porteuse de caractères d'intérêt. Elle offre théoriquement la possibilité de confronter individuellement chaque chromosome de l'espèce sauvage au génome complet de *G. hirsutum*.

Dans notre travail, la principale difficulté a résidé dans la stérilité de l'hybride triploïde initial (*G. hirsutum* × *G. longicalyx*), ce qui a nécessité la réalisation d'un très grand nombre de croisements pour obtenir quelques graines viables. Trois variétés de *G. hirsutum* (une variété américaine d'identité inconnue, le cultivar congolais C2 et la variété Allen cultivée en Côte d'Ivoire, utilisée comme parent récurrent) ont été mises en œuvre. À partir des allohexaploïdes colchidiploïdisés, 708 croisements avec *G. hirsutum* ont permis d'obtenir seulement six pentaploïdes viables. Les descendance issues de leurs autofécondations et rétrocroisements ont été classées sur base phénotypique en 13 lignées d'addition (Koto, 1983). La descendance de 10 de ces lignées a été étudiée en détail. Elle comprend des plantes euploïdes ($2n = 52$), introgressées ou non, et des plantes d'addition portant un ou plusieurs chromosomes de *G. longicalyx* ($2n = 52 + 0$ à 13 chromosomes).

L'identification des LMA s'est appuyée sur trois critères : (i) l'apparition de modifications phénotypiques liées à l'expression des gènes portés par le chromosome additionnel, (ii) le comportement méiotique du chromosome surnuméraire et (iii) ses modalités de transmission à la descendance.

2. Caractéristiques phénotypiques des LMA

Le développement des LMA s'est révélé très hétérogène, avec une forte variabilité morphologique à la fois entre lignées et au sein d'une même lignée. Des différences marquées ont été observées au niveau du port de la plante (élancé, globulaire, trapu selon les génotypes), de la taille des feuilles et de la vigueur végétative. Certains caractères indésirables sont apparus, notamment des cycles végétatifs extrêmement longs (jusqu'à 200 jours) pour certaines lignées. Dans la lignée LMA Fl XI, le développement très tardif des plantules s'accompagnait d'un taux de mortalité élevé.

Des mortalités similaires ont été rapportées dans des LMA de *G. australe* sur *G. hirsutum* (Ahoton, 2002) et dans la descendance BC1 d'hybrides triples de cotonnier (Konan, 2007), suggérant un déséquilibre chromosomique ou des incompatibilités génétiques liées à des recombinaisons défavorables (Kammacher, 1967). L'effet de chromosomes étrangers sur le phénotype a déjà été mis en évidence chez le cotonnier (Hau, 1981 ; Koto, 1983 ; Mergeai, 1992 ; Ahoton, 2002 ; Sarr *et al.*, 2012 ; Chen *et al.*, 2014) ainsi que chez d'autres espèces comme le concombre (Chen *et al.*, 2004) ou l'ail (Vu *et al.*, 2012). Nos observations confirment que chaque chromosome surnuméraire de *G. longicalyx* exerce un effet spécifique dans le fond génétique de *G. hirsutum*.

3. Cytologie des LMA

L'analyse du caryotype des lignées a révélé la présence de plantes euploïdes ($2n = 52$), euploïdes introgressées, de lignées monosomiques ($2n = 53$) et de lignées disomiques d'addition ($2n = 54$). Le taux moyen de transmission du chromosome étranger était de 41,3 %, avec de fortes variations selon les lignées : nul pour MAAL F_I-II, supérieur à 70 % pour MAAL F_I-III. Ces valeurs sont du même ordre de grandeur, voire légèrement supérieures, à celles rapportées chez d'autres LMA de *G. sturtianum* ou de *G. areysianum* dans *G. hirsutum* (Rooney & Stelly, 1991 ; Mergeai, 1992). Ces différences de transmission peuvent refléter des variations de taille ou de structure des chromosomes, ou la présence de gènes impliqués dans la distorsion de ségrégation (Diouf *et al.*, 2014).

La réussite de l'introgression repose sur la survenue de recombinaisons entre chromosomes homéologues. L'observation des associations chromosomiques à la métaphase I de la méiose permet d'estimer ces possibilités de recombinaison. Chez *G. hirsutum*, la présence régulière de 26 bivalents témoigne d'une méiose stable. À l'inverse, chez les hexaploïdes et dans la descendance des LMA, des associations irrégulières incluant univalents, multivalents et une asynchronie marquée entre cellules ont été observées, suggérant l'existence de remaniements chromosomiques et la production de gamètes déséquilibrés, facteurs de stérilité (Kammacher, 1956).

Les associations multivalentes observées pourraient traduire des échanges de fragments chromosomiques survenus au cours de l'évolution du genre (Kammacher, 1966 ; Maréchal, 1974 ; Vroh Bi *et al.*, 1998). Elles suggèrent également que le chromosome étranger peut participer à l'appariement et se substituer partiellement à un de ses homéologues, l'univalent restant appartenant alors à *G. hirsutum*. Malgré les difficultés techniques liées au choix du stade méiotique optimal, nos observations confirment le caractère monosomique d'addition de plusieurs lignées et la possibilité de recombinaisons entre *G. hirsutum* et *G. longicalyx*, comme déjà suggéré par Phillips & Strickland (1966) et Robinson *et al.* (2005).

Les analyses par GISH réalisées sur des plantes à $2n = 53$ chromosomes ont confirmé la présence d'un chromosome unique de *G. longicalyx* dans le génome de *G. hirsutum*, sans permettre la détection de recombinaisons visibles. Cette absence apparente de fragments recombinants doit être interprétée à la lumière des limites de

résolution de la GISH, particulièrement marquées chez le cotonnier, dont les chromosomes sont très petits (2,5 Gb selon Peng *et al.*, 2022). Des difficultés comparables ont été rapportées pour la détection de petits segments introgressés chez *Brassica carinata* (Hua *et al.*, 2006) et dans les LMA de *G. australe* sur *G. hirsutum* (Sarr *et al.*, 2012). Les travaux de Lukaszewski *et al.* (2005) montrent qu'au blé, la limite de résolution de la GISH est de l'ordre de 10 cM, et qu'elle est encore plus faible au stade métaphasique (Jiang & Gill, 2006). Il est probable que des contraintes similaires s'appliquent au genre *Gossypium*.

4. Possibilités de recombinaison entre *G. longicalyx* et *G. hirsutum*

Les plantes monosomiques ($2n = 53$) et les euploïdes introgressées ($2n = 52$) ont été soumises à une analyse plus fine à l'aide de marqueurs microsatellites répartis sur l'ensemble des chromosomes de *G. longicalyx*. Le taux de polymorphisme élevé (60 %) observé entre *G. hirsutum* et *G. longicalyx* confirme l'existence d'une large conservation des séquences, tout en révélant suffisamment de différences pour suivre l'introggression. Des taux comparables ont été rapportés entre *G. hirsutum* et *G. australe* (Sarr *et al.*, 2011 ; Chen *et al.*, 2014).

L'absence systématique du marqueur BNL2589 (groupe de liaison C11-C21) chez l'hexaploïde et chez toute la descendance des LMA pourrait refléter une délétion survenue au stade triploïde, lors de la diploïdisation ou des rétrocroisements, comme cela a déjà été observé chez le coton, le blé ou le tabac (Jiang *et al.*, 2000 ; Shaked *et al.*, 2001 ; Skalicka *et al.*, 2005).

Les résultats montrent que plusieurs LMA présentent des introgressions multiples provenant d'au moins deux chromosomes de *G. longicalyx*. La présence de loci spécifiques appartenant à différents groupes de liaison confirme l'occurrence de recombinaisons homéologues et souligne l'importance des marqueurs moléculaires pour suivre la dynamique de ces échanges. La transmission préférentielle de certains marqueurs (BNL4030, CIR222, etc., groupe C4-C10) suggère que certains segments sont plus fréquemment transmis ou retenus dans le génome de *G. hirsutum*, ce qui est en accord avec d'autres études ayant mis en évidence des phénomènes de transmission ou d'élimination préférentielle dans le genre *Gossypium* (Lopez-Lavalle & Brubaker, 2007 ; Ahoton *et al.*, 2004 ; Benbouza *et al.*, 2008 ; Sarr *et al.*, 2012).

Le fait que des lignées phénotypiquement distinctes puissent porter un même chromosome surnuméraire, ou à l'inverse que des lignées supposées différentes se comportent de manière similaire, suggère que des introgressions supplémentaires, des réarrangements chromosomiques, des pertes de séquences ou des modifications d'expression génique contribuent à la variabilité observée. De tels phénomènes ont été décrits chez le blé, *Tragopogon*, *Brassica*, *Arabidopsis* et le cotonnier (Shaked *et al.*, 2001 ; Tate *et al.*, 2006 ; Song *et al.*, 1995 ; Lee *et al.*, 2001 ; Wang *et al.*, 2004 ; Sarr *et al.*, 2012) et semblent constituer une caractéristique fréquente des systèmes allopolyploïdes.

5. Déterminisme génétique de la finesse de la fibre

L'analyse de la largeur du ruban de fibres chez les espèces parentales et chez les hybrides a montré que *G. longicalyx* et *G. thurberi* présentent des fibres beaucoup plus fines que *G. hirsutum*, et que leurs génomes réduisent de manière drastique la largeur du ruban lorsqu'ils sont introgressés dans le fond génétique cultivé. Les hexaploïdes bispécifiques et l'hybride trispécifique [$(G. hirsutum \times G. thurberi)^2 \times G. longicalyx$], ainsi que certains de leurs descendants, présentent des largeurs de ruban intermédiaires, confirmant l'effet additif ou combiné des chromosomes sauvages.

L'étude de la distribution de la largeur du ruban, au-delà de la simple moyenne, a révélé des différences de forme (Skewness, Kurtosis) entre génotypes ayant pourtant des valeurs moyennes comparables. De plus, des variations significatives ont été observées entre fibres provenant de graines différentes d'un même génotype, rejoignant les observations de Davidonis & Hinojosa (1994) sur la variation intra-graine selon la position des fibres. Ces résultats soulignent que la finesse est un caractère spatialement hétérogène à l'échelle de la plante et de la capsule, et que les approches classiques de mesure globale ne capturent qu'une partie de la variabilité.

Sur le plan moléculaire, les génotypes portant des introgressions au niveau des loci CIR222-BNL4030, BNL3594, CIR141, BNL1693 et BNL256, situés sur différents groupes de liaison, présentent une réduction significative de la largeur du ruban. La dispersion de ces loci sur plusieurs chromosomes, et le fait que des génotypes portant des introgressions différentes montrent une amélioration de la finesse, confirment le caractère polygénique de la finesse de la fibre, comme le suggère la littérature sur les QTL de qualité de fibre.

Ces résultats identifient les souches introgressées issues de l'hexaploïde (*G. hirsutum* $\times$ *G. longicalyx*) et de l'hybride trispécifique comme des candidats intéressants pour l'introgression de la finesse dans *G. hirsutum*. Toutefois, l'utilisation pratique d'hybrides trispécifiques quasi stériles et fortement déséquilibrés reste contraignante, nécessitant de nombreux rétrocroisements et une sélection intensive pour éliminer les effets défavorables liés à des liaisons de gènes (Mergeai, 2006). Les génotypes introgressés fertiles et génétiquement équilibrés constituent, à cet égard, un matériel précieux pour des programmes de sélection introgressive.

Conclusion générale de la discussion

Au-delà de leur intérêt agronomique immédiat, les résultats obtenus apportent des connaissances nouvelles sur l'exploitation des espèces sauvages du genre *Gossypium* pour l'amélioration de la finesse de la fibre. Ils mettent en évidence la diversité souvent sous-utilisée représentée par *G. longicalyx* et *G. thurberi*, confirment la possibilité d'introgression de leurs gènes dans *G. hirsutum* et documentent la nature des réarrangements chromosomiques associés.

L'intégration de données morphologiques, cytogénétiques et moléculaires a permis de relier directement la présence de chromatine sauvage à des modifications mesurables de la finesse, suggérant une modulation des phases d'élongation cellulaire

et de dépôt de la paroi secondaire. Les marqueurs SSR associés à la finesse identifiés dans ce travail ouvrent la voie à des programmes de sélection assistée par marqueurs plus ciblés. Dans l'ensemble, ces résultats confirment l'intérêt des espèces sauvages du genre *Gossypium* comme sources de variabilité pour l'amélioration de la fibre et fournissent un cadre solide pour des travaux ultérieurs visant à affiner la compréhension du déterminisme génétique de la finesse.

Chapitre 6

Conclusion générale et Perspectives

Conclusion générale et perspectives

1. Conclusion

Ce travail a porté sur la caractérisation d'un ensemble de lignées monosomiques d'addition (LMA) issues d'hybridations interspécifiques entre *G. hirsutum* et *G. longicalyx*, ainsi que sur la descendance hybride trispécifique HTL (*G. hirsutum* x *G. longicalyx* x *G. thurberi*). L'objectif principal était de confirmer la présence de chromosomes additionnels sauvages et d'évaluer les effets de ces introgressions sur certains caractères clés, en particulier la qualité de la fibre. Dans un premier temps, le caractère monosomique des lignées a été vérifié au moyen d'analyses morphologiques et cytogénétiques. Les observations phénotypiques ont permis d'identifier des différences visibles suggérant la présence de chromosomes étrangers. Ces résultats ont été confirmés par le comptage chromosomique et l'analyse méiotique. Quatre lignées (F1-1, F1-VII, F1-VIII et F1-XII) ont ainsi été formellement identifiées comme lignées monosomiques d'addition, chacune portant un chromosome surnuméraire de *G. longicalyx*. Les observations méiotiques ont révélé des appariements irréguliers, incluant des multivalents, suggérant l'existence d'échanges chromosomiques entre le chromosome additionnel et le génome récurrent de *G. hirsutum*. La descendance de ces LMA et des hybrides trispécifiques a montré, pour plusieurs génotypes, une amélioration significative de la finesse de la fibre. Ces résultats indiquent que des régions génomiques issues de *G. longicalyx* et potentiellement impliquées dans la régulation de ce caractère ont été effectivement transférées dans le génome cultivé. Les lignées introgressées obtenues constituent ainsi un matériel génétique original et précieux pour des programmes de pré-amélioration et de sélection du cotonnier. Elles fournissent également un point de départ concret pour l'étude d'autres paramètres technologiques (longueur, résistance, uniformité, maturité), ainsi que de caractères agronomiques tels que l'adaptation ou la tolérance aux stress. Il convient toutefois de souligner que l'introgression de fragments chromosomiques complexes peut s'accompagner d'effets non désirés. Certains descendants présentent, à côté d'avancées sur la finesse, des caractéristiques défavorables, suggérant que des QTL antagonistes ont également été transférés. Ce constat incite à envisager l'exploitation de ces ressources dans des schémas de sélection introgressive rigoureux, combinant sélection phénotypique et suivi moléculaire. Dans l'ensemble, ce travail enrichit la diversité génétique disponible chez le cotonnier cultivé, démontre la faisabilité d'introgressions issues d'espèces sauvages telles que *G. longicalyx*, et contribue à l'avancement des connaissances fondamentales en génétique, cytogénétique et biologie évolutive des fibres de coton. .

2. Perspectives

Les résultats obtenus dans ce travail constituent un socle fondamental pour le développement d'approches avancées d'amélioration de la finesse de la fibre chez le cotonnier. En premier lieu, la caractérisation intégrée — morphologique, cytogénétique et moléculaire — des lignées introgressées a permis d'identifier des segments chromosomiques sauvages associés à la finesse. Les marqueurs SSR détectés dans les génotypes introgressés délimitent des régions génomiques candidates qui pourront être exploitées dans des analyses de QTL à haute résolution ou des approches de type GWAS. Ces ressources constituent un prérequis essentiel pour affiner la cartographie des loci impliqués dans la régulation du diamètre de la fibre et pour développer, à terme, des schémas de sélection assistée par marqueurs plus ciblés. Par ailleurs, la mise en évidence de modifications des phases d'élongation et de dépôt pariétal chez les génotypes porteurs de chromatine sauvage ouvrirait des perspectives importantes en transcriptomique et en protéomique. Les génotypes caractérisés dans ce travail offrent un matériel de référence pour identifier des gènes différentiellement exprimés, des régulateurs transcriptionnels et des protéines structurales impliqués dans le déterminisme du diamètre de la fibre. Ils permettront d'établir des réseaux de régulation liant introgressions génomiques, profils d'expression et phénotypes de fibre.

L'identification de régions génomiques transférées des espèces sauvages fournit également un cadre rationnel pour des approches de transgénèse. Les gènes localisés dans les segments introgressés et suspectés d'affecter la finesse pourront être isolés, validés fonctionnellement, puis transférés dans des variétés élités. Les lignées introgressées décrites ici constitueront alors un support de comparaison indispensable pour évaluer précisément les effets des transgènes. Enfin, les régions du génome impliquées dans la réduction du diamètre de la fibre deviennent des cibles privilégiées pour la mutagenèse ciblée, notamment par les technologies CRISPR/Cas9, Cas12a, ou les approches d'édition de base et de "prime editing". Les connaissances produites dans ce travail permettront : d'orienter le choix des gènes cibles à éditer, de définir les variants alléliques naturels à reproduire ou à optimiser, et de contextualiser les effets des mutations induites à partir des phénotypes observés dans les génotypes introgressés.

Ainsi, ce travail fournit non seulement des marqueurs, des régions chromosomiques d'intérêt et un matériel biologique de référence, mais aussi un cadre conceptuel et méthodologique solide pour intégrer transgénèse, omiques et édition génomique ciblée dans les futurs programmes d'amélioration du cotonnier.

Bibliographie

Bibliographie

Abdelraheem A., Nicholas A., Jinfa Z. (2020). Effect of drought on agronomic and fiber quality in an introgressed backcross inbred line population of Upland cotton under field conditions. *Field Crops Research* Volume 254 id.107850

Abidi N., Hequet E., Cabrales L. (2010). Changes in sugar composition and cellulose content during the secondary cell wall biogenesis in cotton fibers. *Cellulose* 17: 153–160.

Adedoyin A., Li C., Toews M.D. (2011). Characterization of single cotton fibers using a laser diffraction system. *Textile Research Journal* 81, 355-367.

Ahoton L. (2002) Utilisation des espèces sauvages australiennes *Gossypium sturtianum* J.H.Willis et *G. australe* F. Muell. pour l'amélioration du cotonnier cultivé *G. hirsutum* L. Thèse de doctorat: Faculté universitaire des Sciences agronomiques de Gembloux (Belgique).

Ahoton L., Lacape JM., Baudoin JP., Mergeai G. (2003) Introduction of Australian diploid cotton genetic variation into Upland Cotton. *Crop Sci* 43.

Ahoton L., Lacape J.M., Dhont A., Baudoin J.P., Mergeai G. (2004). Isolation and characterisation of seven alien monosomic addition lines of *Gossypium australe* F. Muell. on *G. hirsutum* L. In A. Swanepoel (Ed.), *Proceedings of World Cotton Research Conference-3, Cotton production for the new Millenium* (pp. 136-142). ICAC, Cape Town (South Africa), March 9-13, 2003, Pretoria, South Africa.

Ali SNH., Ramanna MS., Jacobsen E., Visser RGF. (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.

Ali M., Akhtar M., & Abbas G. (2021). Effect of plant spacing and nitrogen rates on fiber fineness of cotton. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences* 58(3), 501–509.

Applequist W. L., Cronn R., Wendel J. F. (2001). Comparative development of fiber in wild and cultivated cotton. *Evol. Dev.* 3 3–17.

Bachelier Bruno., Gourlot Jean-Paul. (2021). Culture cotonnière - Produits, marchés et enjeux de durabilité. *Techniques de l'Ingénieur. Bioprocédés* (N4600v1) : 1-16.

Baghyalakshmi K., Priyanka R.A., Sarathapriya G. et al. (2024). Genetic improvement of fiber quality in tetraploid cotton: an overview of major QTLs and genes involved in and edited for the quality of cotton fibers. *J Cotton Res* 7, 33.

Bajwa KS., Shahid AA., Rao AQ., *et al.* (2015). Stable transformation and expression of *GhEXPA8* fiber expansin gene to improve fiber length and micronaire value in cotton. *Front Plant Sci* 6:838.

Bai F., & Scheffler J. (2024). Genetic and Molecular Regulation of Cotton Fiber Initiation and Elongation. *Agronomy* 14(6), 1208.

Barzman M., Bàrberi P., Birch ANE., Boonekamp P., Dachbrodt-Saaydeh S., Graf B. (2015). Eight principles of integrated pest management. *Agronomy for Sustainable Development* 35: 1199–1215.

Bange M.P., Constable G. A., Johnston D. B., & Kelly, D. (2010). A method to estimate the effects of temperature on cotton micronaire. *Journal of Cotton Science*, 3, 164-172.

Becerra Lopez-Lavalle LA., Brubaker CL. (2007) Frequency and fidelity of alien chromosome transmission in *Gossypium* hexaploid bridging populations. *Genome* 50:479:91.

Benbouza H., Baudoin J.P., Mergeai G. (2006). Amélioration de la méthode d'extraction d'ADN au CTAB appliquée aux feuilles de cotonnier. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 10, 2, 73-76.

Benbouza H.; Diouf F B H., Ndir K., Baudoin JP., Mergeai G. (2008) Preferential transmission of *Gossypium sturtianum* chromosome fragments in the progeny of [(*G. hirsutum* x *G. raimondii*)2 x *G. sturtianum*] trispecific hybrid. The World Cotton Research Conference.

Benbouza H., Jacquemin JM., Baudoin JP., Mergeai G. (2006) Optimization of a reliable, fast, cheap and sensitive silver staining method to detect SSR markers in polyacrylamide gels. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ* 10(2):77-81

Bradow J. M., Wartelle L. H., Bauer, P. J., & Sassenrath-Cole G. F. (1997). Small-Sample Cotton Fiber Quality Quantitation. *The Journal of Cotton Science* 1: 48-60.

Butterworth K. M., Adams D. C., Horner H. T., Wendel J. F. (2009). Initiation and early development of fiber in wild and cultivated cotton. *Int. J. Plant Sci.* 170, 561–574.

Chang X., Guo C., Pan Z., *et al.* (2023). QTL mapping for fiber quality based on introgression lines population from *G. hirsutum* × *G. tomentosum*. *Agriculture*. 13(3):579

Chen ZJ., Phillips RL., Rines HW. (1998). Maize DNA enrichment by representational difference analysis in a maize chromosome addition line of oat. *Theor Appl Genet* 97:337–344.

Chen JF., Luo XD., Qian CT., Jahn MM., Staub JE., Zhuang FY., Lou QF., Ren G. (2004). *Cucumis* monosomic alien addition lines: morphological, cytological and genotypic analyses. *Theor Appl Genet* 108:1343–1348.

Chen Y., Wang Y., Wang K., Zhu X., Guo W., *et al.*, (2014). Construction of a complete set of alien chromosome addition lines from *Gossypium australe* in *Gossypium hirsutum*: morphological, cytological, and genotypic characterization. *Theoretical and Applied Genetics* 127:1105–1121.

Constable G. A., Liu S., Oosterhuis D. M. (2023). Environmental and management determinants of cotton fiber quality. *Field Crops Research*, 302, 108964.

Cronn RC., Small RL, Haselkorn T., Wendel JF. (2002). Rapid diversification of the cotton genus (*Gossypium*: *Malvaceae*) revealed by analysis of sixteen nuclear and chloroplast genes. *Am. J. Bot* 89:707–725.

D'Hont A., Rao P.S., Feldmann P., & Grivet L. (1995). Identification and characterization of sugarcane intergeneric hybrids, *Saccharum officinarum* × *Erianthus arundinaceus*, with molecular markers and DNA *in situ* hybridization. *Theor. Appl. Genet* 91: 320-326.

Darawshah MK., Beslemes D., KouV., *et al.* (2022). Environmental and regional effects on fiber quality of cotton cultivated in Greece. *Agronomy* 12:943.

Davidonis G., Hinojosa O. (1994). Influence of seed location on cotton fiber development in planta and *in vitro*. *Plant Science* 203: 107-113.

Delhom C. D., Cui X., Thibodeaux D. P. (2010). *Single fiber testing via FAVIMAT. Beltwide Cotton Conferences*. New Orleans.

Demol J., Verschraege L., & Maréchal R. (1978). Utilisation des espèces sauvages en amélioration cotonnière. Observations sur les caractéristiques technologiques des nouvelles formes allohexaploïdes. *Coton Fibres Tro* 33 : 327-333.

Dhaliwal HS., Harjit S., William M. (2002). Transfer of rust resistance from *Aegilops ovata* into bread wheat *Triticum aestivum* L. and molecular characterisation of resistant derivatives. *Euphytica* 126:153– 159

Doane D. P., & Seward L. E. (2011). Measuring Skewness: A Forgotten Statistic? *Journal of Statistics Education*, 19(2).

Diouf FBH., Benbouza H., Nacoulima NL., Ndir KN., Konan O., Mergeai G. (2014) Segregation distortions in an interspecific cotton population issued from the $[(Gossypium\ hirsutum \times G. raimondii)^2 \times G. sturtianum]$ hybrid. *Tropicultura* 32: 73-79.

Endrizzi JE., Turcotte EL., Kohel RJ. (1985). Genetics, cytogenetics and evolution of *Gossypium*. *Adv Genet* 23:271–375.

Fang XH., Gu SH., Xu ZY., Chen F., Guo DD., Zhang HB., Wu NH. (2004). Construction of a binary BAC library for an apomictic monosomic addition line of *Beta corolliflora* in sugar beet and identification of the clones derived from the alien chromosome. *Theor Appl Genet* 108:1420–1425.

FAO. (2022). Tendances et perspectives récentes du marché mondial du coton et évolution des politiques. *Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture*. ISBN: 978-92-5-136985-2

Fox SL., Jellen EN., Kianian SF., Rines HW., Phillips RL. (2001). Assignment of RFLP linkage groups to chromosomes using monosomic F1 analysis in hexaploid oat. *Theor Appl Genet* 102:320–326.

Frerich S.J.(1995) Evaluation of *Gossypium longicalyx* monosomic addition lines of *Gossypium hirsutum* for resistance to *Rotylenchulus reniformis* nematode. M.S. thesis. Texas A&M Univ, College Station.

Fryxell P.A. (1992). A revised taxonomic interpretation of *Gossypium* L. (*Malvaceae*). *Rheede* 2 108-165.

Fu S., Zhenling Lv., Qi B., Guo X., Jun Li., Liu B., Han F. (2012). Molecular Cytogenetic characterization of wheat-*Thinopyrum elongatum* addition, substitution and translocation lines with a novel source of resistance to wheat *Fusarium* head blight. *J Genet Genomics* 39:103–110.

Gao D., Jung C. (2002). Monosomic addition lines of *Beta corolliflora* in sugar beet: Plant morphology and leaf spot resistance. *Plant Breeding* 121:81–86.

Gingle A R., Yang H., Chee P. W., May O. L., Rong J., Bowman D. T., Hsieh Y. L. (2006a). *Cotton: Science and technology*. Cambridge UK: Woodhead Publishing Limited.

Gingle A R., Yang H., Chee P. W., May O. L., Rong J., Bowman D. T., Paterson A. H. (2006b). An integrated Web resource for cotton. *Crop Sci* 46: 1998-2007.

Gnofam N., Tozo K., Bonfoh B., Akantetou K., Kolani L., Ampouzouvi K. (2014). Effets d'un déficit hydrique sur certains paramètres morphologiques, physiologiques et de rendement chez le cotonnier (*Gossypium hirsutum* L. CV STAM129A) cultivé au Togo. *Agronomie Africaine* 26 113–125.

Graham B. P., Haigler C. H. (2021). Microtubules exert early, partial, and variable control of cotton fiber diameter. *Planta* 253, 47.

Gao M., Snider J. L., Bai H., Hu W., Wang R., Meng Y. L., *et al.* (2020). Drought effects on cotton (*Gossypium hirsutum* L.) fibre quality and fibre sucrose metabolism during the flowering and boll-formation period. *J. Agron. Crop Sci.* 206, 309–321.

Guo K., Tu L., He Y., Deng J., Wang M., Huang H., Li Z., Zhang X. (2017). Interaction between calcium and potassium modulates elongation rate in cotton fiber cells. *J Exp Bot.* 68(18):5161-5175.

Haigler C. H., Singh B., Wang G., Zhang, D. (2009). “Genomics of cotton fiber secondary wall deposition and cellulose biogenesis,” in *Genetics and genomics of cotton*. Ed. Paterson, A. H. (New York, NY: Springer US), 385–417.

Haigler C. (2010). Physiological and Anatomical Factors Determining Fiber Structure and Utility. In: Stewart, J.M., Oosterhuis, D.M., Heitholt, J.J., Mauney, J.R. (eds) *Physiology of Cotton*. Springer, Dordrecht.

Haigler C. H., Betancur L., Stiff M. R., Tuttle J. R. (2012). Cotton fiber: a powerful single-cell model for cell wall and cellulose research. *Front. Plant Sci* 3, 104.

Hall P. (2014). *Wiley Stats Ref: Statistics Reference Online*. John Wiley & Sons, Ltd.

Han LB., Li YB., Wang HY., Wu XM., Li CL., Luo M., Wu SJ., Kong ZS., Pei Y., Jiao GL., Xia GX. (2013). The dual functions of WLIM1a in cell elongation and secondary wall formation in developing cotton fibers. *Plant Cell* 25:4421–4438.

Hau B. (1981). Lignées d'addition sur l'espèce *Gossypium hirsutum* L. II. Description phénotypique de quelques lignées d'addition monosomiques de *G. anomalum* et *G. stocksii*. *Coton Fibres Tro* 36:285-296.

Hua YW., Li ZY. (2006). Genomic *in situ* hybridization analysis of intergeneric hybrids between *Brassica napus* and *Orychophragmus violaceus* and production of *B. napus* aneuploids. *Plant Breeding* 125:144–149.

Huang Y., Xu B. (2002). Image analysis for cotton fibers Part I: Longitudinal measurements. *Textile Res J.* 72: 713-720.

Jena KK., Khush GS. (1990). Introgression of genes from *Oryza officinalis* Well exWatt to cultivated rice, *O. sativa* L. *Theor Appl Genet* 80:737–745.

Jiang CX., Chee PW., Draye X., Morrell PL., Smith CW., Paterson AH. (2000). Multilocus interactions restrict gene introgression in interspecific populations of polyploid *Gossypium* (cotton). *Evolution* 54:798–814.

Jiang J, Gill B S. (2006). Current status and the future of fluorescence *in situ* hybridization (FISH) in plant genome research. *Genome*. 49:1057-1068.

Khan MK., Chen H., Zhou Z., Ilyas MK., Wang X., Cai X., Wang C., Liu F., Wang K.(2016). Genome Wide SSR High Density Genetic Map Construction from an Interspecific Cross of *Gossypium hirsutum* × *Gossypium tomentosum*. *Front Plant Sci*. 7:436.

Khan Z., Khan S. H., Mubarik M. S., Ahmad A. (2018). Targeted Genome Editing for Cotton Improvement. *InTech*.

Kim HJ. (2018). Cotton fiber biosynthesis. In: Fang DD, editor. Cotton fiber: physics, chemistry and biology. Cham, Switzerland: *Springer Nature* Switzerland AG p. 133.

Kiobia DO., Mwitta CJ., Fue KG., *et al.*, (2023). A review of successes and impeding challenges of IoT-based insect pest detection systems for estimating agroecosystem health and productivity of cotton. *Sensors*. 23(8):4127.

Kong F., Wang H., Cao A., Qin B., Ji J., Wang S., Wang X. (2008). Characterization of *T. aestivum*-*H. californicum* chromosome addition lines DA2H and MA5H. *J Genet Genomics*. 35(11):673-8.

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 (France).

Kloth R. H. (1998). Cotton Improvement. Analysis of commonality for traits of cotton fiber. *J. Cot. Sci* 2: 17-22.

Lee H S., Chen Z J. (2001). Protein-coding genes are epigenetically regulated in *Arabidopsis* polyploids. *Proc Natl Acad Sci USA* 98:6753–58.

Li X., Wang XD., Zhao X., Dutt Y. (2004). Improvement of cotton fiber quality by transforming the *acsA* and *acsB* genes into *Gossypium hirsutum* L. by means of vacuum infiltration. *Plant Cell Rep* 9 :691-7.

Li B., Yang Y., Hu W., Li X., Cao J., Fan L. (2015). Over-expression of GhUGP1 in Upland cotton improves fibre quality and reduces fibre sugar content. *Plant Breed* 134:197–202.

Li C., Zhao J., Liu Z., *et al.* (2024). Comparative transcriptomic analysis of *Gossypium hirsutum* fiber development in mutant materials (*xin w 139*) provides new insights into cotton fiber development. *Plants* 13(8):1127.

Liang Q., Hu C., Hua H., *et al.* (2013) Construction of a linkage map and QTL mapping for fiber quality traits in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Chin Sci Bull.*58:3233–43.

Long R. L., Bange M. P., Gordon S. G., Van der Sluijs M. H. J., Naylor G. R. S., & Constable G. A. (2010). Fiber quality and textile performance of some Australian cotton genotypes. *Crop Science*, 50, 1509-1518.

Long L.R., & Bange M. P. (2012). Consequences of immature fiber on the processing performance of Upland cotton. *Field Crops Research*, 121(3), 401-407.

Lukaszewski AJ., Lapinski B., Rybka K. (2005). Limitations of *in situ* hybridization with total genomic DNA in routine screening for alien introgressions in wheat. *Cytogenet Genome Res.* 109(1-3):373-7.

Maréchal R. (1983). A collection of interspecific hybrids of genus *Gossypium*. *Coton Fibres Trop.*, 38, 240-246.

May O. L. (1999). Genetic variation for fiber quality. In A. S. Basra (Ed.), *Cotton Fibers - Developmental Biology, Quality Improvement, and Textile Processing*. Food Products Press Imprint of Haworth Press, New York, NY.

Mehran M., Ashraf M., Shahzad S. M., Shakir M. S., Ahmad F., & Alvi A. (2023). Growth, yield and fiber quality characteristics of Bt and non-Bt cotton cultivars in response to boron nutrition. *Journal of Cotton Research* 6, 1.

Mergeai G. (1992). Utilisation du cotonnier sauvage *Gossypium areysianum* Defl. Hutch. pour l'amélioration de l'espèce cultivée *Gossypium hirsutum* L. *PhD thesis*. Faculté des Sciences Agronomiques de Gembloux.

Mergeai G., Noel JM., Louwagie J., Baudoin JP. (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.

Mergeai G. (2006). Introgressions interspécifiques chez le cotonnier. *Cah. Agric.* 15:135—143

Mergeai G., Baudoin JP., Konan O.N. (2010). Improvement of Upland Cotton through Interspecific Hybridization: Analyze of the Fibre Fineness of Bi- and Trispecific Hybrids Involving *G. hirsutum*. In *Proc. Beltwide cotton conf*, January 4-7 New Orleans.

Mergeai G., Baudoin JP., Vroh B. (1997). Exploitation of trispecific hybrids to introgress the glandless seed and glanded plant trait of *Gossypium sturtianum* Willis into *G. hirsutum* L. - *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 1, 272 – 277.

Mesbah M., Scholten OE., Bock TSMD., Lange W., De Bock TSM. (1997). Chromosome localisation of genes for resistance to *Heterodera schachtii*, *Cercospora beticola* and *Polymyxa betae* using sets of *Beta procumbens* and *B. patellaris* derived monosomic additions in *B. vulgaris*. *Euphytica* 97:117–127.

Minitab 17 Statistical Software. (2010). [Computer software]. State College, PA: Minitab, Inc. Retrieved from <http://www.minitab.com>

Mishra S. P. (2000). *A Text Book of Fibre Science and Technology*. New Delhi, India: New Age International (P) Ltd.

Mishra R., Yadav N. R., Wilkins T. A. (2001). Manipulation of fiber quality in transgenic cotton via ectopic expression of fiber genes. 2001. *Proceedings of the Beltwide Cotton Conference* 1437-1439 Memphis.

Muehlbauer GJ., Riera Lizarazu O., Kynast RG., Martin D., Phillips RL., Rines HW. (2000). A maize chromosome 3 addition line of oat exhibits expression of the maize homeobox gene *liguleless-3* and alteration of cell fates. *Genome* 43:1055–1064.

Murray M., Thompson WF. (1980). Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Res* 8:4321-4325.

Nacoulima N. L., Mergeai, G. (2014). Study of the possibilities to improve the fineness of the fiber in cotton. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ* 18(4): 566-576.

Naoumkina M., Kim HJ. (2023). Bridging molecular genetics and genomics for cotton fiber quality improvement. *Crop science* 63(4):1794-1815.

NDungo V., Demol J., Maréchal R. (1988). L'amélioration du cotonnier *Gossypium hirsutum* L. par hybridation interspécifique. 3. Application et résultats obtenus. *Bull. Rech. Agron. Gembloux* 23 :283-316.

Nguyen TB., Giband M., Risterucci AM., Lacape JM. (2004). Wide coverage of the tetraploid cotton genome using newly developed microsatellite markers. *Theor. Appl. Genet* 109:167-175.

Pei W., Song J., Wang W., Ma J., Jia B., Wu L., Wu M., Chen Q., Qin Q., Zhu H. (2021). Quantitative trait locus analysis and identification of candidate genes for micronaire in an interspecific backcross inbred line population of *Gossypium hirsutum* × *Gossypium barbadense*. *Front Plant Sci* 12:763016.

Peng R., Xu Y., Tian S., *et al.* (2022). Evolutionary divergence of duplicated genomes in newly described allotetraploid cottons. *Proc Natl Acad Sci USA* 119(39):e2208496119.

Peterka H., Budahn H., Schrader O., Ahne R., Schutze W. (2004). Transfer of resistance against the beet cyst nematode from radish (*Raphanus sativus*) to rape (*Brassica napus*) by monosomic chromosome addition. *Theor Appl Genet* 109:30–41.

Pearson K. (1895). Memoir on skew variation in homogeneous material. *Phil. Trans. Roy. Soc. A*, 186, 343-414.

Pearson K. (1905). Das fehlergesetz und seine verallgemeinerungen durch fechner und Pearson: *Biometrika*, 4, 169-212.

Phillips LL, Strickland M (1966) The cytology of a hybrid between *Gossypium hirsutum* and *G. longicalyx*. *Can. J. Genet. Cytol.* 8:91–95.

Poisson C. (1970). Contributions à l'étude de l'hybridation interspécifique dans le genre *Gossypium* : transfert de matériel génétique de l'espèce sauvage diploïde *G. anomalum* à l'espèce cultivée *G. hirsutum*. *Thèse de Doctorat es Science*. Orsay

OCDE/FAO. Perspectives agricoles de l'ocde et de la fao 2024-2033 © OCDE/FAO 2024

Rodgers J. E., Delhom C., Fortier C., & Thibodeaux D. (2012). A rapid measurement for cotton breeders of maturity and fineness from developing and mature fibers. *Text. Res. J.*, 82(3).

Roehrich O. (1947). Méthode générale d'étude des caractères technologiques des fibres textiles végétales (2 ème partie). *Coton Fibres Tro.*, 2(3).

Rooney WL., Stelly DM., Altman DW. (1991). Identification of four *Gossypium sturtianum* monosomic alien addition derivatives from a backcrossing program with *G. hirsutum*. *Crop Sci.* 31:337—341.

Sarr D., Lacape J. M., Jacquemin J. M., Benbouza H., Toussaint A., Baudoin J. P., & Mergeai G. (2012). Alien chromosome transmission and somatic elimination in monosomic addition lines of *Gossypium australe* F. Muell in *G. hirsutum* L. *Euphytica* 18: 55-64.

Shaked H., Kashkush K., Ozkan H., Feldman M., Levy AA. (2001). Sequence elimination and cytosine methylation are rapid and reproducible responses of the genome to wide hybridization and allopolyploidy in wheat. *Plant Cell* 13:1749–1759.

Shangguan X.X.; Yang C.Q.; Zhang, X.F.; Wang L.J. (2016). Functional characterization of a basic helix-loop-helix (bHLH) transcription factor GhDEL65 from cotton (*Gossypium hirsutum*). *Physiol. Plant* 158 : 200–212.

Silvie P., Papierok B. (2025). Les arthropodes du cotonnier. Diversité et modalités de gestion des ravageurs. Versailles : Ed. Quae, 194 p. (Savoir faire) ISBN 978-2-7592-4000-5.

Skalicka K., Lim KY., Matyasek R., Matzke M., Leitch AR., Kovarik A. (2005). Preferential elimination of repeated DNA sequences from the paternal, *Nicotiana tomentosiformis* genome donor of a synthetic, allotetraploid tobacco. *New Phytol.* 166:291–303.

Song K., Lu P., Tang K., Osborn TC. (1995). Rapid genome change in synthetic polyploids of *Brassica* and its implications for polyploid evolution. *Proc Natl Acad Sci USA.* 92:7719–23.

Song X., Zhu G., Su X., Yu Y., Duan Y., Wang H., Shang X., Xu H., Chen Q., Guo W. (2024). Combined genome and transcriptome analysis of elite fiber quality in *Gossypium barbadense*. *Plant Physiol* 195(3):2158–217.

Su X., Zhu G., Song X., Xu H., Li W., Ning X., Chen Q., Guo W. (2020). Genome-wide association analysis reveals loci and candidate genes involved in fiber quality traits in sea island cotton (*Gossypium barbadense*). *BMC Plant Biol* 20:1–1.

Snowden M.C., Ritchie G.L., Simao F.R, Bordovsky J.P. (2014). Timing of Episodic Drought Can Be Critical in Cotton. *Agronomy Journal* 106: 452-458.

Sun R., Li C., Zhang J., Li F., Ma L., Tan Y., Wang Q., Zhang, B. (2017). Differential expression of microRNAs during fiber development between fuzzless-lintless mutant and its wild-type allotetraploid cotton. *Sci. Rep.* 7, 3.

Tuttle J. R., Nah G., Duke M. V., Alexander D. C., Guan X., Song Q., *et al.* (2015). Metabolomic and transcriptomic insights into how cotton fiber transitions to

secondary wall synthesis, represses lignification, and prolongs elongation. *BMC Genomics* 16: 477.

Tate JA., Ni Z., Scheen AC., Koh J., Gilbert CA., *et al.* (2006). *Genetics* 173:1599–611.

Tesema A. F., Gautam S., Sayeed M. A., Turner C., Delhom C. D., & Abidi N. (2024). Application of the Optical Fiber Diameter Analyzer for Assessing Cotton Fiber Ribbon Width. *Journal of Natural Fibers* 21(1).

USDA. (2013). *USDA estimates world cotton production for 2012/13 will be down 4 percent*. Southeast Farm Press.

USDA. (2024). Cotton Disease Loss Estimates from the United States — 2024 DOI: doi.org/10.31274/cpn-20250310-0.

Vroh Bi I., Chandelier A., Mergeai G., Du Jardin P. (1996). Improved RAPD amplification of recalcitrant plant DNA by the use of activated charcoal during DNA extraction. *Plant Breeding* 115:205-206.

Vu H., Iwata M., Yamuchi N., Shigyo M. (2011). Production of novel alloplasmic male sterile lines in *Allium cepa* harbouring the cytoplasm from *Allium roylei*. *Plant Breed.* 475:469–475.

Wang J., Tian L., Madlung A., Lee HS., Chen M., *et al.* (2004) Stochastic and epigenetic changes of gene expression in *Arabidopsis* polyploids. *Genetics*.167:1961–73.

Wang R., Gao M., Ji S., Wang S., Meng Y., Zhou Z. (2016). Carbon allocation, osmotic adjustment, antioxidant capacity and growth in cotton under long-term soil drought during flowering and boll-forming period. *Plant Physiology and Biochemistry* Volume 107, Pages 137-146.

Wang Y., Li Y., Gong SY., Qin LX., Nie XY., Liu D., Zheng Y., Li XB. (2022). *GhKNL1* controls fiber elongation and secondary cell wall synthesis by repressing its downstream genes in cotton (*Gossypium hirsutum*). *J Integr Plant Biol.* 64(1):39-55.

Xiao G., Zhao P., Zhang Y. (2019). A pivotal role of hormones in regulating cotton fiber development. *Front Plant Sci.*10:87.

Xu H. J., Yang X. J., & Zhu Y. X. (2025). Research on the role of micronutrient management in improving cotton fiber quality. *Cotton Genomics and Genetics* 16(2), 72-79.

Yang P., Sun X., Liu X., Wang W., Hao Y., Chen L., Liu J., He H., Zhang T., Bao W (2022) Identification of candidate genes for lint percentage and fiber quality through QTL mapping and transcriptome analysis in an allotetraploid interspecific cotton CSSLs population. *Front Plant Sci* 13:882051

Yik CP., Birchfield W. (1984). Resistant germplasm in *Gossypium* species and related plants to *Rotylenchulus reniformis*. *J Nematol* 16:146-153.

Zenga, M. (2014). *Wiley Stats Ref: Statistics Reference Online*. John Wiley & Sons, Ltd.

Zhang JY., Li XM., Wang RRC., Cortes A., Rosas V., Mujeeb Kazi A. (2002) Molecular cytogenetic characterization of Eb-genome chromosomes in *Thinopyrum bessarabicum* disomic addition lines of bread wheat. *Int J Plant Sci* 163:167–17.

Zhang TZ., Hu Y., Jiang WK., *et al.* (2015). (Sequencing of allotetraploid cotton (*Gossypium hirsutum* L. acc. TM-1) provides a resource for fiber improvement. *Nat Biotechnol.* 33:531–7.

Zhu J., Sun, L., Ju F., *et al.* (2022). Potassium application increases cotton fiber length and fineness under moderate salinity. *Agronomy*, 12(12), 2962.

Zhu H., Hu W., Li Y., Zou J., He J., Wang Y., Meng Y., Chen B., Zhao W., Wang S., Zhou Z. (2024). Drought decreases cotton fiber strength by altering sucrose flow route. *J Exp Bot.* 75(11):3579-3595.

