



HAL
open science

Culture in vitro d'anthères de piment (*Capsicum annuum* L.): amélioration des taux d'obtention de plantes chez différents génotypes par des traitements à + 35 °C

Robert Dumas de Vaultx, Daniel Chambonnet, Edmond Pochard

► To cite this version:

Robert Dumas de Vaultx, Daniel Chambonnet, Edmond Pochard. Culture in vitro d'anthères de piment (*Capsicum annuum* L.): amélioration des taux d'obtention de plantes chez différents génotypes par des traitements à + 35 °C. *Agronomie*, 1981, 1 (10), pp.859-864. hal-00884205

HAL Id: hal-00884205

<https://hal.science/hal-00884205>

Submitted on 11 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Culture *in vitro* d'anthères de piment (*Capsicum annuum* L.) : amélioration des taux d'obtention de plantes chez différents génotypes par des traitements à + 35 °C

Robert DUMAS DE VAULX, Daniel CHAMBONNET & Edmond POCHARD

I.N.R.A., Station d'Amélioration des Plantes maraîchères, Centre de Recherches agronomiques d'Avignon, F 84140 Montfavet

RÉSUMÉ

Piment,
Capsicum annuum,
Culture d'anthères,
Haploïdie,
Température.

Cet article décrit les améliorations de la technique de culture *in vitro* d'anthères de piment (*Capsicum annuum* L.) qui permettent l'obtention de plantes haploïdes et diploïdes à des fréquences élevées quel que soit le génotype de la plante d'origine.

Les principaux facteurs de réussite sont :

— le passage à + 35 °C et à l'obscurité pendant les 8 premiers jours de culture sur un milieu gélosé contenant soit de la kinétine à 10^{-8} et du 2-4 D à 10^{-8} , soit de la kinétine à 2×10^{-6} et du 2-4 D à 10^{-7} . La première combinaison de substances de croissance semble supérieure.

— Le repiquage des anthères, après 12 jours de culture, sur un nouveau milieu ne contenant que de la kinétine à 10^{-7} (= R1).

Des plantes sont obtenues directement sur R1 après environ 40 jours de culture. Cependant, un pourcentage plus élevé d'embryons donne naissance à des plantes si on les repique sur un milieu enrichi en kinétine (2×10^{-6}) (= R2).

Cette technique a permis d'obtenir de 5 à 40 plantes pour 100 anthères mises en culture à partir de cultivars à gros fruits, de F₁ entre cultivars de type poivron ou de F₁ entre cultivars à gros et à petits fruits.

Parmi les plantes obtenues, on peut noter une fréquence parfois très élevée (jusqu'à 50 p. 100) de plantes diploïdes. Certaines d'entre elles apparaissent sous forme de chimères haplo-diploïdes.

SUMMARY

Pepper,
Capsicum annuum,
Anther culture,
Haploidy,
Temperature.

In vitro culture of pepper (*Capsicum annuum* L.) anthers : high rate plant production from different genotypes by + 35 °C treatments

New improvements are presented on the technique of *in vitro* culture of pepper anthers allowing high rates of haploid and diploid plant production from different cultivars.

The most important factors of success are :

— + 35 °C temperature and darkness during the first days of *in vitro* culture on C medium complemented with 10^{-8} kinetin plus 10^{-8} 2-4-D or 2×10^{-6} kinetin plus 10^{-7} 2-4-D. The first growth substances association gives better results than the second one.

— Anther transfer, after 12 days culture on C medium, on a new culture medium with 10^{-7} kinetin and no 2-4 D (= R1).

Plants directly arise on R1 medium after about 40 days. But an higher plant frequency is obtained if embryos are transferred on a new medium with 2×10^{-6} kinetin (= R2).

With this technique, 5 to more 40 plants for 100 cultured anthers are obtained from large fruited cultivars (lines or F₁ hybrid) and from F₁ between large and small fruited cultivars.

Among anther-derived plants high frequencies of diploids or haploid-diploid chimera were observed, sometimes more than 50 p. 100.

I. INTRODUCTION

L'obtention de plantes haploïdes de piment par culture d'anthères *in vitro* date de 1973 avec les travaux de WANG *et al.*, KUO *et al.*, GEORGE & NARAYANASWAMY. Les techniques utilisées par ces auteurs, ainsi que celles de SACCARDO

& DEVREUX (1974) et de HARN *et al.* (1975), n'ont permis l'obtention de plantes qu'à des taux faibles. Sur notre matériel végétal et dans nos conditions de culture, les résultats de ces auteurs n'ont pu être reproduits. Nous avons donc été amenés à mettre au point une technique originale de culture d'anthères qui a permis d'obtenir environ une plante pour 100 anthères mises en culture (SIBI *et al.*, 1979).

Par la suite, nous avons cherché à améliorer le taux de réussite de notre technique.

KELLER & ARMSTRONG (1978-1979), HANSSON (1978) et RENARD & DOSBA (1980), sur le colza, ont montré l'efficacité des traitements à température élevée pendant les premiers jours de culture des anthères.

Nous avons appliqué leur technique au piment : des traitements à + 35 °C pendant les 2 premiers jours de culture sur milieu gélosé se sont révélés très supérieurs aux prétraitements des boutons à + 4 °C utilisés précédemment (SIBI *et al.*, 1980).

Des traitements à + 35 °C plus longs (8 j.) associés à de plus faibles teneurs en substances de croissance améliorent la qualité de l'embryogenèse et le rendement en plantes (DUMAS DE VAULX *et al.*, 1981).

Le but de cet article est de faire la synthèse des différentes améliorations successives de notre technique de culture d'anthères *in vitro*. Les mises au point techniques ayant été réalisées sur un petit nombre de cultivars, nous avons ensuite éprouvé nos meilleures combinaisons : traitement thermique-milieu de culture sur une gamme élargie de génotypes pour nous assurer de la reproductibilité du phénomène d'androgenèse en vue de son application à la sélection et à diverses études de génétique.

II. MATÉRIEL ET MÉTHODES

A. Matériel végétal

Le matériel utilisé comprend des cultivars à gros fruits de type poivron :

— *Lignées* : B 107, 69-3 (36 × 364), 69-2 (6-3) ; ces 2 dernières lignées nous ont servi de matériel témoin pour les mises au point techniques dans les travaux précédents et sont d'excellentes productrices d'haploïdes parthénogénétiques.

— *Hybrides F₁* : (« Yolo Wonder » × « Yolo Y »), (B 107 × « Yolo Wonder »), [69 - 2 (6 - 3) × 69 - 9 - 60 (1 - 9)].

Nous avons également étudié 6 hybrides F₁ entre des lignées de type poivron et des cultivars à petits fruits proches du type sauvage qui sont des géniteurs de résistance à divers parasites : *Phytophthora capsici*, virus Y de la pomme de terre, virus de la mosaïque du concombre, nématodes à galles.

PM 687 × « Yolo Wonder »
« Perennial » × « Yolo Wonder »
PM 217 × « Yolo Wonder »
« Rama » × « Yolo Wonder »
« Doux des Landes » × « Florida Vr 2 »
« Perennial » × « Florida Vr 2 »

B. Conditions de culture *in vitro*

Les boutons floraux sont prélevés à un stade proche de la mitose pollinique repéré par l'équivalence de la longueur des pétales et des sépales et à l'apparition d'anthocyanes sur l'extrémité apicale des anthères (SIBI *et al.*, 1979). Les boutons floraux sont désinfectés par un passage rapide dans une solution d'hypochlorite de calcium à 10 p. 100 additionnée d'un mouillant puis par trempage dans la même solution

sans mouillant pendant 10 mn. Ils sont ensuite rincés 3 fois à l'eau stérile.

Chaque boîte de Petri (en polystyrène de 55 mm de diamètre) contenant le milieu gélosé reçoit les anthères de 2 boutons floraux soit de 10 à 12 anthères. Les boîtes de Petri sont fermées par un ruban de film plastique étirable (Reynolon).

Immédiatement après la mise en culture, les boîtes de Petri contenant les anthères sont placées à + 35 °C pendant 2 ou 8 j à l'obscurité. Elles sont ensuite transférées dans une enceinte climatisée à + 25 °C continu et 12 h d'éclairage par tubes luminescents Sylvania-CW.

C. Milieux de culture

La composition des milieux de base C (pour la mise en culture) et R (pour le repiquage des anthères ou des embryons) figure dans le tableau 1.

Pendant les 12 premiers jours de culture, les anthères sont placées sur un milieu de type C. Les résultats mentionnés plus loin ont été obtenus avec les milieux :

- C_A = milieu de base C + kinétine 2 × 10⁻⁶
+ 2.4 D 10⁻⁷
- C_P = milieu de base C + kinétine 10⁻⁸
+ 2.4 D 10⁻⁸

(les concentrations en substances de croissance sont exprimées en g/ml : 10⁻⁶ g/ml = 1 mg/l).

TABLEAU 1

Composition des milieux de base C et R.
Composition of C and R basic media

	Milieu C	Milieu R
Macro-éléments (en mg/l) :		
KNO ₃	2 150	2 150
NH ₄ NO ₃	1 238	1 238
MgSO ₄ , 7H ₂ O	412	412
CaCl ₂ , 2H ₂ O	313	313
KH ₂ PO ₄	142	142
Ca (NO ₃) ₂ , 4H ₂ O	50	50
NaH ₂ PO ₄ , H ₂ O	38	38
(NH ₄) ₂ SO ₄	34	34
KCl	7	7
Micro-éléments (en mg/l) :		
MnSO ₄ , H ₂ O	22,130	20,130
ZnSO ₄ , 7H ₂ O	3,625	3,225
H ₃ BO ₃	3,150	1,550
KI	0,695	0,330
Na ₂ MoO ₄ , 2H ₂ O	0,188	0,138
CuSO ₄ , 5H ₂ O	0,016	0,011
CoCl ₂ , 6H ₂ O	0,016	0,011
Vitamines et acides aminés (en mg/l) :		
méso-inositol	50,300	50,300
pyridoxine (HCl)	5,500	5,500
acide nicotinique	0,700	0,700
thiamine (HCl)	0,600	0,600
pantothénate de Calcium	0,500	0,500
vitamine B12	0,030	—
biotine	0,005	0,005
glycine	0,100	0,100
Fer chélaté (en mg/l) :		
Na ₂ E.D.T.A.	18,65	18,65
FeSO ₄ , 7H ₂ O	13,90	13,90
Additifs (en g/l) :		
saccharose	30	30
agar	8	8
pH ajusté à :	5,9	5,9

Après le 12^e jour, les anthères sont systématiquement transférées sur le milieu R1 = milieu de base R avec 10^{-7} de kinétine.

La chronologie de ces différentes étapes est résumée dans la figure 1.

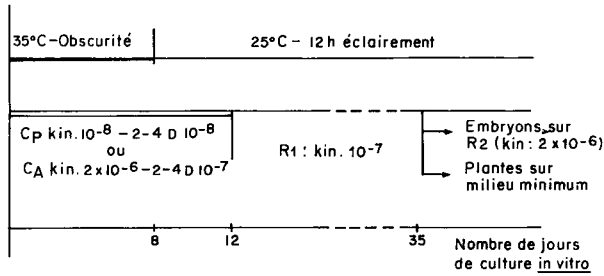


Figure 1
Graphique résumant la technique de culture d'anthères *in vitro* mise au point pour le piment.
Diagram showing the most important steps for pepper anther culture.

Les premiers embryons commencent à apparaître dans les fentes de déhiscence des anthères après 25 à 30 j de culture. Des plantes sont obtenues directement sur le milieu R1. Sur ce milieu, certains embryons ayant atteint le stade « cœur » ou « torpédo » cessent d'évoluer. Transférés sur le milieu R2 ($R + 2 \times 10^{-6}$ de kinétine), environ 50 p. 100 peuvent poursuivre leur évolution en plantes. Avant leur transfert en terre, les plantes sont repiquées en tubes sur un milieu sans substances de croissance pour atteindre un développement suffisant.

III. RÉSULTATS

A. Comparaison de 2 durées (2 ou 8 j) du traitement à + 35 °C sur le milieu C_A

1. Rendements de la culture d'anthères

Sur notre matériel témoin, 69-2 (6-3), 69-3 (36 × 364), nous avons montré précédemment l'effet favorable du traitement à + 35 °C pendant 8 j (DUMAS DE VAULX *et al.*, 1981). Nous avons repris cette comparaison sur une gamme élargie de géotypes comprenant 8 hybrides F₁ entre lignées de type poivron ou entre lignées à gros et à petits fruits. La mise en culture a été effectuée sur le milieu C_A. Les résultats sont résumés dans le tableau 2.

Toutes variétés confondues, le traitement de 8 j à + 35 °C est significativement supérieur à celui de 2 j avec respectivement 18,2 et 12,7 plantes pour 100 anthères mises en culture. Pour 4 des 8 F₁ étudiées, le traitement de 8 j a permis l'obtention de taux de plantes supérieurs à ceux du traitement de 2 j. Les résultats ne sont pas significativement différents entre les 2 traitements pour les F₁ (PM 217 × « Yolo Wonder »), (« Perennial » × « Yolo Wonder ») et (B 107 × « Yolo Wonder »). Des plantes n'ont été obtenues qu'avec le traitement de 8 j pour la F₁ (« Rama » × « Yolo Wonder »).

A la suite du traitement thermique le plus efficace (8 j à + 35 °C), les taux de plantes régénérées varient de 5,0 à 28,9 p. 100 anthères mises en culture et 4 hybrides F₁ atteignent ou dépassent 25 p. 100. Le taux le plus faible (5 p. 100), qui est rencontré chez la F₁ (« Rama » × « Yolo Wonder »), se classe encore parmi les taux élevés de réussite si l'on se réfère aux pourcentages affichés chez de nombreuses espèces. On peut remarquer que le parent

TABLEAU 2

Comparaison des traitements à + 35 °C pendant les 2 ou 8 j suivant la mise en culture sur le milieu C_A (kin 2×10^{-6} , 2-4 D 10^{-7}) chez 8 hybrides F₁ de piment
Effect of + 35 °C during the 2 or 8 first days of anther culture on C_A medium (2×10^{-6} kinetin, 10^{-7} 2-4 D) with 8 F₁ hybrids of pepper

Géotypes	35 °C : 2 j			35 °C : 8 j			Total		
	A	Pl	Pl % A	A	Pl	Pl % A	A	Pl	Pl % A
F ₁ (« Yolo Wonder » × « Yolo Y »)	157	7	4,5	193	37	19,2 (*)	350	44	12,6
F ₁ (B 107 × « Yolo Wonder »)	139	27	19,4	207	56	27,1	346	83	24,0
F ₁ (PM 687 × « Yolo Wonder »)	297	45	15,2	138	35	25,4 (*)	435	80	18,4
F ₁ (« Perennial » × « Yolo Wonder »)	231	66	28,6	142	41	28,9	373	107	28,7
F ₁ (PM 217 × « Yolo Wonder »)	249	23	9,2	215	23	10,7	464	46	9,9
F ₁ (« Rama » × « Yolo Wonder »)	77	0	0	242	12	5,0	319	12	3,8
F ₁ (« Doux des Landes » × « Florida Vr 2 »)	206	13	6,3	192	48	25,0 (*)	398	61	15,3
F ₁ (« Perennial » × « Florida Vr 2 »)	82	2	2,4	304	46	15,1 (*)	386	48	12,4
TOTAL	1 438	183	12,7 (11,0 - 14,5)	1 633	298	18,24 (*) (16,4-20,1)	3 071	481	15,66 (14,4-17,0)

A : Nombre d'anthères mises en culture.

Pl : Nombre de plantes observées.

Pl % A : Nombre de plantes pour 100 anthères mises en culture.

(*) Taux de plantes obtenues avec le traitement de 8 j significativement supérieur à celui de 2 j (seuil 0,05).

() Intervalle de confiance au seuil 5 p. 100.

Cultivar en italique : lignée à gros fruit de type poivron.

A : Number of cultured anthers.

Pl : Number of anther-derived plants.

Pl % A : Number of plants per 100 cultured anthers.

(*) 8 day + 35 °C treatment significantly higher than 2 day one (0.05 level).

() Confidence interval (0,05 level).

Cultivar in italic type : big fruited line (bell pepper).

« Rama » est un type sauvage issu d'une population spontanée du Nicaragua.

Ainsi, nous avons obtenu près de 500 plantes pour 3 070 anthères mises en culture ce qui représente le prélèvement d'environ 600 boutons floraux. Ces rendements de l'androgenèse *in vitro* rendent cette technique opérationnelle pour son utilisation dans la sélection du piment. De plus, des plantes ont été obtenues dans tous les génotypes étudiés jusqu'à maintenant.

2. Niveau de ploïdie des plantes obtenues

Parmi les plantes régénérées nous avons observé des taux élevés de plantes diploïdes ou possédant des secteurs diploïdes (43,2 p. 100, toutes variétés et tous traitements confondus) (tabl. 3).

a) Effet de la durée du traitement à + 35 °C

Le taux de diploïdes observés parmi les plantes provenant des anthères traitées à + 35 °C pendant 8 j (toutes variétés cumulées) est significativement supérieur à celui du traitement de 2 j, respectivement 47,4 et 35,6 p. 100 ($\chi^2 = 6,02$; $0,01 < \mathcal{P} < 0,02$).

Au niveau des variétés, seules les F₁ (PM 687 × « Yolo Wonder ») et (« Perennial » × « Yolo Wonder ») ont présenté des taux de diploïdisation significativement supérieurs pour le traitement de 8 j à + 35 °C. Pour les autres F₁, les taux sont très proches.

b) Effet du génotype

Pour les 2 durées de traitement à + 35 °C, les taux de plantes diploïdes ont varié dans de larges proportions selon les génotypes : de 26 à 53 p. 100 pour la durée de 2 j (taux non significativement différents), de 14 à 65 p. 100 pour celle de 8 j (différences significatives entre les 7 variétés avec des effectifs suffisants : $\chi^2 = 22,8$; $\mathcal{P} < 0,01$).

Le taux de plantes diploïdes semble donc dépendre principalement du génotype, mais chez certaines variétés le traitement à + 35 °C pendant 8 j peut l'augmenter significativement.

3. Effet du repiquage des embryons sur R2

Un autre facteur pouvant influencer sur le taux de diploïdisation est le repiquage des embryons sur le milieu R2. Le pourcentage de diploïdes parmi les plantes obtenues directement sur R1 est de 38,5 p. 100 et celui des plantes issues des embryons transférés sur R2 est de 42,3 p. 100. Toutefois ces taux ne diffèrent pas significativement.

Ces résultats montrent que le taux de plantes diploïdes obtenues par culture d'anthères de piment semble pour l'instant assez difficile à maîtriser. L'état chimérique *2n-n* d'une partie des plantes et les phénotypes différents de celui de la plante mère, plaident pour une origine pollinique avec une diploïdisation spontanée à des stades plus ou moins avancés de l'embryogenèse. De plus, nous n'avons jamais régénéré de plantes à partir de cals ou de tissus diploïdes

TABLEAU 3

Répartition des plantes obtenues d'après le taux de ploïdie
Ploidy level of the anther-derived plants

Génotypes	35 °C : 2 j			35 °C : 8 j		
	n	2n	% 2n	n	2n	% 2n
F ₁ (« Yolo Wonder » × « Yolo Y »)	5	2	28,5	18	13	41,9
F ₁ (B 107 × « Yolo Wonder »)	17	6	26,1	43	13	23,2
F ₁ (PM 687 × « Yolo Wonder »)	29	14	32,6	15	20	57,1 (*)
F ₁ (« Perennial » × « Yolo Wonder »)	43	20	31,7	13	25	65,8 (*)
F ₁ (PM 217 × « Yolo Wonder »)	11	12	52,2	11	9	45,0
F ₁ (« Rama » × « Yolo Wonder »)	—	—	—	6	1	14,3
F ₁ (« Doux des Landes » × « Florida Vr 2 »)	6	7	53,8	21	26	55,3
F ₁ (« Perennial » × « Florida Vr 2 »)	1	1	50,0	16	22	52,4
Total	112	62	35,6	143	129	47,4 (*)

n : plantes haploïdes.

2n : plantes diploïdes ou en chimère haploïde-diploïde.

% 2n : pourcentage de plantes diploïdes.

(*) Pourcentage + 35 °C-8 jours significativement supérieur à celui de + 35 °C-2 jours (seuil 0,05).

n : haploid plants.

2n : diploid plants or haploid-diploid chimera.

% 2n : percentage of diploid plants.

(*) 35 °C-8 day percentage significantly higher than 2 day one (0.05 level).

avec les milieux utilisés pour la culture d'anthers. Les descendances issues de l'autofécondation de ces plantes diploïdes sont homogènes, ce qui confirme l'origine pollinique.

Du point de vue pratique, la maîtrise de la diploïdisation *in vitro* permettrait un gain de temps appréciable. La diploïdisation des plantes haploïdes par apport de colchicine sur les yeux axillaires est une étape longue et parfois aléatoire.

B. Comparaison des milieux C_A et C_P associés au traitement à + 35 °C pendant 8 jours

Dans une étude récente nous avons étudié les effets de deux durées (2 et 8 j) de traitement des anthers à + 35° associées à différentes concentrations en 2-4D et kinétine dans le milieu C (DUMAS DE VAULX *et al.*, 1981). Nous avons mis en évidence sur le matériel témoin l'effet favorable de l'association des traitements à + 35 °C pendant 8 j et des doses de kinétine et de 2-4 D de 10^{-8} dans le milieu C (= C_P).

TABLEAU 4

Comparaison des milieux C_A et C_P avec des anthers de 4 cultivars de type poivron
Effect of C_A and C_P media on anther-derived plant yield of 4 bell pepper cultivars

Géotypes	Milieu C_A			Milieu C_P		
	A	PI	PI % A	A	PI	PI % A
69-3 (36 × 364)	451	27	6,0	623	50	8,0
	(3,8-8,4)			(5,9-10,3)		
69-2 (6-3)	47	0	0	37	19	51,3
	(0-7,9)			(34,3-68,4)		
F_1 (6-3) × (1-9)	108	9	8,3	22	5	22,7
	(3,9-15,1)			(7,8-46,3)		
B 107	107	31	29,0	43	18	41,9
	(20,7-38,5)			(26,9-58,3)		
Total	713	67	9,4	725	92	12,7
	(7,3-11,7)			(10,3-15,2)		

Milieu C_A = C + kin 2×10^{-6} + 2-4 D 10^{-7} .

Milieu C_P = C + kin 10^{-8} + 2-4 D 10^{-8} .

Traitement + 35 °C 8 jours.

A : nombre d'anthers mises en culture.

PI : nombre de plantes obtenues.

PI % A : nombre de plantes pour 100 anthers mises en culture.

() : l'intervalle de confiance au seuil 5 p. 100.

Medium C_A = C + kin 2×10^{-6} + 2-4 D 10^{-7} .

Medium C_P = C + kin 10^{-8} + 2-4 D 10^{-8} .

+ 35 °C culture temperature for 8 days.

A : number of cultured anther.

PI : number of anther-derived plants.

PI % A : number of plants per 100 cultured anthers.

() : Confidence interval (0.05 level)

Le milieu C_P a été testé à nouveau en comparaison avec le milieu C_A sur une gamme de géotypes de type poivron en association avec le traitement à + 35 °C pendant 8 j (tabl. 4).

1. Rendement en plantes

Pour les 4 cultivars étudiés, le rendement en plantes des anthers mises en culture sur C_P est supérieur à celui des anthers mises sur C_A . Pour l'ensemble des variétés cumulées, le nombre de plantes obtenues pour 100 anthers mises en culture sur C_P est significativement supérieur à celui obtenu sur C_A : respectivement 12,7 et 9,4 p. 100. Ces résultats confirment donc l'effet favorable de l'association C_P et + 35 °C-8 j.

2. Niveau de ploïdie

Une fraction des plantes obtenues dans cet essai ont été repiquées en terre et nous avons observé 4 diploïdes sur 22 plantes (18,2 p. 100) provenant du milieu C_A , et 13 sur 64 plantes (20,3 p. 100) issues de C_P (test $2I = 0,04$ φ 0,50).

Le passage des anthers sur les milieux C_A ou C_P n'a pas modifié le taux de diploïdisation spontanée.

IV. DISCUSSION ET CONCLUSION

Chez le piment, l'action d'une température relativement élevée (+ 35 °C) pendant les 8 premiers jours de culture des anthers sur milieu gélosé a permis d'augmenter considérablement le taux de plantes régénérées. Nos résultats sont donc comparables à ceux obtenus par KELLER & ARMSTRONG (1979) : sur colza, ces auteurs ont montré que les traitements à + 30° ou + 35 °C pendant les premiers jours de culture augmentent significativement le nombre d'embryons. La température des premiers jours de culture semble donc jouer un rôle déterminant pour la réussite de l'androgénèse *in vitro* chez les 2 espèces.

Chez le piment, les rendements en plantes les plus élevés sont obtenus avec le traitement à + 35 °C pendant 8 j, associé à de faibles concentrations en substances de croissance (10^{-8}) dans le milieu C. Avec ce traitement thermique pendant les premiers jours en culture, il n'est donc plus nécessaire d'apporter des doses élevées de 2-4 D et de kinétine pour induire des divisions dans les microspores. On peut remarquer que sur les cultures d'anthers de *Datura*, SOPORY & MAHESHWARI (1976) ont montré que les faibles concentrations en cytokinines permettent d'obtenir le pourcentage le plus élevé d'embryons.

En évitant l'emploi de doses élevées de 2-4-D et de kinétine, la qualité de l'embryogénèse a été améliorée : les embryons sont mieux formés et différenciés et un pourcentage plus élevé de ces embryons poursuivent leur développement direct en plantes.

On peut donc souligner l'influence prépondérante des conditions (traitements thermiques, milieux de culture) réalisées pendant les tous premiers jours de culture des anthers, donc au cours des premières divisions des microspores, sur la réussite de l'androgénèse *in vitro* chez le piment.

Parmi les plantes obtenues, nous avons noté des fréquences souvent élevées de plantes diploïdes d'origine pollinique. Chez le colza, RENARD & DOSBA (1980) ont également observé la présence de diploïdes à des taux supérieurs à

50 p. 100, mais aussi des triploïdes, tétraploïdes et aneuploïdes, qui, chez le piment, sont très peu fréquents.

Les rendements de l'androgenèse *in vitro* par culture d'anthers de piment permettent maintenant d'envisager l'application de cette technique pour la sélection et l'étude génétique de cette espèce. L'analyse des produits obtenus dans les essais rapportés ici a été entreprise :

— étude de la ségrégation de gènes connus dans les descendance d'hybrides F₁ ;

— étude de caractères de résistance oligo et polygéniques ;

— comparaison des lignées haploïdes doublées aux lignées parentales en tant que productrices d'hybrides commerciaux.

Reçu le 16 mars 1981.

Accepté le 22 juillet 1981.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient A. ANSELM qui a participé à ce travail dans le cadre de la préparation de son mémoire de fin d'études de l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Rennes.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Dumas de Vaulx R., Chambonnet D., Sibi M., 1981.** Stimulation of *in vitro* androgenesis in Pepper (*Capsicum annuum* L.) by elevated temperature treatments. *C.R. N.S.F.-C.N.R.A. Meeting*, Orsay, Juillet 1980, Dr. Earle (Ed.), (sous presse).
- George L., Narayanaswamy S., 1973.** Haploid *Capsicum* through experimental androgenesis. *Protoplasma*, **78**, 467-470.
- Hansson B., 1978.** Temperature shock a method of increasing the frequency of embryoid formation in anther culture of swede rape (*Brassica napus* L.). *Sver. Utsädesfören. Tidskr.*, **88** (3), 141-148.
- Harn C., Kim M. Z., Choi K. T., Lee Y. I., 1975.** Production of haploid callus and embryoid from the cultured anther of *Capsicum annuum*. *Sabrao J.*, **7** (1), 71-77.
- Keller W. A., Armstrong K. G., 1978.** High frequency production of microspore-derived plants from *Brassica napus* anther cultures. *Z. Pflanzzücht.* **80**, 100-108.
- Keller W. A., Armstrong K. G., 1979.** Stimulation of embryogenesis and haploid production in *Brassica campestris* anther cultures by elevated temperature treatments. *Theor. appl. Genet.*, **55**, 65-67.
- Kuo J. S., Wang Y. Y., Chien N. F., KI S. J., 1973.** Investigation on the anther culture *in vitro* of *Nicotiana tabacum* L. and *Capsicum annuum* L. *Acta bot. Sin.*, **15** (1), 43-47.
- Renard M., Dosba F., 1980.** Etude de l'haploïdie chez le Colza (*Brassica napus* L. var. *oleifera* Metzger). *Ann. Amélior. Plant.*, **30** (2), 191-209.
- Saccardo F., Devreux M., 1974.** *In vitro* production of plantlets from anther culture of *Capsicum annuum*. *C.R. Congrès EUCARPIA "Genetics and breeding of Capsicum"*, Budapest, 1-4 juillet 1974, 45-49.
- Sibi M., Dumas de Vaulx R., Chambonnet D., 1979.** Obtention de plantes haploïdes par androgenèse *in vitro* chez le piment (*Capsicum annuum* L.). *Ann. Amélior. Plant.*, **29** (5), 583-606.
- Sibi M., Dumas de Vaulx R., Chambonnet D., 1980.** Androgenèse *in vitro* chez le piment, *Capsicum annuum* L. : impact des prétraitements sur les taux de plantes régénérées. *C.R. Congrès EUCARPIA « Application de la culture in vitro à l'amélioration des plantes potagères »*, Versailles, 16-18 avril 1980, 143-149.
- Sopory S. K., Maheshwari S. C., 1976.** Development of pollen embryoids in anther cultures of *Datura innoxia*. *J. exp. Bot.*, **27** (96), 58-68.
- Wang Y. Y., Sun C. S., Wang C. C., Chien N. F., 1973.** The induction of pollen plantlets of *Triticale* and *Capsicum annuum* from anther culture. *Sci. sin.*, **16**, 147-151.