



HAL
open science

Régénération in vitro à partir de cals d'embryons immatures de maïs. Aspects quantitatifs et transmission héréditaire

Roland Bruneau

► **To cite this version:**

Roland Bruneau. Régénération in vitro à partir de cals d'embryons immatures de maïs. Aspects quantitatifs et transmission héréditaire. *Agronomie*, 1985, 5 (7), pp.591-596. hal-02718085

HAL Id: hal-02718085

<https://hal.inrae.fr/hal-02718085>

Submitted on 1 Jun 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.

Régénération *in vitro* à partir de cals d'embryons immatures de maïs. Aspects quantitatifs et transmission héréditaire

Roland BRUNEAU

I.N.R.A., Station d'Amélioration des Plantes, B. V. 1540, F 21034 Dijon Cedex

RÉSUMÉ

A partir de plusieurs génotypes de *Zea mays*, des cals issus d'embryons immatures ont été cultivés *in vitro* pour étudier quantitativement la régénération de plantes suivant deux critères : la proportion d'embryons morphogènes et le rendement en plantes de ceux-ci.

L'obtention d'embryons morphogènes est très dépendante du génotype ; cette propriété se transmet par croisement. La durée de culture primaire ne semble pas déterminante ni le type de régulateur de croissance employé (2,4D et pCA). On note toutefois un effet de la plante-mère.

La quantité de plantes régénérées paraît aussi liée au génotype ; les embryons de taille comprise entre 1 et 2,15 mm sont plus prolifiques pour l'ensemble des génotypes testés.

Les fréquences de rendement en plantes sont très variables. Les plantes régénérées repiquées en serre ont présenté une réduction de la taille et du nombre de feuilles. Le nombre chromosomique sur les plantes contrôlées est $2n = 20$.

Mots clés additionnels : *Zea mays*.

SUMMARY

In vitro regeneration from immature embryo callus in maize : quantitative aspects and transmission through crosses.

Immature embryos from several *Zea mays* lines were grown *in vitro* in order to study plant regeneration rate quantitatively according to two criteria : the proportion of morphogenous embryos and the yield of plants from them. The proportion of morphogenous embryos was strongly dependent on genotype ; this property was cross-transmissible. Neither the duration of primary culture nor the growth regulators used (2,4-D or pCA) seemed to have a determining effect. However, a mother plant effect was observed. The number of regenerated plants also seemed linked to genotype ; for all tested lines, embryos between 1 and 2.15 mm were more prolific. Plant yield rates were very variable. On regenerated plants transplanted in the greenhouse, a decrease in size and leaf number was observed. All cytologically checked individuals showed 20 chromosomes.

Additional key words : *Zea mays*.

I. INTRODUCTION

L'obtention de plantes néoformées a été réalisée chez plusieurs Monocotylédones en partant de divers explants (apex, microspores, fragments de tiges).

C'est en utilisant les embryons immatures que les meilleurs résultats semblent avoir été obtenus chez les Graminées comme l'avoine (CUMMINGS *et al.*, 1976), le sorgho (GAMBORG *et al.*, 1977) et l'orge (DALE & DEAMBROGIO, 1979). Chez le maïs, GREEN (1982) obtient une embryogenèse somatique et la régénéra-

tion de plantes à partir de cals friables d'embryons immatures ou de suspensions cellulaires.

Cependant, la culture d'embryons immatures consistant en une callogenèse sur un milieu à forte concentration en 2,4D, puis un repiquage sur un milieu à faible teneur de la même auxine, telle que l'ont décrite GREEN & PHILLIPS (1975), semble à ce jour la technique la plus aisée pour régénérer *in vitro* des plantes entières de maïs. A la suite de ces travaux et sur le même type d'explant, des résultats surtout qualitatifs concernant les possibilités de plusieurs génotypes à la

callogenèse et à la régénération ont été publiés par GREEN (1979) et BECKET & POLLACSEK (1979).

L'aspect quantitatif de la néoformation de plantes chez le maïs à partir d'embryons immatures a été particulièrement étudié par BECKERT (1982) mais en utilisant une seule lignée.

Complémentairement à ces travaux, notre objectif a donc été de préciser les potentialités *in vitro* à la régénération, de matériels de différentes origines génétiques (lignées, croisements), tout en approfondissant certains aspects (régulateur de croissance, durée de culture préliminaire).

II. MATÉRIEL ET MÉTHODES

A. Lignées

Les 7 lignées employées ont différentes origines génétiques (tabl. 1). Les graines proviennent de la Station I.N.R.A. d'Amélioration des Plantes de Clermont-Ferrand.

TABLEAU 1

Origine des génotypes utilisés pour la culture d'embryons immatures.
Origin of genotypes used for immature embryo cultures.

Groupe	Génotype	Indice de précocité (*)	Origine
Groupe américain	CO158	- 10	Confidentielle.
	A188	0	Sélection dans l'hybride « Silver King » × « M. W. Dant ».
	A631	+ 1	Sélection dans l'hybride « A509 » × « Wf 9 ».
	A641	+ 3	Issu du croisement « N.D. 203 » × « B14 ».
	F19	0	Sélection entre des populations européennes, croisées par des hybrides nord-américains.
Groupe européen	F1048	+ 1	Issu du croisement « F115 » × « F22 ».
	F1412	+ 2	Issu du croisement « F52 » × « W135R ».

(*) Décalages de floraison ♀ en jours par rapport à la lignée témoin « W182E » (I.N.R.A., Clermont-Ferrand).

B. Conditions de culture des plantes-mères

Les plantes-mères sur lesquelles seront prélevés les embryons immatures sont élevées en serre ou en chambre climatisée. Dans le 1^{er} cas, elles sont, durant l'hiver, maintenues à la température de 18 °C environ ; un appoint d'éclairage est apporté par des lampes à incandescence durant 16 h/jour.

Dans le 2^e cas, la température ambiante est de 20 ± 2 °C ; l'énergie lumineuse (tubes fluorescents et lampes à incandescences) reçue par les plantes est d'environ 25 W/m² durant 16 h/jour.

C. Prélèvement des embryons

Après enlèvement des spathes, les épis, issus de plusieurs plantes, sont stérilisés durant 20 mn dans une

solution d'hypochlorite de calcium à 2,5 p. 100 et rincés 2 fois à l'eau ultra pure stérile.

Les embryons prélevés stérilement sur toute la surface de l'épi sous une hotte à flux laminaire sont mesurés sur la plus grande longueur du scutellum ; ils ont, suivant les expériences, une taille comprise entre 1 et 4 mm environ ou entre 2 et 3 mm environ. Dans ce dernier intervalle, le temps écoulé de la fécondation au prélèvement est de 15 à 29 j.

Chaque explant est posé sur le milieu gélosé, axe embryonnaire à son contact.

Toutes les cultures *in vitro* se font en tubes de verre 24 mm de diamètre et 150 mm de hauteur.

D. Milieux de culture

Le milieu de base est celui utilisé par GREEN & PHILLIPS en 1975. Pour obtenir la régénération de plantes, 2 auxines ont été employées, le 2,4D et le pCA.

Avec le 2,4D (2 mg/l), la culture primaire dure entre 10 et 20 j, moins dans certaines expériences ; les cals développés sont ensuite transférés, pour 25 j, sur un milieu contenant 0,25 mg/l de 2,4D, puis repiqués mensuellement jusqu'à extinction de la production de plantes sur le milieu de base sans auxine.

Dans le cas d'utilisation du pCA (2 mg/l), la durée de culture primaire est comprise entre 15 et 25 j, les repiquages suivants s'effectuant tous sur le milieu de base.

Tous les milieux sont autoclavés durant 20 mn à 110-112 °C.

E. Conditions de culture *in vitro*

La chambre de culture est maintenue à une température diurne de 25 °C et à une température nocturne de 22 ± 2 °C. L'éclairage des cultures est assuré par des tubes fluorescents « cool white » fournissant 4,6 W/m² environ au niveau du matériel végétal.

F. Conditions de culture des plantes régénérées

Lorsque les plantes ont des racines suffisamment développées, elles sont transférées en chambre climatisée (16 h de lumière, 20 °C) et laissées 8 j le capuchon du tube de culture enlevé.

Au terme de cette période, elles sont repiquées en pot sur un mélange tamisé sable-terre et arrosées avec une solution nutritive minérale. Après un séjour de 3 semaines, en chambre climatisée, les plantes sont transférées en serre.

G. Protocole expérimental

Pour l'ensemble des manipulations, 2 critères sont étudiés : le 1^{er} est le nombre d'embryons donnant une plante au moins, sur le nombre total d'embryons mis en culture, exprimé en p. 100 de régénération ; le 2^e critère est le nombre de plantes régénérées par scutellum embryogène (rendement en plantes).

Pour évaluer à un stade précoce les potentialités de la productivité des embryons en plantes, celles-ci sont comptabilisées *in vitro* lorsqu'elles mesurent au moins 1 cm de hauteur avec 2 feuilles formées. Dans toutes les expériences, sauf celle décrite au paragraphe A, 3

suivant, les lots d'embryons ne sont pas individualisés par plante.

III. RÉSULTATS

A. Facteurs influençant la proportion d'embryons morphogènes

1. Importance du régulateur de croissance

Pour comparer leur propriété morphogène, 2 régulateurs de croissance ont été testés sur 6 lignées, avec des embryons dont la taille est comprise entre 1 et 4 mm environ (tabl. 2).

Aucun effet spécifique des substances de croissance n'est mis en évidence ; 2,4D et pCA ont donc ici des propriétés morphogènes comparables.

TABLEAU 2

Comparaison de la proportion d'embryons morphogènes suivant le type de régulateur de croissance. La lignée « F1412 » n'est pas incluse dans ce test.

Comparison of proportion of morphogenous embryos according to the growth regulator. Line 'F1412' not included in test.

Lignée	Auxine		2,4D		pCA	
	Nombre (1)	Total (2)	Nombre (1)	Total (2)	Nombre (1)	Total (2)
A188	42	108	57	108		
A641	24	108	30	108		
F19	17	94	15	96		
CO158	20	107	12	102		
F1048	11	108	15	107		
A631	5	90	6	89		
Totaux	119	615	135	610		

$\chi^2 = 1,46$ N.S.

(1) Nombre d'embryons ayant donné au moins une plante.

(2) Total des embryons mis en culture.

N.S. Résultat non significatif.

2. Effet génotypique

Avec les mêmes données, sans tenir compte du type de régulateur de croissance, un test d'homogénéité incluant la lignée « F1412 » dont un seul embryon a régénéré sur 209 mis en culture est hautement significatif ($\chi^2_6 = 189,07$). Le classement décroissant des lignées correspond à celui du tableau 2 ; le groupe constitué de « F19 », « CO158 » et « F1048 » est assez homogène.

3. Influence de la durée de culture primaire

Avec la meilleure lignée embryogène, « A188 », l'influence de la durée de culture préliminaire sur un milieu 2,4D riche en auxine a été étudiée. Des embryons d'une longueur de 2 à 3 mm environ ont été prélevés sur des plantes différentes élevées dans des conditions identiques (date de semis, intervalle fécondation-prélèvement, jour de mise en culture).

Deux expériences successives pour des durées minimales de culture de 24 h et 6 h aboutissent à la même conclusion : aucun effet du traitement. Par contre, l'effet de la plante-mère est hautement significatif (tabl. 3a, b, c, d).

TABLEAU 3

Proportion d'embryons morphogènes en fonction de la culture primaire sur milieu contenant 2 mg/l de 2,4D.

Proportion of morphogenous embryos for primary culture on a medium with 2 mg/l of 2,4-D.

a) Durées de 1 jour à 3 jours.

Duration from 1 to 3 days.

Lignée A188 embryons de 2 à 3 mm	Durée de culture préliminaire					Totaux
	1 j	2 j	3 j	10 j	Totaux	
n° des plantes	1	9 (*) 20	3 20	5 20	1 19	18 79
	2	16 20	16 20	14 20	14 20	60 80
(1 épi par plante)	3	13 19	15 20	6 17	8 19	42 75
Totaux		38 59	34 60	25 57	23 58	

(*) Nombre d'embryons morphogènes sur le nombre total d'embryons mis en culture. Number of morphogenous embryos/number of embryos cultured.

b) Analyse de variance sur les données transformées ($\sqrt{\text{arc sin}}$).

Variance analysis of transformed data ($\sqrt{\text{arc sin}}$).

Source de variation	Somme des carrés	Degré de liberté	Carré moyen	F
Totale	3 127,05	11		
Plantes	2 243,30	2	1 121,65	18,49**
Durées	519,75	3	173,25	2,86 N.S.
Erreur	364,00	6	60,67	

** significatif au niveau 1 %.

c) Durées de 6 h à 2 jours.

Duration from 6 h to 2 days.

Lignée A188 embryons de 2 à 3 mm	Durée de culture préliminaire					Totaux
	6 h	12 h	24 h	48 j	10 j	
n° des plantes	14	14 16	10 18	10 18	10 18	7 88
(1 épi par plante)	15	4 19	1 20	1 18	0 20	1 12
Totaux		18 35	11 38	11 36	10 38	8 30

Transformation des données et calculs semblables aux durées 1 à 3 jours.

d) Analyse de variance.

Variance analysis.

Source de variation	Somme des carrés	Degré de liberté	Carré moyen	F
Totale	4 198,62	9		
Plantes	3 305,13	1	3 305,13	68,16**
Durées	699,51	4	174,88	3,61 N.S.
Erreur	193,98	4	48,49	

4. Transmission de la capacité à régénérer

Les lignées « A188 », « CO158 » et « F1412 » ont été retenues pour leur capacité morphogène respectivement élevée, moyenne et faible. Des croisements réciproques ont été réalisés et comparés aux parents autofécondés (tabl 4a et b). En F1, il y a toujours eu néoformation quel que soit le sens du croise-

TABLEAU 4

Transmission des capacités de régénération des embryons par croisement.

Transmission of embryo regeneration ability by crossing.

a) Lignées « A188 » et « F1412 ».

Autofécondation ou croisement	A188 AF	A188 × F1412	F1412 × A188	F1412 AF
Nombre d'embryons ayant donné une plante au moins	17	83	97	0
Nombre total d'embryons en culture	94	189	185	192
% de régénération	18	43,9	52,4	0
Comparaison des hybrides réciproques	$\chi^2_1 = 2,71$ N.S.			
Comparaison hybrides/ parents	$\chi^2_1 = 28,71^{**}$			

b) Lignées « CO158 » et « F1412 ».

Autofécondation ou croisement	CO158 AF	CO158 × F1412	F1412 × CO158	F1412 AF
Nombre d'embryons ayant donné une plante au moins	59	16	21	0
Nombre total d'embryons en culture	192	192	196	192
% de régénération	30,7	8,3	10,7	0
Comparaison des hybrides réciproques	$\chi^2_1 = 0,63$ N.S.			
Comparaison hybrides/ parent	$\chi^2_1 = 41,76^{**}$			

ment ; les hybrides réciproques sont équivalents (χ^2 N.S.).

La lignée « A188 » régénère moins que ses hybrides, le cas est inverse avec « CO158 ».

B. Facteurs influençant le rendement en plantes des embryons morphogènes

1. Nombre moyen de plantes par lignée

L'ensemble des plantes comptabilisées provient d'embryons ou de fractions d'embryons repiqués jusqu'à extinction de leur propriété morphogène.

Le tableau 5 donne les rendements en plantes pour chaque lignée ; le nombre moyen de plantes par rapport au total des embryons en culture est faible ; le rendement rapporté aux seuls embryons morphogènes montre que « A188 » est la lignée la plus productive ; vient ensuite un groupe constitué de « A641 », « F19 » et « CO158 », puis, à rendement beaucoup plus faible, « F1048 » et « A631 ». Cet ordre est proche de celui obtenu pour la régénération de plantes (« A188 », « A641 », groupe « F19 »-« CO158 »-« F1048 », puis « A631 »).

2. Rendement en plantes par classe de taille

Le tableau 6 regroupe, pour les 7 lignées et par classe de taille, le total des plantes obtenues avec le

TABLEAU 6

Rendement en plantes des embryons de 1 à 4 mm par classe de taille (lignées A188, A641, F19, CO158, F1048, A631, F1412).

Plant yield for embryos ranging from 1 to 4 mm (lines A188, A641, F19, CO158, F1048, A631 and F1412).

Taille des embryons	1 à 1,90	1,90 à 2,15	2,15 à 2,40	2,40 à 2,65	2,65 à 2,90	2,90 à 3,15	3,15 à 3,40	3,40 à 3,65	3,65 à 3,90	> 3,90
Nombre de plantes	254	217	159	214	223	182	123	111	72	84
Nombre d'embryons	30	23	30	36	39	29	30	23	22	301
	$\bar{x} = 5,44$		$\chi^2 = 182,05^{**}$ 8dl							
Nombre moyen de plantes par classe de taille	8,4	9,4	5,3	5,9	5,7	4,7	4,2	3,7	3,1	3,8

TABLEAU 5

Rendement en plantes des embryons de 1 à 4 mm.

Plant yield from 1-4 mm embryos.

Lignées	Nombre total d'embryons en culture	Nombre d'embryons morphogènes	Nombre total de plantes obtenues	Nombre moyen de plantes par rapport au total des embryons	Nombre moyen de plantes par embryon morphogène
A188	407	130	909	2,2	7
A641	216	54	241	1,1	4,5
F19	190	32	156	0,8	4,9
CO158	398	47	263	0,7	4,9
F1048	215	26	49	0,2	2,0
A631	179	11	18	0,1	1,6
F1412	624	1	3	—	3

nombre d'embryons morphogènes correspondants ; le χ^2 d'homogénéité calculé est hautement significatif. Cela provient principalement des classes de taille regroupées (1 à 1,90 mm) et de la classe 1,90 à 2,15 mm ; les tailles d'embryons comprises dans ces valeurs produisent, en moyenne, plus de plantes.

3. *Fréquences des plantes néoformées*

A partir du nombre de plantes néoformées par chaque embryon, on a établi des fréquences de rendement (nombre d'embryons ayant donné 0 plante, 1 plante, 2 plantes, etc...), pour des embryons de 1 à 4 mm environ (lignées « A188 », « A641 », « F19 », « CO158 ») et des embryons de 2 à 3 mm environ (lignées « A188 », « CO158 », hybrides réciproques « A188 » × « F1412 », « CO158 » × F1412 »).

La répartition des fréquences de rendement en plantes par embryon a été comparée à la distribution théorique de la loi de Poisson ; tous les tests χ^2 sont hautement significatifs. Les observations réalisées ne peuvent donc être assimilées à une loi de Poisson ; les écarts proviennent surtout du grand nombre d'embryons ne donnant aucune plante et de ceux particulièrement productifs (10 plantes et plus), aussi bien pour les lignées que pour les hybrides.

En moyenne, les hybrides avec « CO158 » donnent moins de plantes que les hybrides avec « A188 ». Contrairement à la lignée « A188 », « CO158 » est moins productive que ses hybrides.

IV. MORPHOLOGIE DES PLANTES RÉGÉNÉRÉES

Parmi les plantes développées *in vitro*, certaines arrêtent leur croissance, d'autres n'émettent pas de racines. Seules les plantes complètes ont été repiquées ; leur reprise a été difficile puisque 23 p. 100 d'entre elles survivent ; chez ces dernières (tabl. 7), on observe une forte réduction du nombre de feuilles et de la taille ; des soies et des grains se développent quelquefois sur la partie mâle. Des épis complets ont été récoltés.

Un contrôle du nombre chromosomique fait sur les méristèmes racinaires de 35 de ces plantes a montré que dans tous les cas $2n = 20$.

V. DISCUSSION ET CONCLUSION

Au niveau de la culture *in vitro*, la moyenne des plantes produites par classe de taille d'embryon est nettement plus élevée entre 1 et 2,15 mm, pour l'ensemble des lignées testées. BECKERT (1982), avec « A188 », obtient la meilleure productivité en plantes pour des tailles très voisines d'embryons.

Cependant, nos valeurs moyennes en plantes produites par embryon morphogène sont plus élevées que celles trouvées par cet auteur, pour toute l'étendue des classes de taille. Cette différence semble provenir du mode de comptage des plantes ; toutefois, des résultats concordants sont observés en ce qui concerne l'hétérogénéité des embryons pour leur productivité en plantes, tant chez les lignées que chez les hybrides.

Différentes durées de culture préliminaire *in vitro* (lignée « A188 » seulement) n'ont pas permis de déceler un effet du traitement, même pour des temps très courts, sur la proportion d'embryons morphogènes ; il semblerait toutefois que, dans nos expériences, la variabilité constatée soit due à un effet « plante-mère ».

D'après des résultats obtenus par BECKERT (1982), la proportion d'embryons morphogènes n'est pas différente à l'intérieur d'une même classe de taille d'embryons issus de plusieurs plantes-mères.

L'emploi du 2,4D ou du pCA n'a pas mis en évidence un effet spécifique de ces auxines sur la régénération des lignées testées.

Les lignées ont pu être classées suivant leur aptitude à la régénération. « A188 » a montré de bonnes capacités et « F1412 » s'est montrée la plus faible ; plusieurs autres lignées sont intermédiaires entre ces extrêmes. Cette variabilité génétique dans l'aptitude à la régénération a été observée fréquemment chez diverses espèces, notamment chez les pétunias (DULIEU *et al.*, 1983) et chez le maïs (BECKERT &

TABLEAU 7
Reprise et morphologie des plantes issues de culture in vitro.
Growth and morphology of plants originating from in vitro cultures.

Lignée	Nombre de plantes repiquées	Nombre de plantes ayant repris	% de reprise	Nombre moyen de feuilles par plante	Hauteur moyenne des plantes en cm	Nombre de plantes ayant donné des épis	% avec épis
A188	426	43	10,0	6,9 ($\sigma = 1,5$)	83,2 ($\sigma = 25,5$)	20	46,5
A641	138	89	64,9	4,7 ($\sigma = 0,8$)	40,7 ($\sigma = 13,9$)	11	12,3
F19	65	23	35,3	8,1 ($\sigma = 2,1$)	78,7 ($\sigma = 28,6$)	0	—
CO158	96	10	10,4	5,5 ($\sigma = 1,3$)	44,8 ($\sigma = 18,9$)	1	—
F1048	41	11	26,8	5,5 ($\sigma = 0,8$)	42,9 ($\sigma = 12,9$)	0	—
A631	11	4	36,3	5 ($\sigma = 1,4$)	39,2 ($\sigma = 16,4$)	1	—
Totaux	777	180	23,1			33	18,3

POLLACSEK, 1979 ; BECKERT & CAO MING QING, 1984).

Les résultats de nos croisements réciproques ont montré que l'aptitude à la régénération se comporte comme un caractère dominant, notamment avec la lignée « A188 ». Cette dernière pourrait servir de géniteur pour améliorer les capacités de régénération de matériels considérés comme difficiles.

La régénération *in vitro* de plantes à partir d'embryons immatures chez le maïs paraît un phénomène complexe dont le succès dépend encore de nombreux facteurs non contrôlés.

Si l'étude des conditions de culture *in vitro* pour la callogenèse et la régénération a été surtout abordée, l'importance des conditions de culture des plantes-mères sur les résultats recherchés n'a jusqu'à présent pas été souligné.

Une continuité expérimentale allant de la plante, cultivée *in vivo* dans des conditions strictement définies (température, énergie lumineuse, spectre...), à l'explant cultivé *in vitro* permettrait probablement une meilleure expression des capacités de chaque génotype (callogenèse, régénération) et devrait progressivement faciliter l'utilisation de ces génotypes pour des travaux de mutagenèse ou pour la culture de protoplastes.

Dans nos expériences, des plantes régénérées *in vitro* ont présenté *in vivo* des morphologies anormales ; ceci a été observé par divers auteurs : GREEN &

PHILLIPS (1975), GREEN (1977), BECKERT & POLLACSEK (1979). Ces observations sont à rapprocher de celles faites par MESSIAEN (1963) qui constate des anomalies morphologiques du même type après repiquage lorsque le stade végétatif est dépassé. GREEN (1977) et nous-mêmes avons observé sur ces plantes un nombre normal de chromosomes.

A partir de plantes régénérées *in vitro* BECKERT *et al.* (1983) ont, en choisissant des caractères agronomiques et morphologiques, analysé la variabilité génétique existante. Selon ces auteurs, la variabilité génétique de descendances de plantes obtenues *in vitro* est de très faible amplitude, sans commune mesure avec celle observée couramment chez le maïs.

Les diverses morphologies observées sont donc, pour une part importante, dues au passage *in vitro* qui perturbe le développement des plantes et ne sont généralement pas héréditaires.

Reçu le 13 juillet 1984.
Accepté le 22 février 1985.

REMERCIEMENTS

Je remercie MM. A. CORNU, H. DULIEU et D. MAIZONNIER (I.N.R.A., Dijon) pour l'aide apportée à l'élaboration de ce manuscrit.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Beckert M.**, 1982. Rôle du scutellum dans l'obtention de plantes néoformées *in vitro* chez le maïs. *Agronomie*, **2** (7), 612-615.
- Beckert M., Cao Ming Quing**, 1984. Results of a diallel trial and a breeding experiment for *in vitro* aptitude. *Theor. Appl. Genet.*, **68**, 247-251.
- Beckert M., Pollacsek M.**, 1979. Expression de la variabilité génétique du maïs (*Zea mays* L.) en différentes conditions de cultures de tissus. *Ann. Amélior. Plant.*, **29**, (5), 563-581.
- Beckert M., Pollacsek M., Caenen M.**, 1983. Etude de la variabilité génétique obtenue chez le maïs après callogenèse et régénération de plantes *in vitro*. *Agronomie*, **3** (1), 9-18.
- Cummings D. P., Green C. E., Stutheman D. D.**, 1976. Callus induction and plant regeneration in oats. *Crop Sci.*, **16**, 465-470.
- Dale P. J., Deambrogio E. A.**, 1979. A comparaison of callus induction and plant regeneration from different explants of *Hordeum vulgare*. *Z. Pflanzenphysiol.*, **94** (5), 65-77.
- Dulieu H. L., Bruneau R., Pelletier A.**, 1983. Heritable difference in *in vitro* regenerability in *Petunia*, at the protoplast and the seedling stage. Poster proceedings, 236-237. *6th Int. Protoplast Symp.* Ed. Birkhäuser Verlag, 366 p.
- Gamborg O. L., Shyluk J. P., Brar J. P., Constabel F.**, 1977. Morphogenesis and plant regeneration from callus of immature embryos of Sorghum. *Plant. Sci. Lett.*, **10**, 67-74.
- Green C. E.**, 1977. Prospects for crop improvement in the field of cell culture. *Hortscience*, **12**, (2), 131-134.
- Green C. E.**, 1979. *Current status of cell and tissue culture methods in maize*. Maize Genetic Workshop, University of Illinois. 1-18.
- Green C. E.**, 1982. Somatic embryogenesis and plant regeneration from the friable callus of *Zea mays*. *Proc. 5th Int. Cong. Plant Tissue and Cell culture*. In E. Earle and Y. Demarly : « *Plant tissue Culture* ».
- Green C. E., Phillips R. L.**, 1975. Plant regeneration from tissue culture of maize. *Crop Sci.*, **15**, 417-421.
- Messiaen C. M.**, 1963. *Physiologie du développement chez Zea mays L.* Thèse Doct. Etat Univ. Aix-Marseille. *Ann. Epiphyt.*, No Hors-Serie II, 74 p.