

PARTIE I

Amélioration des plantes par des voies conventionnelles

1

Cent ans de sélection du blé en France et en Belgique

G. DOUSSINAULT

*INRA, Station d'amélioration des plantes, domaine de La Motte-au-Vicomte,
35650 Le Rheu, France.*

Résumé

Le blé tendre est certainement l'une des espèces dont la sélection est la plus ancienne. La méthodologie de la sélection a bénéficié du concept de la lignée pure, elle a ensuite pris en compte les avancées de la génétique quantitative. Progressivement, les techniques d'hybridations interspécifiques de biologie cellulaire et moléculaire ont été utilisées.

Les objectifs de la sélection au départ essentiellement limités à la productivité associée à la résistance à la verse se sont diversifiés pour aboutir à des variétés de plus en plus résistantes aux parasites et de mieux en mieux adaptées à l'utilisation industrielle.

Aujourd'hui, rien n'indique un ralentissement du progrès génétique qui pourrait même s'accélérer avec la mise au point des blés hybrides.

Il y a un peu plus d'un siècle, en 1883, Dattel premier blé issu d'hybridation réalisé en France était commercialisé par les Etablissements Vilmorin.

Jusque-là les blés cultivés étaient des « Blés de Pays », variétés populations constituées de génotypes ayant en commun un certain nombre de caractères d'adaptation aux facteurs du milieu. Ces populations étaient hétérogènes, constituées d'un mélange de lignées pures et de génotypes plus ou moins hétérozygotes issus principalement d'hybridation naturelle. Elles avaient évolué lentement depuis des siècles sous l'effet de la

sélection naturelle et d'une sélection massale effectuée par l'homme le plus souvent en triant les grains les mieux nourris. Cette sélection a conduit à des écotypes relativement adaptés à des conditions écologiques, par exemple la population « Rouge d'Alsace » avec une bonne résistance au froid.

C'est dans ce type de population que Hallet en 1861, cité par Lupton [4], décrit une méthode qui consiste à choisir des épis, à en semer les grains sur des lignes individualisées et à poursuivre de la même manière sur la descendance des lignes choisies. Il appelle cette technique *the pedigree selection*, la sélection généalogique.

A cette période, le progrès vient de la sélection dans les variétés populations alors cultivées. Les limites des possibilités de cette amélioration, en même temps que le concept de lignée pure, sont formulés par Johannsen en 1903 cité par Bonjean et Picard [1]. A cette même époque, les lois de Mendel sont redécouvertes et la sélection généalogique après hybridation se généralise. Dès 1914, Nilson-Ehle cité par Jonard [3], caractérise l'hérédité des caractères quantitatifs et donne ainsi une base scientifique aux transgressions.

La découverte de ces concepts va induire la mise en œuvre de techniques qui vont considérablement accélérer le progrès génétique. Le concept de lignée pure va permettre la création pour les espèces autogames d'un matériel végétal adapté à l'analyse génétique, à la création variétale, à la connaissance de la variabilité génétique et à son maintien.

Elle va permettre également de faciliter le choix des géniteurs et de guider les hybridations pour recombinaison la variabilité. La sélection généalogique permet de sélectionner de manière rigoureuse dans les populations ainsi créées grâce à l'étude des descendance et d'aboutir à un invariant génétique nouveau, le cultivar « lignée pure ».

Le matériel génétique

A côté des populations de pays locales, se sont répandus en France et en Belgique des blés introduits d'Angleterre et de Russie. Les blés anglais « Chiddam d'automne », « Squarehead » étaient tardifs mais très productifs et résistants à la verse. Les blés d'origine russe ont été au départ sélectionnés dans des importations destinées à la meunerie et développés par le marquis de Noé en Aquitaine puis en Beauce et en Brie. Ces blés sont caractérisés par une vaste aire d'adaptation, une bonne précocité, une résistance moyenne à la verse, ils sont sensibles à la rouille jaune. De cette population ont été tirées des lignées « Rouge de Bordeaux », « Japhet », « Gros Bleu ».

Les premiers blés Vilmorin sont issus de croisements entre ces deux types et occupent près de la moitié des surfaces en France et en Belgique en 1914 avec les variétés « Bon Fermier » et « Hatif inversable ».

Très vite le professeur Schribaux, 1908 cité par Mayer [5], montre les limites de la sélection pratiquée par les Vilmorin. Orientée essentiellement vers l'accroissement de la productivité, celle-ci utilise de manière réitérée les mêmes géniteurs au point que Flaksberger les classe dans une écoespèce particulière *Triticum gallicum*.

Il met en évidence l'intérêt d'améliorer la régularité des rendements et de recourir pour cela à des géniteurs de résistance aux contraintes du milieu (froid, maladies...). Avec Crépin, 1928 cité par Jonard [3], il introduit très largement dans ses croisements des géniteurs d'Europe centrale et méridionale ainsi que d'Amérique du Nord (« Oro », « Thatcher », « Martin »,...).

Dans le même esprit, Jacques de Vilmorin éprouve la nécessité d'améliorer la qualité boulangère des blés en collaboration avec Chopin, et développe un appareil permettant de mesurer l'élasticité des pâtes et de prédire la valeur des blés dans les jeunes générations. C'est ainsi que des géniteurs canadiens comme « Red Fife » sont introduits dans les croisements.

C'est sans nul doute grâce à l'introduction de matériels génétiques éloignés que les gains de productivité et d'adaptation au milieu ont été réalisés.

Jonard [3] rapporte que la création et la mise au commerce de nombreuses variétés en France à partir de 1920 ont causé un état de confusion dû aux faits que beaucoup de blés étaient vendus sans être complètement fixés, qu'il existait pour certaines variétés plusieurs dénominations et qu'enfin beaucoup de lots commercialisés étaient des mélanges de variétés. Devant cette situation, les pouvoirs publics français, à la demande de nombreux sélectionneurs ont été amenés à édicter une réglementation destinée à mettre de l'ordre dans le commerce des semences. Le but général étant d'obliger le vendeur à livrer aux utilisateurs, sous un nom donné, des semences parfaitement bien définies du point de vue de la pureté variétale et de la faculté germinative. En 1922 était créé un comité de contrôle des semences dont l'une des attributions était de recenser les variétés de blé cultivées en France et d'en dresser la liste. Ce travail a abouti, en 1925, à la publication d'un catalogue provisoire comprenant 600 variétés.

Aujourd'hui, le nombre de variétés de blé inscrites au catalogue officiel en France a beaucoup diminué, pour arriver à environ 150. La variabilité du blé au niveau des agriculteurs a sans doute aussi beaucoup diminué. Le maintien et l'enrichissement des ressources génétiques se réalisent aujourd'hui dans les centres de recherche et les stations de sélection publiques et privées. Notre responsabilité collective est très importante pour organiser ce réseau de conservation et d'amélioration de la connaissance des ressources génétiques afin de garantir l'accès de nos successeurs à la variabilité nécessaire pour produire des variétés dont les caractéristiques ne sont pas connues aujourd'hui.

Les espèces sauvages apparentées aux blés constituent un important réservoir de gènes utilisables dans l'amélioration des formes cultivées. L'introduction de gènes étrangers dans le blé nécessite la réalisation d'hybrides interspécifiques et l'étude de leurs descendances pour créer des blés à $2n = 42$ chromosomes.

Les transferts les plus faciles sont ceux qui sont réalisés à partir d'espèces ayant au moins un génome homologue à celui du blé. C'est ainsi que l'amidonner sauvage *Triticum dicoccoïdes* a été utilisé pour améliorer la résistance à la rouille jaune. Le transfert de gènes à partir d'espèces polyploïdes d'*Aegilops* portant un génome commun avec ceux du blé s'effectue de la même manière. L'exemple le plus connu concerne le transfert du gène de résistance au piétin verse *Pchl* venant d'*Aegilops ventricosa*.

Le transfert à partir d'espèces ayant des génomes homéologues peut se réaliser par substitution d'un chromosome entier ou d'un bras chromosomique. Plusieurs variétés européennes possèdent ainsi la substitution 1B/1R du seigle ou la translocation 1BL/1RS, le bras long du chromosome 1B étant remplacé par son homéologue 1RS du seigle [7]. L'induction d'appariements homéologues dans un hybride interspécifique peut être obtenue si le parent blé ne possède pas le gène *Ph*.

Les introgressions de gènes étrangers dans le blé sont nombreuses et concernent en majorité des gènes de résistance aux maladies.

Le progrès génétique

Il a fallu un demi-siècle (1900-1950) pour doubler les rendements moyens du blé (12 à 25 qx/ha). Il n'a fallu qu'un quart de siècle pour qu'ils doublent à nouveau. Depuis une vingtaine d'année, le rythme du gain de production d'un peu plus d'un quintal par hectare et par an n'a pas faibli.

Les gains de productivité ont, bien entendu, été réalisés grâce à l'interaction entre le progrès génétique et le progrès agronomique. Par exemple, l'emploi d'herbicides efficaces a permis des gains de rendement en l'absence de tout progrès génétique. Mais on s'est vite aperçu que l'adaptation du blé à la compétition avec les mauvaises herbes n'était plus nécessaire. Or les caractères de résistance à cette compétition, tallage fort, feuilles étalées et tiges hautes sont différents de ceux qui optimisent la compétition entre plantes de blé en peuplement pur : tallage modéré, feuilles dressées et tiges courtes.

L'élévation remarquable du niveau de rendement obtenu tient, pour une bonne part, à la capacité des nouvelles variétés à valoriser les techniques culturales intensives. Cette supériorité tient à l'acquisition d'un certain nombre de caractéristiques, en particulier de la résistance à la verse qui permet de valoriser les niveaux élevés de fertilisation azotée. Cette résistance a été acquise par une diminution progressive de la hauteur de paille par transgression. Depuis 1970, l'utilisation des gènes de nanisme issus de blés japonais et italiens a accentué le raccourcissement des pailles.

Moule [6] a montré que jusqu'en 1925 l'augmentation de rendement s'était réalisée par l'augmentation de la biomasse produite. Ensuite, le rendement en grains a augmenté essentiellement grâce à l'indice de récolte.

Le progrès génétique pour la productivité s'est accompagné par une remarquable amélioration du comportement vis-à-vis des parasites dont l'intensification des cultures favorise le développement et l'impact. A la suite des travaux de Schribaux et de Crépin, un matériel génétique remarquable pour ses caractéristiques de résistance a été créé chez le blé à l'égard du charbon, de la carie de la rouille jaune et noire plus récemment de la rouille brune, du piétin verse et de l'oïdium. Certes, la généralisation des traitements fongicides a contribué aussi largement à limiter la gravité des attaques. Mais aujourd'hui, certaines variétés permettent d'économiser un, voire deux traitements fongicides. Demain, des variétés résistantes aux virus et aux nématodes seront proposées.

Les filières d'utilisation du blé se sont diversifiées et transformées. Il y a 100 ans, le blé était presque exclusivement destiné à la fabrication de pain de manière artisanale.

Aujourd'hui le blé sert à l'alimentation animale, il est fractionné en ses composants amidon et gluten. Les techniques des industries de cuisson ont considérablement évolué, la fabrication industrielle du pain a pour conséquence la modification des caractéristiques d'adaptation des farines à cette filière ; la biscuiterie, biscotterie a des exigences très spécifiques.

Les caractéristiques des variétés se sont diversifiées, la quantité et la qualité du gluten se sont considérablement améliorées. « Vilmorin 27 » dont la force boulangère était considérée comme bonne avait un W de l'ordre de 120. Aujourd'hui, « Soissons » a un W de 240.

Le progrès génétique constaté montre que les méthodes de sélection employées ont été et sont efficaces.

De manière encore majoritaire aujourd'hui, la méthodologie de la sélection

employée consiste à créer, par hybridation artificielle entre lignées, des populations hétérozygotes puis à sélectionner par l'étude des descendance et enfin obtenir en une dizaine de générations d'autogamie des invariants génétiques nouveaux : les lignées pures.

C'est la sélection généalogique qui progressivement perfectionnée et adaptée, s'est généralisée. La sélection a lieu en même temps que l'homozygotie se réalise avec un suivi individuel de chaque descendance permettant de conserver la généalogie et de tenir compte des informations en provenance des apparentés pour réaliser la sélection.

D'autres méthodes utilisent la sélection généalogique différée. La *Single Seed Descent* (SSD) ou Filiation Unipare a pour objectif de diminuer le principal inconvénient de la sélection généalogique qui, étant très efficace sur les caractères à forte héritabilité, a pour conséquence de réduire la variabilité disponible pour sélectionner les caractères à faible héritabilité. Elle consiste à différer la sélection après quelques générations d'autofécondation en ne retenant qu'un descendant par plante F2.

La méthode Bulk consiste à différer la sélection après hybridation comme dans le cas de la Filiation Unipare, mais au cours des générations de fixation on effectue une sélection massale en appliquant des pressions de sélection pour des caractères d'importance économique.

Perspectives

Les sélectionneurs ont régulièrement utilisé les meilleures lignées et variétés issues d'un programme de sélection comme géniteurs, avec des lignées venant d'autres programmes ou de l'extérieur pour les croisements de cycle suivant. Peu à peu, le temps entre la réalisation d'un croisement et l'utilisation des lignées qui en sont issues, s'est raccourci et actuellement beaucoup de sélectionneurs utilisent des lignées jeunes, F6 ou F5 et parfois F4 dans leurs programmes de croisements. La sélection récurrente diffère de celle-ci par une intensité de sélection plus faible, par un raccourcissement des cycles, 3 ou 4 ans, et par la réalisation d'un large intercroisement ayant parfois recours à la stérilité mâle.

Jusqu'à aujourd'hui, les variétés de blé largement cultivées sont des lignées pures. Une nouvelle augmentation du potentiel génétique de productivité en grain pourrait se réaliser grâce à l'exploitation de l'hétérosis manifesté à l'état hybride.

La fabrication de semences hybrides chez le blé suppose une modification de la biologie florale. Cette modification soit par la voie génétique, soit par la voie chimique, par un gamétocide, par stérilisation des gamètes mâles, montre que cette espèce est capable d'une adaptation à l'allofécondation. Le meilleur hétérosis « agronomique » observé est de l'ordre de 10 % à un rendement en grain proche de 100 qx/ha. Une nouvelle génération d'hybrides est en cours d'expérimentation en France et prochainement, on pourra apprécier les possibilités de développement de ce type variétal. Le facteur économique décisif sera le coût de production des semences.

L'accélération du progrès génétique peut se réaliser en obtenant des lignées pures plus rapidement que par autofécondation. L'haplodiploïdisation consiste à produire des plantes haploïdes grâce à diverses techniques à partir des gamètes mâles ou femelles à n chromosomes, puis le nombre chromosomique de ces plantes est doublé.

Chacune d'entre elles est ainsi à l'origine, en une seule étape, d'une lignée pure homozygote. L'intérêt de l'haplodiploïdisation est de raccourcir le cycle de sélection et

de disposer directement des produits de la méiose dont le stock chromosomique a été doublé. Il est clair que cette situation facilite grandement les études génétiques et le jugement des lignées. Le développement de cette technique chez le blé dépend de la fréquence d'obtention de plantes haploïdes doublées. Actuellement, le prix de revient d'une lignée pure de blé par cette méthode est encore trop élevé.

L'accélération du progrès génétique peut aussi se réaliser en étant plus précis dans la sélection. Le marquage biochimique et moléculaire des caractères peut constituer un outil d'autant plus précieux pour le sélectionneur que le caractère est difficile à sélectionner. C'est ainsi que le gène majeur de résistance au Piétin verse *Pchl* est lié à la forme B de l'endopeptidase Ep D1. Bientôt d'autres caractères qualitatifs puis quantitatifs seront marqués de manière moléculaire.

Afin d'obtenir une carte moléculaire aussi saturée que possible du génome du blé, différents pays collaborent au sein de l'ITMI (*International Triticae Mapping Initiative*) pour identifier des marqueurs moléculaires des caractères tout au long des chromosomes par la technique RFLP.

A plus long terme, la variabilité du blé pourra être élargie en utilisant de l'ADN étranger [2]. Actuellement, on ne connaît pas de système complètement opérationnel de transformation chez le blé mais sans nul doute, ce sera possible dans quelques années. Déjà de l'ADN a été introduit dans des protoplastes de blé par électroporation mais la régénération de plantes à partir de protoplastes transformés reste à mettre au point.

Références

1. Bonjean A, Picard E (1990). *Les céréales à paille*. Softword/ITM.
2. Doussinault G, Kaan F, Lecomte C, Monneveux P (1992). *Les céréales à paille*. In : Gallais A, Bannerot H eds. *Amélioration des espèces végétales cultivées*. INRA Editions : 13-71.
3. Jonard P (1951). Les blés tendres (*Triticum vulgare will*) cultivés en France. INRA-Paris.
4. Lupton FGH (1987). *Wheat breeding, its scientific basis*. Chapman and Hall Ltd-London.
5. Mayer R (1962). L'amélioration des plantes en France. Numéro hors série des *Ann Amel Plantes*, vol. 12.
6. Moule C (1994). Rendement en grain et biomasse produite chez le blé tendre d'hiver, effets de la sélection au cours de la première moitié du siècle. *CR Acad Agric France* (sous presse).
7. Zeller FJ (1973). 1B/1R Substitutions and translocations. In : Proc Fourth Int Wheat Genet Symp Univ of Missouri Co : 209-221.

2

La coopération scientifique et technique entre la Communauté Européenne et les pays en développement : application à l'amélioration des plantes

A. DARTHENUQC

Commission des Communautés Européennes, Bruxelles, Belgique.

La recherche et le développement jouent un rôle prépondérant dans le développement économique et scientifique d'un pays, c'est aujourd'hui reconnu par tous, et un tel auditoire en est certainement totalement convaincu.

Les pays en voie de développement (PED) ont donc besoin, selon ce principe plus que quiconque, d'avoir accès à la Recherche et Développement. Il existe deux manières d'y parvenir : soit en « emprunteur » grâce à des transferts de technologies, en « adaptateur » de recettes, soit en « producteur » de savoir.

On en sait assez pour 20 ans de développement. Qui n'a pas déjà entendu cette phrase ? Il est vrai que les sciences et techniques ne sont pas seules en cause dans le processus, et beaucoup de facteurs limitants du développement ne sont pas d'ordre technique mais plus politique. Cependant, les nombreux échecs de programmes de développement démontrent l'erreur de tels jugements. Les PED doivent produire leur propre connaissance notamment dans les domaines tels que l'amélioration des plantes s'ils veulent faire face au formidable défi alimentaire des prochaines décennies.

Pour l'Afrique, des simulations montrent que, en 1990, le déficit de 10 millions de tonnes équivalent-maïs ne sera retrouvé en 2020 qu'à la condition que la fécondité cumulée diminue de moitié, pour tomber à 3,3 et que la production agricole augmente de 4 % par an. Si le taux de fécondité reste constant et si la production agricole continue à progresser à son rythme actuel, à savoir 2 % par an, le déficit alimentaire passera de 10 millions de tonnes équivalent-maïs en 1990 à 245 millions de tonnes en 2020.

Or, les pays en voie de développement connaissent une crise qui dure depuis maintenant près de 20 ans, et le poids que fait peser le remboursement de leur dette sur leurs finances publiques, auquel s'ajoutent maintenant les conséquences de la politique d'ajustement structurel, font que l'effort pour la recherche scientifique dans les pays en voie de développement, y compris dans des domaines de première priorité, est très largement insuffisant.

Par ailleurs, en tant que scientifiques ou responsables d'organismes de recherche, vous savez bien que, en temps de crise, le budget-recherche est souvent la première source d'économie.

C'est pour tenir compte de cette situation que le Conseil des ministres de la Recherche de la Communauté a décidé, en décembre 1982, sur présentation de la Commission des Communautés Européennes et avec l'avis favorable du PE d'adopter un programme spécifique de coopération scientifique et technique pour le développement, ouvert à tous les pays en voie de développement, maintenant connu sous son sigle STD dans lequel les crédits affectés seraient exclusivement destinés à la recherche.

Par ailleurs, en 1983, le Parlement décidait, en tant qu'autorité budgétaire, de créer une ligne budgétaire spéciale pour la coopération scientifique et technique avec les pays d'Asie et d'Amérique latine, connue aujourd'hui sous l'appellation Coopération Scientifique Internationale (CSI). Chacune de ces deux initiatives est de nature différente et complémentaire, même s'il s'agit dans les deux cas de favoriser la coopération scientifique et technique entre la Communauté Européenne et les pays en voie de développement.

Tous les pays en développement n'avaient pas les mêmes relations avec la Communauté Européenne en 1983. Certains : les pays ACP, certains pays de la Méditerranée (Maghreb, Égypte) bénéficiaient d'accords de coopération avec protocoles financiers, c'est-à-dire que, si ces pays en avaient manifesté le souhait, une partie du montant du protocole financier aurait pu être consacré à leur recherche scientifique.

En revanche, d'autres pays d'Asie et d'Amérique latine avaient des accords de coopération avec la Communauté Européenne mais sans protocole financier. C'est en quelque sorte pour rétablir une forme d'équilibre entre les différents pays en voie de développement qu'à été ouverte cette ligne Coopération Scientifique Internationale. Si je vous ai dit qu'elles étaient de nature différente, c'est parce que ces deux initiatives n'obéissent pas aux mêmes objectifs.

La Coopération Scientifique Internationale, mise en œuvre dans le cadre des accords que la Communauté Européenne entretient bilatéralement avec les pays qui y sont éligibles, est un élément de cette politique de coopération, au même titre que d'autres éléments, et le choix des sujets de recherche est discuté chaque année dans des commissions mixtes au niveau gouvernemental, à l'intérieur de la liste qui va des sciences exactes en passant par les sciences de la terre, les sciences des matériaux, la chimie, les sciences biomédicales, la biologie et les sciences de l'agriculture. Ces dernières représentent, en nombre de contrats et en montant affecté, moins de 15 % du total de ce programme, ce qui correspond actuellement à 77 contrats d'environ 2,5 M écus. Je ne m'étends pas plus sur la Coopération Scientifique Internationale car pratiquement tous les pays bénéficient maintenant de protocoles financiers et la mise en œuvre du Traité de l'Union va entraîner la disparition de cette ligne.

En revanche, le programme scientifique et technique pour le développement est un programme du Programme-cadre pluriannuel de recherche et développement communautaire. C'est-à-dire qu'alors que la Coopération Scientifique Internationale correspond à une approche politique de la coopération scientifique et technique avec les pays

en voie de développement, le programme scientifique et technique pour le développement correspond, quant à lui, à un véritable programme de recherche, c'est-à-dire qu'il privilégie l'approche thématique et qu'il vise à apporter des solutions aux problèmes posés.

Dans ce cas, le choix des thèmes ne relève pas d'une négociation politique avec un pays mais de la décision de la Communauté Européenne de faire porter son effort de coopération dans un secteur bien déterminé.

Comme le programme scientifique et technique pour le développement est un programme ouvert à tous les pays en voie de développement, on a cherché à définir des secteurs de recherche qui pourraient intéresser tous ces pays, quel que soit leur niveau de développement technologique. C'est pourquoi le programme scientifique et technique pour le développement a opté pour l'agriculture et la santé, car ces deux domaines apparaissent comme les secteurs dont le développement est prioritaire dans tous ces pays en voie de développement.

Ce programme est donc un programme de recherche et, en ce sens, il se veut un moyen de faire progresser les connaissances scientifiques indispensables au développement des pays en voie de développement pour augmenter l'efficacité des actions de développement dans les deux domaines que je viens de mentionner.

Mais c'est aussi un programme de coopération et, en ce sens, il veut se différencier de l'aide financière qui se traduit souvent par une aide à l'équipement sans toujours bien se préoccuper de la future utilisation et de la maintenance de cet équipement, de la coopération bilatérale car celle-ci ne relève pas du mandat de la Communauté Européenne mais de ses Etats membres et de la coopération du type Centres Internationaux de Recherche Agronomique, car ce système nous paraît être plus un moyen de trouver des solutions pour les pays en voie de développement que de les faire réellement participer à l'élaboration de celles-ci et donc de favoriser l'accroissement de leur capacité endogène de recherche. Actuellement, les donateurs de ce système étant aussi ceux qui sont sollicités pour les systèmes nationaux de recherche des pays en voie de développement, on pourrait même considérer qu'il y a une compétition entre les systèmes.

C'est-à-dire qu'il se veut un moyen permettant à des scientifiques de la Communauté Européenne et des pays en voie de développement de travailler ensemble sur des sujets de recherche importants pour les pays en voie de développement parce que cette coopération nous paraît être une manière efficace de renforcer les capacités de recherche sur ces sujets, tant dans les PED qu'en Europe, en donnant au mot capacités sa dimension la plus large, et surtout de permettre à ce renforcement de durer.

Cette démarche se veut aussi une valorisation des différentes initiatives des États membres dans ce domaine, tant au titre de la coopération scientifique qu'à celui de la formation.

Créé en 1982, ce programme qui en est aujourd'hui à sa troisième phase a évolué, quant à ses objectifs et quant à ses moyens.

En 1982, à sa création, il se voulait essentiellement un moyen de pallier au désengagement d'une « science tropicaliste » (si je puis dire) des pays membres et à un affaiblissement de la coopération scientifique consécutif à la décolonisation.

Dans STD2 (1987-1991), ces objectifs premiers étaient maintenus mais s'y ajoutaient d'une part l'amélioration des capacités de recherche des pays en développement, et d'autre part le souci de renforcement de la coordination et de la coopération en Europe sur ces sujets, afin de gagner en efficacité et même de créer une synergie entre les différentes initiatives existantes.

Enfin, dans STD3 (1991-1994), on a cherché à promouvoir une approche pluridisci-

plinaire afin de favoriser des solutions plus globales et donc plus facilement utilisables pour le développement. En outre, toujours dans ce souci de meilleur lien avec le développement, la recherche sociale et socio-économique a été prise en compte dans ce programme.

Quant aux moyens financiers, ils ont suivi une courbe intéressante et rare par les temps qui courent puisque le programme est passé de 40 M écus pour STD1 à 85 M écus pour STD2 et à 125 M écus pour STD3.

Ce programme ouvert à tous les pays en voie de développement doit avoir des thèmes qui soient assez larges pour que chacun puisse y trouver ce qu'il cherche et il est vrai qu'entre les pays du Maghreb, ceux d'Afrique sub-saharienne sèche ou humide ou ceux d'Amérique latine et d'Asie, les problèmes ne sont pas les mêmes et les moyens dont disposent ces pays ne sont pas identiques non plus.

En réalité, et c'est un reproche fait à ce programme, la gamme est très vaste et si cela correspond bien à un degré de flexibilité souhaité, la conséquence en est une très grande dispersion.

Les deux grands thèmes pour l'agriculture sont :

- la réduction du déficit alimentaire,
- le développement des productions agricoles à forte valeur économique au plan local et/ou à l'exportation.

Réduction du déficit alimentaire

But Améliorer la production agricole (végétale et animale) dans les zones où les problèmes d'alimentation sont (ou risquent d'être) une priorité.

Études sur

- le fonctionnement des systèmes de production,
- l'amélioration de la production végétale,
- les plantes alimentaires y compris secondaires,
- l'augmentation économe de la production
 - rendement
 - mise en culture de zones incultes,
- le développement de l'élevage et de la pêche,
- l'adaptation d'un système d'élevage aux contraintes du milieu,
- l'augmentation de l'utilisation des ressources locales pour pêche et aquaculture,
- la restauration d'un environnement fragile pour activité agricole adaptée (agroforesterie-régénération-pâturage,...).

Productions agricoles à forte valeur économique

But Fournir une base scientifique aux activités agricoles (exploitation de la forêt et des milieux aquatiques incluse) à forte valeur économique.

Études sur

- les principales cultures d'exportation traditionnelles,
- les cultures secondaires à forte valeur économique,

- certaines cultures alimentaires à forte valeur marchande sur les marchés urbains,
- la régénération et la gestion des ressources forestières,
- la production bio énergie.

Objectifs spécifiques

Qualitatif :

- satisfaire aux normes pour le commerce international,
- améliorer l'acceptabilité des produits sur le marché,
- permettre la transformation sur place.

Quantitatif :

- amélioration des plantes et races,
- réduction des pertes pré- post-récolte,
- amélioration des techniques agricoles et sylvicoles.

Les procédures de mise en œuvre de ce programme sont simples puisque c'est essentiellement au travers de contrats conjoints de recherche qu'elle est réalisée.

Les contrats résultent d'une sélection faite sur des propositions ayant été soumises à la Commission dans le cadre d'un appel d'offre international.

La sélection est faite sur des critères classiques et d'autres plus spécifiques.

Les critères généraux portent sur la qualité scientifique et technique et le caractère innovant du projet (objectifs convaincants et réalisables, méthodologie claire et cohérente avec les objectifs, faisabilité, etc.). Les critères plus spécifiques sont plus liés aux caractéristiques du programme et portent plus sur l'intérêt du sujet pour les pays en voie de développement, l'impact prévisible pour le développement, la qualité de la coopération dans la répartition des tâches. Enfin, en tant que programme communautaire, il nécessite la participation d'au moins deux participants indépendants d'États membres différents et, bien sûr, d'au moins un pays en développement, mais on cherche aussi à favoriser une coopération régionale Sud-Sud.

Comme vous avez pu le constater dans la description des thèmes éligibles, l'amélioration des plantes a bien entendu une place importante dans les deux secteurs agricoles concernés par le programme.

Pour quantifier cette importance, je peux vous dire que, dans STD2, sur les 179 contrats signés en agriculture pour un montant de 52 millions d'Écus, 36 portaient sur l'amélioration des plantes soit 20 % en nombre pour un montant total de 13,9 M écus (26 % en valeur) pour 4 ans.

Dans STD3 (le programme en cours), le premier appel à des propositions en 1991 a permis de conclure 84 contrats en agriculture pour 38,5 M écus dont 13 en amélioration des plantes (soit 15,5 %) pour 8,55 M écus (soit 22,2 % en valeur).

Le 2^e appel, clôturé en novembre 1992, a permis la sélection de 33 projets dont 7 traitent de l'amélioration des plantes.

Ainsi donc entre 1988 et 1993, on peut estimer que environ 27 M écus ont été dévolus par le programme scientifique et technique pour le développement à l'amélioration des plantes

L'évolution semble être une légère diminution du nombre de projets retenus en amélioration des plantes, mais une augmentation de leur montant due, essentiellement, à une augmentation du nombre de partenaires.

Nous n'avons pas privilégié dans la sélection un type de plantes plutôt qu'un autre et c'est la stricte application des critères de sélection indiqués qui a déterminé notre choix.

C'est ainsi que des contrats traitent d'espèces alimentaires de base (haricot, sorgho, riz, bananes, plantains), d'autres, des espèces à vocation plus commerciale (ananas) ou

industrielle (arachide) ; des annuelles et des arbustives (noix de cajou, hévéa, *Casuarina*) et englobent les trois thèmes de ces journées, à savoir l'amélioration classique, l'amélioration par culture *in vitro* et celle par génie génétique, ces trois types étant parfois présents simultanément dans un seul projet.

Au cours de ces journées, certains travaux présentés sont d'ailleurs, pour partie au moins, des résultats de contrats scientifique et technique pour le développement (les 3 orateurs qui vont suivre en sont des exemples).

En revanche, si nous ne sommes pas directifs quant aux espèces, nous le sommes plus sur les objectifs de l'amélioration que nous cherchons à promouvoir ; c'est une amélioration qui vise à l'obtention de plantes économes tant en termes de fertilisants que de pesticides, ou d'eau, permettant la mise en valeur de terres nouvelles (sols salés, sols acides) et plus satisfaisante pour les consommateurs, y compris les consommateurs locaux que l'on a tendance à oublier.

C'est dire que l'on cherche à favoriser une démarche totalement différente de celle qui a été prônée, de ce que l'on appelle la révolution verte à laquelle l'Afrique n'a pas participé, et dont on constate aujourd'hui les limites tant en termes de rendement que d'environnement.

Vous voyez bien, et j'en arrive à ma conclusion, que l'on a des objectifs similaires. En lisant sur la brochure-programme les objectifs du réseau Biotechnologie de l'UREF, j'ai retrouvé beaucoup de ceux du programme scientifique et technique pour le développement.

Bien sûr, le programme scientifique et technique pour le développement n'est pas un programme de biotechnologie, vous l'avez bien compris ; bien sûr l'aspect linguistique de la démarche AUEP/UREF diffère de l'approche multilingue de la Communauté Européenne mais les thèmes prioritaires définis sont parmi ceux que l'on cherche aussi à traiter.

Je voudrais également vous dire combien j'ai apprécié que vous abordiez dans vos journées les trois types d'amélioration.

Je suis un peu inquiet de la place que l'on donne aujourd'hui à l'amélioration par génie génétique non pas que je ne reconnaisse pas tous les progrès que l'on peut en attendre, mais parce qu'il me paraît indispensable de garder certains équilibres et de ne pas sacrifier, par mode, tout à une discipline scientifique si importante soit-elle et cela est d'autant plus vrai lorsque l'on pense au monde tropical. Il y a beaucoup à faire et parfois des méthodes très classiques, même simples, peuvent suffire.

En liaison avec cet aspect, je crois qu'il faut être très vigilant sur les problèmes de formation et je m'adresse ici aux laboratoires européens d'accueil de thésards originaires des pays en voie de développement. Soyez vigilants, quant aux travaux que vous proposez, sur les possibilités qu'aura le jeune chercheur de pouvoir utiliser et valoriser la formation que vous l'aurez aidé à acquérir lorsqu'il retournera dans son pays.

Enfin, je voudrais aussi vous dire qu'en cette période de crise économique en Europe, il ne faut pas trop se leurrer sur les moyens qui seront offerts à la coopération scientifique et technique avec les pays en voie de développement dans le prochain PC (1994-1998) qui est actuellement en discussion au Conseil et au Parlement européen.

C'est pourquoi il faut encourager toute démarche visant à renforcer la coordination, la concertation et même la répartition du travail. La démarche « réseau » est en ce sens très intéressante et très pertinente. Peut-être faudra-t-il aussi envisager une grande discussion à l'échelle internationale sur la répartition des rôles de chacun dans le dispositif de la recherche agronomique tropicale (niveau national, niveau écorégional, niveau international) afin que le défi auquel je faisais allusion en introduction puisse être relevé.

3

L'amélioration du riz en Afrique

J. BOUHARMONT

*Laboratoire de Cytogénétique, Université Catholique de Louvain,
4, place Croix-du-Sud 4, 1348 Louvain-La-Neuve, Belgique.*

La riziculture a été introduite à des époques relativement anciennes dans plusieurs régions d'Afrique, comme Madagascar, l'Afrique orientale et l'Afrique de l'Ouest. Elle est restée longtemps marginale dans la plupart des pays, l'aménagement des rizières était rudimentaire et les rendements médiocres. Ce retard s'explique surtout par la faible densité des populations. Les conditions ont beaucoup changé depuis quelques dizaines d'années, suite à l'évolution démographique et aux modifications des traditions alimentaires. Le riz a pris une place de plus en plus grande dans l'agriculture et dans l'alimentation de nombreux pays, avec souvent une production locale déficitaire qui doit être compensée par des importations coûteuses. La riziculture africaine actuelle n'occupe cependant qu'une place modeste au niveau mondial et les progrès restent décevants en comparaison de la situation de l'Asie du Sud-Est.

Contraintes

Comparée aux grandes régions rizicoles d'Asie, l'Afrique souffre de plusieurs handicaps. Le premier est la dispersion des faibles moyens disponibles entre de nombreux pays. Les centres de recherche et de sélection sont assez nombreux, mais de taille le plus souvent limitée. Pour les petits pays, une intégration dans des programmes internationaux est indispensable. L'influence de l'IRRI (*International Rice Research Institute*) est restée faible et les conséquences de la révolution verte ne se sont pratiquement pas fait sentir sur le continent africain. L'ADRAO (Association pour le Développement de

la Riziculture en Afrique de l'Ouest) peut jouer un rôle plus important, du moins pour la région où elle est implantée, comme intermédiaire entre les institutions locales et les autres organismes internationaux, par la formation des chercheurs et par la mise en œuvre de programmes communs d'amélioration.

Des associations de chercheurs, telle que la CORAF (Conférence des Responsables de la Recherche Africains), permettent aussi une coordination utile entre les programmes nationaux, sans cependant aboutir à une intégration vraiment efficace. La coopération avec les pays du Nord est une source appréciable de moyens et elle favorise aussi les relations entre pays africains ; les programmes ne sont cependant pas toujours adaptés aux besoins et leur continuité n'est pas garantie.

Les progrès spectaculaires de la riziculture dans certains pays du Sud-Est asiatique s'expliquent par l'introduction de quelques variétés modernes bien adaptées à la culture irriguée, qui est de loin la plus répandue et la plus rentable dans ces régions. En dehors de Madagascar, l'irrigation est peu pratiquée en Afrique et le coût élevé des investissements exclut une forte extension de ce mode de culture. La riziculture pluviale, qui dépend de la pluviosité et d'inondations plus ou moins contrôlées, donne des rendements plus faibles et plus aléatoires, à cause de l'irrégularité de l'alimentation en eau, de la pauvreté des sols et aussi de la présence fréquente de minéraux toxiques (fer, aluminium, sel). En Afrique de l'Ouest, de grandes surfaces sont contaminées par les remontées de chlorure de sodium. Les basses températures représentent un facteur limitant en montagne et pour les cultures effectuées en contre-saison dans les zones proches du Sahel. Un autre type de culture est réalisé dans le delta intérieur du Niger, soumis aux crues du fleuve, où le riz flottant a été introduit.

A cause de cette diversité des modes de culture et des contraintes environnementales, les variétés introduites sont rarement utilisables directement : une amélioration spécifique est nécessaire, mais les variétés ainsi créées ne peuvent généralement pas être distribuées sur des surfaces très importantes. L'amélioration implique donc l'obtention de variétés plus nombreuses, la mise en œuvre d'essais locaux, dans des milieux écologiques différents, mais aussi la recherche de géotypes capables de s'adapter à ces environnements divers ou instables.

Dans plusieurs pays d'Afrique de l'Ouest, la culture traditionnelle de l'espèce africaine *Oryza glaberrima* se poursuit. Bien que généralement moins productive que les variétés d'*O. sativa*, cette espèce possède des caractères utiles dans certaines conditions, justifiant sa présence dans les programmes de plusieurs centres agronomiques.

Programmes actuels

Les programmes d'amélioration les plus anciens ont été ralentis ou interrompus lors de l'accession des pays africains à l'indépendance. Ultérieurement, de nouveaux projets ont été mis en œuvre par les centres nationaux et internationaux. Beaucoup de ces programmes ont pour objet l'évaluation du germoplasme constitué par les variétés introduites d'autres pays africains et d'Asie : un grand nombre de géotypes sélectionnés ou rassemblés à l'IRRI sont ainsi testés dans des conditions écologiques très diverses. La création variétale est indispensable pour combiner dans une même variété des caractères identifiés dans les collections de travail. Les centres du Sierra Leone, Nigeria, Burundi, Cameroun, Ghana, Tanzanie, entre autres, ont mis sur le marché de nouvelles variétés sélectionnées au cours de ces dernières années.

Les critères principaux sont le rendement et la résistance aux maladies. Parmi ces dernières, la pyriculariose est la plus importante et la résistance stable est surtout recherchée : plusieurs variétés d'Afrique de l'Ouest possèdent un bon niveau de résistance à cette maladie et sont utilisées comme géniteurs dans les croisements. Les maladies virales et bactériennes (*Sarocladium*, *Xanthomonas*) sont également envisagées, ainsi que plusieurs insectes (chilo, diopsis). La tolérance à diverses contraintes est recherchée : salinité (Sierra Leone), froid (Cameroun, Nigeria, Burundi, Madagascar), fer (IITA, ADRAO), déficit en phosphore (Sierra Leone), sécheresse (IITA). Les qualités culinaires et l'arôme du riz ont souvent été négligés : ces caractères sont cependant explicitement recherchés en Sierra Leone, Tanzanie, Nigeria, Égypte.

La création variétale est basée sur les méthodes traditionnelles : croisement, sélection généalogique, bulk, rétrocroisements. Une sélection récurrente, susceptible de favoriser l'amélioration de la résistance polygénique aux maladies et d'accroître l'adaptabilité des populations, est entreprise à Madagascar. La sélection récurrente est surtout destinée à la création de variétés synthétiques chez les plantes allogames. Elle est applicable aux autogames, surtout quand des gènes de stérilité mâle sont disponibles. La sélection récurrente (avec stérilité mâle récessive) est expérimentée en Côte d'Ivoire pour tenter de rompre les liaisons entre la sensibilité à la pyriculariose et des qualités agronomiques comme le grain long [4].

On reconnaît l'intérêt de certains génotypes d'*O. glaberrima* et de plusieurs espèces sauvages d'*Oryza* pour l'amélioration de la rusticité, mais il ne semble pas que leur utilisation soit envisagée à court terme pour l'amélioration variétale en Afrique.

La mutagenèse artificielle est expérimentée en Égypte pour tenter d'améliorer la teneur en protéines : la variabilité serait accrue en M2 et M3 après irradiation et la teneur en protéine atteint 13,3 % dans certaines descendance.

La mutagenèse, la culture d'anthères pour l'obtention de lignées homozygotes, les analyses d'enzymes et la recherche de marqueurs biochimiques sont appliquées à des programmes d'amélioration, en particulier en Côte d'Ivoire, mais ces programmes sont conçus dans le cadre de projets européens et réalisés en partie en dehors de l'Afrique. C'est également le cas pour des essais au champ de mutants sélectionnés à partir de cultures de cellules somatiques (Burundi, Togo, Sénégal).

Méthodes modernes d'amélioration

Après l'expansion très rapide des variétés semi-naines de l'IRRI dans beaucoup de pays d'Asie, d'autres progrès spectaculaires ont été faits ou peuvent être attendus dans un avenir assez proche. La mise au point et l'exploitation sur grande échelle des semences hybrides a fortement accru la production rizicole en Chine. Cette voie est basée sur l'utilisation de la stérilité mâle cytoplasmique et sur le choix de combinaisons parentales conduisant à un niveau élevé d'hétérosis.

Après avoir été négligée pendant plusieurs dizaines d'années, l'hybridation interspécifique a trouvé de nouvelles applications chez le riz, particulièrement à l'IRRI. Les croisements entre le riz cultivé et des espèces spontanées éloignées, diploïdes ou tétraploïdes, donnent des hybrides grâce à la culture *in vitro* des embryons. Malgré l'homologie chromosomique réduite et la forte stérilité des hybrides, des rétrocroisements sont possibles. La faible affinité entre les génomes facilite un retour rapide au génome et aux caractéristiques du parent récurrent cultivé. L'application de pressions sélectives au

cours des premières générations a permis de transférer au riz des caractères d'*Oryza officinalis* et d'*O. minuta* : résistance aux insectes, à la pyriculariose et à la bactériose [1, 2].

En 1983, la fondation Rockefeller, qui avait déjà participé à la création de l'IRRI, a organisé et financé un programme international sur la biotechnologie du riz. Dans ce cadre, une carte génétique comprenant 4 000 marqueurs RFLP a été établie : elle est utilisée pour localiser des gènes de résistance aux insectes, aux maladies et à la salinité. Les transformations génétiques sont peu efficaces chez les graminées : l'incorporation des gènes codant pour les toxines de *Bacillus thuringiensis* et pour une protéine virale n'a pas encore abouti à des résultats pratiques : l'utilisation de particules accélérées semble être la voie la plus efficace. La fusion de protoplastes de riz et de *Porteresia coarctata* est tentée pour accroître la tolérance à la salinité des variétés cultivées. L'introduction de gènes de légumineuses est envisagée pour déclencher la fixation de l'azote par des *Rhizobium* associés aux racines de riz. Un autre objectif plus ou moins lointain est l'induction ou l'introduction de gènes d'apomixie, qui permettrait la propagation aisée du riz hybride [5].

Pour l'exécution de son programme, la fondation Rockefeller fait appel à de nombreux laboratoires spécialisés dans divers domaines et répartis dans le monde, mais l'Afrique n'est pas représentée dans ce réseau. Beaucoup de recherches actuellement entreprises sont aléatoires, certaines peuvent même sembler utopiques, d'autres n'auront pas d'incidence prochaine sur la riziculture. Le riz hybride n'est rentable que si les rendements des variétés homozygotes sont déjà élevés ; son utilisation demande aussi une infrastructure adéquate pour la production et la distribution de la semence. La plupart des biotechnologies exigent un équipement coûteux et un personnel qualifié. Ces conditions sont difficiles à rencontrer en Afrique ; par ailleurs, il serait inutile de répéter, avec des moyens insuffisants, des essais déjà réalisés ailleurs.

Il serait cependant dangereux d'attendre passivement les retombées de recherches qui s'effectuent dans le reste du monde. Les pays et institutions participant à un programme international veillent à faire adopter des objectifs qui les intéressent plus particulièrement. On peut donc penser que les nouvelles variétés qui résulteront tôt ou tard de l'application des méthodes modernes d'amélioration répondront d'abord aux contraintes de l'environnement et aux souhaits des producteurs de régions où les rendements sont déjà les meilleurs. Au contraire, comme pour les révolutions précédentes de l'agriculture, l'Afrique risque d'être peu concernée par les effets bénéfiques attendus des nouvelles technologies.

Il est donc indispensable que, dans les pays africains où la riziculture, et plus généralement la production agricole, doivent être développées, des laboratoires atteignent un niveau justifiant leur insertion dans les programmes internationaux, ce qui facilitera leur accès aux retombées qui en découlent. Il n'est pas réaliste de choisir actuellement des orientations hasardeuses, comme la production de plantes transgéniques, d'hybrides somatiques ou l'induction de l'apomixie. Il est préférable de se limiter à des objectifs réalisables à court terme, exigeant un investissement moindre.

L'emploi de marqueurs biochimiques est un de ces objectifs : il facilite la sélection de gènes difficiles à identifier comme ceux qui contrôlent la résistance horizontale des plantes aux parasites et maladies. Les cultures *in vitro* peuvent aussi avoir des applications rapides et leur maîtrise facilitera le passage à des techniques plus sophistiquées dont l'utilisation peut s'avérer utile dans l'avenir. La culture d'anthères est bien maîtrisée chez le riz, où elle est appliquée pour l'obtention d'haploïdes et de lignées homozygotes, accélérant ainsi la production de variétés-lignées après hybridation. La variation

somaclonale est une source importante de mutations chez le riz : la régénération de plantes à partir de cals permet de modifier favorablement des caractères spécifiques dans des variétés déjà sélectionnées.

Variation somaclonale et sélection *in vitro*

Chez de nombreuses espèces, des modifications temporaires ou stables ont été décrites dans les lignées de cellules en culture, ainsi que dans les plantes régénérées à partir de ces cellules. L'ampleur de cette variation somaclonale diffère beaucoup suivant les espèces : elle est remarquable chez le riz [3]. L'utilité des mutations induites par la culture *in vitro* peut être accrue si une sélection est exercée au niveau des cellules, de manière à réduire le nombre de plantes à tester en laboratoire et au champ après régénération. Un tel programme a été entrepris à l'Université de Louvain, avec la participation de la Direction de la Recherche Agronomique du Togo, des universités du Burundi et de Dakar et de l'ADRAO. Des descendances de plantes régénérées à partir de cals ont été cultivées au Togo pendant 8 générations. Leur observation a confirmé la fréquence élevée des modifications induites chez le riz par la culture *in vitro* : pour certains caractères, plus de 80 % des plantes diffèrent de la variété d'origine. Les familles restent parfois hétérogènes pendant plusieurs générations, mais des lignées stables peuvent ensuite être isolées. Bien que la majorité des lignées modifiées soient moins intéressantes que la variété d'origine, certaines sont améliorées pour un ou plusieurs caractères agronomiques : chaume plus court, réduction de la période de végétation, longueur de la panicle, poids de 1 000 grains, résistance à la pyriculariose. Enfin, l'étude des hybrides F1 et F2 entre mutants et variétés parentales démontre l'hérédité mendélienne (le plus souvent monogénique) des caractères sélectionnés.

L'application de pressions sélectives aux cellules en culture doit, en principe, augmenter la proportion de plantes modifiées dans les populations régénérées. Les facteurs qui ont été expérimentés sont le froid, le chlorure de sodium et les sels d'aluminium. Une toxine extraite d'une bactérie (*Xanthomonas fuscovaginae*) semble aussi agir sur les cellules indifférenciées. Les durées de traitement, les températures et concentrations appliquées aux cals sont choisies de manière à arrêter la prolifération des cellules normales ou à provoquer leur nécrose. Plusieurs lignées ont été régénérées à partir de cals sélectionnés à 13 °C et cultivées en saison froide au Togo : elles ont donné une production normale ou plus ou moins nettement améliorée par rapport à la variété d'origine, sensible au froid. D'autres tests effectués en phytotron et dans des marais situés à des altitudes élevées (1550-1650 m), au Burundi, ont confirmé le meilleur comportement de certaines lignées aux points de vue croissance, fertilité et production. Ces lignées tolérantes dérivent de cals sélectionnés et non sélectionnés par culture à des températures sublétales.

La tolérance à la salinité est probablement le caractère qui a été le plus souvent sélectionné *in vitro*, chez le riz comme chez d'autres espèces. Chez le riz, un certain nombre de lignées régénérées montrent effectivement une amélioration des taux de survie en présence de concentrations en NaCl inférieures à 50 mM. Cultivées dans un milieu contenant du sel, les plantes sélectionnées contiennent plus de potassium dans leurs racines que les plantes non sélectionnées. Ces différences n'apparaissent pas au niveau des feuilles.

La tolérance à l'aluminium est plus difficile à estimer et à sélectionner *in vitro*,

parce que la solubilisation de ses sels dans les milieux de culture implique des modifications importantes de la composition minérale des solutions et un abaissement du pH qui peuvent avoir aussi un effet sélectif. Une tolérance stable à l'égard de l'aluminium a été observée dans plusieurs lignées après application de divers types de sélection, en particulier par culture de cals sur des milieux modifiés, mais dépourvus d'aluminium. Cette tolérance peut être due à divers facteurs, différents des mécanismes qui agissent chez des variétés tolérantes. Au niveau des cellules, elle se manifeste par une diminution de la pénétration de l'aluminium et par le maintien de concentrations suffisantes en phosphore et calcium, malgré la pauvreté du milieu en ces éléments. Au niveau de la plante, l'absorption de l'aluminium par les racines est moindre, ainsi que son transport vers la partie aérienne.

Conclusions

Comparée à d'autres grandes régions du monde, l'Afrique se caractérise, dans l'ensemble, par une productivité faible de la riziculture, par des progrès lents, par une utilisation négligeable des biotechnologies et autres méthodes modernes, et par une faible participation aux grands programmes internationaux.

Les sélectionneurs africains utilisent presque exclusivement les méthodes traditionnelles d'amélioration. Ces méthodes gardent toute leur valeur, mais certaines difficultés pourraient être évitées si elles étaient complétées par d'autres moyens. L'utilisation de marqueurs (RFLP) doit faciliter l'identification de gènes utiles, surtout pour la résistance aux maladies. L'haplodiploïdisation est un outil permettant d'accélérer le rétablissement de l'homozygotie après des croisements simples ou multiples : elle est donc utile lorsque le but de l'amélioration est la production de lignées pures. La variation somaclonale peut être avantageuse pour l'amélioration de caractères particuliers, surtout la tolérance à l'égard de facteurs de l'environnement. Ces applications des cultures *in vitro* ont aussi un intérêt indirect : ouverture aux programmes de biotechnologie, possibilité de faire connaître les besoins de la riziculture africaine et de profiter ultérieurement des progrès qui seront réalisés dans ce domaine.

La sélection récurrente est proposée dans quelques pays, afin de favoriser le brassage de gènes apportés par plusieurs géniteurs et de rompre des liaisons entre gènes favorables et défavorables, surtout pour l'amélioration de la résistance stable aux maladies. En général, on prévoit de rétablir ensuite l'homozygotie, éventuellement par culture d'anthers, afin de créer des lignées possédant les nouvelles combinaisons géniques. On espère isoler ainsi des lignées qui concilient la résistance stable aux principales maladies et une bonne productivité. Cependant, il est probable que la diversité génétique des populations obtenues à la suite de croisements multiples est le principal responsable de leur rusticité ; cet avantage risque de ne pas persister dans les lignées qui en découleront. Des variétés synthétiques, contenant éventuellement des gènes de stérilité mâle pour maintenir un certain niveau d'hétérozygotie, semblent préférables aux variétés-lignées dans beaucoup de régions d'Afrique. Ces populations devraient mieux s'adapter aux fluctuations de l'environnement (climat et maladies) et pourraient être cultivées dans des régions plus vastes que les lignées.

Références

1. Amante-Bordeos A, Sitch LA, Nelson R, Dalmacio RD, Oliva NP, Aswidinnoor H, Leung H (1992). Transfer of bacterial blight and blast resistance from the tetraploid wild rice *Oryza minuta* to cultivated rice, *Oryza sativa*. *Theor Appl Genet* 84 : 345-354.
2. Jena KK, Khush GS (1990). Introgression of genes from *Oryza officinalis* Wall ex Watt to cultivated rice, *O. sativa*. *Theor Appl Genet* 80 : 737-745.
3. Oono K (1982). Characteristics of mutation in cultured rice tissues. Proc. 5th. Intern. Cong. Plant Tissue and Cell Culture : 409-410.
4. Vales M (1992). Recurrent selection for partial rice blast resistance in Côte d'Ivoire. XIIIth Eucarpia Cong., Book of Poster Abstr : 595-596.
5. Van Roozendaal G (1993). The international program on rice biotechnology. *Biotechnology and Development Monitor* 15 : 20-21.

4

Ecophysiologie et amélioration des plantes, une relation utile?

J. F. LEDENT¹, P. GIRARDIN²

1. *ECOP, Grandes Cultures, Université Catholique de Louvain, 2, place Croix-du-Sud, 1348 Louvain-La-Neuve, Belgique.*
2. *Station de recherches « Grandes Cultures » INRA, 28, rue de Herrlisheim, BP 507, 68021 Colmar, France.*

Depuis le début du siècle, les rendements n'ont cessé d'augmenter et le potentiel est loin d'être atteint, les courbes d'augmentation des rendements ne semblant pas devoir s'infléchir à court terme. La part jouée par l'amélioration est difficile à évaluer exactement, mais il ne fait aucun doute qu'elle est considérable (de l'ordre de 50 % du total). Ce travail de sélection a été réalisé essentiellement par des méthodes conventionnelles, de façon pragmatique, faisant appel à la fois à l'intuition et à l'empirisme, la démarche du sélectionneur restant, partiellement au moins, un art. Il a consisté essentiellement en une sélection directe pour le rendement, ainsi qu'en une sélection de caractères permettant de diminuer l'impact des aléas de la production agricole : résistance aux contraintes biotiques et abiotiques, résistance à la sécheresse, au froid, à la verse, aux maladies [13, 32, 35]. Tout cela a été réalisé sans avoir recours à des études physiologiques ou écophysiologiques approfondies [13, 17, 27].

Cela amène le physiologiste à un constat d'humilité : avec seulement en arrière-plan une connaissance plus ou moins diffuse des mécanismes de fonctionnement de la plante, les sélectionneurs ont augmenté et régularisé les rendements de façon impressionnante et leur succès continue. La physiologie n'a joué qu'un rôle indirect et fort secondaire. On peut dès lors s'interroger sur les raisons de cet état de choses, et sur l'opportunité ou non de rechercher dans le futur une plus grande collaboration entre physiologistes et améliorateurs.

Indicateur de supériorité physiologique : un choix réussi par les améliorateurs

Un examen plus approfondi montre assez rapidement que sans avoir un rôle direct de premier plan, la physiologie (l'écophysiologie¹) a imprégné de façon diffuse divers aspects de l'agronomie, et notamment la phytotechnie (conduite des cultures) et l'amélioration végétale. Que ce soit pour la suggestion ou la justification (après coup) des pistes à suivre, l'interprétation des résultats obtenus et l'élimination de fausses pistes, ses apports indirects, bien que difficiles à préciser, semblent loin d'être négligeables.

De plus, la physiologie a joué un rôle plus fondamental qu'il ne paraît à première vue. En changeant la constitution génétique du matériel végétal, on amène presque invariablement un changement des propriétés morpho-physiologiques de la plante [18]. D'autre part, les deux grands critères de sélection (rendement et résistance aux contraintes) impliquent des processus particulièrement intégrateurs : quasiment tous les caractères physiologiques sont concernés ; on peut penser qu'il en sera de même pour une amélioration de la qualité. Sans s'en rendre peut-être toujours compte, les améliorateurs ont donc ainsi sélectionné des génotypes ayant des caractères physiologiques supérieurs, l'ensemble des caractères physiologiques pouvant être touchés [12, 13].

Le choix du rendement ou de la résistance aux contraintes du milieu comme indicateur de la supériorité physiologique de génotypes est un choix parfaitement logique... que l'on soit améliorateur ou physiologiste, et il explique sans doute une bonne part des succès obtenus en amélioration.

Pourquoi la physiologie n'a-t-elle joué qu'un rôle indirect dans le passé ?

Si la physiologie sous-tend en quelque sorte les succès obtenus en amélioration, force est de reconnaître que le rôle direct des physiologistes a été fort restreint.

Diverses explications peuvent être fournies.

1) Les études physiologiques sont, le plus souvent, trop ponctuelles, trop ciblées sur des aspects trop limités, trop spécifiques. L'améliorateur est concerné en premier lieu par le rendement et la résistance aux contraintes, intégrant l'ensemble de la physiologie du végétal (et ses interactions avec le milieu). Or, si ces caractéristiques sont affectées pour chaque processus physiologique pris séparément, le lien reste fort partiel ; il est d'autant plus faible que le niveau d'intégration du processus est peu élevé, ce qui limite fort l'intérêt de ce genre de travaux pour l'améliorateur [13, 35].

Le cas des travaux sur la nitrate réductase est exemplaire à cet égard. La nitrate réductase est un enzyme clé du métabolisme azoté dont le niveau d'activité (ANR) montre une grande variabilité génotypique, et est fortement héritable. Toutefois dans les programmes de sélection, la base génétique est souvent trop étroite et ne permet pas la mise en évidence de différences suffisamment importantes pour avoir la chance d'être liées au rendement. Ainsi, il n'a pas été possible de trouver une relation avec le rendement en champ. Il en est de même pour les mesures ponctuelles de photosynthèse

1. Ecophysiologie : étude du comportement de la plante et du peuplement en fonction des facteurs du milieu.

potentielle (l'échec s'explique sans doute, en partie, par le faible lien entre ces mesures et l'évaluation de la photosynthèse de l'ensemble du feuillage au cours de la saison).

2) L'améliorateur a besoin d'une connaissance globale de la plante, or notre connaissance des processus d'intégration dans la plante et dans l'ensemble plante x milieu reste fort fragmentaire [25, 30]. Que savons-nous, en profondeur, des processus régulateurs et des interactions entre réactions enzymatiques (les activités *in vitro* ne correspondent pas à celles observées *in vivo*) ? La même question se pose au sujet des relations source-puits, du rôle des hormones, du fonctionnement du système racinaire [30] et même, ce qui semble incroyable (pour des processus aussi fondamentaux), des limitations imposées par la photosynthèse potentielle et les respirations à l'accumulation de biomasse [2, 18]...

3) De remarquables progrès ont été réalisés dans la mise à la disposition des chercheurs d'appareils de mesure portables, utilisables en champ (mesure de photosynthèse, poromètres, mesure de la lumière et de l'indice foliaire, mesure de la fluorescence de la chlorophylle, mesure non destructive de chlorophylle, etc.), et dans la mise au point par une équipe d'écophysiologistes de l'INRA Colmar d'un instrument permettant d'étudier la verse en végétation du maïs de façon beaucoup plus satisfaisante que les anciens tests d'arrachage, etc.

Dans l'ensemble toutefois, le manque de techniques (procédures, équipements) simples, rapides, fiables, non destructives, permettant un criblage efficace et précoce sur la base de caractères physiologiques, au sein de populations importantes, est ressenti fortement malgré quelques rares exceptions [3] et des controverses [12]. On peut comprendre la frustration des sélectionneurs à cet égard [12, 31]. Pourtant des espoirs sont permis. On citera, par exemple, un test simple de tolérance au stress comme celui proposé par Tollenaar et Mihajlovic [36], dans le cas du maïs et basé sur la similitude qu'il y aurait entre l'effet de stress au niveau membranaire et celui de certains herbicides.

4) La lisibilité et le type de présentation des résultats acquis par les physiologistes n'ont pas toujours contribué à leur utilisation par les améliorateurs. Malgré de notables exceptions, il y a trop peu de publications de synthèse pouvant présenter un intérêt pour le sélectionneur (et l'agronome). La publication d'ouvrages comme ceux traitant de la physiologie du maïs présentés par l'INRA et l'AGPM [6, 29] mérite d'être encouragée. On citera aussi des monographies auxquelles physiologistes et améliorateurs ont contribué [14, 18, 34] à côté des synthèses classiques écrites par les physiologistes [5, 26, 39...].

Un effort plus important pourrait être consenti en Europe par le biais d'associations comme l'AUPELF ou la Société Européenne d'Agronomie et de son journal (*European Journal of Agronomy*).

5) Les méthodes traditionnelles de sélection ont donné et continuent à donner des résultats remarquables, alors que les programmes où une utilisation plus directe de la physiologie a été tentée ne se sont pas toujours distingués par des résultats supérieurs [10].

Des caractères tels que l'activité de la nitrate réductase [13], le taux potentiel de photosynthèse ou le port de la plante (angle foliaire, etc.) se sont avérés plutôt être des fausses pistes qu'autre chose.

Chez le maïs comme chez le blé, les augmentations considérables de rendement ont

été obtenues sans augmentation sensible de la biomasse ou du taux potentiel de photosynthèse (par unité de surface foliaire) [1, 35].

En Ontario, bien qu'aucun indicateur de stress n'ait été utilisé, la sélection classique a produit des hybrides de maïs plus résistants [35].

On n'a jamais vraiment pu établir un lien direct entre le port particulier (géométrie du feuillage) d'un génotype et ses performances agronomiques [13], chez les céréales à paille. Malgré des controverses [2], le diagnostic sur l'avantage éventuel d'un port dressé est plutôt négatif [19, 32]. Les riz très performants produits par l'IRRI ont un port dressé, alors que dans le cas des blés produits par le CIMMYT, les feuilles sont longues et tombantes [32]. La situation est plus complexe qu'il ne paraît souvent à première vue. Dans le cas du maïs, l'amélioration potentielle apportée par le port dressé peut avoir été masquée par les réorientations d'azimuts des feuilles [8, 9] ; par ailleurs, l'angle foliaire chez le blé est un caractère complexe, évoluant au cours du temps, sensible au stress hydrique, etc. [20, 28].

Ce qui s'applique aux caractères morpho-physiologiques s'applique aussi, mais dans une moindre mesure, à la sélection pour les composantes du rendement.

Les variétés modernes se caractérisent par une force des sources et des puits plus importante. En ce qui concerne les puits, le nombre de grains par m² est plus élevé chez les cultivars récents [2], ce qui s'explique par un nombre de grains par épi plus élevé [24], ou, de façon plus nette, par un nombre de plantes au m² plus important, permis, chez le blé, par l'utilisation de raccourcisseurs, et, chez le maïs, par une meilleure résistance à la verse. En ce qui concerne la source, l'indice foliaire a augmenté, suite au nombre plus élevé de tiges au m² chez le blé [32] et à une durée de surface foliaire verte prolongée chez le maïs.

Les variations de rendement par épi (entre génotypes ou à l'intérieur d'un même génotype) sont associées plus étroitement au nombre de grains, ce qui souligne l'importance de la phase de formation du nombre de grains pendant la montaison et à des implications profondes sur les relations entre caractères morphologiques et rendement [21, 22].

6) Les physiologistes se sont peut-être trop peu souciés des caractéristiques génétiques des caractères qu'ils étudiaient et plus particulièrement de l'héritabilité, aspect essentiel pour l'utilisation d'un caractère en amélioration, ou encore de l'hétérosis, de l'aptitude à la combinaison, etc.

De plus, la majorité des caractères physiologiques sont hérités de façon quantitative, étant sous le contrôle de nombreux gènes avec petits effets individuels [27, 32]. Cela rend difficile l'identification des génotypes intéressants. A cela, il faut ajouter les complications venant des gènes à effet pléiotropique et de l'importance des interactions génotypes x milieu [1, 13...].

Des liens génétiques peuvent n'avoir qu'une faible base physiologique (cas de corrélation entre caractères due aux liaisons (linkage) entre des gènes), mais l'inverse est également vrai. Les corrélations entre organes peuvent être le reflet de leur histoire commune (méristèmes d'où ils sont issus, succession de contraintes communes auxquelles ils ont été soumis pendant la croissance) ou encore d'une interdépendance fonctionnelle (hormones, assimilats, etc. [23]). Les raisons des liens entre caractères morpho-physiologiques et rendement sont loin d'être toujours évidentes et les risques d'erreurs d'interprétation sont nombreux.

Quoi qu'il en soit, les « idéotypes » proposés dans la littérature (par exemple [4]) n'ont jamais joué qu'un rôle fort mineur [13], le concept de type de plante idéal s'avé-

rant peu généralisable, vues les interactions avec le milieu [2] et peu convaincant, vue la complexité.

7) On a parfois associé la faible utilisation des acquis de l'écophysiologie des plantes de culture au développement récent de cette discipline [33]. Les améliorateurs ne pouvaient pas attendre les résultats des travaux des physiologistes pour travailler [12]. Les résultats seraient venus trop tard, et ne pouvaient servir qu'à des tentatives d'explication après coup du choix effectué et des résultats acquis. Cela est vrai dans une certaine mesure, mais doit être nuancé en notant que les racines de l'écophysiologie remontent à la fin du siècle dernier, époque à laquelle il a été reconnu qu'un suivi de la croissance était requis (voir Johnson, 1868, Robertson, 1907, Blackman, 1919 cités par Hunt [15], [11, 32,...]).

Les concepts d'indice foliaire de structure de couvert végétal, de distribution d'assimilats, etc. sont apparus dans les années 40 [11]. Les méthodes d'analyse de la croissance consistant à mettre en relation croissance en poids sec et surface foliaire, par le biais de paramètres tels que le taux net d'assimilation, indice foliaire, la durée d'activité du feuillage, etc. (voir par exemple Watson [37, 38]) sont apparues dans les années 20 et sont restées de mode dans les pays anglo-saxons jusque dans les années 60. Le rôle plus important (par rapport à celui du taux d'assimilation) de la surface foliaire et de sa durée, déjà mis en évidence par ces méthodes, a été largement confirmé par la suite (voir par exemple le cas de l'amélioration du maïs [35]).

Quel rôle futur pour la physiologie en amélioration des plantes ?

Les recherches physiologiques et, plus particulièrement celles en écophysiologie des grandes cultures, ont permis d'accumuler un ensemble impressionnant de connaissances sur le fonctionnement des plantes, malgré l'importance des lacunes qui subsistent. Une liste des acquis a été présentée notamment par Hageman et Lambert [13] et par Girardin [10]. Nous retiendrons spécialement les études de l'élaboration séquentielle du rendement (mise en place des composantes, remplissage du grain, redistribution des assimilats) et la mise en évidence de l'importance du stade de développement sur les besoins en fournitures d'assimilats (carbone, azote). Ces connaissances ont permis l'élaboration de modèles déterministes de croissance (par exemple CERES-Maize, Jones et Kiniry [16]) dont l'un des objectifs était l'utilisation pour de la simulation et qui devraient s'avérer utiles pour faire le lien entre différents niveaux d'intégration.

Il faut mentionner aussi les travaux très nombreux sur la résistance aux contraintes abiotiques, même si cette problématique reste encore mal connue. Des exemples réussis d'amélioration de la tolérance aux stress abiotiques (adaptation à des sols acides, salins, ou encore à des sols déficients ou toxiques en certains éléments mineurs) sont d'ailleurs rapportés dans la littérature [18, 32]. La compréhension de certains mécanismes liés au photopériodisme (utilisation en floriculture notamment) et toutes les expérimentations qui ont été à l'origine des techniques de cultures de tissus (comme outil jouant un rôle indirect en amélioration) sont d'autres exemples de contribution utile. On retiendra aussi la mise en évidence de l'importance de la durée d'activité du feuillage (*stay green*) par exemple dans le cas du maïs [35].

Il semble parfaitement logique que les acquis de la physiologie doivent un jour profiter aux agronomes et plus particulièrement aux sélectionneurs.

Plus précisément, l'écophysiologie peut fournir aux agronomes et aux améliorateurs des informations et/ou des outils issus de trois démarches.

1) L'analyse écophysiologique du progrès génétique devrait permettre d'en dégager les bases physiologiques, et, ainsi, orienter et rendre encore plus efficace le travail futur d'amélioration.

2) Le travail des écophysiologistes pourrait faciliter la mise au point de techniques ou d'appareils permettant l'utilisation, dans les programmes d'amélioration, de critères connus mais jusqu'alors inaccessibles aux sélectionneurs, faute d'outils adéquats.

3) Une troisième démarche consisterait à extraire, à partir des connaissances acquises en physiologie, de nouveaux critères de sélection. Elle permettrait d'orienter les biologistes moléculaires dans le choix des caractères génétiques à essayer de modifier par ingénierie génétique [2]. Remarquons qu'en retour la physiologie devrait largement profiter de la meilleure compréhension des processus physiologiques qu'on devrait obtenir quand on sera capable de manipuler des gènes multiples [35].

Les moyens apportés par les connaissances physiologiques et l'ingénierie génétique devraient assurer, en conjonction avec les méthodes classiques de sélection, une continuation de l'amélioration de la production agricole, et une adaptation meilleure et plus rapide aux contraintes de plus en plus changeantes de l'agriculture : protection de l'environnement, nouvelles utilisations et donc nouveaux critères de qualité, etc. [1, 27, 31]. L'utilisation de caractères physiologiques, conjointement à celle d'un modèle génétique adéquat et des nouvelles techniques issues de la biologie moléculaire (utilisation de marqueurs moléculaires, etc.) semble très prometteuse.

Un certain empirisme sera toujours nécessaire (nous connaissons trop peu de choses encore, pour prédire, à coup sûr, les effets de certaines modifications génétiques). Les caractères physiologiques, s'ils sont mesurables facilement, suffisamment héréditaires, liés génétiquement avec le rendement, pourraient être utilisés comme caractères secondaires dans le cas d'une sélection indirecte, multicaractères pour le rendement [7].

Les perspectives de la physiologie sont peut-être meilleures en agronomie (conduite de culture) qu'en amélioration des plantes [27, 30], mais il semble tout à fait inopportun de négliger pour autant les apports potentiellement considérables de la physiologie à l'amélioration. La mise au point d'indicateurs, de tests simples et rapides permettant de déceler précocement les génotypes aux caractéristiques intéressantes, semble une tâche particulièrement importante. Le test de rusticité du maïs basé sur la fluorescence de la chlorophylle est un exemple de ce type [36].

Conclusion

Les acquis indéniables de l'écophysiologie ont eu, jusqu'à présent, un impact direct faible sur l'amélioration génétique. On peut toutefois espérer que cet impact limité indique que les potentialités de l'écophysiologie n'ont pas encore été suffisamment exploitées, ou que les connaissances sont encore loin d'être suffisantes, plus qu'une inutilité ou une inadéquation de principe de cette discipline.

L'écophysiologie de ces dernières décennies a sans doute quelquefois manqué à son rôle en n'étudiant pas à la fois le comportement des lignées parentales et celui des

hybrides, en n'approfondissant pas certains concepts (la vigueur au départ, par exemple), en ne fournissant pas aux améliorateurs des techniques suffisamment adaptées à leurs besoins, ou même, en suggérant de fausses pistes. Elle a toutefois contribué à une meilleure compréhension des progrès réalisés et a apporté des outils utiles à la sélection pour la tolérance aux stress abiotiques.

Nous sommes persuadés qu'une meilleure collaboration entre phytotechniciens, écophysiologistes, biologistes moléculaires et améliorateurs ne pourrait qu'être bénéfique pour chacune des parties.

Références

1. Austin RB, Flavell RB, Henson IE, Lowe HJB (1986). *Molecular biology and crop improvement*. Cambridge : Cambridge University Press. 114 p.
2. Austin RB (1988). A different ideotype for each environment. In : Jorna ML, Sloodmaker LAJ, eds. *Cereal breeding related to integrated cereal production*. Wageningen : Pudoc : 47-58.
3. Blum A (1989). Breeding methods for drought resistance. In : Jones MG, Flowers TG, Davies WG, eds. *Plants under stress*. Series of SEB symposium. Cambridge : Cambridge University Press : 197-213.
4. Donald CM (1968). The breeding of crop ideotypes. *Euphytica* 17 : 385-403.
5. Evans LT (1975). *Crop physiology some case studies*. Cambridge : Cambridge University Press, 374 p.
6. Gallais A (1984). *Physiologie du maïs*. Paris : INRA, 574 p.
7. Gallais A (1984). Use of indirect selection in plant breeding. In : Lange W, Zeven AC, Hogenboom NG, eds. *Efficiency in Plant Breeding*. Proc. of the 10th Congress of Eucarpia. Wageningen : Pudoc : 45-60.
8. Girardin Ph (1992). Leaf azimuth in maize canopies. *Eur J Agronomy*, 1 : 91-97.
9. Girardin Ph, Tollenaar M. (1992). Leaf azimuth in maize : origin and effects on canopy patterns. *Eur J Agronomy*, 1 : 227-233.
10. Girardin Ph (1993). *Ecophysiologie : méthodes, limites et acquis. Exemple du maïs grain*. Mémoire pour le diplôme d'habilitation à diriger des Recherches. INRA, Colmar, 60 p.
11. Goldsworthy PR, Fisher NM (1984). *The physiology of tropical crops*. Chichester : J. Wiley and Sons, 664 p.
12. Gusta LV, Chen THH (1987). The physiology of water and temperature stress. In : Heyne FG, ed. *Wheat and wheat improvement* (2nd ed.). Madison : ASA, CSSA, SSA : 116-150.
13. Hageman RH, Lambert RJ (1988). The use of physiological traits for corn improvement. In : Sprague GF, Dudley JW, eds. *Corn and corn improvement* (3rd ed.). Madison : ASA, CSSA, SSA : 431-461.
14. Heyne FG (1987). *Wheat and wheat improvement* (2nd ed.). Madison : ASA, CSSA, SSA, 765 p.
15. Hunt R (1978). Plant growth analysis. *The institute of biology's studies in biology* n° 96. London : Edward Arnold, 67 p.
16. Jones CA, Kiniry JR (1986). CERES-Maize. *A simulation model of maize growth and development*. College Station : Texas A&M University Press. 194 p.
17. Konzak CF (1987). Mutation and mutation breeding. In : Heyne FG ed. *Wheat and Wheat improvement*. 2nd ed. Madison : ASA, CSSA, SSA : 428-443.
18. Kuckuck H, Kobabe G, Wenzel G (1991). *Fundamentals of plant breeding*. Berlin : Springer-Verlag, 236 p.
19. Ledent JF (1974). Photosynthèse nette et angle foliaire chez le froment de printemps (*Triticum aestivum* L.). *Bull Acad R Belgique, Cl. Sci*, 60 : 961-972.

20. Ledent JF, Moss DN (1977). Spatial orientation of wheat leaves. *Crop Sci*, 17 : 873-879.
21. Ledent JF, Moss DN (1979). The relation of morphological characters and shoot yield in wheat. *Crop Sci*, 19 : 445-451.
22. Ledent JF (1982). Morphology and yield in winter wheat grown in high yielding conditions. *Crop Sci*, 22 : 1115-1119.
23. Ledent JF (1984). Morphological characters : a physiological analysis. In : Lange W, Zeven AC, Hogenboom NG eds. *Efficiency in plant breeding*. Proc. of the 10th Congress of Eucarpia. Wageningen : Pudoc : 65-68.
24. Ledent JF, Stoy V (1988). Yield of winter wheat. A comparison of genotypes from 1910 to 1976. *Cer Res Comm*, 16 : 151-156.
25. Loomis RS, Connor DS (1992). Crop ecology. *Productivity and management in agricultural systems*. Cambridge : Cambridge University Press.
26. Milthorpe FL, Ivins JD (1966). *The growth of cereals and grasses*. London : Butterworths, 359 p.
27. Monti LM (1990). *The role of crop physiology in production, Management and breeding*. In : Scaife A, ed. Proc. of the first ESAG Congress, Paris : 1-12 (session 1-0).
28. Peinetti R, Ledent JF (1990). Effect of water status on leaf angle and leaf movement in wheat. *J Agronomy Crop Sci*, 165 : 263-267.
29. Picard D (1991) *Physiologie et production du maïs*. Pau ; Paris : AGPM-INRA, 501 p.
30. Picard D (1992). *The future of crop physiology*. In : Scaife A, ed. Proc. 2nd ESAG Congr. Warwick : Warwick Univ : 16-23.
31. Raillard D (1991). Les attentes des établissements de semences de maïs. In : Picard D, ed. *Physiologie et production du maïs*. Pau, Paris : AGPM-INRA : 479-484.
32. Rasmusson DC, Gengenbach BG (1984). Genetics and use of physiological variability in crop breeding. In : Tesard MB, ed. *Physiological basis of crop growth and development*. Madison : ASA, CSSA : 291-321.
33. Simmons SR (1987). Growth, development and physiology. In : Heyne FG, ed. *Wheat and Wheat improvement*. 2nd ed. Madison : ASA, CSSA, SSA : 77-113.
34. Sprague GF, Dudley JM (1988). *Corn and Corn Improvement* (3rd ed.). Madison : ASA, CSSA, SSA, 986 p.
35. Tollenaar M, Dwyer LM (1991). The impact of physiology on the increase in productivity in maize. In : Picard D, ed. *Physiologie et production du maïs*. Pau-Paris : AGPM-INRA : 485-497.
36. Tollenaar M, Mihajlovic M (1991). Bromoxynil tolerance during the seedling phase is associated with genetic grain yield improvement in maize. *J Plant Sci*, 71 : 1021-1027.
37. Watson DJ (1952). The physiological basis of variation in yield. *Adv Agronomy*, 4 : 101-145.
38. Watson DJ (1968). A prospect of crop physiology. *Ann Appl Biol*, 62 : 1-9.
39. Fisher KS, Palmer AFE (1984). Tropical maize. In : Goldsworthy, Fisher NM eds. *Physiology of tropical field crops*. Chichester : John Wiley and Sons, 664 p.

5

Amélioration de quatre espèces de légumineuses alimentaires tropicales : *Phaseolus vulgaris*, *P. coccineus*, *P. polyanthus* et *P. lunatus*. Sélection intra- et interspécifique

J.P. BAUDOIN¹, F. CAMARENA², M. LOBO³

1. FSAGx, Belgique.
2. UNALM, Pérou.
3. ICA, Colombie.

Dans de nombreuses régions tropicales, l'agriculture n'a toujours pas atteint des niveaux de productivité suffisants pour résoudre les problèmes de sous-alimentation ou de malnutrition. Les travaux de recherche agronomique réalisés dans le passé ont aussi souvent négligé les cultures vivrières au profit des cultures industrielles. Pour remédier à ces insuffisances, plusieurs centres internationaux de recherche ont été créés ou renforcés à travers divers pays d'Afrique, d'Amérique latine et d'Asie. Leurs activités sont coordonnées et supervisées par le Groupe Consultatif de la Recherche Agronomique Internationale (GCRAI) dont l'objectif principal est d'améliorer la productivité des plantes vivrières et des systèmes phytotechniques dans lesquels elles s'intègrent. Parmi toutes les espèces étudiées, les légumineuses alimentaires tiennent une part très importante des travaux accomplis dans des domaines aussi divers que l'agronomie, la génétique, l'entomologie, la phytopathologie et la physiologie. Elles constituent un apport de protéines peu coûteux mais néanmoins important (18 % à 30 % de la graine sèche). Elles exercent une influence très favorable sur la fertilité des sols grâce à la symbiose fixatrice d'azote avec les souches de *Rhizobium*. Elles jouent par conséquent un rôle primordial dans la rotation des cultures. Si leurs excellentes propriétés suscitent de

nombreux espoirs, il convient pourtant de ne pas sous-estimer les difficultés inhérentes à ce groupe de plantes. En effet, les légumineuses alimentaires occupent toujours une place très modeste dans les systèmes cultureux traditionnels de ces pays. Le niveau faible et instable de leurs rendements par unité d'effort et leur grande susceptibilité aux maladies et aux ravageurs expliquent partiellement ce déséquilibre.

Une priorité absolue doit donc être accordée à l'amélioration du rendement, de la rusticité et de l'adaptabilité des légumineuses alimentaires. Cependant, de telles recherches ne peuvent négliger les systèmes cultureux : les cultures traditionnelles dans les régions tropicales ne permettent pas toujours à la plante d'exprimer son potentiel réel de production et cette situation nécessite en conséquence le développement de systèmes phytotechniques plus performants de culture pure ou associée. Les légumineuses devront obligatoirement s'adapter à ces nouveaux milieux, lesquels entraîneront inévitablement des obstacles supplémentaires à l'obtention d'une bonne productivité : pour ne citer qu'un exemple, l'intensification d'un système cultural s'accompagne très souvent d'une incidence plus sévère des maladies et des ravageurs, requérant des niveaux élevés et stables de résistance génétique.

Pour faire face à tous ces défis, le sélectionneur veillera en premier lieu à choisir l'espèce ou la variété cultivée qui convienne le mieux aux conditions écologiques locales. Celles-ci sont extrêmement diverses sous les tropiques, couvrant les zones des plus arides aux plus humides, et les zones des plus chaudes aux plus froides. Dans ce contexte, il est essentiel d'exploiter toute la diversité génétique au sein de la famille des légumineuses et de ne pas négliger des espèces dont la diffusion dans le monde est plus limitée.

Dans le cadre de la collaboration avec des institutions internationales et nationales situées au Nigéria, au Burundi, en Colombie, au Pérou et au Brésil, notre Unité a entrepris des travaux d'amélioration génétique des légumineuses vivrières du genre *Phaseolus*, d'origine néotropicale. *Phaseolus* comprend une cinquantaine d'espèces sauvages et cinq espèces domestiquées : *P. vulgaris* L. (le haricot commun, la légumineuse la plus diffusée du genre), *P. lunatus* L. (le haricot de Lima), *P. coccineus* L. (le haricot d'Espagne), *P. polyanthus* Greenm. et *P. acutifolius* A. Gray (le « tepary »). Eu égard à leurs fortes similarités écologiques et botaniques et à leur grande perméabilité génétique mutuelle, *P. coccineus* et *P. polyanthus* ont souvent été considérés au sein d'une même entité, désignée complexe *P. coccineus*.

Les recherches actuelles menées en collaboration avec l'Instituto Colombiano Agropecuario, ICA, Colombie et l'*Universidad Nacional Agraria La Molina*, UNALM, Pérou, poursuivent les objectifs suivants :

- l'amélioration intraspécifique de *P. lunatus*, au niveau des déserts côtiers du Pérou et des savanes de la côte atlantique de Colombie, c'est-à-dire des zones tropicales de basse altitude ;
- l'amélioration intraspécifique de *P. polyanthus* et de *P. coccineus*, au niveau des régions andines de haute altitude du Pérou et de la Colombie ;
- l'amélioration interspécifique de *P. vulgaris*, au niveau des régions andines d'altitude des deux mêmes pays.

La méthodologie de travail s'articule autour de quatre axes majeurs :

- la prospection de matériel végétal dans les centres de diversité et la constitution de collections de base caractérisées par un spectre génétique très large ;
- l'évaluation de ces collections pour de nombreux traits morphologiques, agronomiques et moléculaires ;

- l'hybridation et la sélection suivant des techniques classiques et avancées ;
- la mise en place d'essais de rendement et d'adaptation multirégionaux, en tenant compte des systèmes de production prévalant dans les régions écologiques visées.

Prospection et constitution de collections de base

Pour obtenir des cultivars améliorés à la fois productifs et stables, le sélectionneur doit avoir à sa disposition la plus grande diversité génétique possible de la légumineuse étudiée. Selon le concept de Harlan et de Wet [10], les sources de variabilité exploitables englobent, d'une part, le réservoir génétique primaire (formes sauvages, spontanées et cultivées de l'espèce biologique) et, d'autre part, le réservoir génétique exotique, c'est-à-dire les autres espèces phylétiquement voisines dans le genre et pouvant transmettre des gènes à l'espèce cultivée concernée. Pour ce dernier réservoir, les chances d'introgession dépendent de la plus ou moins grande difficulté à surmonter les barrières d'incompatibilité : selon l'importance de ces barrières, on distinguera le réservoir génétique secondaire ou tertiaire.

Le Nouveau Monde constitue l'aire d'origine et de domestication du genre *Phaseolus*. Selon Debouck [4], cette région se caractérise par trois centres de diversité primaire : le centre méso-américain (du sud des États-Unis à l'ouest de Panama), le centre nord-andin (de l'ouest du Venezuela au nord du Pérou), et le centre sud-andin (du centre du Pérou au nord de l'Argentine). A partir de ces trois centres, les espèces qui ont fait l'objet d'une domestication ont suivi plusieurs voies de diversification qui ont contribué, non seulement à élargir leur variabilité génétique, mais aussi à accroître considérablement leur adaptabilité à des zones climatiques très différentes. Cette adaptabilité a facilité la dispersion des plantes en dehors du continent américain, comme en Afrique, à Madagascar, en Asie du Sud-Est et dans les nombreuses îles du Pacifique. Ces régions représentent des centres importants de diversité secondaire [1].

Plusieurs collectes ont été réalisées dans ces centres par des scientifiques de la Faculté et avec l'appui de l'*International Plant Genetic Resources Institute* (Rome, Italie), du *Centro Internacional de Agricultura Tropical* (CIAT, Cali, Colombie) et de l'*International Institute of Tropical Agriculture* (IITA, Ibadan, Nigéria). Ces prospections ont permis d'accroître le nombre d'écotypes sauvages et de variétés de pays pour les principales espèces cultivées du genre *Phaseolus*, et de découvrir de nouvelles espèces, certaines ne possédant toujours pas un statut botanique bien identifié [5]. Les collectes et les échanges avec diverses stations de recherche ont aussi abouti à la création de collections mondiales de base, en particulier pour les trois espèces : *P. lunatus*, *P. coccineus* et *P. polyanthus*. Ces collections ou banques de gènes (*germplasm collection*) sont composées principalement de formes cultivées traditionnelles (les variétés de pays ou *landraces*) mais aussi de formes sauvages ou « sauvageoïdes », ces dernières résultant des échappées de culture ou d'hybridations accidentelles entre plantes sauvages et cultivées. Le matériel ainsi accumulé est multiplié sur le terrain en milieu tropical ou en serres à Gembloux. La phase de multiplication doit satisfaire à deux conditions essentielles : maintenir la variabilité génétique initiale de chaque introduction mais aussi préserver son intégrité génétique. Ces deux conditions ont nécessité, pour ces trois taxons à allogamie partielle, la mise au point d'une multiplication sous pollinisation contrôlée, avec intercroisements journaliers entre plantes distinctes de la même population [32]. Les graines ainsi obtenues constituent le stock de base de chacune des

introductions : ces graines sont destinées aux évaluations mais surtout à la conservation à long terme. Cette dernière s'effectue selon les recommandations émises par l'*International Plant Genetic Resources Institute* : les graines sont séchées progressivement pour atteindre une teneur en eau de 4 % sur base de la matière sèche, elles sont mises dans des sachets d'aluminium hermétiques et conservées en chambres froides à - 20 °C.

Evaluation des collections

L'évaluation porte à la fois sur le phénotype et le génotype.

Le phénotype concerne de nombreux caractères qualitatifs et quantitatifs, morphologiques et agronomiques, depuis le stade plantule jusqu'au stade de maturité. Une attention particulière a été accordée aux comportements des plantes vis-à-vis des contraintes biotiques. Le Tableau I indique les résistances observées chez *P. lunatus*, *P. coccineus* et *P. polyanthus* pour plusieurs maladies et ravageurs : ces résistances ont été confirmées par des tests d'inoculation artificielle réalisés en champ et en laboratoire [1, 15, 28].

Tableau I. Résistance de *P. lunatus*, *P. coccineus* et *P. polyanthus* à diverses maladies et ravageurs.

P. lunatus	P. coccineus, P. polyanthus
<ul style="list-style-type: none"> • Virus de la mosaïque dorée du haricot de Lima (LBGMV) • Virus de la marbrure verte du haricot de Lima (LBGrMV) • Jassides, <i>Empoasca kraemeri</i> • Bruches, <i>Acanthoscelides obtectus</i> • Nématodes à galles des racines, <i>Meloidogyne</i> sp. 	<ul style="list-style-type: none"> • Virus de la mosaïque dorée du haricot (BGMV) • Ascochyte due à <i>Phoma exigua</i> var <i>diversispora</i>. • Anthracnose due à <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> • Mouche du haricot, <i>Ophiomyia phaseoli</i> • Jassides, <i>Empoasca kraemeri</i>

Les populations de *P. lunatus* se caractérisent aussi par leur tolérance à la sécheresse ou aux températures élevées tandis que celles de *P. coccineus* et de *P. polyanthus* manifestent une excellente tolérance au froid et un mode de croissance pérenne grâce à la présence de systèmes racinaires tubéreux ou fibreux.

Mais les travaux d'évaluation peuvent impliquer directement le **génotype** et des caractéristiques moléculaires qui ne sont pas influencées par les pressions de sélection exercées par le milieu naturel, les systèmes phytotechniques ou les besoins des agriculteurs ou des consommateurs. L'utilisation des marqueurs moléculaires constitue un des outils les plus performants pour mieux comprendre l'organisation génétique d'une espèce.

Chez *P. lunatus*, l'étude électrophorétique des protéines de réserve des graines et de plusieurs systèmes enzymatiques a permis de mettre en évidence [1, 16, 17] :

- deux grandes familles génétiques : la famille mésoaméricaine, s'étendant du Mexique à l'Argentine, et la famille andine, à distribution plus limitée, s'étendant du sud-ouest colombien jusqu'au nord-ouest argentin, en passant par la zone côtière du Pérou et du Chili ;

- la correspondance entre formes sauvages et cultivées pour chacune de ces deux

familles ; la famille méso-américaine abritant les formes à petites graines (à l'origine des cultigrupes Sieva et Potato), la famille andine abritant celles à grandes graines (à l'origine du cultigruppe Big Lima) ;

– une forte réduction dans la diversité des patrons électrophorétiques en passant des formes sauvages aux formes domestiquées, conséquence directe de l'effet de fondation (*founder effect*) bien décrit par Ladizinsky [13] ;

– la présence d'introgession du pool méso-américain au sein du pool andin et chez ce dernier une liaison génique très forte entre certains patrons électrophorétiques, la forme et la couleur des graines.

Chez *P. polyanthus*, des travaux similaires portant sur l'électrophorèse des protéines de réserve des graines ont mis en évidence [27] :

– un centre primaire de diversité situé au Guatemala, avec coexistence de formes sauvages, spontanées et cultivées ;

– une réduction de la diversité génétique, en passant des formes sauvages aux formes cultivées, traduisant aussi l'effet de fondation ;

– une aire de domestication s'étendant vers le nord, dans les régions montagneuses humides du Mexique, et vers le sud, dans les montagnes du Costa Rica et de la zone nord-andine.

De telles informations sont très utiles pour mieux orienter les futurs programmes de collectes et les stratégies d'amélioration à mettre en œuvre chez les légumineuses du genre *Phaseolus*. Les degrés de similitudes ou de divergences génétiques entre les pools vont notamment aider le sélectionneur à choisir à la fois les génotypes parentaux les plus éloignés mais également les plus compatibles (appartenant à un même pool génétique ou à deux pools différents) pour les travaux d'hybridations. De tels brassages génétiques pourront engendrer des ségrégations très larges chez les populations hybrides servant de base aux travaux de sélection.

La sélection intra- et interspécifique

L'amélioration des plantes se définit comme la recherche des meilleures voies permettant de réaliser, à partir d'une constitution imparfaite, une structure génétique adaptée aux critères et aux besoins des populations humaines [7]. Chez les légumineuses vivrières du genre *Phaseolus*, cet objectif final peut être obtenu en exploitant soit toute la variabilité génétique primaire de l'espèce, soit la variabilité génétique disponible chez d'autres espèces apparentées.

Les critères de sélection

Les populations de *P. lunatus*, *P. coccineus* et *P. polyanthus* se présentent comme des mosaïques de morphotypes divers, stables ou toujours en voie de disjonction, se distinguant principalement par la forme, la dimension et la couleur des graines ainsi que par l'habitus de croissance. Pour la Colombie et le Pérou, les critères de sélection peuvent être répartis en trois catégories :

• **Critères d'adaptation aux contraintes biotiques et abiotiques**

Ces critères sont prioritaires et divergent suivant les zones agroécologiques. Pour les hautes altitudes, la priorité est donnée à la tolérance au froid et aux résistances à l'ascochyose (due à *Phoma exigua* var *diversispora*), à l'anthracnose (due à *Colletotrichum lindemuthianum*) et à la maladie des taches angulaires (due à *Phaeisariopsis griseola*). Pour les basses altitudes, c'est-à-dire pour la culture du haricot de Lima, l'accent est mis sur la tolérance au stress hydrique et les résistances aux nématodes à galles des racines (*Meloidogyne* sp.), aux jassides (*Empoasca kraemeri*), aux larves de lépidoptère foreuses de gousses (*Maruca testulalis*, *Cydia ptychora*...), à la cercosporiose (due à *Cercospora* sp.) ainsi qu'à plusieurs maladies virales non encore identifiées.

• **Critères de qualité et d'acceptabilité des graines**

Ils concernent principalement la couleur, la forme et la dimension de la graine, souhaitées par l'utilisateur. Sur la côte péruvienne, une attention particulière est accordée à deux autres critères : la diminution de l'incidence de la germination prématurée des graines dans la gousse immature (défaut majeur des variétés du cultigroupe Big Lima) ainsi que la réduction dans la production d'acide cyanhydrique, résultant de l'hydrolyse enzymatique des glucosides cyanogénétiques des graines.

• **Critères de productivité**

Ceux-ci englobent toutes les composantes morphophysiologiques du rendement en graines : nombre et dimension des gousses et des graines, dimension et durée de vie des feuilles, indice de surface foliaire, réaction au photothermopériodisme, précocité et tardiveté, capacité de fixation symbiotique...

Chez les trois légumineuses envisagées, la connaissance de l'hérédité des caractères agronomiques recherchés est très fragmentaire, ce qui constitue un frein majeur en amélioration variétale. Dans la recherche de génotypes plus performants, le sélectionneur doit aussi prendre en considération deux aspects importants : l'idéotype et le système cultural.

– **L'idéotype** : Même si la priorité est donnée aux résistances aux maladies et aux ravageurs – approche logique dans le contexte de systèmes d'exploitations agricoles à intrants limités –, la construction d'un idéotype adapté à chaque situation agroécologique ne doit pas être négligée. Cela se justifie d'autant plus que les caractères de productivité sont souvent contrôlés par des systèmes géniques indépendants [21, 25, 30]. Des essais multirégionaux de rendement, comprenant des génotypes de haricot distincts par leur origine, leur habitus de croissance, et leur réaction au photothermopériodisme ont mis en évidence trois composantes essentielles de la production en graines :

- l'accumulation rapide d'une biomasse aérienne suffisante,
- un indice à la récolte élevé (c'est-à-dire un bon rapport poids des graines matures/poids total de la plante),
- et le nombre de jours du semis à la maturité ajusté à la durée de la campagne culturale.

Une sélection simultanée pour ces trois composantes dans chaque zone culturale est indispensable. Le défi majeur de l'amélioration variétale sera de réduire la corrélation négative entre, d'une part, l'indice à la récolte, et, d'autre part, la production de biomasse et la durée du cycle biologique de la légumineuse (du semis à la récolte). Le facteur clef dans cette entreprise réside, en particulier, dans une meilleure maîtrise du

caractère oligogénique de sensibilité de la plante à la photopériode. Ce caractère agit en effet comme modulateur dans la répartition des photosynthétats entre organes végétatifs et génératifs [34, 35]. Chez les variétés indifférentes à la photopériode ou chez les variétés sensibles, en présence d'une photopériode inductive, l'initiation florale entraîne une distribution des photosynthétats au profit des inflorescences et de leurs gousses.

– **Le système cultural** : Tous les critères de sélection doivent être définis en fonction du système cultural. Selon Francis [8], dans la zone andine, 70 % à 80 % des haricots sont cultivés en association, principalement avec le maïs. Dans ce contexte, l'objectif final d'un programme d'amélioration ne concerne pas le seul rendement absolu de la plante mais aussi, et préférentiellement, le rendement global de l'association. Le calcul du « taux de surface équivalente » (TSE) constitue à cet égard une bonne mesure de l'efficacité biologique du système de productions [11] :

$$\text{TSE} = \frac{X_1}{X_{1m}} + \frac{X_2}{X_{2m}} + \dots + \frac{X_n}{X_{nm}}$$

X_1 = rendement de la composante 1 en culture associée

X_{1m} = rendement de la composante 1 en culture pure et à densité optimale.

Un taux de surface équivalente supérieur à l'unité signifie la supériorité biologique de la culture associée par rapport à la combinaison de cultures pures de chacune des composantes de l'association. La performance de la culture associée dépendra principalement des possibilités réelles de minimiser les niveaux de compétition interspécifique (entre maïs et haricot) et de valoriser au maximum les complémentarités entre les composantes associées. Pour la légumineuse, qui représente la composante dominée dans l'association avec le maïs, une priorité sera donnée aux critères de sélection suivants : une bonne vigueur de croissance au stade plantule, une réponse positive aux densités élevées de population, la tolérance à l'ombrage, l'efficacité dans l'utilisation de l'eau et des éléments nutritifs, la capacité élevée de fixation symbiotique...

L'identification de ces critères de sélection impliquera un dispositif expérimental approprié en cours de sélection et des stratégies d'amélioration différentes de celles mises en place pour la culture pure.

La sélection intraspécifique

Chez les trois légumineuses étudiées : *P. lunatus*, *P. coccineus* et *P. polyanthus*, le système de reproduction agit comme un opérateur mécanique non négligeable dans la transformation des populations en ségrégation. Ces trois espèces se caractérisent en effet par des taux d'allogamie relativement élevés, surtout parmi les génotypes du complexe *P. coccineus*. Les croisements accidentels créent une hétérozygotie rémanente. Chez le haricot de Lima, Harding et Allard [9] ont montré qu'il existait une liaison inverse entre la fréquence des hétérozygotes et leurs valeurs sélectives : ce facteur contribue ainsi à maintenir une variabilité résiduelle significative, même dans des populations soumises à des autofécondations. Ces sources de diversité pourront être exploitées habilement par le sélectionneur mais elles rendront aussi, d'une certaine façon, plus difficile le travail de purification et de stabilisation.

La Figure 1 donne l'organigramme des travaux d'amélioration que nous avons conduits chez *P. lunatus* en zone tropicale. Les essais empruntent deux schémas directeurs : l'amé-

Gestion des collections

- **Apport de matériel nouveau**
var. *silvester*, var. *lunatus* (cv-gr Sieva, Potato, Big Lima)
- **Évaluation**
morphologique, agronomie, moléculaire
(protéines, isozymes et ADN)
- **Sélection**
au sein des deux familles : méso-américaine et andine

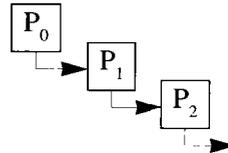
Phase d'amélioration

Amélioration variétale

- **Choix précoce des génotypes**
sélection massale
reprise en lignées pures
sélection généalogique
sélection par rétrocroisement
- **Choix différé des génotypes**
populations hybrides « bulk »
filiation unipare

Amélioration des populations

- **Sélection cumulative**
cycles successifs, constitués
chacun de l'alternance des
phases de sélection et
d'intercroisements



Phase de rendement et d'adaptation

- **En station**
confirmation des rendements dans des essais avec répétition
tests en culture pure et associée (haricot-maïs)
- **Au niveau de l'exploitation agricole**
tests des variétés élites en culture pure et associée

Figure 1. Organigramme de sélection intraspécifique.

lioration variétale avec un choix précoce ou différé des géniteurs intéressants et l'amélioration des populations dont le but n'est pas de créer, contrairement à l'amélioration variétale, des variétés élites mais de construire des populations améliorées. Ces dernières, une fois constituées, pourront être intégrées dans un cycle de sélection variétale.

• Amélioration variétale

Chez *P. lunatus*, des schémas classiques d'amélioration ont été adaptés, comme par exemple :

- la sélection massale et la reprise en lignées, à partir d'un matériel suffisamment hétérogène constitué de variétés de pays (*landraces*) ou de mélanges variétaux,
- la sélection généalogique et la sélection par rétrocroisements, à partir d'hybrides intervariétaux.

Nous avons utilisé ces systèmes classiques pour des objectifs souvent très précis, comme l'association entre la tolérance à la sécheresse, la précocité et la qualité de la graine chez les variétés Big Lima (type à grandes graines) cultivées sur la côte désertique péruvienne ou comme l'amélioration de la résistance à la mosaïque dorée du haricot de Lima chez les variétés Sieva (type à graines moyennes et plates) et Potato (type à graines petites et rondes) cultivées dans les savanes et les forêts humides de l'Afrique occidentale et centrale.

Néanmoins, toutes ces méthodes de sélection traditionnelles ont une portée limitée. Elles entraînent une perte progressive des caractères à faible héritabilité et le retour trop rapide vers l'homozygotie, rendant inefficace de nombreux *crossing-over*. Cette évolution peut cependant être freinée chez le haricot de Lima grâce à son taux d'allogamie relativement élevé. Ces méthodes ne sont pas les plus efficaces lorsqu'il s'agit d'introduire dans le matériel testé de nombreux caractères à la fois, souvent de nature polygénique. Elles se heurtent également à une contrainte communément observée chez de nombreuses légumineuses vivrières : la faiblesse du taux de multiplication des individus sélectionnés, limitant sérieusement les effectifs des descendance. Mais le principal défaut de ces techniques, notamment de la sélection généalogique, est de réaliser un choix déterminant à un stade précoce, la F_2 , où l'information sur les potentialités de chaque individu est très incomplète.

Pour corriger ce défaut majeur et retarder ainsi le choix des géniteurs intéressants, deux méthodes peuvent être adoptées : elles visent à séparer la phase de consanguinité (*inbreeding*) de la phase de sélection, cette dernière opérant parmi un matériel très divers mais constitué de multiples lignées homozygotes.

– **La méthode des populations hybrides (*bulk hybrid populations*)** : Le principe est simple et consiste à récolter en vrac l'ensemble des génotypes hybrides pendant plusieurs générations. Chaque plante progresse ainsi vers l'homozygotie et à une génération donnée du processus, la sélection se fera descendance par descendance, c'est-à-dire en sélection généalogique. Cette méthode est très efficace si les conditions de sélection naturelle sont bien équilibrées et peu intenses durant les premières générations. Elle présente cependant l'inconvénient de favoriser les génotypes les plus prolifiques, notamment ceux donnant des graines petites et nombreuses. Or, dans de nombreuses régions tropicales (en particulier les Andes), les agriculteurs donnent plutôt la préférence aux cultivars à grandes graines. Il sera donc nécessaire d'intervenir, durant la sélection naturelle, pour retenir les formes, les couleurs et les tailles des graines souhaitées par les utilisateurs.

– **La méthode de la filiation unipare (*single seed descent*)** : Cette méthode, encore appelée méthode des descendance monograine, a évolué en méthode des descendance

ce monofruit (*single pod descent*) chez les légumineuses vivrières. Ici une seule graine (ou gousse) est prélevée sur chaque plante pendant plusieurs générations et l'ensemble est semé en l'absence de toute pression de sélection, souvent en milieu artificiel (en serre). Comme pour la méthode précédente, on termine par une sélection généalogique. Ce processus de travail facilite l'avancement rapide des générations : une seule graine ou gousse doit être récoltée par individu, ce qui permet des semis à haute densité, en serre ou dans l'hémisphère le plus favorable pour l'initiation de la floraison. L'avantage principal de la méthode réside dans le report de la sélection vers les stades les plus homozygotes et dans la possibilité de tester des effectifs plus réduits en F_2 mais provenant d'un plus grand nombre de croisements. On relève néanmoins une faiblesse majeure dans cette méthode : le fait de ne récolter qu'une ou quelques graines par individu constitue un échantillonnage biaisé. Celui-ci risque d'entraîner la perte des qualités recherchées. De plus, pour des plantes à allogamie partielle, la gousse récoltée peut très bien ne pas refléter le génotype du pied-mère.

• *Amélioration des populations*

Toutes les méthodes envisagées précédemment aboutissent, avec des degrés de vitesse divers, à réduire la diversité génétique présente dans les populations de départ. L'amélioration des populations, encore appelée méthode de sélection cumulative ou récurrente, poursuit un objectif très différent : celui de maintenir ou d'accroître, au cours de plusieurs générations, l'hétérozygotie ou la variabilité des populations initiales. Cette technique est caractérisée par des brassages cycliques comprenant, pour chaque cycle, deux phases successives : une phase de sélection destinée à cumuler les allèles favorables et une phase d'intercroisements entre les meilleurs génotypes.

La sélection cumulative est efficace pour l'introduction de nombreux caractères souhaités dans le matériel cultivé, surtout si ces caractères sont à déterminisme polygénique et si l'effet d'additivité des gènes concernés est important. Le succès de cette méthode est évidemment conditionné par la possibilité de réaliser de nombreux croisements à chaque cycle et de pouvoir ainsi créer rapidement des populations polymorphes où les *crossing-over* seront importants. Chez les légumineuses vivrières du genre *Phaseolus*, les hybridations artificielles requièrent malheureusement du temps et de l'habileté. Pour contourner cette difficulté, on peut faire appel soit à des stérilités mâles nucléaires, soit au taux d'allogamie naturelle élevé. Chez *P. lunatus*, aucun cas intéressant de stérilité mâle n'a encore été identifié. C'est essentiellement l'allogamie naturelle qui a été exploitée pour l'adoption de la sélection cumulative. Ainsi Rachie et Gardner [24] ont proposé un schéma de sélection original, baptisé *dual population scheme*. Ce schéma consiste à semer sur le terrain en ordre alterné deux populations, chacune possédant un trait récessif distinctif pour lequel l'autre population montre la dominance. Les hybrides naturels sont facilement repérés lors de chaque génération. Au début, le matériel est sélectionné principalement sur la base de caractères qualitatifs ; par la suite, la sélection porte sur les caractères quantitatifs.

Cette technique de travail a été utilisée au Nigéria pour transférer, chez les génotypes productifs et précoces des cultigroupes Sieva et Potato, la résistance au virus de la mosaïque dorée du haricot de Lima observée chez plusieurs populations du cultigroupe Big Lima.

La Figure 2 illustre la méthodologie adoptée. Les deux sous-populations comprennent des individus sensibles et résistants à la mosaïque dorée mais se distinguent, l'une de l'autre, par deux caractères monogéniques : port nain (récessif) *versus* port volubile et hypocotyle vert (récessif) *versus* hypocotyle pourpre. Les génotypes manifestant l'al-

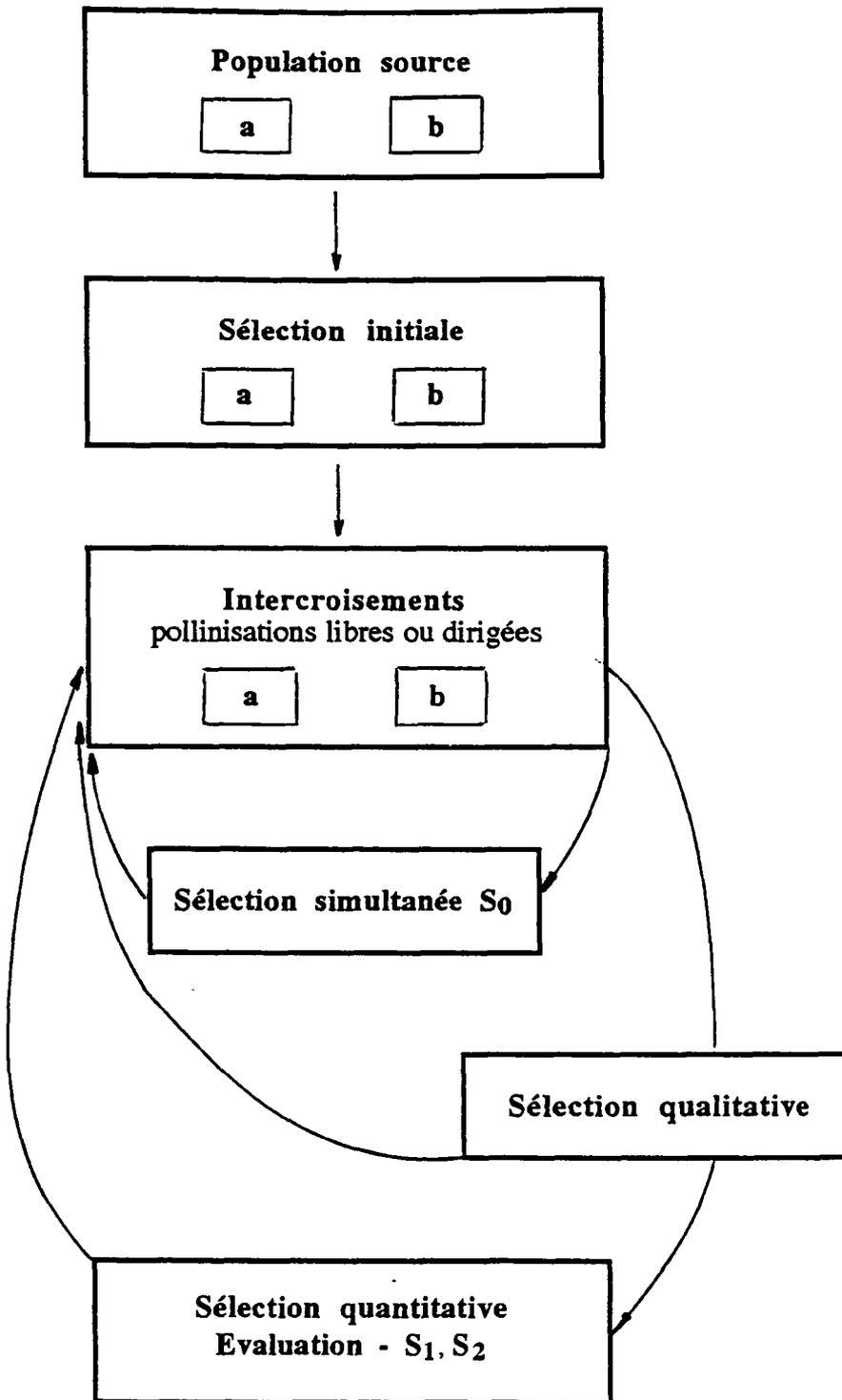


Figure 2. Amélioration par populations : sélection cumulative chez le haricot de Lima.

lèle récessif sont utilisés comme parents maternels dans la phase de recombinaisons issue de pollinisations libres ou dirigées. Les hybridations naturelles entre plantes a et b sont favorisées par leur proximité sur le terrain (alternance de poquets).

Il est évident que des techniques avancées pourraient se greffer utilement sur l'organigramme proposé. Nous pensons notamment à l'haplodiploïdisation par culture *in vitro* d'anthers ou d'ovules d'hybrides F_1 , suivie du doublement du nombre chromosomique des explants ainsi produits. Cette technique a l'avantage de créer une nouvelle variabilité, de faciliter les opérations d'évaluation, mais surtout de raccourcir la phase de consanguinisation à une seule génération. Malheureusement, chez *Phaseolus*, il n'a pas encore été possible d'obtenir des haploïdes *in vitro* : les recherches en cours dans le laboratoire de Gembloux ont permis de mettre au point un milieu performant de callogénèse au départ de culture d'anthers, mais aucune régénération d'explants n'a été obtenue à ce jour [20].

Quelle que soit la stratégie d'amélioration adoptée, il ne faut pas perdre de vue le contexte dans lequel le sélectionneur travaille : le milieu tropical est caractérisé par la très grande variabilité de plusieurs facteurs écologiques, économiques et sociaux. En conséquence, les variétés améliorées doivent présenter au stade final de la sélection une bonne homogénéité agronomique mais également garder une bonne réserve de polymorphisme génétique, celui-ci leur conférant une souplesse adaptative. Ce matériel devra aussi s'adapter à des systèmes culturaux, certes plus intensifs, mais qui ont gardé le caractère de multiplicité des modes d'exploitation traditionnelle : culture en mélange, culture intercalaire, culture en relais, etc. A cette fin, l'amélioration des légumineuses alimentaires sous les tropiques nécessitera donc l'évaluation du matériel parental et des populations hybrides, dès les premiers stades de la sélection, suivant un dispositif phytotechnique simulant la diversité de ces modes d'exploitation rurale. Les meilleures lignées issues de la sélection seront testées dans des essais réalisés, au début, dans les stations de recherche, ensuite, au niveau des exploitations agricoles.

La sélection interspécifique

L'hybridation interspécifique constitue également une voie très prometteuse pour l'obtention de cultivars améliorés chez *Phaseolus* et notamment chez les deux légumineuses *P. vulgaris* et *P. lunatus*. Cette voie fait appel à toutes les espèces phylétiquement voisines qui se rangent, suivant le concept de Harlan et de Wet [10], dans le pool génétique secondaire ou tertiaire de l'espèce récurrente.

Les objectifs d'un programme d'hybridation interspécifique concernent essentiellement l'introduction de caractères utiles absents ou faiblement exprimés dans le pool génique primaire de l'espèce cultivée. Mais le matériel interspécifique peut aussi contribuer à élargir considérablement la variabilité génétique générale de l'espèce grâce à l'apparition de nouveaux caractères ou de nouvelles combinaisons de caractères, offrant ainsi des perspectives originales en amélioration végétale. Plus que les caractères ponctuels, l'hybridation interspécifique apporte au niveau du végétal une plus grande homéostasie, une vigueur végétative et générative très marquée et une très large variabilité de ségrégations, offrant aux sélectionneurs des possibilités de choix unique dans des phénotypes inattendus [7].

Malgré le potentiel génétique énorme de ce matériel, force est de constater que la sélection interspécifique au sein du genre *Phaseolus* occupe toujours une place très marginale dans les programmes d'amélioration des centres de recherche. Cela s'explique par les nombreuses contraintes auxquelles doit faire face le sélectionneur. Il n'est pas inutile

de rappeler ici les conditions essentielles pour l'obtention de résultats significatifs en hybridation interspécifique : la connaissance approfondie des relations phylétiques entre espèces du genre, l'évaluation agronomique complète du réservoir génétique secondaire ou tertiaire et la mise en œuvre d'une stratégie d'amélioration très stricte, depuis la création des hybrides jusqu'au développement de lignées stables et fertiles.

• **Les relations phylétiques au sein du genre *Phaseolus***

L'élaboration d'un programme d'hybridations interspécifiques repose sur une bonne connaissance de la phylogénie du genre et de la position taxonomique respective des espèces à l'intérieur de celui-ci. *Phaseolus* se compose d'une cinquantaine d'espèces sauvages et cultivées d'origine géographique différente [5]. L'observation de plusieurs caractères (morphologiques, cytologiques, biochimiques...) a permis de mieux saisir l'organisation de la diversité génétique du genre [6, 12, 19]. Plusieurs sections ont été définies, dont la section *Phaseolus* s. str., abritant les cinq cultigènes : *P. vulgaris*, *P. coccineus*, *P. polyanthus*, *P. acutifolius* et *P. lunatus* ainsi que diverses espèces sauvages. Au sein de cette section, deux domaines d'investigations – la palynologie et le polymorphisme de restriction de l'ADN chloroplastique – ont permis de préciser les affinités existant entre les taxons.

– Les données palynologiques observées par Stainier [31] ont mis en évidence quatre groupes polliniques différents constituant les étapes d'une orthogénèse :

- groupe I : pollen tricolporé muni de pseudocolpus ;
- groupe II : pollen tricolporé avec ébauches de pseudocolpus ;
- groupe III : pollen tricolporé démuné de pseudocolpus ;
- groupe IV : pollen tripore démuné de pseudocolpus.

– Le sens de cette évolution irait du groupe I vers le groupe IV. Cette organisation séquentielle de la section est confirmée par les résultats des essais d'hybridation entre taxons différents (voir Tableau II) : il existe ainsi un parallélisme entre, d'une part, le degré de compatibilité interspécifique (nombre d'univalents à la méiose) et, d'autre part, les différences observées entre les caractères polliniques des espèces parentales. A partir des études palynologiques, il est possible de considérer deux pôles extrêmes à l'intérieur de la section *Phaseolus* : le pôle *P. vulgaris* – *P. coccineus* – *P. polyanthus* (pollen IV) et le pôle *P. lunatus* (pollen I). Les autres taxons (pollen II et III) se répartissent entre ces deux groupes à des distances variables.

– L'analyse électrophorétique des polymorphismes de restriction de l'ADNcp contribue aussi à mieux préciser les relations phylétiques entre taxons. Les travaux de Schmit *et al.* [29] confirment l'éloignement de *P. lunatus* vis-à-vis de *P. vulgaris* mais surtout clarifient les distances génétiques entre les taxons gravitant autour de *P. vulgaris* et du complexe *P. coccineus*. Parmi ces taxons, il se dessine deux groupes : d'une part, le groupe *P. vulgaris* – *P. polyanthus*, d'autre part, le groupe *P. coccineus*. *P. polyanthus* apparaît ainsi comme un taxon distinct de *P. coccineus* et génétiquement plus proche de *P. vulgaris*, ce qui va nous servir de guide dans l'élaboration des programmes d'hybridations interspécifiques.

• **Les hybrides interspécifiques réussis**

Le Tableau II donne la liste des hybrides interspécifiques réussis au sein de la section *Phaseolus*. Le nombre d'univalents à la métaphase de la première division méiotique des hybrides F₁ est mis en relation avec les groupes polliniques des espèces parentales.

Les données proviennent des travaux de Braak et Kooistra [3], de Le Marchand *et al.* [14], de Maréchal et Baudoin [18], de Prendota *et al.* [23], de Belivanis et Doré [2], de Weilenmann de Tau *et al.* [36] et de Baudoin [1]. L'aptitude à la combinaison confirme en général l'organisation génétique définie par les études sur les caractères morphologiques, palynologiques et moléculaires.

Chez *Phaseolus*, des barrières d'incompatibilité se manifestent lors d'hybridations :

- soit entre espèces phylétiquement éloignées : le cas de *P. vulgaris* x *P. filiformis*, *P. vulgaris* x *P. acutifolius*, *P. vulgaris* x *P. ritensis* ;
- soit entre espèces phylétiquement proches, mais où le sens du croisement est imposé : le cas des hybrides *P. coccineus* (ou *P. polyanthus*) utilisés comme parent femelle avec *P. vulgaris*.

Tableau II. Combinaisons interspécifiques réalisées dans le genre *Phaseolus* : groupe polique des espèces parentales et nombre d'univalents à la première division de la métaphase méiotique des hybrides F₁.

Combinaisons interspécifiques	Groupe pollinique		Nombre d'univalents à la première division de la métaphase
	1 ^{er} parent	2 ^e parent	
<i>P. lunatus</i> x <i>P. maculatus</i>	I	I	2
<i>P. lunatus</i> x <i>P. ritensis</i>	I	I	2
<i>P. lunatus</i> x <i>P. jaliscanus</i>	I	I	2
<i>P. lunatus</i> x <i>P. sp. NI 702</i>	I	I	2
<i>P. lunatus</i> x <i>P. salicifolius</i>	I	II	4
<i>P. lunatus</i> x <i>P. polystachyus</i> *	I	II	7
<i>P. filiformis</i> x <i>P. angustissimus</i>	III	II	4
<i>P. vulgaris</i> x <i>P. ritensis</i> *	IV	I	15
<i>P. vulgaris</i> x <i>P. angustissimus</i> *	IV	II	7
<i>P. vulgaris</i> x <i>P. acutifolius</i> *	IV	III	6
<i>P. vulgaris</i> x <i>P. filiformis</i> *	IV	III	–
<i>P. vulgaris</i> x <i>P. purpurascens</i>	IV	III	1
<i>P. vulgaris</i> x <i>P. coccineus</i>	IV	IV	0
<i>P. vulgaris</i> x <i>P. polyanthus</i>	IV	IV	0
<i>P. coccineus</i> x <i>P. polyanthus</i>	IV	IV	0

* Hybrides à forte stérilité, dont l'obtention nécessite souvent l'embryoculture.

Les barrières d'incompatibilité surviennent après la fécondation et se traduisent par l'avortement des embryons. Cet avortement se produit pour des raisons essentiellement nutritionnelles : le mauvais fonctionnement de l'albumen, du suspenseur et des tissus maternels entrave en effet l'alimentation normale de l'embryon et le maintien d'un équilibre minéral et hormonal nécessaire au métabolisme de l'embryogenèse. La culture *in vitro* des embryons extraits de l'ovule peut théoriquement conduire au développement des hybrides mais le taux de réussite est ici fonction du stade de différenciation atteint par l'embryon au moment de l'avortement. Si celui-ci survient au stade cotylédonnaire, le sauvetage des embryons ne pose pas de difficultés majeures. Si, au contraire, l'avortement se produit à un stade plus précoce (globulaire ou cordiforme jeune), l'embryoculture est plus délicate et nécessite la mise au point de techniques et de milieux de culture précis : extraction douce des embryons des ovules par micromanipulation, transfert des embryons dans une solution à haute osmolarité, stimulation de la germination et de l'enracinement des embryons sur des milieux nutritifs différant par

les teneurs en éléments minéraux, en vitamines, en hormones de croissance et en agaroïde, adaptation progressive des explants à la lumière et à la transplantation sur substrat terreux. L'amélioration des méthodes *in vitro* sur embryons immatures nous a permis de réussir des combinaisons difficiles comme *P. polyanthus* (!) x *P. vulgaris*, *P. vulgaris* x *P. acutifolius*, *P. vulgaris* x *P. filiformis*. Le perfectionnement des techniques d'embryoculture est néanmoins nécessaire afin de créer de nouvelles combinaisons impliquant, chez l'espèce donneuse, les génotypes sélectionnés pour leurs caractères utiles (comme la résistance aux maladies). Des essais sont en cours dans le laboratoire de Gembloux pour développer de nouveaux hybrides entre *P. polyanthus* (ou secondairement *P. coccineus*), tous deux utilisés comme parents maternels, et *P. vulgaris*. La présence du cytoplasme des deux espèces donneuses facilite l'introggression de leurs gènes utiles dans le patrimoine génétique du haricot commun. La réussite des essais d'embryoculture pour ces combinaisons interspécifiques est tributaire d'une meilleure compréhension des mécanismes physiologiques mis en jeu aux différentes étapes de l'embryogenèse zygotique.

• **Les méthodes de sélection interspécifique**

Afin d'accroître la productivité du haricot commun dans la zone andine de hautes altitudes, les travaux d'amélioration interspécifique ont été focalisés sur les croisements entre cette espèce et les populations de *P. coccineus* ou *P. polyanthus*, choisies pour la tolérance au froid, le très haut niveau de résistance à l'ascochytose et la rusticité face à de nombreuses contraintes biotiques. Les hybrides sont relativement faciles à réaliser lorsque le haricot commun est utilisé comme parent maternel. La fertilité en F₁ et dans les générations ultérieures est très satisfaisante, voire excellente. La difficulté principale réside dans la construction, au départ des populations en disjonction, de variétés agronomiquement acceptables : c'est-à-dire des variétés cumulant les qualités du parent récurrent et les caractéristiques recherchées chez le parent donneur. La cohabitation de deux génomes, présentant pourtant de nombreuses homologies structurelles, entraîne des désordres de nature physiologique ou des phénomènes de rejet du stock génétique du parent donneur, surtout chez les individus les plus fertiles. Plusieurs facteurs expliquent ce comportement général des populations interspécifiques : l'interaction entre le cytoplasme et le génome nucléaire ou entre le zygote hybride et le tissu maternel, l'élimination des gamètes hybrides, la stérilité pollinique, la différenciation cryptique des chromosomes, les liaisons géniques très fortes entre caractères favorables et rédhibitoires, et surtout le transfert des linkats. Ces derniers, selon Demarly [7], représentent des segments chromosomiques caractérisés à la fois par des séquences alléliques coadaptées et par une forte réduction des taux de recombinaison. Ils représentent pour chaque espèce l'aboutissement du processus d'évolution. Ce sont précisément ces linkats qui expliquent la difficulté de transférer, chez une espèce récurrente, un caractère même monogénique d'une espèce donneuse, sans introduire dans le même temps d'autres traits non souhaités de la deuxième espèce.

Pour surmonter ces difficultés, il est essentiel d'adopter des méthodes de sélection très rigoureuses, lesquelles varient en fonction du nombre de caractères à introgresser, du déterminisme génétique de ces caractères et du degré de fertilité des hybrides. Dans nos travaux nous avons retenu deux méthodes :

– la sélection cumulative, comprenant plusieurs cycles de recombinaison ; elle est conçue pour maintenir durant plusieurs générations un niveau très élevé d'hétérozygotie, ce qui accroît les possibilités de crossing-over entre les gènes liés ;

– la sélection par rétrocroisement, mais en utilisant de manière alternée les deux

espèces parentales (*congruity backcross*) ; cette méthode vise les mêmes objectifs que la première mais elle favorise dans le même temps une augmentation de la fertilité et un brassage constant du matériel génétique des deux espèces parentales.

Ces deux méthodes ont été appliquées aux hybrides directs *P. vulgaris* x *P. coccineus*, *P. vulgaris* x *P. polyanthus* mais également aux hybrides indirects, utilisant comme « pont » entre les formes cultivées des deux taxons le cytoplasme de populations sauvages de *P. coccineus*. Ce cytoplasme s'est révélé un facteur efficace de compatibilité entre les deux génomes des parents récurrent et donneur et comme un facteur de maintien des introgressions.

La mise en œuvre de ces programmes d'amélioration interspécifique dans les stations de Rionegro (ICA, Colombie) et de Chiquian (UNALM, Pérou) a permis d'obtenir du matériel hybride élite parmi les combinaisons suivantes :

– *P. vulgaris* (!) x *P. polyanthus*

GUA 467 x GUA 1259, GUA 1008 x PILOY, ECU 299 x PILOY, PASTO x GUA 1259, MORTINO x X7

– *P. vulgaris* (!) x *P. coccineus*

NI 141 x G 35174,....

– [*P. coccineus silvester* (!) x *P. vulgaris*] (!) x *P. coccineus*

(NI 889 x BAT 1274) x DGD 78300, (NI 889 x BAT 1274) x DGD 78015, (NI 889 x D 145) x NI 15

Ce matériel est testé au niveau d'exploitations agricoles pratiquant l'association culturale. Les meilleures combinaisons ont aussi été semées en parcelles isolées afin d'atteindre un degré de stabilité et d'uniformité satisfaisant.

Conclusions générales et perspectives

Les progrès dans l'amélioration des légumineuses sous les tropiques sont en grande partie conditionnés par l'étendue des prospections et des évaluations des ressources génétiques disponibles. Ces ressources, chez les légumineuses du genre *Phaseolus*, dépassent souvent le cadre biologique de l'espèce et englobent plusieurs taxons phylétiquement proches. L'exploration des centres de diversité primaire et secondaire et la caractérisation complète du réservoir génétique de la légumineuse étudiée s'imposent comme une nécessité première. Les missions de collecte et les évaluations morphologiques, agronomiques et moléculaires que nous menons sur les trois espèces *P. lunatus*, *P. coccineus* et *P. polyanthus* répondent à ce souhait.

La seconde priorité consiste à combiner les gènes les plus utiles, en particulier ceux contrôlant directement la résistance aux maladies et aux ravageurs, en établissant de vastes programmes d'hybridations entre toutes les formes, sauvages et cultivées, collectées dans les centres de diversité. Ce travail se réalise en collaboration étroite avec l'ICA en Colombie et l'UNALM au Pérou, et le matériel généré par ces croisements est constamment testé dans les systèmes culturaux et les rotations traditionnellement pratiqués dans ces régions.

Il est donc primordial que les techniques classiques de sélection et d'essais phytotechniques au niveau des exploitations agricoles se poursuivent sans relâche, l'amélioration variétale étant essentiellement un processus dynamique.

Des techniques avancées pourront cependant s'intégrer utilement dans ces schémas

de travail. Nous privilégierons à ce niveau deux axes de recherche susceptibles de jouer un rôle complémentaire et d'assistance aux travaux de sélection classique :

– l'utilisation des marqueurs moléculaires (protéines, isoenzymes et ADN) pour étudier la diversité des pools géniques, pour localiser les gènes les plus utiles, et pour faciliter les opérations de triage des génotypes les plus performants en cours de sélection ;

– l'application des techniques de culture *in vitro* pour les embryons, ce qui permettra l'obtention de nouveaux hybrides interspécifiques, mais aussi pour les anthères, ce qui permettra l'obtention de plantes haploïdes chez les légumineuses.

Remerciements

Les recherches sur l'amélioration des légumineuses vivrières ont bénéficié de l'appui financier de la Commission des Communautés Européennes (programme STD) et de l'Administration Générale de la Coopération au Développement de Belgique. Nous les en remercions. Nous tenons aussi à exprimer notre gratitude à M. Bannerot (INRA, France) et Maréchal (Faculté des Sciences Agronomiques de Gembloux, Belgique) pour les conseils qu'ils nous ont prodigués lors de nos travaux.

Références

1. Baudoin JP (1991). La culture et l'amélioration de la légumineuse alimentaire *Phaseolus lunatus* L. en zones tropicales. CTA (Centre Technique de Coopération Agricole et Rurale, Ede, Pays-Bas) et FSAGx (Faculté des Sciences Agronomiques de Gembloux, Belgique) : 209 p.
2. Belivanis T, Doré C (1986). Interspecific hybridization of *Phaseolus vulgaris* L. and *Phaseolus angustissimus* A. Gray using *in vitro* embryoculture. *Plant Cell Rep* 5 : 329-331.
3. Braak JP, Kooistra E (1975). A successful cross between *Phaseolus vulgaris* L. and *Phaseolus ritensis* Jones with the aid of embryo culture. *Euphytica* 24 : 669-679.
4. Debouck DG (1986). Primary diversification of *Phaseolus* in the Americas : three centres ? *FAO/IBPGR Plant Genet Resourc Newsl* 67 : 2-8.
5. Debouck DG (1991). Systematics and morphology. In : Van Schoonhoven A, Voysest O, eds. *Common beans. Research for Crop Improvement*. CAB International and CIAT, Oxon, UK : 55-118.
6. Delgado-Salinas A (1985). Systematics of the genus *Phaseolus* (*Leguminosae*) in Mexico and Central America. Ph. D. Diss. Texas Univ., Austin, Texas, USA : 363 p.
7. Demarly Y (1977). *Génétique et amélioration des plantes*. Masson, Paris : 287 p.
8. Francis CA (1986). *Multiple cropping systems*. Macmillan, New York : 383 p.
9. Harding J, Allard RW (1969). Population studies in predominantly self-pollinated species. XII. Interactions between loci affecting fitness in a population of *Phaseolus lunatus* L. *Genetics* 61 : 721-736.
10. Harlan JR, De Wet MJM (1971). Toward a rational classification of cultivated plants. *Taxon*, 20 : 509-517.
11. Harwood RR (1973). Crop interrelationships in intensive cropping systems. IRRI Seminar. Philippines.
12. Lackey JA (1983). A review of generic concepts in American *Phaseolinae* (*Fabaceae*, *Faboideae*). *Iselya* 2 : 21-64.

13. Ladizinsky G (1985). Founder effect in crop-plant evolution. *Econ Bot* 39 (2) : 191-199.
14. Le Marchand G, Maréchal R, Baudet JC (1976). Observations sur quelques hybrides dans le genre *Phaseolus*. III. *P. lunatus* : nouveaux hybrides et considérations sur les affinités interspécifiques. *Bull Rech Agron Gembloux* 11 : 183-200.
15. Lyman JP, Cardona C (1982). Resistance in Lima beans to a leaf hopper, *Empoasca kraemeri*. *J Econ Entomol* 75 : 281-286.
16. Maquet A, Guttierrez Salgado A, Debouck DG (1990). Further biochemical evidence for the existence of two pools in Lima beans. *Ann Rep Bean Improv Coop* 33 : 128-129.
17. Maquet A, Wathelet B, Baudoin JP (1993). Further studies on the genetic diversity of Lima beans (*Phaseolus lunatus* L.) using allozymes. *Ann Rep Bean Improv Coop* 36 : 55-56.
18. Maréchal R, Baudoin JP (1978). Observations sur quelques hybrides dans le genre *Phaseolus*. IV. L'hybride *Phaseolus vulgaris* x *Phaseolus filiformis*. *Bull Rech Agron Gembloux* 13 : 133-240.
19. Maréchal R, Mascherpa JM, Stainier F (1978). Étude taxonomique d'un groupe complexe d'espèces des genres *Phaseolus* et *Vigna* (*Papilionaceae*) sur la base de données morphologiques et polliniques, traitées par l'analyse informatique. *Boissiera* 28 : 1-273.
20. Muñoz LC, Baudoin JP, Bradfer C (1993). *In vitro* induction of androgenesis in *Phaseolus*. *Ann Rep Bean Improv Coop* 36 : 18-19.
21. Murthy BR, MenGesha MH (1989). World germplasm collections and their potential in crop productivity. In : *Collaboration on Genetic Resources*. Patancheru, India : ICRISAT : 41-46.
22. Obando L, Baudoin JP, Dickburst C, Lepoivre P (1990). Identification de sources de résistance à l'ascochyte du haricot au sein du genre *Phaseolus*. *Bull Rech Agron Gembloux* 25 (4) : 443-457.
23. Prendota K, Baudoin JP, Maréchal R (1982). Fertile allopolyploids from the cross *Phaseolus acutifolius* x *Phaseolus vulgaris*. *Bull Rech Agron Gembloux* 17 : 177-190.
24. Rachie KO, Gardner CO (1975). Increasing efficiency in breeding partially outcrossing grain legumes. In : *Int. Workshop on Grain Legumes*. ICRISAT, Hyderabad, India : 285-300.
25. Sandhu TS (1992). Potential of genetic resources and biotechnology in pulse breeding. *Plant Breeding Abstracts* 62 : 131-139.
26. Schmit V, Baudoin JP (1987). Multiplication et évaluation de *Phaseolus coccineus* L. et *P. polyanthus* Greenm., deux espèces intéressantes pour l'amélioration de la productivité des légumineuses vivrières. *Bull Rech Agron Gembloux* 22 (3) : 235-253.
27. Schmit V, Debouck DG (1991). Observations on the origin of *Phaseolus polyanthus* Greenman. *Econ Bot* 45 : 345-364.
28. Schmit V, Baudoin JP (1992). Screening for resistance to *Ascochyta* blight in populations of *P. coccineus* and *P. polyanthus* Greenman. *Field Crops Res* 30 : 155-165.
29. Schmit V, Du Jardin P, Baudoin JP, Debouck DG (1993). Use of chloroplast DNA polymorphisms for the phylogenetic study of seven *Phaseolus* taxa including *P. vulgaris* and *P. coccineus*. *Theor Appl Genet*. 87 : 506-516
30. Singh KB (1991). Wild species as a source of resistance in cool season food legumes. In : *Golden Jubilee Symposium on Genetic Research and Education : Current Trends and the Next Fifty Years*. New Delhi, India ; Indian Society of Genetics and Plant Breeding, 297.
31. Stainier F (1974). Contribution à l'étude palynologique des *Papilionaceae* – *Phaseoleae* – *Phaseolinae* III. Étude de quelques espèces des genres *Phaseolus* L., *Vigna* Savi et *Physostigma* Balf. *Jard Bot Natl Belg* 44 : 1-15.
32. Vanderborcht T (1983). Increasing seed of *Phaseolus coccineus* L. *FAO/IBPGR Plant Genet Resour Newsl* 53 : 17-18.
33. Wallace DH, Baudoin JP, Beaver J, Coyne DP, Halseth DE, Masaya PN, Munger HM, Myers JR, Silbernagel M, Yourstone KS, Zobel RW (1993). Improving efficiency of breeding for higher crop yield. *Theor Appl Genet* 86 : 27-40.
34. Wallace DH, Yourstone KS, Masaya PN, Zobel RW (1993). Photoperiod gene control over partitioning between reproductive and vegetative growth. *Theor Appl Genet* 86 : 6-16.

35. Wallace DH, Zobel RW, Yourstone KS (1993c). A whole-system reconsideration of paradigms about photoperiod and temperature control of crop yield. *Theor Appl Genet* 86 : 17-26.
36. Weilenmann de Tau ME, Baudoin JP, Maréchal R (1986). Obtention d'allopolyploïdes fertiles chez le croisement entre *Phaseolus vulgaris* et *Phaseolus filiformis*. *Bull Rech Agron Gembloux* 21 : 35-46.

6

Sélection récurrente des plantes autogames, exemple du blé tendre

MAXIME TROTTET, LAURENT SAUR

INRA, Station d'Amélioration des plantes, BP 29, 35650 Le Rheu, France.

Depuis les débuts de l'amélioration raisonnée des plantes, à la fin du XIX^e siècle, les sélectionneurs ont régulièrement réutilisé les meilleures lignées et variétés issues d'un programme de sélection comme géniteurs (avec des lignées venant d'autres programmes ou de l'extérieur) pour les croisements du cycle suivant. Peu à peu, le temps entre la réalisation d'un croisement et l'utilisation des lignées qui en sont issues s'est raccourci et, actuellement, beaucoup de sélectionneurs utilisent des lignées jeunes (F6 ou F5) dans leurs programmes de croisements. Dès le début, la sélection a donc eu un aspect cyclique avec amélioration progressive d'un type de matériel, ce qui correspond à un des aspects de la sélection récurrente. Cependant, alors qu'en sélection « classique » l'intensité de sélection est très forte et variable d'un croisement à l'autre, en sélection récurrente, elle est souvent fixée à l'avance et peu élevée. C'est une différence importante entre la sélection récurrente et la sélection « classique ». Cela conduit à sélectionner un plus grand nombre de familles qui participeront à l'intercroisement pour débiter le cycle suivant. Le but de la sélection récurrente est de conserver une grande variabilité dans une population, afin de permettre de continuer l'amélioration génétique. Dans la sélection classique, on cherchera à pallier la perte de variabilité par l'utilisation de géniteurs provenant d'autres programmes ou obtenus par d'autres sélectionneurs. Très tôt, certains sélectionneurs ont insisté sur l'intérêt de séparer la sélection en deux phases : la création et l'amélioration de populations, et l'exploitation de la variabilité en création variétale [18]. Cette distinction est aussi une des caractéristiques de la sélection récurrente. La sélection récurrente conduit souvent à un raccourcissement du cycle de sélection (un à trois ans entre deux intercroisements), mais ce n'est pas toujours le cas puisque les premiers auteurs réalisaient leurs tests de sélection sur des F5 [5].

La sélection récurrente, d'abord appliquée aux animaux et aux plantes allogames, est encore peu utilisée pour l'amélioration des plantes autogames. Cependant, plusieurs expériences sont menées, en particulier sur les céréales à paille et le soja, soit en réalisant des croisements manuels, soit en utilisant la stérilité mâle génique.

Une des limites des méthodes de sélection récurrente avancée par de nombreux auteurs est le nombre maximum de croisements qu'il est possible de réaliser dans le programme de sélection. Compton [5] a décrit une procédure de sélection récurrente pour les plantes autogames, basée sur le principe de la filiation unipare, ne nécessitant que peu de croisements (200 à 400). Mais elle ne permet d'exploiter que la variabilité génétique additive, et suppose que celle-ci est prépondérante. Elle n'exploite que la variabilité entre croisements, mais l'auteur montre que celle-ci est la plus importante pour les caractères additifs. Empig [7] propose une amélioration de cette méthode en réalisant plusieurs diallèles en série, mais le nombre de croisements à réaliser devient rapidement très grand lorsque le nombre de génotypes augmente, ce qui limite le nombre de géniteurs utilisés au début de chaque phase d'intercroisement.

L'existence ou l'induction de systèmes de stérilité mâle génique chez le blé [6, 8, 19], a permis d'augmenter fortement le nombre de croisements réalisés par unité de temps. Suneson [23] a montré que, pour le blé, l'utilisation de la stérilité mâle génique permettait d'obtenir quatre fois plus de semence hybride par unité de temps dans le cas de la réalisation de croisements dirigés. Ce rapport est beaucoup plus favorable dans le cas de la réalisation d'intercroisements au hasard car il suffit alors de repérer les plantes mâles stériles lors de la floraison, mais il faut également semer la population en isolement. Des systèmes de stérilité mâle génique existent également chez de nombreuses autres espèces autogames (orge, soja...).

Quelques applications décrites dans la littérature

L'efficacité d'un schéma de sélection récurrente dépend beaucoup de la précision du test utilisé pour évaluer le matériel avant intercroisement. Au début, les sélectionneurs ont beaucoup hésité à réaliser ces tests sur des S_1 et ont préféré utiliser des lignées généralement obtenues par filiation unipare [5], avant d'adopter les tests sur S_1 . Cependant, les études théoriques montrent que le progrès par cycle de sélection dépend de la corrélation entre les unités testées et les unités participant à l'intercroisement ; le progrès est le plus grand si l'on réalise les tests sur des lignées fixées, d'où l'intérêt des haploïdes doublés [4, 10, 12]. Ce qui intéresse le sélectionneur étant le progrès par année, il faut pouvoir obtenir les haploïdes doublés dans un temps suffisamment court pour que le progrès par année soit maximum. Il faut, en pratique, trouver le meilleur compromis entre le degré de fixation du matériel en évaluation, qui conditionne le progrès par cycle, et la durée du cycle de sélection.

Une autre question souvent posée est celle du nombre de cycles d'intercroisements à réaliser entre les unités sélectionnées avant de recommencer un cycle de sélection. Les études théoriques réalisées [1, 2, 17, 29] montrent que le résultat dépend des types d'interactions entre gènes. S'il n'y a que de l'additivité, le meilleur résultat sera obtenu avec un seul intercroisement ; seules certaines formes d'épistasie peuvent justifier les intercroisements multiples. De même, si ces intercroisements en série peuvent briser des liaisons indésirables, ils briseront aussi des liaisons favorables et le résultat est nul s'il n'y a pas sélection entre les intercroisements pour accumuler des liaisons favorables.

Les applications réalisées et les problèmes posés par la sélection récurrente, selon que l'on réalise des croisements manuels ou que l'on utilise la stérilité mâle génique, sont différents et nous allons aborder successivement ces deux aspects.

Utilisation des croisements manuels

Un certain nombre d'exemples de sélection récurrente avec utilisation des croisements manuels ont été publiés chez le blé. Ces travaux montrent, lorsqu'ils sont bien conduits, l'efficacité de la sélection récurrente pour améliorer les caractères sélectionnés. Comme dans toutes les expériences de sélection, la sélection sur un caractère n'est pas toujours sans influence sur les autres. Une sélection pour l'augmentation du taux de protéines [15] conduit, sur deux cycles, à une augmentation de 11 % par cycle mais aussi à une diminution du rendement de 8 % et du poids de 1 000 grains de 10 %, ainsi qu'à un accroissement de la hauteur et de la tardiveté des plantes. Hernandez Sierra [14] a obtenu une augmentation de rendement de 6 % par cycle. Une sélection pour l'augmentation du poids de 1 000 grains a conduit en quatre cycles à un progrès de 3 % à 7 % par cycle mais n'a eu aucun effet sur le rendement [3].

Pour les céréales d'hiver, la durée du cycle est généralement de 3 à 4 ans, mais pour des céréales de printemps avec 2 générations en serre et une génération de test au champ, on peut réaliser un cycle par an, comme l'ont fait Frey *et al.* [9] chez l'avoine de printemps en réalisant trois générations par an. Ils ont obtenu un progrès de 4,7 % par cycle (an) pour le rendement en protéines, et de 5,4 % pour le rendement en grains.

La plupart des expériences publiées correspondent à la sélection pour un ou un très petit nombre de caractères, souvent composantes d'un autre caractère. Pour créer des populations à partir desquelles on pourra sélectionner des variétés, la sélection récurrente doit être multicaractère, ce qui amène à utiliser des index de sélection.

Utilisation de la stérilité mâle génique

L'utilisation des croisements manuels conduit souvent à limiter le nombre de lignées utilisées, et, dans les grandes populations, il n'est pas toujours matériellement possible de réaliser un plan diallèle de croisement des unités sélectionnées, ce qui limite l'exploitation de la variabilité. L'utilisation de la stérilité mâle génique permet en partie de remédier à ces inconvénients.

L'utilisation de la stérilité mâle génique est bien adaptée à l'utilisation des ressources génétiques et à l'accumulation de caractères intéressants dans des génotypes qui seront ensuite repris dans d'autres méthodes de sélection pour faire de la création variétale. C'est d'ailleurs une des utilisations les plus fréquentes qui en est faite [20, 24, 26, 27]. La plupart de ces populations ont été créées et sélectionnées pour l'augmentation du niveau de résistance aux maladies, avec le plus souvent une sélection massale entre deux intercroisements.

Dans des populations avec stérilité mâle génique, les tests doivent être réalisés sur des plantes fertiles ou leur descendance, au moins pour les caractères liés au grain comme le rendement ou la résistance aux maladies de l'épi. Dans le cas d'une stérilité mâle récessive, la plante fertile est hétérozygote, et sa descendance sera en disjonction pour le caractère de fertilité ; cela peut nuire à la précision de l'estimation du rendement, mais permet de faire une sélection simultanée sur les deux sexes, puisque la descendance ou les frères des plantes testées sont en disjonction pour la fertilité. Dans le cas d'une stérilité mâle dominante, les plantes fertiles ne produiront plus de plantes

mâles stériles dans leur descendance. Les tests de sélection sur apparentés concernent donc un seul sexe. Le croisement des unités sélectionnées par la population en disjonction ferait perdre la moitié du progrès génétique. Ramage, Sorrells et Fritz [18, 22] proposent différents schémas de sélection récurrente utilisant la stérilité mâle génique dominante et faisant appel à des tests sur apparentés. Ils suggèrent de faire des tests sur des demi-frères descendant de la même plante mâle stérile pour sélectionner également les plantes femelles. On peut aussi, en faisant se chevaucher les cycles de sélection, croiser chaque année les plantes mâles testées par la population issue du croisement de l'année précédente, ce qui revient à croiser les plantes testées par des descendants des plantes testées l'année précédente, selon un schéma proche de celui utilisé par Trotet [28] avec la stérilité mâle génique récessive.

A partir des exemples tirés de la littérature, les croisements manuels semblent plus souvent utilisés lorsque l'objectif est de créer des variétés, et la stérilité mâle génique est plus souvent utilisée pour créer du matériel amélioré qui sera ensuite repris par une autre méthode pour faire de la sélection variétale.

Quelques exemples d'applications pour l'amélioration du blé tendre à l'INRA

Plusieurs populations sont sélectionnées à l'INRA ; nous présenterons ici trois exemples représentatifs de la grande variabilité des méthodes possibles : une population créée en utilisant des croisements manuels, et améliorée pour tous les caractères importants pour une variété ; deux populations utilisant une stérilité mâle génique, l'une récessive avec pour objectif principal de créer des plantes courtes et résistantes à la septoriose provoquée par *Stagonospora nodorum*, l'autre dominante avec pour objectif principal la résistance aux parasites qui se développent pendant la phase de formation du grain (rouille brune, septoriose et fusariose de l'épi).

Utilisation des croisements manuels : population PA

Trois stations de l'INRA ont créé, à partir de 1975, une population (PA) à partir de 16 parents par croisement pyramidal [25]. La durée du cycle est de trois ans. Cette population a subi quatre cycles de sélection récurrente, utilisant des observations réalisées dans trois lieux (Clermont-Ferrand, Le Moulon et Rennes). La population de départ est notée PA_0 , celles issues de chaque cycle de sélection sont indicées du numéro du cycle.

Année 1 : observation en un lieu favorable au développement des parasites (Rennes) des plantes S_0 ,
sélection sur index des meilleures plantes pour des caractères à forte héritabilité (comportement vis-à-vis des rouilles et de l'oïdium, hauteur et quelques composantes du rendement),
sélection de 300 plantes sur 1 500 à 2 000 plantes observées.

Année 2 : observation en pépinière en trois lieux des familles S_1 ,
test de résistance au piétin-verse à Rennes,
essai de rendement en parcelle monoligne dans les trois lieux,

sélection des 160 meilleures familles sur un index combinant le rendement et la résistance aux parasites,
réalisation de quelques tests indirects d'estimation de la qualité boulangère (teneur en protéines, Zeleny, Pelshenke),
sélection sur index des 80 meilleures familles.

Année 3 : intercroisement des familles sélectionnées, chaque famille est croisée avec six autres : trois fois comme mâle et trois fois comme femelle, pour exploiter la variabilité intra-famille qui reste importante, des plantes différentes de chaque famille sont utilisées pour chacun des croisements, l'objectif est d'obtenir au moins 2 000 grains pour débiter le cycle suivant.

Après quatre cycles de sélection, nous constatons que le progrès a été important sur les caractères de résistance aux maladies, particulièrement sur les rouilles et l'oïdium. Des progrès ont également été réalisés pour la valeur boulangère. Le caractère sur lequel les progrès sont les plus faibles est le rendement. Mais entre les meilleures lignées sélectionnées à partir de PA_0 et les meilleures lignées issues de PA_1 on observe une légère progression du rendement.

Le point faible de ce schéma est l'estimation du rendement. Le faible nombre de grains disponibles impose de très petites parcelles (une ligne), les interactions entre parcelles sont fortes et difficiles à corriger. Par ailleurs, la ségrégation pour la précocité et la hauteur dans les lignes diminue la précision de l'estimation du rendement.

Utilisation de la stérilité mâle génique récessive : population CPms

Cette population a été créée avec un mutant mâle stérile récessif de Probus [8], pollinisé par 60 génotypes apportant la résistance à *S. nodorum* et/ou la taille courte et une résistance aux rouilles et à l'oïdium, l'objectif principal étant d'obtenir des plantes courtes et résistantes à la septoriose de l'épi.

Le premier cycle a commencé après trois ans d'intercroisement au hasard et a duré quatre ans. Depuis, la durée des cycles a été ramenée à trois ans [28]. Le cycle se compose comme suit :

Année 1 : sélection massale de « belles » plantes fertiles dans la population en ségrégation sur la hauteur, le comportement vis-à-vis des parasites (surtout les rouilles et l'oïdium), et la fertilité de l'épi.

Année 2 : observation en pépinière pour la résistance aux rouilles et à l'oïdium et, dans un test spécial, pour le comportement vis-à-vis de *S. nodorum* des descendances des plantes choisies.
Sélection des meilleures familles sur index combinant résistance et hauteur.

Année 3 : intercroisement en isolement des familles sélectionnées, en utilisant des grains S_1 (frères de ceux qui ont servi au test) qui ont été conservés, sélection massale sur des caractères faciles à observer avant et aussi après la floraison.
Un quart des plantes est mâle stérile, ce qui suffit pour permettre l'intercroisement.

En fait, pour équilibrer la quantité de travail à réaliser chaque année et permettre d'augmenter le nombre d'intercroisements sans augmenter la durée du cycle, un système de chevauchement des cycles est utilisé ; la durée totale de chaque cycle est de cinq

ans, mais la durée du début du cycle n au début du cycle $n+1$ n'est que de trois ans (Figure 1).

Nous avons tenté d'évaluer l'efficacité de cette sélection en comparant la population de départ, CPms₀, et celles issues des deux premiers cycles de sélection, CPms₁ et CPms₂. L'année où l'essai a été réalisé au champ, le climat trop sec n'a pas permis le développement de la septoriose au champ. Bien que la sélection ait été réalisée avec des tests sur plantes adultes, nous avons estimé le progrès à partir du comportement de jeunes plantes S₀ et S₁ contaminées par *S. nodorum* au stade 2-3 feuilles. Dans une échelle à neuf classes, le gain a été d'un point par cycle de sélection, les estimations réalisées sur les deux générations sont concordantes. Ce progrès a été réalisé sans que la hauteur moyenne des plantes de la population soit modifiée. On observe cependant une diminution de la variance, ce qui traduit l'élimination des génotypes très hauts dans la population. Le progrès a également été important pour la résistance aux rouilles et à l'oïdium. Cela peut être dû au fait que, pour ces parasites, on a probablement sélectionné quelques gènes majeurs de résistance efficaces vis-à-vis des populations de parasites présentes à Rennes, et n'est pas une assurance de stabilité des résistances cumulées.

Utilisation de la stérilité mâle génique dominante : population DMs

Cette population a été créée à partir d'un mutant mâle stérile génique dominant de Chris [19], pollinisé par 200 génotypes apportant la résistance à la septoriose et/ou à la fusariose de l'épi, aux rouilles et à l'oïdium, et la taille courte. L'objectif principal est de sélectionner des plantes courtes ayant un bon niveau de résistance aux parasites se développant pendant les phases de fin montaison et de remplissage du grain.

Le cycle de sélection est analogue à celui pratiqué avec la population CPms, la principale différence se situant au niveau du plan d'intercroisement. En effet, la stérilité étant dominante, il n'y a plus de ségrégation de la fertilité dans les descendants des plantes fertiles. Les familles sélectionnées pour les caractères évalués après la floraison (résistance aux septoriose et fusariose) sont utilisées comme pollinisateurs des plantes mâles stériles non sélectionnées pour ces caractères. En pratique, les plantes S₁ des familles mâles fertiles sélectionnées et celles S₀ de la population en ségrégation pour la fertilité sont semées en lignes alternées ; les plantes fertiles de la ségrégation sont arrachées en tout début de floraison pour que l'intercroisement se fasse principalement par pollinisation des plantes mâles stériles par les plantes sélectionnées. Cela entraîne la perte de la moitié du progrès génétique attendu. Le chevauchement des cycles de sélection (Figure 2), qui conduit à des plantes issues d'un intercroisement par d'autres plantes sélectionnées l'année suivante, permet de retrouver une partie de ce progrès, mais cela est obtenu au prix du travail supplémentaire que représente l'élimination des plantes fertiles dans la partie en ségrégation de la population. Cette population termine son premier cycle de sélection.

Considérations sur le progrès génétique dans les différents schémas

Selon Gallais [11], le progrès génétique (ΔG) dépend de l'intensité de sélection (i), du taux de contrôle de la sélection sur les deux sexes (θ), de la corrélation entre la valeur en test et la valeur des descendants (r_{TM}), de l'héritabilité du test (h_T^2), de la variance génétique des descendants des unités sélectionnées (s_M^2) et de la longueur du cycle de sélection (t)

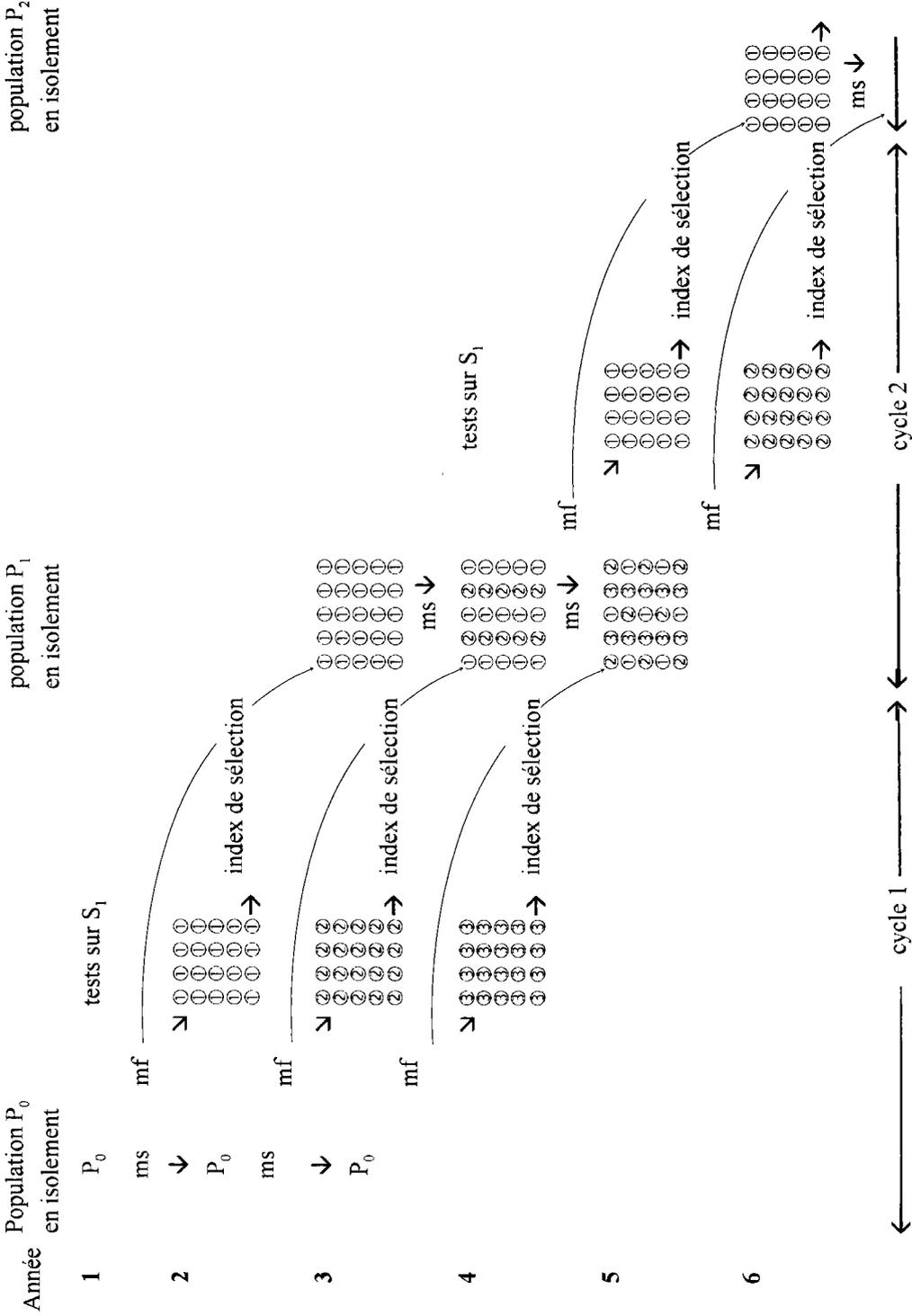


Figure 1. Schéma de sélection récurrente facilitée par la stérilité mâle génétique récessive avec chevauchement des cycles de sélection.

① : plantes issues de la première année du cycle ; ② : plantes issues de la deuxième année du cycle ; ③ : plantes issues de la troisième année du cycle. ms : plantes mâles stériles ; mf : plantes fertiles.

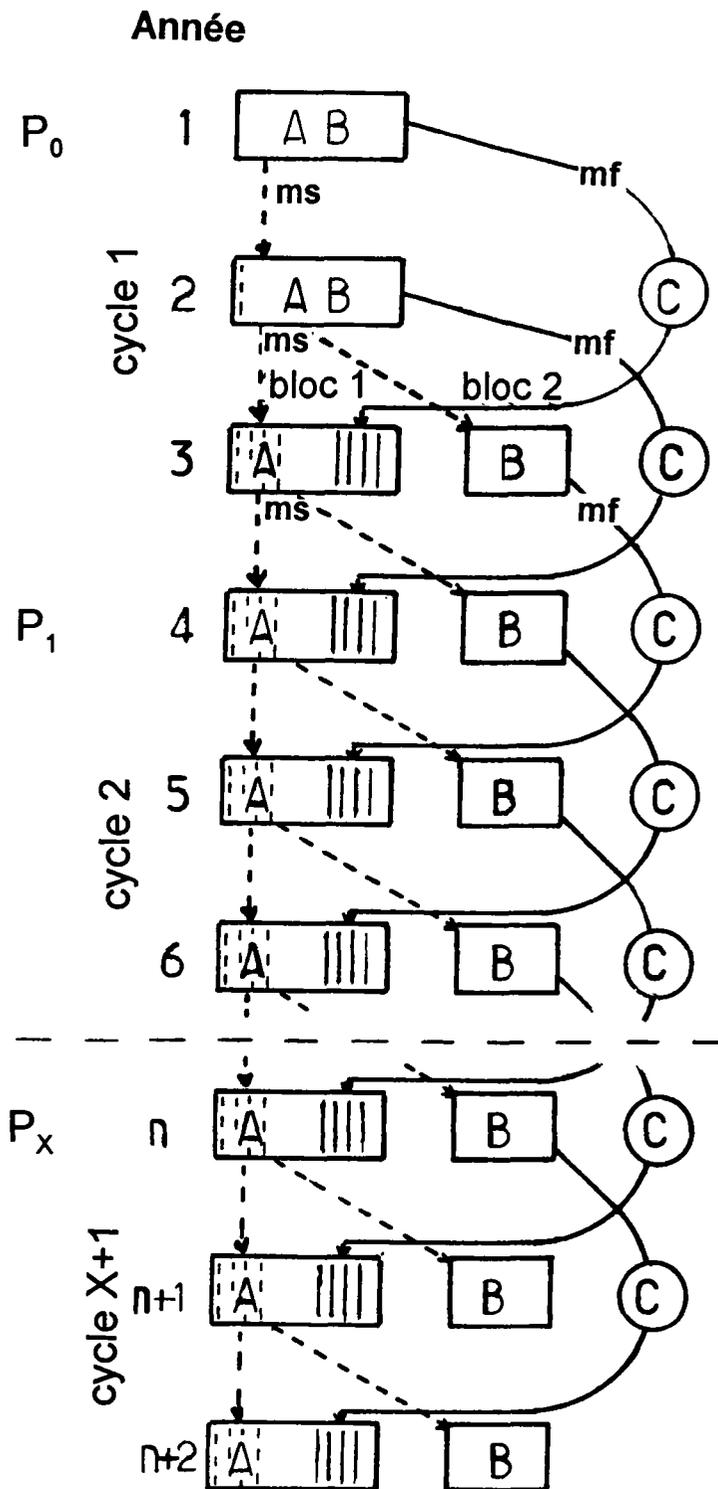


Figure 2. Schéma de sélection récurrente facilitée par la stérilité mâle génique dominante avec chevauchement des cycles de sélection.

A : sélection massale des plantes mâles stériles (ms) ; B : sélection massale des plantes fertiles (mf) ; C : tests de familles S_1 et sélection sur index ; P_0 : population d'origine ; P_1 : population dérivée du cycle x ; bloc 1 : plantes cultivées en isolement ; bloc 2 : plantes cultivées sans isolement. : semences S_0 issues de plantes mâles stériles ; — : semences S_1 issues de plantes fertiles.

$$\Delta G = \frac{i r_{TM} h_T \theta s_M}{t}$$

Pour différentes méthodes de sélection avec tests sur familles S_1 , h_T (qui ne dépend que du test) et r_{TM} (qui dépendent des variances additives et de dominance du caractère) sont constants. Si l'intensité de sélection et la longueur du cycle sont les mêmes, les différences de progrès génétique attendu ne dépendent que de θ et S_M . Si F est le coefficient de consanguinité des génotypes testés et S_A^2 la variance génétique additive, il vient : $S_M^2 = \frac{1+F}{2} S_A^2$. Dans le cas des croisements manuels (Figure 3a), la sélection est réalisée sur les deux sexes, $\theta = 1$ pour les mâles et les femelles. Il en est de même avec la stérilité mâle génique récessive (Figure 3b), les plantes intercroisées étant les descendants des plantes sélectionnées. Dans les schémas avec une stérilité mâle génique dominante, la sélection pour certains caractères est faite seulement sur les plantes mâles. Le contrôle de la sélection pour les mâles est $\theta = 1$. Sans chevauchement des cycles, il n'y a pas de sélection des plantes femelles, $\theta = 0$. Dans le schéma avec chevauchement des cycles, les plantes femelles de la seconde année du cycle dérivent des plantes pollinisées avec les plantes mâles sélectionnées : le contrôle de la sélection est de 0,5. La troisième année, $\theta = 0,75$ pour les femelles. Le contrôle moyen pour les trois années du cycle est donc de 0,42 pour les femelles, soit 1,42 en moyenne pour les deux sexes.

Dans tous nos schémas, les plantes utilisées comme parents sont des pleins-frères des plantes testées. Le rapport des efficacités correspond donc au rapport de contrôle des parents lors de l'intercroisement. Cela doit néanmoins être nuancé lorsque le test est réalisé sur des plantes en ségrégation pour la fertilité, surtout lorsque l'on évalue des caractères du grain.

Sorrells et Fritz [22] suggèrent des schémas avec semis en ligne des plantes demi-frères descendant de chaque plante mâle stérile issue de sélection massale, et sélection de plantes fertiles et mâles stériles dans les lignes. Ainsi, les tests sur les plantes S_1 fertiles donnent une information sur leurs apparentés mâles stériles. Si les lignes sont cultivées en isolement (Figure 3c), les plantes mâles stériles sont des demi-frères des S_1 ($S_M^2 = \frac{1}{4} S_A^2$, $\theta = 0,5$ pour les plantes femelles). Si elles ne sont pas cultivées en isolement (Figure 3d), le reliquat de semences des plantes à l'origine des S_1 sélectionnées sera utilisé comme source de stérilité mâle ($S_M^2 = \frac{1}{8} S_A^2$, $\theta = 0,5$ pour les plantes femelles). Mais les plantes mâles stériles sont pollinisées par les plantes fertiles de l'ensemble de la population, ce qui réduit de moitié le contrôle des plantes mâles, à moins que l'on ne réalise des croisements frère-sœur.

Les comparaisons entre les progrès génétiques attendus pour les différentes méthodes sont données dans le Tableau I pour le même nombre de familles S_1 évaluées dans un cycle.

Le chevauchement des cycles améliore fortement l'efficacité de la sélection par rapport à un schéma dans lequel les plantes femelles ne sont pas sélectionnées. L'avantage est plus faible lorsque les femelles sont des demi-frères des familles S_1 , comme dans le schéma de Sorrells et Fritz [22]. Mais toutes ces méthodes sont moins efficaces que celles utilisant les croisements manuels ou la stérilité mâle génique récessive. Cela était déjà mis en évidence par Knapp et Cox [13] pour des méthodes sans chevauchement de cycle. Dans le cas de la stérilité mâle génique récessive, la valeur de h_T^2 est réduite pour les caractères liés au grain, le progrès attendu pour ces caractères est donc infé-

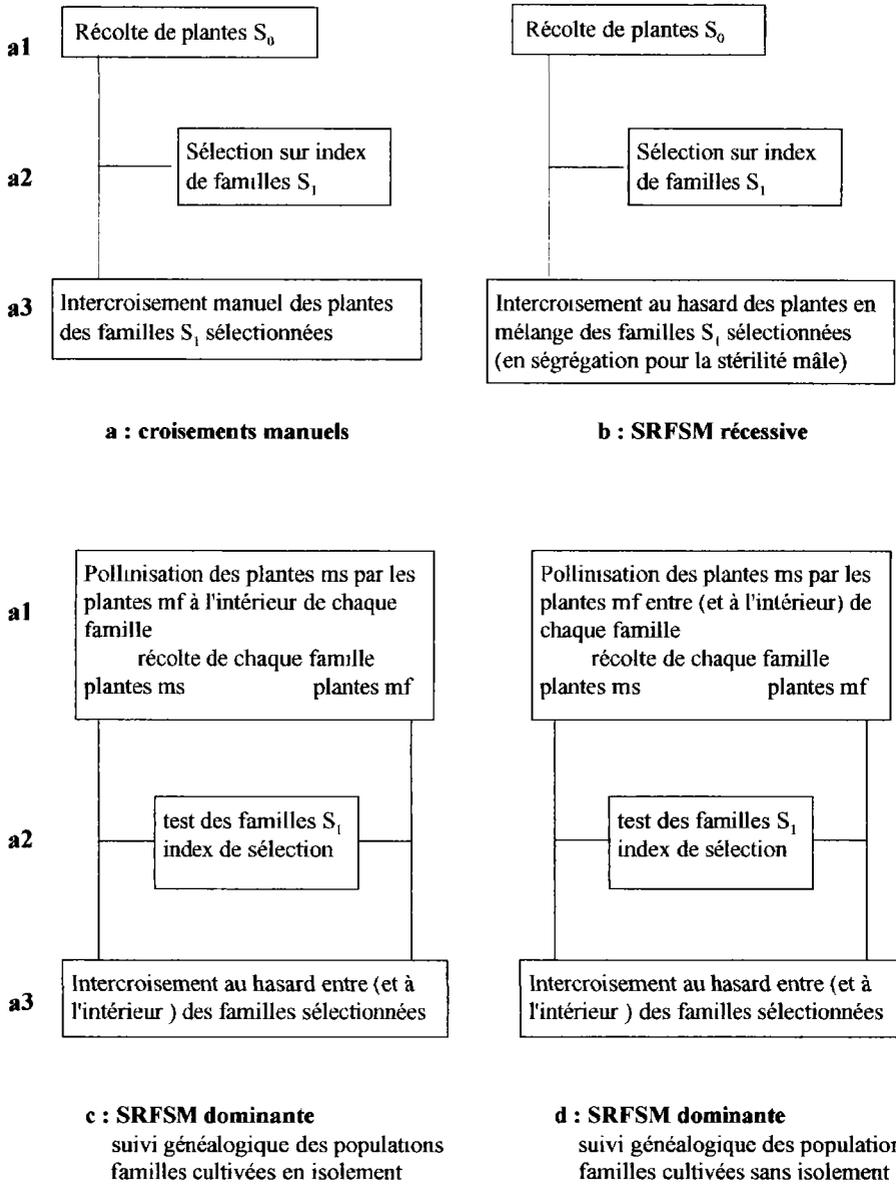


Figure 3. Représentation de quatre schémas de sélection récurrente chez des plantes autogames avec des tests de sélection sur familles S_1 et un cycle de sélection de trois ans. (a1, a2, a3 : années 1, 2, 3 ; ms : mâle stérile, mf : mâle fertile.)

Tableau I. Progrès génétique attendu par cycle de trois ans pour différents schémas de sélection récurrente avec sélection sur S_1 :

Méthode		θ	σ_M	Progrès génétique
Croisements manuels ou SRFSM récessive	mâle	1	$\sqrt{\frac{1}{2}S_A}$	$1,414 i h_T r_{TM} s_A$
	femelle	1		
SRFSM dominante avec plantes femelles en bulk non sélectionnées	mâle	1	$\sqrt{\frac{1}{2}S_A}$	$0,707 i h_T r_{TM} s_A$
	femelle	0		
SRFSM dominante avec chevauchement des cycles	mâle	1	$\sqrt{\frac{1}{2}S_A}$	$1,004 i h_T r_{TM} s_A$
	femelle	0,42		
SRFSM dominante avec maintien généalogique en isolement de la population des femelles demi-frères	mâle	1	$\sqrt{\frac{1}{2}S_A}$	$0,957 i h_T r_{TM} s_A$
	femelle	0,5	$\sqrt{\frac{1}{4}S_A}$	
SRFSM dominante avec maintien généalogique sans isolement de la population des femelles demi-frères	mâle	1	$\sqrt{\frac{1}{2}S_A}$	$0,884 i h_T r_{TM} s_A$
	femelle	0,5	$\sqrt{\frac{1}{8}S_A}$	

SRFSM : Sélection récurrente facilitée par la stérilité mâle génique.

θ : taux de contrôle de la sélection sur les deux sexes.

σ_M^2 : variance génétique des descendants des unités sélectionnées.

i : intensité de sélection.

h_T^2 : hérabilité du test.

r_{TM} : corrélation entre la valeur en test et la valeur des descendants.

s_A^2 : variance génétique additive.

rieur à celui des schémas avec croisements manuels. Ainsi, pour des populations créées avec un petit nombre de parents (moins de 20) il vaut probablement mieux utiliser les croisements manuels. Pour un plus grand nombre de parents, l'utilisation de la stérilité mâle génique pourrait compenser la perte de gain génétique attendu par l'augmentation du nombre de croisements qui permet une meilleure exploitation de la variabilité.

Remarques conclusives

Les deux systèmes de stérilité mâle présentent des avantages et des inconvénients complémentaires. La stérilité récessive permet facilement de faire une sélection sur les deux sexes, mais rend plus difficile la sélection sur les caractères estimés à partir du grain (rendement, qualité), et retarde la fixation lors du processus de création variétale. La stérilité dominante permet plus facilement l'évaluation du rendement et la fixation de lignées, mais impose un schéma de sélection plus coûteux. Le gain d'efficacité apporté par le chevauchement des cycles, et le contrôle de la pollinisation induisent un travail supplémentaire. L'utilisation de gamétocides chimiques permettrait de cumuler les avantages des deux systèmes sans en avoir les inconvénients.

Les deux schémas avec stérilité mâle que nous avons présentés prennent en compte uniquement la résistance aux parasites, quelques caractères morphologiques et l'aspect des épis et des grains. Un caractère important comme le rendement n'est pas pris en compte. Pour ne pas allonger le cycle de sélection, on peut, soit réintroduire les meilleures lignées pour le rendement du cycle n lors de l'intercroisement du cycle $n + 2$, soit utiliser les lignées résistantes obtenues comme géniteurs dans d'autres programmes.

Les gènes de nanisme *Rht1* et *Rht2* sont présents dans ces populations ; or la taille optimale recherchée correspond à des lignées portant un seul de ces gènes (demi-naines). Lors de l'intercroisement, on obtient également des plantes hautes et naines qu'il faut éliminer, et la ségrégation pour la hauteur diminue l'efficacité de l'évaluation d'autres caractères. Pour éliminer ce défaut, nous sommes en train de constituer des populations avec un seul gène de nanisme. Dans le même ordre d'idée, on peut suggérer d'introduire à l'état homozygote d'autres gènes gouvernant des caractères importants, comme le gène *Pch1* de résistance au piétin-verse.

La stérilité récessive est la plus efficace pour exploiter tout le progrès lors de la réalisation de l'intercroisement, mais elle peut gêner l'estimation des caractères liés au grain, et il faut au moins deux générations pour obtenir des lignées fixées pour la fertilité. La stérilité dominante a les avantages et les inconvénients inverses : l'évaluation des familles et la fixation des lignées est plus facile, mais cela se traduit par une perte du progrès pour certains caractères lors de l'intercroisement.

Références

1. Altham DW, Busch FH (1984). Random intermating before selection in spring wheat. *Crop Sci* 24 : 1085-1089.
2. Bos I (1977). More arguments against intermating F2 plants of a self-pollinating crop. *Euphytica* 26 : 33-46.
3. Busch RH, Kofoid K (1982). Recurrent selection for kernel weight in spring wheat. *Crop Sci* 22 : 568-572.
4. Choo TM, Kannenberg LW (1988). Selection response and efficiency of doubled-haploid recurrent selection in a cross-fertilized species. *Theor Appl Genet* 75 : 410-414.
5. Compton WA (1968). Recurrent selection in self-pollinated crops without extensive crossing. *Crop Sci* 8 : 773.
6. Deng JY, Gao ZL (1982). Discovery and determination of a dominant male-sterile gene and its importance in genetics and wheat breeding. *Scientia Sinica (Series B)* 25 : 508-516.

7. Empig LT (1971). A program designed to maximize genetic variability in the breeding of self-fertilising crops. *Philippine Agriculturist* 54 : 319-324.
8. Fossati A, Ingold M. (1970). A male sterile mutant in *Triticum aestivum*. *Wheat Information Service* 30 : 8-10.
9. Frey KJ, McFerson JK, Branson CV (1988). A procedure for one cycle of recurrent selection per year with spring sown small grains. *Crop Sci* 28 : 855-856.
10. Gallais A (1989). Optimisation of recurrent selection on the phenotypic value of doubled haploid lines. *Theor Appl Genet* 77 : 501-504.
11. Gallais A (1990). *Théorie de la sélection en amélioration des plantes*. Masson, Paris, 588 p.
12. Griffing B (1975). Efficiency change due to use of doubled-haploids in recurrent selection methods. *Theor Appl Genet* 46 : 367-386.
13. Knapp SJ, Cox TS (1988). S₁ family recurrent selection in autogamous crops based on dominant genetic male sterility. *Crop Sci* 28 : 227-231.
14. Hernandez-Sierra A (1982). Recurrent selection methods in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Dissertation Abstracts International* 43 : 11B.
15. Mahdy EE (1988). Recurrent selection for grain protein content in spring wheat, *Triticum aestivum* L. *Cereal Res Commun* 16 : 195-201.
16. Nanda GS, Hazarika GN, Gill KS (1981). Recurrent selection in an inter-varietal cross of wheat. *Indian J Genet Pl Breed* 41 : 18-24.
17. Pederson DG (1974). Arguments against intermating before selection in a self fertilising species. *Theor Appl Genet* 45 : 157-162.
18. Ramage RT (1977). Varietal improvement of wheat through male-sterile facilitated recurrent selection. *ASPAC Food & Fertiliser Technology Ctr Tech Bull* 37 : 6p.
19. Sasakuma T, Maan SS, Williams ND (1978). EMS induced male sterility in euplasmic and alloplasmic common wheat. *Crop Sci* 18 : 850-853.
20. Sharp EL (1979). Male sterile facilitated recurrent selection populations for developing broad-based resistance by major and minor effect genes. *Phytopathology* 69 : 1045 (Abstr.).
21. Silvela L, Diez-Barra R (1985). Recurrent selection in autogamous species under forced random mating. *Euphytica* 34 : 817-832.
22. Sorrells ME, Fritz SE (1982). Application of a dominant male sterile allele to the improvement of self-pollinated crops. *Crop Sci* 22 : 1033-1035.
23. Suneson CA (1962). Use of Pugsley's sterile wheat in cross breeding. *Crop Sci* 2 : 534-535.
24. Suneson CA, Pope WK, Jensen NF, Poehlman JM, Smith GS (1963). Wheat composite cross I created for breeders everywhere. *Crop Sci* 3 : 101-102.
25. Thomas G, Rousset M, Pichon M, Trottet M, Doussinault G, Picard E (1991). Méthodologie de l'amélioration de blé tendre (*Triticum aestivum* L.). I. Création par croisements et analyse d'une population artificielle à 16 parents, base de cette étude méthodologique. *Agronomie* 11 : 359-368.
26. Thompson RK, Shantz KC (1978). Registration of MSFRS wheat germplasm composite crosses A and B-76. *Crop Sci* 18 : 698.
27. Thompson RK (1983). Registration of AZ-MSFRS-82RR rust resistant common wheat germplasm (Reg. No. GP217). *Crop Sci* 23 : 605.
28. Trottet M (1988). Use of genic male sterility for breeding wheat lines resistant to *Leptosphaeria nodorum* Müller : results of a first selection cycle and prospect. *Proc 7th Int Wheat Genet Symp* Cambridge : 1199-1202.
29. Yonezawa K (1983). Selection strategy in breeding of self-fertilizing crops. V. Evaluation of intermating under a fixed breeding cost. *Jpn J Breed* 33 : 423-438.

7

Évaluation de six accessions de lentille (*Lens culinaris* L.)

ABDELAZIZ EL HOUJJAJI^{1,2}, FARHAT CHIBANI², HABIB KALLEL¹,
ALY AAIES^{1,2}

1. Laboratoire de Biochimie, Faculté des Sciences de Tunis, Campus Universitaire,
1060 Le Belvédère, Tunis, Tunisie.

2. Unité de Biologie, INRST BP 95, 2050 Hammam-Lif, Tunisie.

Résumé

*La mise en évidence d'une variabilité morphologique inter et intra-accessions a été réalisée sur six accessions de lentille (*Lens culinaris* L.) prospectées et collectées à travers différentes régions de la Tunisie. L'analyse de la variance des caractères morphologiques étudiés a montré une diversité assez importante. La comparaison des moyennes nous a conduits à la construction de dendrogrammes à partir des indices de proximité déterminant ainsi le degré de ressemblance entre les différentes accessions de lentille en Tunisie. Cette analyse a montré par ailleurs que les accessions ont tendance à se regrouper selon leurs origines géographiques. En outre, nous avons pu dégager un ensemble de caractéristiques présentes chez certaines variétés. Ainsi, les accessions du Sud présentent un aspect prostré. L'aspect spiralé a été rencontré chez une variété du Nord. L'aspect érigé caractérise les variétés du Centre. Les accessions du Sud sont des variétés du type *Microsperma*. Celles du Centre et du Nord appartiennent à la catégorie *Macrosperma*.*

La lentille (*Lens culinaris* L.) est une plante herbacée dont le cycle de développement est variable, dépendant principalement des conditions du milieu [10].

Les lentilles occupent une place importante dans les systèmes de culture en zones arides, semi-arides ainsi que dans les zones tempérées. Elles constituent un important

réservoir de richesse génétique. Leur importance réside surtout dans leurs multiples fonctions et usages [3, 7].

Dans le but d'étudier et d'estimer la diversité génétique des lentilles tunisiennes, une évaluation morphologique et agronomique a été réalisée en culture contrôlée.

Matériel et méthodes

Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé provient de différentes collectes effectuées dans le cadre du programme « Conservation et Évaluation des Ressources Phytogénétiques : Banque de Gènes ».

Notre étude a porté sur six accessions dont l'origine géographique est indiquée sur la carte (Figure 1) :

- | | |
|-----------------------------|--------------------------------|
| Deux accessions du Sud : | * L-07-89 : de Béni-Khédache |
| | * L-12-89 : de l'île de Djerba |
| Deux accessions du Centre : | * L-17-89 : de Souassi |
| | * L-30-89 : de Sayada |

Les accessions L-26-89 de Ncir et L-33-89 de Nefza ont été fournies par le Laboratoire des Légumineuses Alimentaires de l'Institut National de Recherche Agronomique de Tunisie (INRAT). Elles étaient acclimatées dans le nord de la Tunisie. Ce sont des variétés originaires de Syrie et de Palestine introduites par le biais de l'ICARDA.

On appelle accession un lot, un échantillon ou une population de plantes d'une espèce donnée collectée et conservée dans notre « Banque de Gènes » en vue de son évaluation et de son amélioration.

L-X-89 est le numéro d'identité d'une accession dans une « Banque de Gènes » avec :

- « L » initiale de la plante étudiée relative à *Lens*,
- « X » le numéro d'ordre de la collecte,
- « 89 » l'année de la collecte..

Étude de la variabilité morphologique

Les essais de culture ont été effectués dans la serre de la Faculté des Sciences de Tunis durant la période s'étendant du 17.11.1991 au 10.05.1992. Le but de cette étude est de mettre en évidence une variabilité morphologique inter et intra-accessions surtout durant les premiers mois du développement de la plante.

• Dispositif expérimental

Les six accessions sont mises à germer dans des boîtes de Pétri de 15 cm de diamètre, à raison de trente graines par boîte. Les boîtes de Pétri sont placées dans une chambre de culture à 25 °C et à l'obscurité.

Le taux de germination des différentes accessions est de 95 % à 100 %. Les graines germées sont ensuite repiquées dans des pots en plastique et disposées selon une randomisation totale à raison de 40 individus par accession. Ces individus sont considérés comme des répétitions.

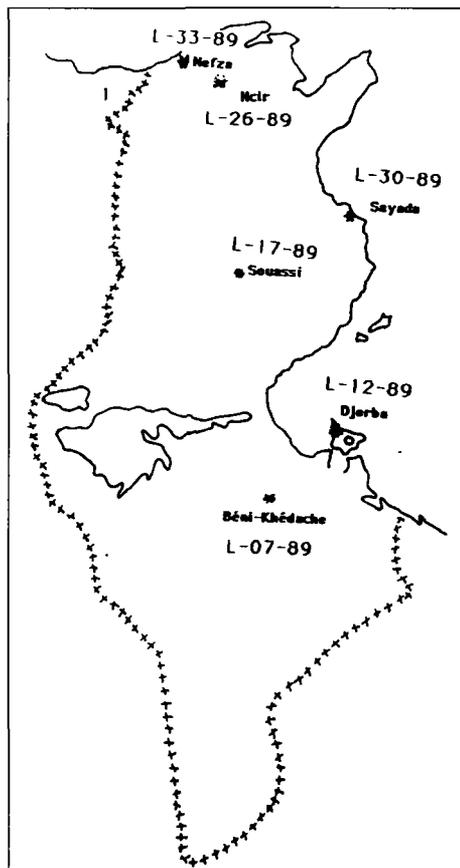


Figure 1. Localisation géographique des accessions de lentille étudiées.

• *Caractères morphologiques mesurés durant les trois premiers mois de culture*

Les caractères morphologiques analysés sont :

- LTP : Longueur de la tige principale en centimètre
- Nb.F/Pl : Nombre de feuilles par plante
- Nb.f/d.F : Nombre de folioles portées par la dernière feuille
- Nb.f/Pl : Nombre de folioles par plante
- Nb.B.I : Nombre de branches primaires
- Nb.B.II : Nombre de branches secondaires
- Nb.B.III : Nombre de branches tertiaires

Les deux derniers caractères n'apparaissent qu'à partir du deuxième mois de culture.

• *Analyse des résultats*

Les données expérimentales ont été traitées par des méthodes d'analyse statistique.

Afin de mettre en évidence la variabilité due au génotype, nous avons utilisé le

modèle d'analyse de la variance à un critère de classification [5]. Cette analyse permet de calculer la valeur de « F » (facteur Fisher) que nous comparons à une valeur théorique. Trois cas peuvent se présenter :

- Si « F » calculé est inférieur à « F » théorique, le test est non significatif (NS).
- Si « F » calculé est supérieur à « F » théorique au seuil de 5 %, le test est dit significatif (S).
- Dans le cas où « F » calculé est supérieur à « F » théorique au seuil de 1 %, le test est dit hautement significatif (HS). Dans les deux derniers cas, l'hypothèse de l'hétérogénéité des moyennes est donc retenue. Ainsi nous pouvons comparer les moyennes pour chaque caractère des accessions prises deux à deux en utilisant le test de Duncan [4].

La méthode de Duncan nous permet d'obtenir un ensemble de groupes à partir desquels nous avons pu estimer la ressemblance entre les accessions étudiées, et ce, en adoptant la méthode de calcul des indices de proximité [9]. Cette méthode consiste à calculer les distances entre les accessions pour chaque caractère.

Cette distance est nulle entre deux accessions appartenant à un même groupe pour un caractère donné. Elle est égale à 1 lorsque les deux accessions appartiennent à deux groupes distincts, chevauchants ou adjacents. Elle sera égale à 2 si les deux accessions appartiennent à deux groupes différents et séparés par un seul groupe, etc.

On construit ainsi une matrice des distances pour chaque caractère. A partir de ces matrices, nous calculons la somme des distances pour construire une matrice renfermant les distances globales. Celles-ci sont obtenues en additionnant les distances obtenues pour tous les caractères étudiés. On définit l'indice de proximité pour chaque couple considéré comme suit :

$$I_p = (M - d_{ij})/M \times 100$$

M : distance globale maximale

d_{ij} : distance globale entre deux accessions i et j

Les indices de proximité calculés nous permettent de construire un dendrogramme [9].

Autres paramètres mesurés

- l'indice de floraison de 50 % de la population : $I_p.50 \%$,
- le nombre de fleurs par pédoncule : Nb.fl/pd,
- la couleur des fleurs : Cl.fl,
- le poids de 100 grains.

Résultats

L'analyse biométrique de l'ensemble des données expérimentales obtenues à partir d'une culture en serre nous a permis d'estimer la diversité qui existe entre les différentes accessions de lentille de Tunisie. De même elle a permis de déterminer leur degré de ressemblance.

L'analyse des caractères morphologiques par des méthodes statistiques a démontré l'efficacité de celles-ci dans l'étude de la variabilité [6, 8, 14].

Analyse de la variance et comparaison des moyennes

Certaines graines ne se sont pas développées lors de l'expérimentation, en conséquence le nombre d'individus pris dans l'analyse de la variance n'est que de 212 (30 à 35 par accession).

Les résultats obtenus par l'analyse de la variance : les tableaux I, II, III, montrent l'existence d'un « effet génotype » significatif et d'une hétérogénéité inter-accessions pour tous les caractères étudiés durant le stade végétatif.

L'analyse de la variance est complétée par une comparaison des moyennes de tous les caractères considérés en utilisant le test de Duncan [5]. Les Tableaux IV, V, VI résument les résultats obtenus. Ceux-ci indiquent que les accessions se répartissent en groupes dont le nombre varie de 4 à 5, et dont certains sont chevauchants.

Le caractère « LTP » présente une moyenne variant entre 4,208 et 8,828 au stade du 1^{er} mois ; 9,680 et 19,355 au stade du 2^e mois et 24,500 et 45,711 au 3^e mois. La valeur la plus élevée se rencontre chez l'accession du Nord (L-33-89). Cette caractéristique est observée durant tout le stade végétatif de la plante, alors que les accessions du Sud présentent au contraire les moyennes les plus faibles.

Au deuxième et au troisième mois, la L-26-89 provenant du Nord semble être plus proche des accessions du Centre que de la L-33-89 provenant elle aussi du Nord. Ainsi, cette dernière se caractérise par une hauteur maximale de la tige principale. Cette caractéristique contribue de façon importante à une bonne productivité, alors que l'accession L-26-89 présente le maximum de branches primaires, secondaires et tertiaires. Tous ces facteurs convergent vers un point commun qui est l'obtention d'un rendement élevé.

Pour le caractère « LTP », et malgré son origine (Nord), la L-26-89 présente des tiges de la même longueur que les accessions du Centre. Cela peut être justifié par l'apparition d'autres caractères morphologiques qui prennent le relais comme par exemple le caractère Nb.B.I. De même, les caractères Nb.B.II et Nb.B.III manifestent des moyennes maximales respectivement durant le deuxième et le troisième mois. Le caractère « LTP » présente un gradient de taille croissant en allant du Sud vers le Nord.

Pour le caractère : nombre de feuilles par plante (Nb.F/Pl), les accessions du Nord présentent des moyennes minimales alors que les accessions du Nord se caractérisent par les moyennes maximales. Au stade du premier mois, ce caractère pourrait être utilisé comme critère de discrimination.

Le nombre de folioles par plante (Nb.f/Pl) montre des moyennes maximales aussi bien au premier (Tableau IV) qu'au deuxième mois (Tableau V) chez les accessions du Nord. Les accessions du Sud présentent des moyennes minimales aussi bien au premier qu'au deuxième mois. Ce caractère montre trois groupes non chevauchants au deuxième mois de culture (Tableau V).

Cette analyse nous permet d'expliquer certains phénotypes observés. Ainsi chez l'accession L-33-89, la tige principale de longueur maximale finit par se spiraler en donnant ainsi un port spiralé aux individus de cette accession (Figure 2). De même, l'abondance de branches primaires, secondaires et tertiaires donne aux individus de l'accession L-26-89 un port prostré (Figure 3). Ce même port est observé chez les accessions du Sud qui présentent durant leur développement végétatif une tige principale de petite taille et un nombre important de branches primaires malgré leur apparition tardive contrairement aux autres accessions étudiées. Les accessions du Centre présentent un port prostré chez certains individus et un port érigé chez d'autres.

Tableau I. Analyse de la variance pour les mesures effectuées au premier mois.

Variables	Source de variations	S.C.E.	d.d.1	C.M.	F
L.T.P.	échantillon	752.30	5	150.64	42.01**
	résiduelle	755.69	211	3.58	
Nb.F/Pl.	échantillon	173.580	5	37.716	20.10**
	résiduelle	364.346	211	1.726	
Nb.f/dF	échantillon	40.756	5	8.751	13.47**
	résiduelle	127.722	211	0.605	
Nb*B.Iaire	échantillon	81.575	5	16.315	33.66**
	résiduelle	102.27	211	0.484	
Nb.f/Pl	échantillon	3056.87	5	611.37	16.89**
	résiduelle	7639.32	211	36	

$F_{211}^5 = 3.11$ (Théorique à 1 %)

* effet significatif

$F_{211}^5 = 2.26$ (Théorique à 5 %)

** effet hautement significatif

Tableau II. Analyse de la variance pour les mesures effectuées au deuxième mois.

Variables	Source de variations	S.C.E.	d.d.1	C.M.	F
L.T.P	échantillon	2651.37	5	530.27	32.05**
	résiduelle	3491.00	211	16.545	
Nb.F/Pl.	échantillon	2853.55	5	570.71	17.27**
	résiduelle	6974.67	211	33.05	
Nb.f/dF	échantillon	463.932	5	92.786	35.46**
	résiduelle	558.307	211	2.646	
NbB.Iaire	échantillon	42.52	5	8.504	2.46*
	résiduelle	728.47	211	3.452	
Nb.f/Pl	échantillon	230941.03	5	461.8820	21.2**
	résiduelle	445605.72	211	211.87	
Nb.BIIaire	échantillon	121.161	5	24.232	8.82**
	résiduelle	579.40	211	2.745	

$F_{211}^5 = 3.11$ (Théorique à 1 %)

* effet significatif

$F_{211}^5 = 2.26$ (Théorique à 5 %)

** effet hautement significatif

Évaluation de six accessions de lentille

Tableau III. Analyse de variance pour les mesures effectuées au troisième mois.

Variables	Source de variations	S.C.E.	d.d.1	C.M.	F
L.T.P	échantillon résiduelle	11459.81 8382.23	5 211	2291.96 39.72	57.69**
Nb.F/Pl.	échantillon résiduelle	123931.52 726054.75	5 211	24786.30 3441.01	07.20**
Nb.f/dF	échantillon résiduelle	398.124 627.810	5 211	79.624 2.975	26.76**
NbB.Iaire	échantillon résiduelle	233.51 1988.01	5 211	46.702 9.421	4.96*
Nb.f/Pl	échantillon résiduelle	1563.033 5357.437	5 211	312.606 25.390	12.31**
Nb.BIIIaire	échantillon résiduelle	111.133 1096.806	5 211	22.226 51.98	04.26**

$F_{211}^5 = 3.11$ (Théorique à 1 %)

* effet significatif

$F_{211}^5 = 2.26$ (Théorique à 5 %)

** effet hautement significatif

Tableau IV. Comparaison des moyennes par le test de Duncan pour les mesures effectuées au premier mois, des accessions de lentille.

Origine géographique	Accessions					
	Nord		Centre		Sud	
	L-33-89	L-26-89	L-30-89	L-17-89	L-07-89	L-12-89
L.T.P.	8.828 (a)	8.067 (a, b)	8.016 (b)	7.8258 (b)	4.442 (c)	4.208 (c)
Nb.F/Pl	5.368 (b)	6.081 (a, b)	6.200 (a)	4.736 (c)	4.105 (d)	3.833 (d)
Nb.f/dF	4.657 (a)	4.837 (a)	4.066 (b)	4.078 (b)	3.921 (b, c)	3.583 (c)
Nb.B.Iaire	0.921 (b)	1.405 (a)	1.600 (a)	0.552 (c)	- (d)	- (d)
Nb.f/Pl	18.342 (a)	19.216 (a)	16.567 (a)	13.158 (b)	10.605 (b, c)	9.500 (c)

Les valeurs marquées avec la même lettre ne sont pas significativement différentes.

Tableau V. Comparaison des moyennes par le test de Duncan pour les mesures effectuées au deuxième mois, des accessions de lentille.

Origine géographique	Accessions					
	Nord		Centre		Sud	
	L-33-89	L-26-89	L-30-89	L-17-89	L-07-89	L-12-89
Variables	L-33-89	L-26-89	L-30-89	L-17-89	L-07-89	L-12-89
L.T.P.	19.355 (a)	15.365 (b)	14.833 (b)	15.828 (b)	9.776 (c)	9.680 (c)
Nb.F/Pl	16.684 (b)	20.865 (a)	15.633 (b, c)	13.289 (c, d)	11.526 (d, c)	9.944 (c)
Nb.f/dF	13.605 (a)	12.729 (b)	10.933 (c)	11.973 (b)	9.763 (d)	9.777 (d)
Nb.B.laire	3.368 (b)	2.648 (a, b)	1.833 (b)	2.605 (a, b)	2.447 (a, b)	2.388 (b)
Nb.f/Pl	125.71 (a)	145.000 (a)	93.33 (b)	85.58 (b)	42.87 (c)	54.19 (c)
Nb.B.Ilaire	1.078 (a)	2.243 (a)	0.266 (b, c)	0.447 (b, c)	0.289 (b, c)	0.083 (c)

Les valeurs marquées avec la même lettre ne sont pas significativement différentes.

Tableau VI. Comparaison des moyennes par le test de Duncan pour les mesures effectuées au troisième mois, des accessions de lentille.

Origine géographique	Accessions					
	Nord		Centre		Sud	
	L-33-89	L-26-89	L-30-89	L-17-89	L-07-89	L-12-89
Variables	L-33-89	L-26-89	L-30-89	L-17-89	L-07-89	L-12-89
L.T.P	45.711 (a)	34.405 (c)	32.733 (c)	38.197 (b)	26.237 (d)	24.500 (d)
Nb.F/Pl	117.55 (a)	141.86 (a)	86.20 (b)	88.58 (b)	80.03 (b)	75.33 (b)
Nb.f/dF	14.710 (a, b)	14.891 (a, b)	14.1335 (b)	15.052 (a)	11.789 (c)	12.083 (c)
Nb.B.laire	9.078 (a)	7.297 (b)	5.566 (c)	7.736 (a, b)	6710 (b, c)	7.027 (b, c)
Nb.f/Pl	7.763 (b)	11.811 (a)	8.367 (b)	6.026 (b, c)	4.658 (c)	3.733 (c)
Nb.B.IIIaire	0.894 (b)	2.513 (a)	0.566 (b)	1.076 (b)	0.394 (b)	0.583 (b)

Les valeurs marquées avec la même lettre ne sont pas significativement différentes.



Figure 2. Port spiralé.



Figure 3. Port prostré.

Indice de proximité

La représentation schématique des indices de proximité est traduite sous forme de dendrogramme. Pour les mesures effectuées au premier mois (Figure 4), nous constatons qu'au seuil de 39 % de ressemblance, les accessions du Nord, du Centre et du Sud se ressemblent et forment un seul groupe. A un niveau plus élevé de proximité et au seuil de 50 % de ressemblance, deux groupes s'individualisent :

- l'un est formé par les accessions du Sud et une accession du Centre (L-17-89),
- l'autre groupe englobe les accessions du Nord et la L-30-89 du Centre.

Au niveau de proximité légèrement supérieur à 75 %, quatre groupes sont formés :

- un premier groupe très homogène constitué de L-07-89 et L-12-89,
- un deuxième groupe comprenant une accession du Nord (L-26-89) et une accession du Centre (L-30-89),
- les accessions L-33-89 et L-17-89 forment respectivement le troisième et le quatrième groupe.

Le dendrogramme construit à partir des données mesurées au deuxième mois est représenté dans la Figure 5. Au seuil de 46 %, les lentilles tunisiennes se ressemblent. Ainsi les accessions des différentes régions géographiques forment un seul groupe. A un seuil de 50 % de ressemblance, il y a divergence totale entre les accessions du Nord et celles du Centre et du Sud qui restent jointives en formant un groupe à part.

A un seuil supérieur à 76 %, les accessions du Sud et du Centre se scindent pour former deux groupes séparés. Les accessions du Nord forment chacune un groupe à part. Nous remarquons que les caractères étudiés présentent une homogénéité pour les accessions à issue très proche. L'hétérogénéité des accessions du Nord peut s'expliquer par l'influence humaine. En effet, ces accessions ont fait l'objet d'un programme de sélection et d'amélioration intensif en se basant sur des caractères morphologiques et culinaires différents et à bénéfice commercial important.

Pour le troisième mois (Figure 6), au seuil de 53 % de ressemblance, toutes les accessions se ressemblent. A un indice de proximité de 60 %, les accessions du Sud forment un groupe homogène. A 63 % de ressemblance, les accessions L-26-89 et L-30-89 forment un premier groupe. Un deuxième groupe est constitué par les accessions L-33-89 et L-17-89. Au-delà de 63 % de ressemblance, les accessions L-26-89 et L-30-89 se dissocient entre elles. La L-33-89 et la L-17-89 ne se détachent l'une de l'autre qu'à un indice de proximité supérieur à 81 %.

Pour le dendrogramme englobant les différents caractères étudiés à différents stades de développement végétatif (Figure 7), les accessions d'origine géographique proche montrent une certaine analogie morphologique à des indices de proximité différents. Ainsi à un indice de proximité de 50 %, toutes les accessions forment un seul groupe.

A 65 % de ressemblance, nous remarquons deux groupes :

- un groupe avec les accessions du Sud (L-07-89 et L-12-89),
- un deuxième groupe rassemblant les accessions du Centre et du Nord (L-17-89, L-30-89 et L-26-89, L-33-89).

A 70 % de ressemblance trois groupes sont constitués selon les régions géographiques :

- un groupe du Sud (L-07-89 et L-12-89),
- un groupe du Centre (L-17-89 et L-30-89),
- un groupe du Nord (L-26-89 et L-33-89).

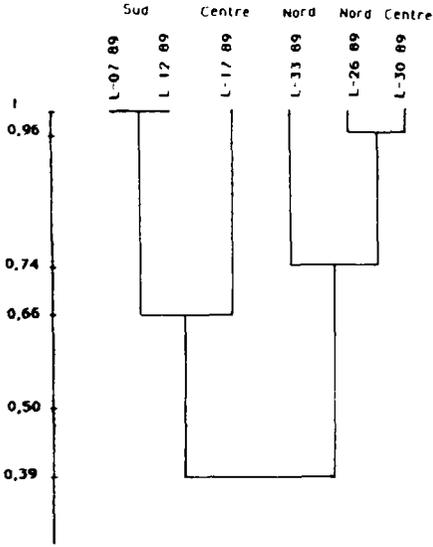


Figure 4. Dendrogramme de proximité construit à partir des caractères morphologiques mesurés au stade 1 mois.

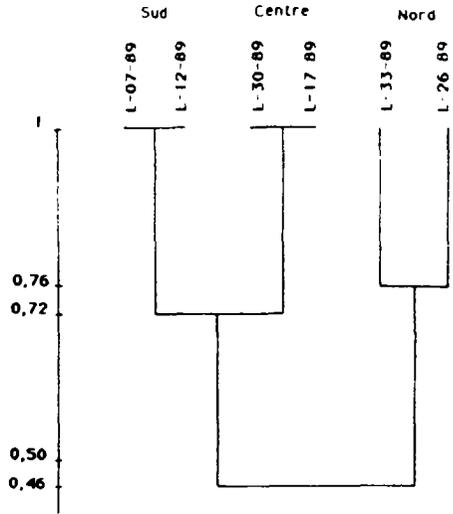


Figure 5. Dendrogramme de proximité construit à partir des caractères morphologiques mesurés au stade 2 mois.

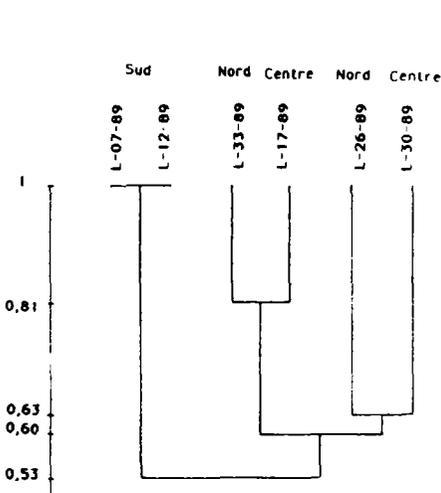


Figure 6. Dendrogramme de proximité construit à partir des caractères morphologiques mesurés au stade 3 mois.

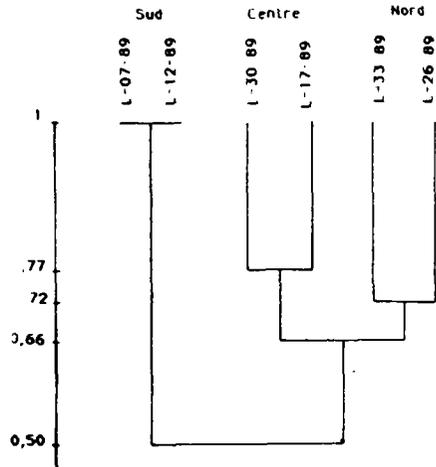


Figure 7. Dendrogramme de proximité basé sur la totalité des caractères morphologiques durant les trois premiers mois du développement végétatif.

Par conséquent, nous remarquons qu'aux différents stades étudiés, les accessions du Sud manifestent une ressemblance très nette pour les caractères étudiés. Ce qui laisse supposer que celles-ci dérivent d'une même variété ayant été disséminée dans les régions du Sud tunisien. En outre, ces deux accessions échappent à la forte contrainte de sélection et d'amélioration, ce qui laisserait leur patrimoine génétique uniforme et sans modification.

Autres caractéristiques

Durant le développement végétatif, les plantules des accessions du Sud sont assez petites avec des feuilles qui se terminent par des vrilles. En outre, elles présentent une forte pigmentation et elles sont dépourvues de branches. L'accession L-33-89 du Nord se caractérise par la dominance totale de la hauteur de la tige principale. Ses feuilles jeunes se terminent aussi par des vrilles. Quant à l'accession L-26-89, elle se caractérise par un grand nombre de branches primaires et secondaires.

Les accessions du Centre présentent une pigmentation qui finit par disparaître au stade fructification. Les accessions étudiées présentent une différence significative pour la longueur des entre-nœuds. Cette dernière est faible chez les accessions du Sud, et très élevée chez l'accession L-33-89. Cependant, elle est presque la même entre les accessions du Centre et la L-26-89.

Les données des autres paramètres mesurés sont mentionnées dans le Tableau VII.

Tableau VII. Données des autres paramètres mesurés.

Accessions	Ip.50 %	Nb.fl/pd.	Cl.fl.	Poids.100 grains
L-33-89	14 jours	1 à 5	bleu violacé	4,859 g
L-26-89	12 jours	1 à 4	bleu violacé	7,153 g
L-30-89	25 jours	1 à 4	blanche	6,713 g
L-17-89	23 jours	1 à 4	blanche	6,650 g
L-07-89	5 jours	1 à 3	bleu violacé	1,895 g
L-12-89	7 jours	1 à 4	bleu violacé	2,168 g

Nous constatons que les accessions du Sud présentent un indice de précocité de la floraison de 5 et 7 jours respectivement pour L-07-89 et L-12-89, alors que les accessions du Nord ne fleurissent qu'au bout de 14 jours pour la L-33-89 et 12 jours pour la L-26-89. Les accessions du Centre se caractérisent par un indice de précocité assez long.

En ce qui concerne la couleur des fleurs, nous avons noté que les accessions du Centre se distinguent par des fleurs blanches de celles du Nord et du Sud qui présentent des fleurs bleu-violacé. Le nombre de fleurs par pédoncule paraît semblable entre les accessions étudiées.

Les accessions du Sud présentent un poids de 100 graines relativement faible compte tenu de la petite taille de leurs graines. Ces accessions sont qualifiées de « Microsperma ». Les accessions du Centre et du Nord sont caractérisées par des graines plus grandes et sont dites « Macrosperma ».

Discussion, conclusion

Bien que le phénotype ne puisse pas expliquer des phénomènes aussi complexes, il nous a permis de dégager un ensemble de caractéristiques présentes chez certaines variétés et absentes chez d'autres et par conséquent une variabilité entre les accessions étudiées. Cette variabilité est bien décelable durant les premiers mois de développement végétatif. En effet, plus on avance dans ce développement, plus les accessions étudiées se ressemblent entre elles (39 %, 46 % et 53 % de ressemblance respectivement après 1, 2 et 3 mois de développement).

Ainsi nous avons déterminé l'aspect prostré chez les accessions du Sud, l'aspect spiralé chez une variété du Nord (L-33-89) et l'aspect érigé chez les variétés du Centre. Aussi nous avons remarqué la grande taille de la tige principale des accessions du Nord et du Centre, en revanche une petite taille a été observée chez les accessions du Sud.

De même la dimension des graines a été trouvée de l'ordre de 3 à 6 mm chez les accessions du Sud, alors qu'elle est de 6 à 9 mm chez celles du Centre et du Nord. Cela montre la relation étroite entre la dimension des graines et la vigueur de la plante comme cela a été rapporté par [1, 13, 15].

Les variétés à graines larges présentent un retard dans la floraison et leur nombre de gousses et de graines reste assez limité. Cela laisse supposer que la coïncidence des périodes critiques de ces plantes (floraison et maturité) avec les températures relativement élevées du mois de mars et d'avril entraîne une chute accrue de fleurs et de gousses avant remplissage. Une telle constatation a été rapportée par [2, 11, 12].

L'indice de floraison de 50 % de la population est faible chez les variétés du Sud, moyen chez celles du Nord et assez élevé chez les accessions du Centre.

Ces critères morphologiques étudiés ont montré une diversité entre les accessions qui ont tendance à se regrouper selon leurs origines géographiques, surtout pour les accessions du Sud qui manifestent une ressemblance très nette. Ce qui suppose probablement que la L-07-89 et la L-12-89 proviennent d'une même variété ayant été disséminée dans les régions du Sud tunisien.

Références

1. Agrawal PK (1982). The effect of seed size on germination vigor and field emergence of lentil. *Lens* 9 : 28-29.
2. Ahlawat IPS, Singh A, Sarah C (1982). Yield of lentil cultivar as affected by date and rate of seeding under late sown condition. *Indian J Agronomy* 27 : 257-262.
3. Bhaty RS (1988). Composition and quality of lentil (*Lens culinaris Medik*). *Can Inst Food Sci Technol J* 21 (2) : 144-160.
4. Dagnelie P (1965). A propos de quelques méthodes de comparaison multiple de moyennes. *Biom Pracsim* 6 : 115-124.
5. Dagnelie P (1975). *Théories et méthodes statistiques*. Vol. 2. Presse Agronomique de Gembloux : 463 p.
6. Hussaini SH, Goodman MM, Timothy DH (1977). Multivariate analysis and the geographical distribution of the world collection of finger millet. *Crop Sci* 17 : 157-163.
7. Islam R (1981). Improved nitrogen fixation. In : Weeb C, Hawtin C, eds. *Lentils*. Commonwealth Agriculture Bureaux : 155-161.
8. Morishima H, Oka HI (1961). The pattern of inter-specific variation in the genus oryza : its quantitative representation by statistical methods. *Evolution* 14 : 153-165.

9. Pernes J (1972). Organisation évolutive d'un groupe préférentiellement agamique : la section des maximae du genre *Panicum* (Graminées). Thèse de Doctorat d'État. Univ. Paris-Sud. Centre d'Orsay.
10. Saxena MC, Hawtin GC (1981). Morphological growth patterns. In : Weeb C, Hawtin C, eds *Lentils*. Commonwealth Agricultural Bureaux : 93-52.
11. Sharma SK, Sharma B (1982). Induced early mutants in large seeded lentil. *Indian J Agricult Res* 16(2) : 79-82.
12. Shrivastava GP (1979). Effect of dates of sowing and raw spacing on the performance of lentil varieties. *Indian J Agronomy* 24 (4) : 458-459.
13. Solh M (1980). Classification of large and small seeded lentils by seed weight. *Lens* 7 : 23.
14. Somayajulo PLN, Joshi AB, Murty BR (1970). Genetic divergence in wheat. *Indian J Genet Plant Breed* 30 : 47-58.
15. Waldia RS, Singh VP, Kharb RPS (1988). Stability of seed yield of some lentil genotypes in relation to seed weight. *Lens News Letter* 15 (1) : 17-19.

8

Le caroubier en Tunisie : situation et perspectives d'amélioration

MOHAMED NEJIB REJEB

Centre de Recherches du Génie Rural, BP 10, Ariana, Tunisie.

Le matériel végétal utilisé est le caroubier *Ceratonia siliqua* L. C'est un arbre de la famille des légumineuses, de la sous-famille des Césalpinées. Il peut atteindre une quinzaine de mètres de hauteur, à cime très étalée et se rencontre essentiellement dans les régions de basse altitude. Son tronc à la base peut avoir 2 mètres de circonférence et sa longévité est considérable (jusqu'à 200 ans).

Répartition biogéographique

Le caroubier est un arbre typiquement méditerranéen (Figure 1). Les plantations artificielles dépassent souvent l'aire de répartition naturelle. Il a été largement diffusé par les Arabes et les Berbères dans la péninsule ibérique. On le rencontre actuellement en allant de l'Espagne et du Portugal jusqu'en Turquie, en Syrie, en Yougoslavie en passant par le Maroc, l'Algérie, la Tunisie, la Libye, l'Égypte, la Grèce, la Crète, Chypre, l'Italie et la France (Figure 1). Le caroubier a été introduit aussi avec succès dans plusieurs autres pays ayant des régions à climat méditerranéen. On peut citer l'Australie, l'Afrique du Sud, les États-Unis (Arizona, Californie du Sud), les Philippines et l'Iran [2].

En Tunisie (Figure 2), le Caroubier croît dans les conditions naturelles à l'état sauvage en association avec l'olivier et le lentisque. Il est bien défini dans les étages humide, sub-humide, et semi-aride supérieur, à variante chaude à tempérée [8]. On le rencontre aussi en mélange avec *Callitris articulata* au niveau des pentes, et avec des

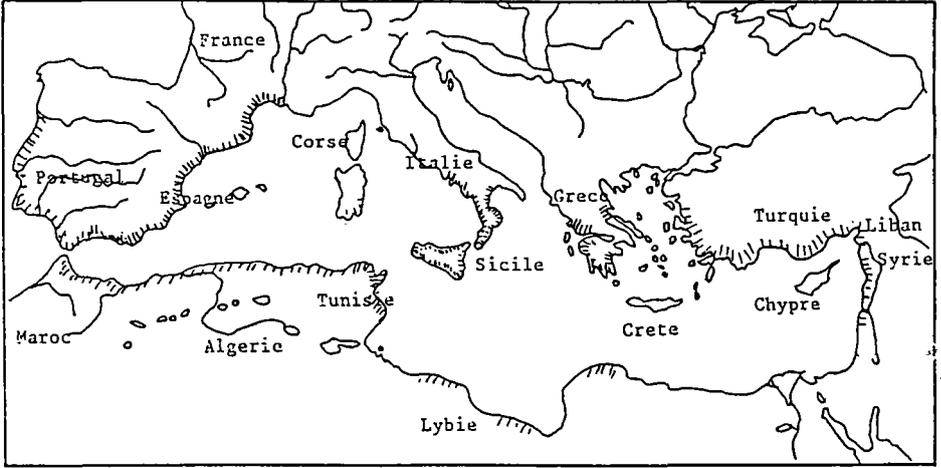


Figure 1. Répartition du Caroubier en Méditerranée.

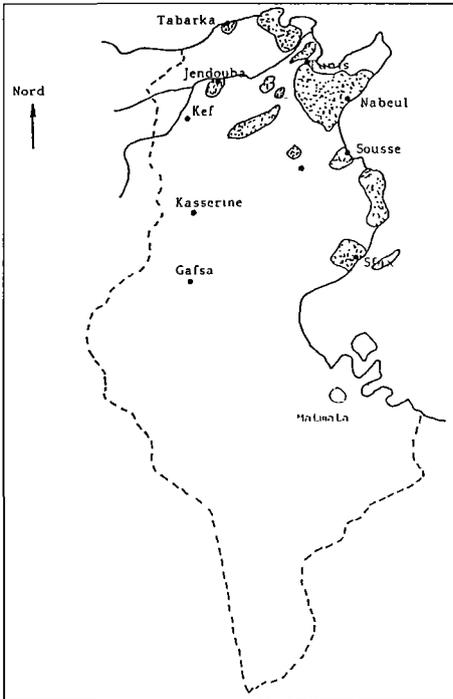


Figure 2. Répartition du Caroubier en Tunisie

espèces humicoles et sciaphiles au fond des vallées. La forêt naturelle est presque entièrement défrichée et transformée en cultures annuelles, parcours, vignobles et plantations d'oliviers. Il est de plus en plus difficile de retrouver la végétation forestière d'origine.

La culture du caroubier en Tunisie ne présente actuellement que peu d'importance. On le rencontre souvent le long des côtes de Tabarka à Matmata, là où la pluviosité dépasse 200 mm et où les hivers ne sont pas froids. Son aire de répartition correspond au bioclimat de type méditerranéen avec un été sec soumis à l'humidité atmosphérique apportée par la mer. Les gelées sont rares ou inexistantes.

Le caroubier s'adapte à plusieurs types de sols à l'exception des sols hydromorphes et salés et sur les croûtes schisteuses. On le rencontre sur sols marneux, sur sols pauvres superficiels et rocaillieux calcaires, sur des pentes rocheuses, des escarpements peu accessibles et des collines incultes. On l'a retrouvé au nord du Djebel Abderrahman sur des sols marneux. Il peut monter jusqu'à 950 mètres près de Djebel Serj [6]. Au sud du Djebel Abderrahman, on l'a rencontré sur des sols à croûtes calcaires, sur des calcaires marneux, des grès, du sable limoneux dans les régions de Zaghouan, Enfidha, Saouaf et la plaine de Kairouan.

Biologie de *Ceratonia siliqua*

Les feuilles du caroubier sont composées, persistantes, vertes, luisantes sur la face dorsale, plus claires et mates sur la face ventale, à folioles ovales entières légèrement échancrées au sommet, paripennées. La feuille est composée de 4 à 10 folioles glabres.

Floraison

L'arbre est dioïque, parfois hermaphrodite. Les pieds mâles sont stériles et improductifs. Cet aspect a été bien étudié par Schroeder [10] sur 59 clones méditerranéens introduits en Californie.

La floraison apparaît en hiver, sur le vieux bois. Les fleurs verdâtres sont petites et réunies en grand nombre pour former des grappes droites et axillaires plus courtes que la feuille à l'aisselle desquelles elles se sont développées. La corolle est absente. Il y a 5 étamines. Les grains de pollen peuvent germer facilement selon Sfakiotakis [11].

Le développement du fruit est très long. Pour arriver à maturité (été), il met généralement entre 9 et 10 mois. Il est de grande taille : de 10 à 20 cm de longueur, et de 2 à 3 cm de largeur. Il est vert puis brun, et, au moment de la maturité, brun foncé à noir. Il est sinueux sur les bords, aplati et présente un tissu pulpeux, sucré, rafraîchissant, et renferme de 12 à 16 graines brunes. La gousse est séparée à l'intérieur par des cloisons pulpeuses. Les graines ou carats ont servi aux joailliers pendant longtemps d'unité de poids pour peser les diamants, les perles et les pierres précieuses : (1 carat = 205,3 mg). Jusqu'à présent le poids des diamants est désigné en « carats ». La valeur du fruit réside dans sa richesse en sucre. L'âge d'une première fructification normale d'un caroubier de semis est de 10 ans. Le fruit récolté attend la complète dessiccation avant le stockage. Le rendement est variable selon les provenances, les bioclimats, les substrats et l'âge des arbres. Le rendement moyen est de 50 q/ha et de 200 à 300 kg par arbre adulte ; ce rendement important se maintient jusqu'à l'âge de 100 ans. Les pays les plus gros producteurs de caroubiers sont Chypre et l'Espagne. La production

du caroubier est bisannuelle. Cependant, dans les plantations bien conduites, on peut avoir une régularité dans la production et un rendement annuel satisfaisant.

Les utilisations du caroubier

Le caroubier peut être cultivé en arbre isolé comme arbre ornemental, pour son ombrage, en alignement, comme arbre d'allée (Menzel Bourguiba, Californie) et en verger comme plantation homogène de production (Espagne, Portugal, Crète).

Selon Lavallée [3], son bois est rarement sain sur une grande longueur et craint l'humidité. Le bois jeune est blanc jaunâtre et rouge foncé quand il est utilisé en ébénisterie et surtout comme bois de chauffe.

Le caroubier est beaucoup utilisé en alimentation humaine et animale. Les fruits entrent dans la composition de plusieurs menus et pâtisseries et sont aussi consommés crus. L'arbre a une valeur fourragère comparable à celle de l'orge (1 UF/kg de matière sèche) et peut contribuer à l'amélioration des ressources pastorales du pays. La valeur fourragère, citée par Lepoutre, Schoenenberger [4] et Putod [7], est, pour les feuilles, de 0,29 UF/kg de matière sèche, et, pour les gousses, de 1,15 UF/kg de matière sèche. Les gousses séchées, entières ou découpées, sont mélangées à du concentré et données aux chevaux, aux bovins, ovins, aux porcs et aux volailles.

La farine du fruit est utilisée en pharmacopée contre les troubles gastro-intestinaux (diarrhée des nourrissons). La pulpe est recommandée contre la tuberculose pulmonaire et les affections des bronches. L'écorce est réputée astringente. Les utilisations industrielles sont aussi nombreuses. Une bonne partie de la récolte est distillée pour la fabrication d'alcool à raison de 20 à 25 l d'alcool par 100 kg de pulpe [2].

La richesse du fruit en sucres peut permettre selon Baumgartner *et al* [1] de détecter l'addition de farine de caroubier au cacao dont l'utilisation commerciale est importante.

La graine contient des gommages qui ont de nombreuses utilisations. Selon Coit [13], une tonne de caroube chypriote donne 20 kg de gommages utilisées en imprimerie, photographie, matière plastique, encre, cirage, cosmétique et surtout en industrie alimentaire (sauce, mayonnaise, glace...). Selon Tichor [12], le taux de gomme par graine varie selon les pays et les provenances, il est de 30 % à Chypre et de 50 % en Grèce. En Tunisie, Égypte et certains autres pays méditerranéens, on extrait des fruits de caroubier un sirop et on fabrique des boissons désaltérantes très appréciées. L'écorce a été longtemps utilisée en tannerie.

Culture

Le caroubier peut se multiplier par semis, par bouture ou par greffe. La technique la plus utilisée est la multiplication par semis. Le bouturage est moins utilisé parce qu'il demande beaucoup plus de soins ; il a été pratiqué surtout par les Italiens. La greffe est employée à la suite des semis pour surgreffer les pieds mâles par les femelles. L'espacement entre les arbres diffère d'une région à une autre selon la nature du terrain et selon la disponibilité en eau. Il y a des plantations de 10 m sur 10 m (100 pieds à l'hectare), de 12 m sur 12 m (70 pieds à l'hectare), de 15 m sur 15 m (44 pieds à l'hectare). En Californie, la densité est encore plus faible (20 pieds à l'hectare). A Chypre, ils sont plantés à 20 m (25 arbres à l'hectare).

Physiologie de la sécheresse du caroubier

Sur le plan anatomique et morphologique, les feuilles de caroubier sont composées et recouvertes par une couche lisse et épaisse de cire. Elles sont hypostomatées et la densité stomatique est de 217 stomates au mm^2 , de $17,5 \mu$ de longueur. Ce nombre élevé de stomates constitue un caractère de xéromorphie [5].

Le caroubier retarde la déshydratation en améliorant l'absorption par des adaptations morphologiques et physiologiques.

Si la sécheresse estivale n'est pas très importante, les adaptations morphologiques mises en place par la plante pour améliorer l'absorption de l'eau suffisent pour passer le cap de l'été. Les stomates demeurent ouverts, le système racinaire est très développé et permet un approvisionnement permanent en eau, les surfaces de contact des feuilles sont réduites par de légers mouvements d'enroulement des feuilles ; un dépôt de cire important réduit les pertes en eau. Cette stratégie adaptative est suffisante pour supporter la sécheresse estivale dans les bioclimats subhumide et semi-aride supérieur.

Si la déshydratation est prononcée, les stratégies décrites plus haut ne suffisent plus, la plante va mettre au point des adaptations physiologiques. Les stomates qui étaient jusque-là ouverts vont commencer à se fermer pour limiter la déshydratation des tissus. Ces mouvements stomatiques résultent de la différence de potentiel de turgescence entre les cellules stomatiques de garde et les cellules compagnes. Cette stratégie est nécessaire pour les espèces des bioclimats arides [9].

L'application d'un deuxième cycle de sécheresse a provoqué une fermeture stomatique moins importante que celle enregistrée au premier cycle de déshydratation. Après arrosage, nous avons obtenu un sucroît d'ouverture stomatique. Ces faits peuvent traduire une bonne récupération et un durcissement des feuilles.

La récupération d'un certain nombre de processus foliaires, tels que l'activité photosynthétique et la conductance stomatique, indique que malgré la sévérité du stress, un certain nombre de dispositifs foliaires ont préservé leur intégrité structurale et fonctionnelle, en d'autres termes, que le caroubier est apte à manifester, lorsque les conditions le permettent, un certain degré d'endurcissement à la sécheresse.

Les valeurs de potentiel osmotique à turgescence nulle des différents caroubiers tunisiens sont comprises entre $-2,4$ et $-2,7$ MPa [9]. Ces valeurs sont inférieures à celles trouvées par d'autres auteurs sur des caroubiers portugais et italiens, ce qui peut se traduire par le maintien d'une turgescence élevée des feuilles des caroubiers tunisiens, d'un appel d'eau plus fort, donc d'une alimentation hydrique plus poussée et d'une meilleure adaptation à la sécheresse. Le contenu relatif en eau à turgescence nulle est élevé pour toutes les provenances étudiées ; la turgescence s'annule quand le contenu relatif en eau est encore voisin de 90 % pour les témoins, et 87 % pour les plantes déshydratées. Ces résultats supposent une bonne alimentation en eau du caroubier et nous orientent vers une stratégie préférentielle d'évitement de la sécheresse (*Water spenders*).

Conclusions

Le caroubier est une espèce agro-sylvo-pastorale. Les facteurs anthropiques contribuent largement à son élimination du paysage floristique tunisien. Dans les conditions naturelles, on le rencontre à l'état sauvage en association avec l'olivier et le lentisque, et en mélange, avec le Callitris, mais le défrichement de ces associations, à la faveur des

cultures vivrières et des arbres fruitiers, rend cette végétation de plus en plus rare en Tunisie. Les utilisations de cette essence sont pourtant nombreuses et sa valeur fourragère peut contribuer à l'amélioration des potentialités pastorales du pays. L'importance économique des fruits est incontestable et explique la culture en irriguée du caroubier au Portugal, en Espagne et en Crète.

Le caroubier se comporte comme une véritable espèce résistante à la sécheresse en s'adaptant morphologiquement et physiologiquement au manque d'eau.

Les principales adaptations peuvent se résumer comme suit :

- les stomates sont situés sur une seule face,
- le nombre de stomates est assez élevé et ils sont de petites tailles,
- le système racinaire est développé,
- un dépôt de cire important,
- les mouvements stomatiques sont très sensibles au VPD,
- l'assimilation et les échanges gazeux dépendent de l'état hydrique général.

Au terme de cette étude, plusieurs questions restent posées :

- l'étude du système racinaire,
- l'évaluation des réservoirs hydriques du bois,
- les mouvements d'osmorégulation se sont avérés absents au niveau foliaire, et il est souhaitable de vérifier ce résultat au niveau racinaire.

Références

1. Baumgartner S, Genner-Ritzman R, Haas J, Amado R, Neukom H (1986). Isolation and identification of cyclitols in Carob pods (*Ceratonia siliqua* L.). *J Agr Food Chem* 34, 5 : 827-829.
2. Evreinoff VA (1947). Agriculture tropicale Le Caroubier ou *Ceratonia siliqua* L. *Rev Bot Appl* : 389-401.
3. Lavallée P (1962). Le Caroubier, son utilisation dans l'alimentation du bétail en Algérie et en Tunisie. Alger, 47 p.
4. Lepoutre B, Schoenenberger A (1978). *Guide pratique de forestier au Maroc*. Ch II, 102 p.
5. Ludlow MM (1980). Adaptive significance of stomatal responses to water stress. In : Turner NC, Kramer PJ, eds. *Adaptation of plants to water and high temperature stress*. Inter Science NY : 123-138.
6. Nabli A (1989). Essai de synthèse sur la végétation et la phyto-écologie tunisienne. I. Éléments de botanique et de phyto-écologie. *MAB-FST-Laboratoire de botanique fondamentale et appliquée*. 70 pl., 247 p.
7. Putod R (1982). Les arbres fourragers. *Forêt méditerranéenne*, IV, 1 : 33-36.
8. Rejeb MN (1989). Mécanismes physiologiques d'adaptation à la sécheresse du Caroubier. *Rev Res Amélior Prod Milieu Aride* 1 : 47-55.
9. Rejeb MN (1992). Étude des mécanismes de résistance à la sécheresse du Caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) en Tunisie. Thèse Doc. d'État. Fac. des Sciences de Tunis, 199 p.
10. Schroeder CA (1959). The floral situation of the Carob in California. *Proc Am Soc Hort Sci* 74 : 248-251.
11. Sfakiotakis EM (1978). Germination *in vitro* of Carob (*Ceratonia siliqua* L.) pollen. *Z Pflanzenphysiol* 89 : 443-447.
12. Tichor RJ (1958). Report to the government of Cyprus on Carob production. Rome FAO. 58/10/7910.
13. Coit (1967).

***Contrainte hydrique progressive et prolongée
(Arrêt d'arrosage)***

Tolérance particulière des provenances du sub-humide et du semi-aride

Application d'un 2^e cycle de sécheresse

Un durcissement des feuilles de caroubier

Y_0 et RWC peu différents entre témoins et contraints

Les mouvements de synthèse et d'hydrolyse des sucres faibles

Absence d'osmorégulation

Le bois du tronc et des branches

Peuvent constituer des réservoirs d'eau

Contribuent au maintien d'un RWC élevé

Les provenances du sub-humide et semi-aride retardent la déshydratation en l'évitant et en améliorant l'absorption d'eau

Contrainte sévère (aride)

Stratégie basée sur l'économie de l'eau

Les plantes se comportent comme de véritables résistantes à la sécheresse en s'adaptant morphologiquement et physiologiquement au manque d'eau

Les différentes catégories d'adaptation ne sont pas exclusives

Stress

Caroubier peut se comporter de plusieurs manières

Stratégie d'esquive	Stratégie de gaspillage	Régulation osmotique	Tolérance protoplasmique
	<i>Water spenders</i>	<i>Water savers</i>	<i>Water tolerance</i>
Perte des vieilles feuilles	Système racinaire très développé		

9

L'artichaut (*Cynara scolymus* L.) : plante récalcitrante

M. E. KCHOUK¹, M. V. GONZALEZ², A. MLIKI¹, A. CHATIBI¹,
R. TAVAZZA², G. ANCORA², A. GHORBEL¹

1. INRST, Laboratoire de culture in vitro, BP 95, 2050 Hammam-Lif, Tunisie.
2. ENEA, Dipartimento Ricerca e Sviluppo Agroindustriale, Divisione Ingegneria Genetica, CP 2400 Roma AD, Italie.

Résumé

L'artichaut (*Cynara scolymus* L.) est une plante à multiplication végétative pour laquelle la culture in vitro d'apex méristématiques a ouvert de nouveaux horizons. En effet, aujourd'hui il est devenu possible de multiplier rapidement un génotype intéressant et donner ainsi naissance à un cultivar homogène. Il est également devenu possible d'obtenir par cette technique des plants sains indemnes de virus. Toutefois, dans le cas du virus latent de l'artichaut (ALV : artichoke latent virus) et très probablement de tous les types de virus de l'artichaut, l'assainissement par vitrothérapie n'est que relatif et ne va pas au-delà de la deuxième année de culture. En outre, la culture in vitro s'accompagne d'une perte de conformité variétale plus ou moins marquée selon les zones de culture. Il est donc devenu impératif de trouver une voie d'amélioration génétique ponctuelle, en mesure de conférer la résistance génétique aux virus sans altération aucune de la variété, d'où le recours à la transformation génétique.

Le système *Agrobacterium tumefaciens* est utilisé pour essayer de transférer un matériel génétique défini. Plusieurs souches bactériennes sont employées en fonction de leur virulence.

De plus, nous nous sommes également intéressés au procédé de bombardement de microprojectiles pour la transformation directe d'explants d'artichaut. Les résultats semblent indiquer que l'artichaut, dans le contexte de la transformation génétique, pourrait être placé dans le groupe des plantes récalcitrantes.

La multiplication végétative de plants d'artichaut par culture *in vitro* de méristèmes a permis l'obtention de plants sains [1, 2, 4, 5] qui eut pour conséquence une augmentation de la production. Toutefois, outre la recontamination virale observée dès la seconde année de culture, on remarque une détérioration plus ou moins marquée des caractéristiques variétales telles que la précocité ou la forme du fruit [4, 13]. La recherche d'une résistance génétique par voie sexuée se heurte, quant à elle, à diverses difficultés liées à la biologie florale de l'espèce [3] et aux inconvénients de la sélection classique. En revanche, la transformation génétique semble être *a priori* une voie assez efficace pour répondre aussi bien aux facteurs de résistances virales qu'à ceux de la production. En effet, il est aujourd'hui établi que la présence de la protéine capsidiale de certains virus chez les plantes leur procurerait une résistance plus ou moins spécifique au virus en question, ou même à une gamme de virus [11]. Ainsi, afin de résoudre certains problèmes phytosanitaires de l'artichaut, Tavazza *et al.* [15] ont séquencé le gène de la protéine capsidiale de l'AMCV (*artichoke mottled crinkle virus*). Parallèlement, Ordas *et al.* [12] ont mis au point une technique de régénération de plants d'artichaut cv. Romanesco à partir de bractées. Il en a été de même pour le cultivar Violet d'Hyères [7].

Dans le présent travail, nous nous sommes intéressés aux possibilités de transformation génétique de divers explants d'artichaut par biolistique et par agroinfection, en utilisant diverses souches d'*Agrobacterium tumefaciens* comportant divers plasmides.

Matériel et méthodes

Matériel végétal

• *Cultivars*

Les divers explants appartiennent à trois cultivars et deux clones, à savoir : cv. Romanesco (CR), cv. Violet d'Hyères (VH), cv. Violet de Provence (VP), clone Fb13A et clone C3. Le clone Fb13A est issu du cv. Romanesco par culture de bractées alors que le clone C3 provient d'une sélection classique dans le même cultivar.

• *Explants*

Mis à part les **bractées**, qui sont collectées au champ le jour même de leur mise en culture, tous les explants utilisés proviennent de matériel néoformé *in vitro* à partir de bractées et entretenu en chambre de culture.

– **Les bractées et cals morphogénétiques** : ce sont les seuls explants qui possèdent des potentialités régénératrices. Toutes les étapes de culture *in vitro* des **bractées** sont celles décrites par Ordas *et al.* [12].

– **Les « disques »** : nous avons donné cette appellation à un explant en forme d'anneau obtenu après une coupe transversale à la base d'une plante *in vitro*. Le disque possède une épaisseur de 3 à 4 mm et représente un entassement d'entre-nœuds au niveau desquels se trouvent les **méristèmes** axillaires. C'est souvent le point de départ d'une micropropagation. Chaque disque est cultivé sur B5/N2 ou N5/B2 (Tableau I), pour donner 3 ou 4 plantes.

– **Les feuilles jeunes** : elles sont prélevées sur les jeunes plantes issues des « disques » précédemment décrits. A leur base se trouvent souvent quelques **méris-**

tèmes axillaires que l'on préserve lorsqu'on détache soigneusement la feuille de la tige. Les tissus avoisinant ces méristèmes constituent souvent le point de départ de nouveaux cals non morphogénétiques.

Tableau I. Composition des milieux de culture

Milieu de culture	B5/N2	N5/B2	A-0,5/B-0,5
	mg. l ⁻¹	mg. l ⁻¹	mg. l ⁻¹
Sels minéraux et vitamines	MS	MS	MS
AIB	–	–	0,5-
ANA	2,0	5,0	
BAP	5,0	2,0	0,5
Saccharose	30 000	30 000	20 000
Agar	8 000	8 000	8 000
pH	5.8	5.8	5.8

MS : Murashige et Skoog basal medium (SIGMA, M 5519). AIB = Acide 4-(3-indolyl)-butyrique; ANA = Acide 4-naphtyl-acétique; BAP = 6-benzyl-amino-purine.

Milieux de culture *in vitro*

Les milieux de culture utilisés sont ceux décrits par Ordas *et al.* [12] (Tableau I). Les bractées, disques et feuilles jeunes sont cultivés indifféremment sur B5/N2 ou N5/B2 jusqu'au développement de nouvelles plantes. Celles-ci sont alors repiquées sur milieu A-0,5/B-0,5 (Tableau I). La température de la chambre de culture est de 18 °C et la photopériode est de 16 heures ; une intensité lumineuse de 12 W.m⁻² est assurée par des tubes fluorescents.

Agro-infection

Nous avons utilisé la souche C58C1 pGV3850 comprenant le vecteur binaire p35GUS-INT [16] portant la résistance à la kanamycine et le gène reporter GUS modifié (intron).

Après culture d'une nuit sur LB [14] à 28 °C et 250 rpm, la suspension bactérienne est centrifugée à 3000 g puis resuspendue dans une solution de coculture correspondant au milieu de culture de l'explant. Le temps de coculture varie de 3 à 14 minutes.

Dans le cas des bractées seulement, et afin de favoriser l'infection, on pratique sur les cals des blessures au scalpel ou au carborandum. Dans ce dernier cas, les cals sont mis dans des tubes de 50 ml (2098 Falcon) contenant une solution de carborandum 10 %, et les blessures sont opérées par agitation au vortex durant 1 à 3 minutes.

Au bout de 2 jours de coculture, on ajoute au milieu de culture de la vancomycine et du céfotaxime, à raison de 200 mg.ml⁻¹, afin d'éliminer les bactéries. La sélection d'explants transformés se fait par addition de la kanamycine à raison de 50 mg.ml⁻¹.

Biolistique

Le canon à particules utilisé est un PDS-1000/He, BIORAD (Figure 3). La préparation de l'ADN est effectuée selon la méthode décrite par Sambrook *et al.* [14]. L'ADN est précipité selon Klein *et al.* [8] sur des microparticules d'or de diamètres 0.6, 1.0 et 1.6 μm . La concentration finale d'ADN est d'environ 1,7 mg/mg d'or. Les pressions d'Helium utilisées sont : 450, 650, 900, 1300 et 1500 psi (pounds/square inch). La distance entre l'explant et l'écran d'arrêt des microparticules est de 6,9 ou 12 cm.

Deux tailles de plasmides ont été utilisées : le pBI121.1 (18 kb) qui dérive du pBI121 [6] et le pGEM121 (5 kb) qui dérive lui aussi du pBI121 par délétion de la séquence NPTII et transfert de la cassette 35SCaMV-GUS/NOS Ter dans le vecteur pGEM-11Zf(-), sites HindIII et EcoRI.

Test de l'activité β -glucuronidase

Les tests de l'activité β -glucuronidase sont effectués sur les feuilles d'explants d'artichaut ayant manifesté une résistance à la kanamycine ($50 \mu\text{g.ml}^{-1}$) durant 2, voire 3 repiquages. Le contrôle se fait sur des feuilles de *Nicotiana tabacum* préalablement transformées par le même vecteur.

Le substrat de l'enzyme (5-bromo-4-chloro-3-indolyl-b-D-glucuronic acid cyclohexylammonium salt, SIGMA) est préparé selon Jefferson *et al.* [6]. Les explants sont mis dans la solution de substrat à 37°C pendant 24 heures puis progressivement lavés à l'éthanol. Le dernier lavage se fait à l'éthanol 100 %. Pour les essais de biolistique, les spots bleus sont dénombrés sous la loupe.

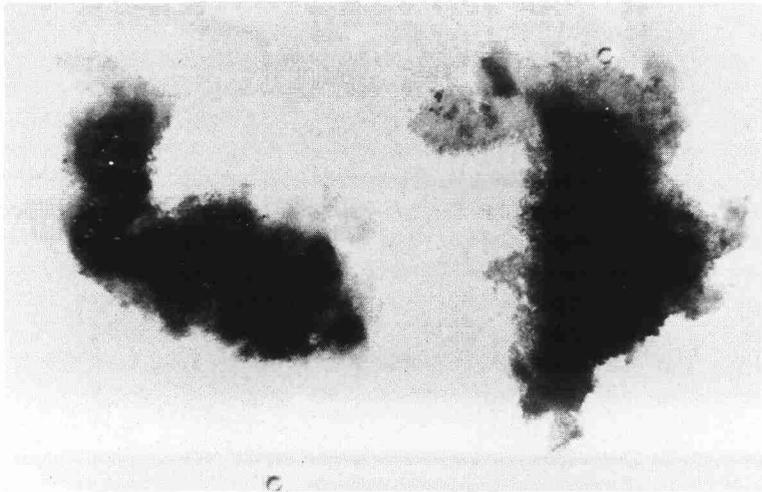


Figure 1. Cals issus de la base des feuilles sur jeunes plants *in vitro* et transformés par agro-infection. La photo montre l'expression de l'activité β -glucuronidasique du gène GUS (int).

Résultats et discussion

Agro-infection

Il a été jusque-là difficile d'obtenir des plantes transformées. En revanche, nous avons obtenu des cals transformés que nous entretenons depuis maintenant 6 mois (Figure 1). Les cals GUS-positifs (GUS+) ont été obtenus avec les cultivars Romanesco et Violet d'Hyères (Tableau II et III). Pour cela, nous avons constaté que le temps de coculture est de 6 minutes pour les deux cultivars. L'âge de l'explant au moment de la coculture est de 7 jours pour le Romanesco et de 29 jours pour le Violet d'Hyères. Le temps de sélection est de 10 jours après coculture pour Romanesco et de 17 jours pour le Violet d'Hyères.

La concentration idéale de sélection par la kanamycine a été établie séparément durant des essais de toxicité de cet antibiotique en utilisant trois concentrations : 25, 50 et 100 $\mu\text{g.ml}^{-1}$. Nous avons constaté qu'à 50 $\mu\text{g.ml}^{-1}$ la kanamycine est relativement toxique mais que sa diffusion vers les explants n'est pas régulière. C'est ainsi que, avant de pouvoir conclure sur une éventuelle transformation génétique, il est préférable de prolonger les tests de sélection durant 2 ou 3 repiquages.

A la suite de ces premiers résultats, nous pouvons tirer certaines conclusions très importantes pour la suite de nos travaux :

- le promoteur 35SCaMV fonctionne parfaitement dans les cellules de cals d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). Le vecteur binaire p35GUS-int [16] est un bon moyen d'identification des cellules transformées ;

- les cultivars d'artichaut ne répondent pas de la même façon à la coculture avec l'*Agrobacterium tumefaciens*. L'effet génotype a été déjà observé chez la laitue [9] et la pomme de terre [17]. A ce propos, l'état de développement de l'explant pourrait avoir un rôle assez important dans la réaction à l'infection bactérienne ;

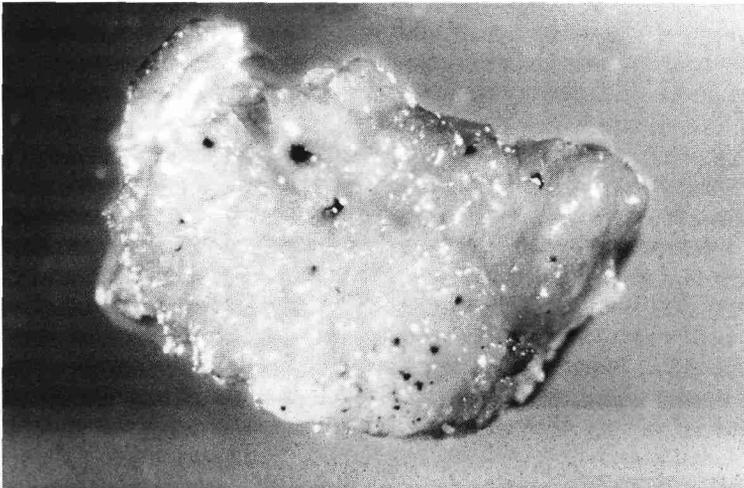


Figure 2. Cal issu de bractée, une semaine après mise en culture. Après bombardement au canon à particules, il est possible de tester l'activité β -glucuronidasique des cellules. La photo montre quelques cellules de ce type.

Tableau II. Agro-infection sur feuilles jeunes (cv. Romanesco).

Temps de coculture	Age de l'explant (jours)	Sélection Km ¹	Nombre d'explants initial	Activité GUS
3-4	27-28	18-20	163	0
6	7	10	11	4 cal^s2
6	14-16	10-12	38	0
6	26	12	34	0
6	35	12	14	0
6	49	10	79	? ³
10	21	11	72	0
14	13	12	55	0

1 : temps, en jours après coculture, de l'application de kanamycine 50 µg.ml⁻¹ dans le milieu. **2** : cal^s transformés, entretenus depuis 6 mois. **3** : tests en cours.

Tableau III. Agro-infection sur feuilles jeunes (cv. Violet d'Hyères).

Temps de coculture	Age de l'explant (jours)	Sélection Km ¹	Nombre d'explants initial	Activité GUS
4	22	12	32	0
6	7	10	30	0
6	21	10	36	? ²
6	28-29	15-17	153	5³
10	20	10	76	0

1 : temps, en jours après coculture, de l'application de kanamycine 50 µg. ml⁻¹ dans le milieu. **2** : tests en cours. **3** : cal^s transformés, entretenus depuis 6 mois.

- la kanamycine est efficace à 50 µg.ml⁻¹ mais les tests de sélection doivent être prolongés durant deux ou trois repiquages ;
- les délais de sélection par addition de kanamycine pourraient différer également avec le génotype : une semaine pour le Romanesco, 17 jours pour le Violet d'Hyères.

Biolistique

Les expériences de tirs sur des « disques » n'ont rien donné jusqu'à l'heure actuelle (résultats non publiés). Le tir sur des méristèmes s'avère en fait beaucoup plus aléatoire. En revanche, nous avons pu mettre en évidence une expression transitoire du gène GUS en tirant sur des cal^s organogènes issus de bractées (Figure 2, Tableau IV). Les meilleurs résultats ont été observés avec une pression d'hélium de 650 psi (pounds/square inch), l'explant étant placé à 6 cm de l'écran d'arrêt, support des micro-particules d'or enrobées d'ADN, le diamètre de celles-ci étant de 1,6 µm. La taille de

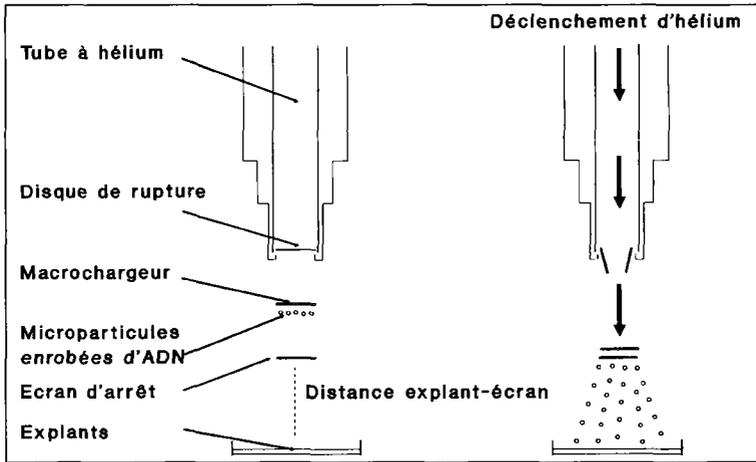


Figure 3. Représentation schématique du PDS-1000/He.

Tableau IV. Biolistique sur bractées (cv. Violet de Provence).

Plasmide	pHe ¹ (psi)	Écran ² (cm)	Bractées cibles ³	Bractées GUS+ ⁴	% bractées GUS+	Nombre de spots bleus ⁵
pGEM121	650	6	3	1	33	1
pBI121.1	650	6	3	1	33	1
pBI121.1	650	6	5	1	20	57
pGEM121	900	6	2	1	50	6
pBI121.1	900	6	5	2	40	6
pBI121.1	900	6	5	1	20	1
pBI121.1	900	6	8	1	13	1
pBI121.1	900	6	16	7	58	1 à 6
pGEM121	1 300	6	4	1	25	3

1 : pHe = pression d'hélium en pounds/square inch. **2 : Écran** = distance entre l'écran d'arrêt et l'explant en cm. **3 : bractées cibles** = nombre de bractées visées. **4 : bractées GUS+** = nombre de bractées montrant au moins un spot bleu à la loupe. **5 : nombre de spots bleus** observés sur une même bractée.

l'ADN utilisé ne semble pas influencer cette expression tant que la quantité d'ADN par mg d'or demeure constante (1,7 µg/mg d'or).

Ces premières informations confirment les premiers résultats obtenus par agro-infection, à savoir que le promoteur 35CaMV semble être un bon choix pour d'ultérieures constructions plasmidiques. Toutefois, l'expression transitoire est très irrégulière. En effet, dans un cas on a pu observer jusqu'à 57 spots bleus, alors que dans tous les autres cas nous avons rarement observé plus de 6 spots sur un même cal organogène. Cela pourrait être imputé en grande partie à la quantité impressionnante de compo-

sés polyphénoliques produits par tous les tissus de l'artichaut en général. L'observation de l'expression GUS devient parfois très difficile puisque dans beaucoup de cas, le cal est pratiquement noir.

Les expériences de biolistique sont très prometteuses puisqu'on s'adresse directement aux cals organogènes. Cependant, outre le pourcentage de régénération relativement réduit [7, 12], les chances d'atteindre celles des cellules qui donneront naissance aux plantes demeurent faibles, exception faite du cas où l'on observe 57 spots bleus (Tableau IV). Par ailleurs, les expériences en cours ne nous permettent point de nous avancer quant aux possibilités de transmission des gènes introduits.

Conclusion

L'introduction de gènes étrangers par *Agrobacterium tumefaciens* ou par biolistique est désormais possible chez l'artichaut (*Cynara scolymus* L.). Cependant, la suite de nos travaux est largement conditionnée par la difficulté de disposer régulièrement des explants indiqués. L'artichaut est, en fait, une espèce difficile à étudier. Les bractées, matériel très intéressant pour la régénération, ne sont disponibles qu'à des périodes limitées de l'année. Il serait alors préférable de se pencher sur le développement d'explants organogènes *in vitro*. Nous pensons qu'en matière de transformation génétique, et jusqu'à présent, l'artichaut pourrait être placé parmi les plantes récalcitrantes.

Références

1. Ancora G, Belli-Donini ML, Cuozzo L (1981). Globe artichoke plants obtained from shoot apices through rapid *in vitro* micropropagation. *Scientia Horticulturae* 14 : 207-213.
2. Draoui N, Ghorbel A, Kchouk ME (1993). *In vitro* culture of globe artichoke (*Cynara scolymus* L.) in Tunisia : utilization of vitromethods in artichoke improvement. *Agricoltura Mediterranea* 123 : 139-145.
3. Foury C (1967). Étude de la biologie florale de l'artichaut (*Cynara scolymus* L.). Application à la sélection. 1^{re} partie. *Ann Amel Plantes* 17 (4) : 357-373.
4. Ghorbel A, Chabbouh N, Draoui N, Cherif C, Kchouk ME (1993). *In vitro* culture of globe artichoke (*Cynara scolymus* L.) in Tunisia : contribution of the *in vitro* propagation in globe artichoke cleansing. *Agricoltura Mediterranea* 123 : 133-138.
5. Harbaoui Y, Samjin G, Welvaert W, Debergh PC (1982). Assainissement viral de l'artichaut par la culture *in vitro* d'apex méristématiques. *Phytopathol Mediter* 21 : 15-19.
6. Jefferson RA, Kavanagh TA, Bevan MW (1987). GUS-fusions : β -glucuronidase as a sensitive and versatile gene fusion marker in higher plants. *EMBO J* 6 : 3901-3907.
7. Kchouk ME, Ghorbel A, Chabbouh N, Tavazza R, Ancora G (1994). Morphogenèse *in vitro* de l'artichaut (*Cynara scolymus* L.) cv. Violet d'Hyères. *Biologia*, sous presse.
8. Klein TM, Gratzel T, Fromm ME, Sanford JC (1988). Factors influencing gene delivery into *Zea mays* cells by high-velocity microprojectiles. *Biotechnology* 6 : 559-563.
9. Michelmor R, Marsh E, Seely S, Landry B (1987). Transformation of lettuce *Lactuca sativa* mediated by *Agrobacterium tumefaciens*. *Plant Cell Rep* 6 : 439-442.
10. Murashige T, Skoog F (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 15 : 473-497.
11. Nelson RS, Powell PA, Beachy RN (1990). Coat protein-mediated protection against virus infection. In : Lycett GW, Grierson D, eds. *Genetic Engineering of Crop Plants* : 13-24.

12. Ordas RJ, Tavazza R, Ancora G (1990). *In vitro* morphogenesis in the globe artichoke (*Cynara scolymus* L.). *Plant Sci.* 71 : 233-237.
13. Pécaut P, Martin F (1990). Non-conformity of *in vitro* propagated plants of early Mediterranean varieties of globe artichoke (*Cynara scolymus* L.). 23^e Congrès International d'Horticulture. Florence, Italie. 27 août-1^{er} sept. 1990. Abstracts du Congrès, Poster n° 4059. Vol. 2.
14. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T (1989). Molecular cloning. A laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
15. Tavazza M, Luciola A, Ancora G, Benvenuto E (1989). cDNA cloning of artichoke mottled crinkle virus RNA and localization and sequencing of the coat protein gene. *Plant Mol Biol* 13 : 685-692.
16. Vancanneyt G, Schmidt R, O'Connor-Sanchez A, Willmitzer L, Rocha-Sosa M (1990). Construction of an intron-containing marker gene : splicing of the intron in transgenic plants and its use in monitoring early events in *Agrobacterium*-mediated plant transformation. *Mol Gen Genet* 220 : 245-250.
17. Wenzler H, Mignery G, May G, Park W (1989). A rapid and efficient transformation method for the production of large numbers of transgenic potato plants. *Plant Sci* 63 : 79-85.

10

Faisabilité du semis direct d'arbres à usages multiples

MARIA NICOLA DI MICHELE, LAURENT BRAY,
MOHAMED MOUNIR SAÏD, ALI AHMED DJAMA,
NASSER MOHAMED NASSER

*Laboratoire de Lutte contre la Désertification,
Institut Supérieur d'Études et de Recherches Scientifiques et Techniques,
BP 486, Djibouti, République de Djibouti.*

Résumé

Les pays de zones arides, comme Djibouti, sont actuellement confrontés à un processus de désertification dû à une surexploitation de la couverture végétale par des populations utilisant traditionnellement les arbres pour des usages multiples (fourrage, bois de chauffe, charbon, bois...). Un reboisement des zones affectées par des espèces locales déjà adaptées à des conditions extrêmes d'aridité est une des solutions à ce problème. Parmi les méthodes employées, on peut citer la mise en place de semis sortant de pépinières ou, encore, dans certains cas bien spécifiques, de plants produits par des biotechnologies. Ces méthodes sont coûteuses en termes de main-d'œuvre et d'investissement. Une solution alternative est le semis direct peu coûteux et rapide à mettre en place. L'objectif de cet article est de présenter les différents essais de semis directs effectués à Djibouti avec des arbres à usages multiples. Les taux de survie des semis directs sont discutés car ceux-ci sont généralement plus faibles qu'en sortie de pépinière. Les résultats obtenus montrent que les semis directs sont faisables à Djibouti. L'optimisation de certaines conditions de culture (protection contre l'insolation et le dessèchement, amendement, prétraitement des semences...) permettront de rendre cette méthode plus performante.

La République de Djibouti, pays à climat aride [1], est actuellement confrontée à un processus de désertification. Cette dégradation du couvert végétal a des conséquences catastrophiques aussi bien écologiques que sociologiques ou économiques. Elle est non seulement due au climat mais elle est liée aussi à une surexploitation des espèces ligneuses. Les populations rurales, traditionnellement nomades et non agricoles, utilisaient de tous temps le bois pour des usages multiples (bois de chauffe, fourrage, charbon, bois d'œuvre, tanins, pharmacopée et pharmacologie). Actuellement, une plus forte pression d'utilisation du couvert végétal, due à une explosion démographique [2] et à une mauvaise gestion des terres de parcours, a eu pour conséquence la rupture d'un fragile équilibre naturel et l'amorce du processus de désertification.

De fait, Djibouti subit une dégradation de la couverture végétale, une érosion des sols et une salinisation des eaux et des terres [2]. Le reboisement des zones affectées peut être une solution. Elle permettrait de résoudre ces problèmes et pourrait se faire avec les ressources génétiques forestières de Djibouti qui sont le résultat d'une sélection effectuée dans des conditions d'aridité extrême [3].

Afin de répondre aux attentes spécifiques de Djibouti en matière de désertification, un laboratoire de lutte contre la désertification a été installé dans le cadre de la coopération franco-djiboutienne. Les objectifs de ce laboratoire sont, entre autres, de définir pour Djibouti les méthodes de reboisement les mieux adaptées et les moins coûteuses possibles.

La méthode généralement employée pour combattre la désertification est la plantation de plants obtenus par semis en pépinière ou par les biotechnologies. Les biotechnologies sont utilisées pour améliorer les espèces d'intérêt agronomique ou pastoral ou pour multiplier celles ne pouvant se propager naturellement de façon massive [4, 6]. Elles sont ainsi utilisées pour la multiplication du palmier à huile [7, 8], du palmier-dattier [9], du *Casuarina* [10] et de l'*Acacia albida* [11].

Cependant, certaines méthodes moins coûteuses existent et peuvent être des solutions alternatives pour les pays en voie de développement qui disposent généralement de peu de personnel qualifié et de peu de moyens financiers. Une de ces solutions est le semis direct qui ne demande aucun investissement lourd et dont les méthodologies sont simples. Cependant à Djibouti, à notre connaissance, aucun travail concernant le semis direct n'a encore été publié à ce jour.

Cet article présente les résultats obtenus sur les semis directs d'arbres à usages multiples à Djibouti. L'influence des trous de plantation est d'abord étudiée pour déterminer s'ils créent une niche écologique favorable au développement des semis (protection contre l'insolation, conservation de l'humidité). Les conséquences du prétraitement des semences sont ensuite présentées. L'objectif de ces études est de disposer de semences aptes à germer rapidement pour profiter des moindres précipitations aléatoires du pays. Les perspectives d'utilisation du semis direct comme méthode de reboisement sont aussi développées.

Matériel et méthodes

Matériel végétal

Origines des semences

Quatre espèces ligneuses fourragères ont été testées : *Acacia nilotica*, *Acacia flava*, *Pithecellobium dulce* et *Ziziphus mauritiana*. Les semences ont toutes été prélevées à

Tableau I. Lieu et date de récolte des semences expérimentées.

Espèces	Récolte des semences	
	Lieu	Date de récolte
<i>Acacia nilotica</i>	Magdoul	29/05/90
<i>Acacia flava</i>	Gabode	04/07/90
<i>Pithecellobium dulce</i>	Gabode	03/05/92
<i>Ziziphus mauritiana</i>	Oued Didjan Der	17/04/90

Djibouti (Tableau I). Le potentiel de germination de ces semences a été vérifié en laboratoire afin de s'assurer que les variations éventuellement observées dans les semis sur le terrain ne sont dues qu'aux conditions expérimentales.

Écologie et utilisations traditionnelles

Ces quatre espèces ont été choisies en fonction de l'intérêt que les populations locales nomades leur portaient. Les appellations d'*Acacia flava* et de *Ziziphus mauritiana* sont utilisées car elles sont les plus communément admises.

Acacia nilotica (L.) Willd. ex Del, synonyme *A. nilotica* var. *tomentosa* est de la famille des *Mimosaceae* [12]. A Djibouti, ses aires de peuplement naturel sont des dépressions temporairement inondées [3, 12, 13]. *Acacia nilotica* a de nombreux usages : fourrage, production de tanins, bois de chauffe, charbon de bois, bois d'œuvre et pharmacopée [13, 14].

Selon Lebrun *et al.* [12], *Acacia flava* (Forsk.) Schweinf. var. *seyal* (Del.) est synonyme d'*A. seyal*. Cependant, d'autres auteurs [13, 14] distinguent ces deux espèces. Les aires naturelles de peuplement de cet arbuste de la famille des *Mimosaceae* sont des dépressions à sols argileux ou limoneux ; il supporte des sols modérément salés. Sa résistance aux inondations est moins importante que celle d'*Acacia nilotica*. C'est un arbre à usages multiples : fourrage, bois de chauffe, charbon, bois d'œuvre, production de tanins, clôtures sèches et pharmacopée [14]. De plus, il possède de remarquables qualités de reprise après des coupes.

Pithecellobium dulce (Roxb., Benth) est une mimosacée plantée et utilisée comme arbre d'ombrage, pour la réalisation de haies vives et pour la production de fruits. L'arille charnue des graines fraîches est comestible et les gousses de cet arbre sont vendues sur les marchés de Djibouti [12].

Z. mauritiana, de la famille des *Rhamnaceae*, fait partie des espèces de jujubier les plus communes à Djibouti [13, 14]. De Framont [3] indique que *Z. mauritiana* est synonyme de *Z. mucronata* alors que d'autres auteurs distinguent ces deux genres [12, 14]. Le jujubier se propage par les semences mais aussi par bouturage et marcottage [14]. A Djibouti, les sites de peuplement naturel sont l'oued Didjan Der et ceux des monts Mablas et Godas [3]. Les quelques individus hors d'âge qui restent disparaîtront au fur et à mesure des crues torrentielles des oueds [1]. Cette espèce fait partie avec l'*A. nilotica* de celles définies comme prioritaires pour la République de Djibouti [3]. C'est un arbre particulièrement recherché pour ses fruits consommés à l'état frais et pour son feuillage servant de fourrage aux petits ruminants et aux dromadaires [3, 12, 13]. Les autres usages sont : petit bois d'œuvre, haies vives ou mortes et pharmacopée [14].

Méthodes

Prétraitement des semences

Les semences d'*A. nilotica*, *A. flava* et *P. dulce* sont prétraitées dans l'acide sulfurique concentré de 95 %-97 % (Tableau II) puis rincées à l'eau distillée. La durée du prétraitement varie selon les espèces ; il permet de dissoudre le tégument et d'accélérer la germination [15]. Pour *Z. mauritiana*, les téguments sont cassés (Tableau II).

Tableau II. Conditions de prétraitement selon les espèces. Le prétraitement des semences est soit chimique, bain d'acide sulfurique concentré à 95 %-97 %, soit mécanique, rupture du tégument lignifié.

Espèces	Prétraitement des semences	
	Type	Nombre de graines
<i>Acacia nilotica</i>	H ₂ SO ₄ 40 min	90
<i>Acacia flava</i>	H ₂ SO ₄ 40 min	90
<i>Psithocellobium dulce</i>	H ₂ SO ₄ 10 min	90
<i>Ziziphus mauritiana</i>	rupture mécanique	90

Sites d'expérimentation

Le site d'expérimentation est une plaine inondable sub-désertique appelée Petit-Bara distante de 60 km de la capitale. Aucune précipitation n'est survenue pendant la durée des expériences, de mai à juin 1992. Les températures mensuelles moyennes sont d'environ 30 °C. Les seuls arbres présents naturellement sur la zone d'expérimentation sont des *Acacia nilotica*.

La texture de l'horizon de surface est du type loam-limoneux avec 61 % de limons, 24 % de sable et 13 % d'argile. Les sols se caractérisent par une absence de structure et de très faibles teneurs en éléments organiques.

Méthodes de plantation

La parcelle d'expérimentation étant de très faible superficie (300 m²), le milieu est homogène. Les plantations en blocs aléatoires ne sont donc pas nécessaires [16] et elles ont été faites en lignes. Les trous de semis sont disposés à distance de 1 m × 1 m et ont des profondeurs de 0,15 et 30 cm pour un diamètre moyen d'environ 10 cm. Ils sont arrosés à saturation au moment du semis puis les semences sont déposées au fond des trous de plantation. Un arrosage hebdomadaire de 2,5 l par trou est ensuite assuré. La zone expérimentale est délimitée par une clôture grillagée, afin de protéger les semis du bétail.

Méthodes analytiques

Pour chacune des quatre espèces, les semences ont été prétraitées ou non, puis semées, trois par poquet, en surface ou au fond de trous d'une profondeur de 15 ou 30 cm. Chacune des six conditions a été répliquée dix fois.

Deux facteurs ont été étudiés : influence de la profondeur des trous et effet du prétraitement. Ils ont été considérés comme indépendants l'un de l'autre. En conséquence, les répétitions pour l'étude de l'influence de la profondeur des trous de plantations sont au nombre de vingt puisque les semences prétraitées ou non sont regroupées. Celles pour l'étude de l'influence du prétraitement sont au nombre de trente puisque les trois profondeurs testées sont regroupées.

En conditions contrôlées de laboratoire, les capacités germinatives des semences sont évaluées par la fréquence cumulée de semences ayant germé. En conditions naturelles, ce pourcentage de germination n'est pas aisé à évaluer (enfouissement de semences, mortalité de certaines plantules...) et n'a pas beaucoup de signification. L'indicateur que nous avons donc utilisé n'est plus une fréquence cumulée mais le rapport entre le nombre de poquets où il y a des semis vivants et le nombre initial de poquets. Ce rapport est appelé par la suite pourcentage des semis vivants ou taux de survie. Il intègre pour une part positive la germination des semences et pour une part négative la mortalité des semis. L'évolution de ce pourcentage est considérée pour une période de 21 jours, identique à celle habituellement utilisée pour suivre les pourcentages de germination [17].

Résultats

Influence de la profondeur

Chez *A. nilotica* (Figure 1-a), il n'y a aucune différence entre les courbes des semis de surface et celles de 15 ou 30 cm. Les profondeurs de 15 et de 30 cm n'ont donc pas favorisé le développement des semis.

Chez *A. flava* (Figure 1-b), le taux de survie des semis de surface est plus élevé à 7 jours que ceux de 15 ou 30 cm de profondeur. Cependant, dès le 14^e jour et jusqu'au 21^e, il n'y a plus de différence entre les taux de survie des semis en surface et ceux à 15 cm ; ils sont dans les deux cas d'une valeur d'environ 10 %. Après 14 jours, aucun des semis à 30 cm n'est vivant alors que la survie de ceux de surface et de 15 cm est de 15 %. En effet, malgré toutes les précautions prises lors des arrosages, on observe à 30 cm un enfouissement des semences dû à l'absence totale de structure du sol.

Chez *P. dulce* (Figure 1-c), à 7 jours, le taux de survie le plus élevé est obtenu pour 15 cm de profondeur (30 %) alors que ceux à 0 et 30 cm sont seulement de 10 % environ. Par la suite, pour 15 cm de profondeur, la mortalité des semis constatée à 14 jours est compensée par de nouvelles germinations de semences entre 14 et 21 jours qui rétablissent un taux de survie de 30 %. Pour les expériences en surface, le taux de semis vivants augmente régulièrement car les germinations continuent et il atteint à 21 jours une valeur d'environ 30 %, égale à celle de 15 cm. Dans les trous de 30 cm, on constate, comme chez l'*A. flava*, un enfouissement des semences se traduisant par un taux de survie nul dès le 14^e jour.

Chez *Z. mauritiana* (Figure 1-d), après 7 jours, à 15 cm de profondeur, 15 % des semences ont germé alors qu'il n'y a encore eu aucune germination dans les autres conditions. A 14 jours, aucun semis vivant à 15 ou 30 cm n'est observé alors que le taux de survie des semis de surface est de 10 %. Entre 14 et 21 jours, d'autres germinations ont lieu pour les semis de surface dont le taux de survie est de 15 % à 21 jours.

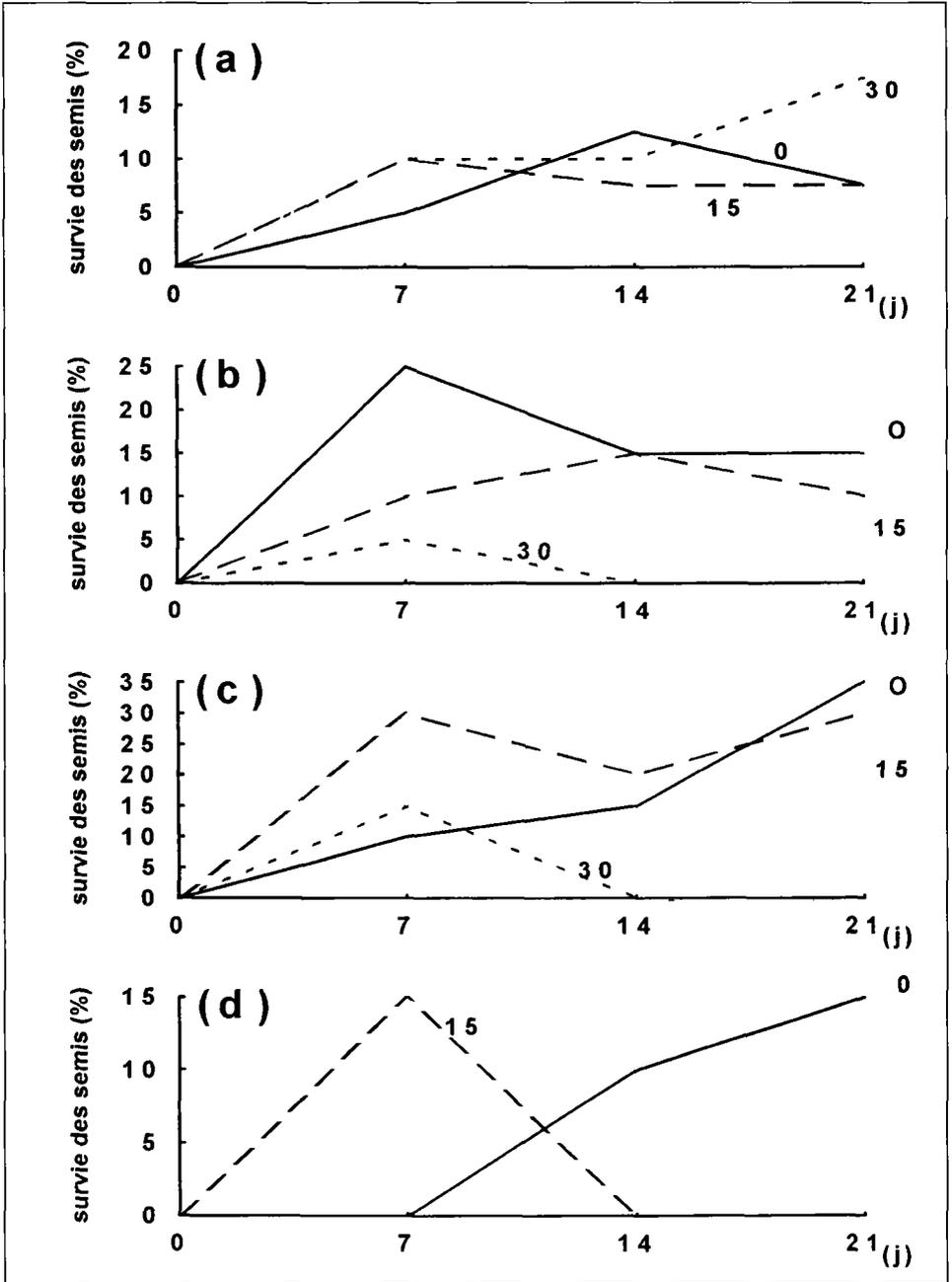


Figure 1. Comparaison de l'évolution de la survie des semis (%) d'*Acacia nilotica* (a), d'*Acacia flava* (b), de *Pithecellobium dulce* (c) et de *Ziziphus mauritiana* (d) selon la profondeur des trous (0, 15 ou 30 cm). Chaque condition a fait l'objet de 20 répétitions.

Influence du prétraitement

Chez *A. nilotica* (Figure 2-a), à 7 jours, le pourcentage de semis vivants est de seulement 3 % pour les semences non prétraitées alors qu'il est de 13 % pour celles prétraitées. Entre 7 et 21 jours, les pourcentages de semis vivants n'augmentent presque plus, respectivement, de 3 % et de 2 % seulement. La germination se fait donc chez cette espèce dès la 1^{re} semaine quel que soit le prétraitement.

Chez *A. flava* (Figure 2-b), le pourcentage de semis vivants, après 7 jours, est de 7 % pour les semences non prétraitées et de 20 % pour les semences prétraitées. Après 21 jours, les taux de survie diminuent légèrement, du fait de l'enfouissement de certaines semences, et sont respectivement de 3 % et de 15 %.

De même que chez *A. nilotica*, les germinations des semences d'*A. flava* se font donc dès la 1^{re} semaine à un taux beaucoup plus élevé chez les semences prétraitées.

Chez *P. dulce* (Figure 2-c), aucune plantule n'est observée chez les prétraités alors que les semis non prétraités ont un taux de survie de 43 % après 21 jours. Le bain d'acide sulfurique pendant 10 min a été trop drastique et a supprimé les capacités germinatives des semences.

Chez *Z. mauritiana* (Figure 2-d), les seules plantules observées sur la période d'expérimentation sont celles issues des semences détégumentées. A 7 jours, le taux maximal de survie est atteint (10 %). A 21 jours, il a la même valeur. Les premières germinations chez les semences non prétraitées seront très tardives, hors de la période d'étude (2 mois après le début de l'expérience). La rupture du tégument permet donc une germination plus rapide que chez les semences avec tégument.

Discussion et conclusion

Djibouti se caractérise par une évapotranspiration des eaux de précipitations très importante, entre 70 % et 100 % [18]. Les trous de plantation creusés pour cette expérience avaient un diamètre faible (10 cm) afin de créer une niche écologique favorable à la germination : protection contre l'ensoleillement et limitation de l'évaporation. Ainsi, la terre au fond des trous de 15 et de 30 cm de profondeur était encore humide 7 jours après le début de l'expérience. Cependant, les arrosages des semis au fond des trous de 15 et 30 cm ont eu pour conséquence un enfouissement des semences. Du fait que le sol n'a pas de structure et que la texture est loam-limoneuse, une couche battante, très dure, se forme après le séchage empêchant le développement des semis. De fréquentes germinations avortées ont été observées. Cela explique sans doute que le taux de survie des semis à 30 cm est très faible sauf chez *A. nilotica*, espèce endémique des zones inondables à sols limoneux. Cependant, à 7 jours, la profondeur intermédiaire de 15 cm semble favoriser la germination des semences de certaines espèces, en particulier *P. dulce* et *Z. mauritiana*.

De même, le prétraitement des semences favorise une implantation plus rapide des espèces ligneuses testées. Le prétraitement chimique ou mécanique supprime les inhibitions tégumentaires et rend les semences aptes à germer immédiatement. Ainsi, elles peuvent profiter de l'eau apportée au moment du semis avant son évaporation. Chez *P. dulce*, le traitement de 10 min par l'acide sulfurique a été trop drastique et a compromis la viabilité de l'embryon. Cela est sans doute dû à la fraîcheur des semences qui venaient d'être récoltées.

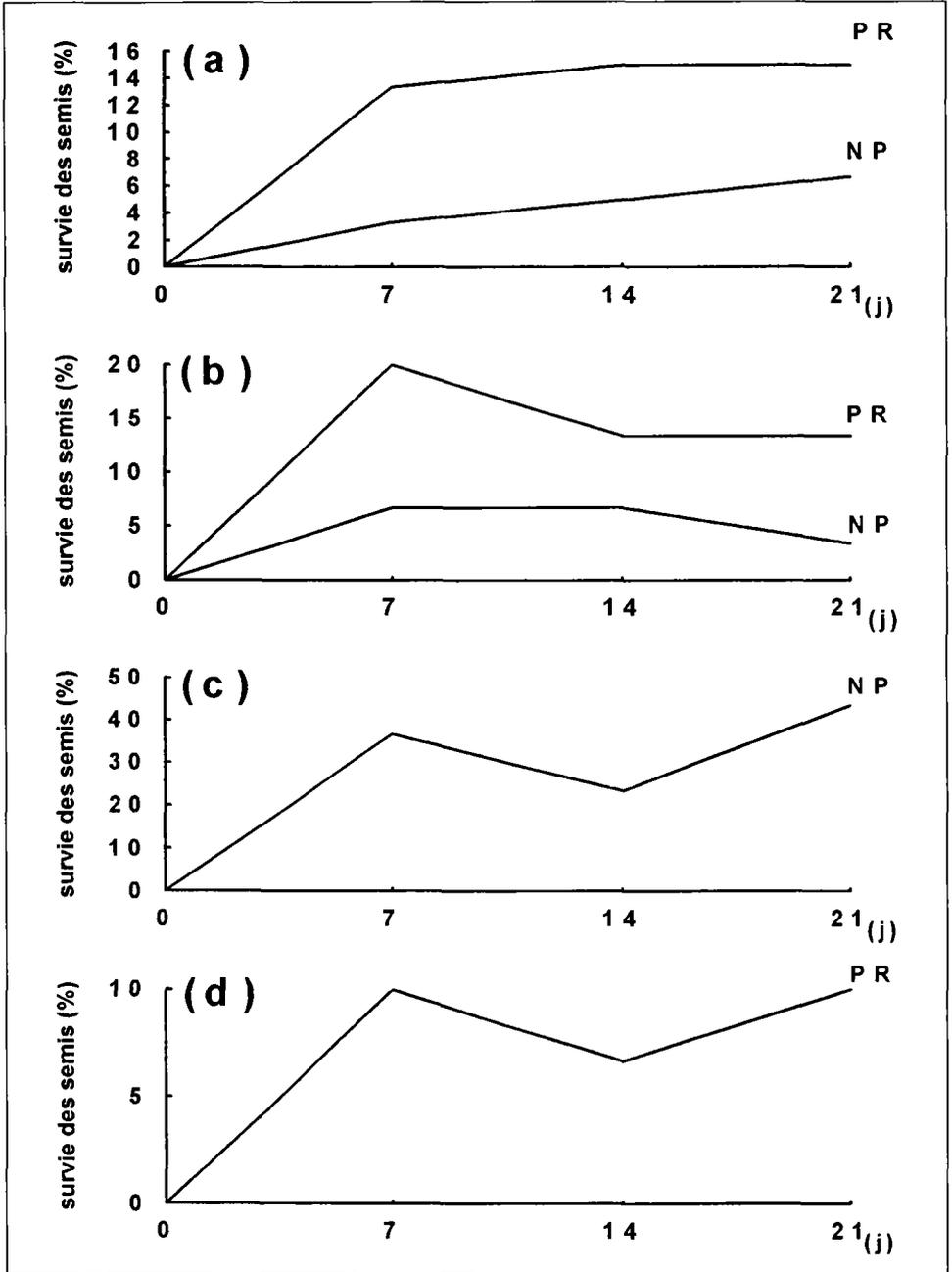


Figure 2. Comparaison de l'évolution de la survie des semis (%) d'*Acacia nilotica* (a), d'*Acacia flava* (b), de *Pithecellobium dulce* (c) et de *Ziziphus mauritiana* (d) pour des semences prétraitées (PR) ou non (NP). Chaque condition a fait l'objet de 30 répétitions.

Plus généralement, il convient de déterminer pour chacune des espèces qui sera nouvellement testée le prétraitement permettant la meilleure germination en semis direct. Ces données devront être obtenues par d'autres expériences sur le terrain et non pas en laboratoire. En effet, les pourcentages de germination pour une même espèce et selon des conditions de prétraitement identiques sont nettement plus faibles en pépinière qu'en laboratoire [19]. On peut donc penser que ces taux sont encore plus faibles en semis direct. Cependant, le pourcentage de survie obtenu dans certaines conditions est élevé, jusqu'à 35 % pour les semis de *P. dulce*. Cela indique que des recherches définissant les paramètres (prétraitement, création d'une niche écologique, amendements) adaptés à chaque espèce et à chaque site concerné permettraient sans doute de rendre cette méthode beaucoup plus efficace. Ces paramètres dépendent de plusieurs facteurs : caractéristiques physico-chimiques du sol, régime des précipitations, inondations éventuelles, ensoleillement et températures.

Ces premiers résultats obtenus sur les semis directs d'arbres à usages multiples montrent que cette méthode est techniquement faisable par rapport à celles traditionnellement utilisées. La comparaison des coûts est plus difficile. Le semis direct est cependant moins coûteux en main-d'œuvre car il est immédiat. En effet, les plants obtenus par semis en pépinières ne sont plantés qu'à l'âge de 2 ou 3 mois. On peut aussi considérer les charges supplémentaires que génèrent les méthodes traditionnelles par rapport au semis direct. Pour réaliser des semis directs, l'investissement est limité au matériel roulant et à la mise en défense. Pour les semis sortant de pépinières, les charges supplémentaires comprennent : l'investissement d'une serre ou d'une ombrière et l'entretien afférent, le transport et la distribution des plantules, un système d'irrigation ou un camion-citerne pour l'arrosage après le repiquage. Un cas particulier est celui d'*A. nilotica* qui peut être planté en sortie de pépinière durant le retrait d'inondations [20]. Dans ce cas, l'arrosage n'est pas nécessaire mais ce type de plantation nécessite des espèces résistantes aux inondations.

Selon Delwaulle [21], malgré une croissance légèrement retardée et un pourcentage de survie plus faible, les semis directs ont l'avantage de coûter bien moins cher et de réduire les problèmes de transport et de distribution. De plus, les plants issus de semis direct sont par la suite plus résistants aux contraintes climatiques de Djibouti que ceux issus de pépinières qui nécessitent un arrosage régulier pour survivre [22].

Le semis direct est aussi une méthode facilement vulgarisable ne nécessitant pas de personnel spécialisé. En effet, il convient de ne surtout pas négliger l'aspect sociologique et de sensibilisation des populations rurales. La curiosité de nombreux nomades fut éveillée par ces expériences car les espèces utilisées leur étaient familières. Les objectifs et les techniques du semis direct furent expliqués. Ainsi, ces expériences ont une importante valeur pédagogique car elles sont techniquement simples. Elles permettent de faire prendre conscience aux nomades de l'importance de la sauvegarde du couvert forestier généralement exploité de façon anarchique. Le pâturage des troupeaux et la coupe du bois sont libres sans qu'une politique à long terme de gestion des ressources naturelles des terres de parcours soit mise en place. Dans tous les cas, le déboisement s'accélérait, cette population commence à réaliser la destruction de son cadre naturel de vie. Il est donc primordial de proposer des méthodes simples de reboisement qu'elle pourrait éventuellement mettre elle-même en pratique.

Ainsi, bien que le semis direct soit plus aléatoire que la transplantation de plants provenant de pépinières, la méthode a l'avantage d'être très économique et de nécessiter une logistique réduite mieux adaptée aux pays en voie de développement. Cette méthode mériterait donc d'être considérée dans les politiques de lutte contre la désertification.

Références

1. UNESCO (1977). *Carte de répartition mondiale des régions arides*. UNESCO.
2. Comité National pour l'Environnement (1991). *Rapport National Environnement*. Djibouti : ONTA/SPSE : 105.
3. De Framont H (1990). Valorisation des ressources génétiques forestières en République de Djibouti. *Revue de l'ISERTS* 4 : 13-18.
4. Diallo N, Duhoux E (1984). Organogenesis and multiplication *in vitro* of *Eucalyptus camaldulensis*. *J Plant Physiol* 115 : 177-182.
5. Sasson A (1986). *Quelles biotechnologies pour les pays en voie de développement ?* Paris : Biofutur/UNESCO, 200 p.
6. Di Michele MN, Bray L (1993). La culture *in vitro* : un outil de la lutte contre la désertification. *Rivista di Agricoltura Subtropicale e Tropicale* (sous presse).
7. Pannetier C, Arthuis P, Lievoux D (1981). Néof ormation de jeunes plantes d'*Elaeis guineensis* à partir de cals primaires obtenus sur des fragments foliaires cultivés *in vitro*. *Oléagineux* 36 : 119-122.
8. Hanower J, Pannetier C (1982). *In vitro* vegetative propagation of the oil palm, *Elaeis guineensis* Jacq. In : Fujiwara A, éd. *Plant tissue culture*. Proc. 5th Int. Cong. on Plant Tissue and Cell Culture. Tokyo : Maruzen Co Ltd : 745-746.
9. Falcone AM, Marcheschi J (1988). Embriogenesi somatica *in vitro* da tessuti di palma da dattero (*Phoenix dactylifera* L.): risultati preliminari. *Rivista di Agricoltura Subtropicale e Tropicale* 1 : 379-389.
10. Duhoux E, Sougoufara B, Dommergues Y (1986). Propagation of *Casuarina equisetifolia* through axillary buds of immature female inflorescences cultures *in vitro*. *Plant Cell Reports* 3 : 161-164.
11. Duhoux E, Davies D (1985). Caulogénèse à partir de bourgeons cotylédonnaires d'*Acacia albida* et influence du saccharose sur la rhizogénèse. *J Plant Physiol* 121 : 175-180.
12. Lebrun JP, Audru J, César J (1989). *Catalogue des plantes vasculaires de la République de Djibouti*. Maisons-Alfort : IEMVT : 277.
13. Audru J, César J, Forgiarini G, Lebrun JP (1987). *La végétation et les potentialités pastorales de la République de Djibouti*. Maisons-Alfort : IEMVT : 384.
14. Programme de participation de la population au reboisement et à l'aménagement rural (1987). *Environnement africain. Plantes et Arbres Utiles. Fiches techniques*. Dakar : CCE/ENDA.
15. Nabil M (1991). Etudes comparatives du développement de 6 provenances d'*A. nilotica* cultivés en conditions hydriques limitantes et non limitantes. DEA Université Nancy I.
16. Huxley PA (1989). Field trials – Some general Considerations. In : Huxley PA, ed. *Methodology for the exploration and assessment of multipurpose trees*. Section 3, part 3c. Nairobi : ICRAF : 7-15.
17. Wood PJ, Huxley PA (1989). Seed for species and provenance research. In : Huxley PA, ed. *Methodology for the exploration and assessment of multipurpose trees*. Section 3, part 3d. Nairobi : ICRAF : 7-15.
18. Coopération hydrogéologique allemande (1982). *Inventaire et mise en valeur des ressources en eau de la République de Djibouti*. Volume II : Eaux de surface. Hannover : BGR.
19. Stewart J (1988). *International trial of Central American dry zone hardwood species*. Oxford : OFI : 81.
20. Audru J, Labonne M, Planchenault D (1990). *Desertification : a reversible trend*. Paris : ministère de la Coopération et du Développement : 8.
21. Delwaulle JC (1978). *Plantations forestières en Afrique tropicale sèche. Techniques et espèces à utiliser*. Nogent-sur-Marne : CTFT.
22. Laventure C (1992). *Projet Élevage intensif dans les jardins. Rapport de fin de contrat (opération n° 88075)*. Djibouti : AFVP : 20.

Genre	Explant	Organogénèse	Sels minéraux	pH	Vitamines	Sucres	Hormones	Référence
<i>Acacia albida</i>	racine	culture de racines et régénération	MS/2	?	—	S(30)	KIN (0,05) ou BAP (10) ou spermine (2)	Gassama et Duhoux (1992)
<i>Acacia albida</i>	bourgeons cotylédonaire	caulogénèse	MS	5,5	N&N (5)	S (15)	ANA (0,5) BAP (3)	Duhoux, Davies (1985)
<i>Acacia albida</i>	vitroplant	sevrage (1 mois)	Knop 1/2					Duhoux, Davies (1985)
<i>Acacia albida</i>	rameaux néoformés sur bourgeons cotylédonaire	rhizogénèse	LS	5,5	N&N (5)	S (100)	—	Duhoux, Davies (1985)
<i>Acacia auriculiformis</i>	hypocotyle (5-10 mm)	cal. (65 %) + tige (40 %) ou cal (96 %) + tige (30 %)	MS 1/2	?	—	S (30)	BAP (1) ou NAA(0,5) + BAP(1)	Ranga Rao, Prasad (1991)
<i>Acacia auriculiformis</i>	hypocotyle (5-10 mm)	caulogénèse	MS 1/2	?	Glutamine (150)	S (30)	NAA (0,5) + BAP (1)	Ranga Rao, Prasad (1991)
<i>Acacia nilotica</i>	bouture	caulogénèse et rhizogénèse	MS	5,8	—	?	IAA (0,5)	Mathur et Chandra (1983)
<i>Acacia senegal</i>	plante axénique ou âgée de 4-5 ans en serre	caulogénèse	macroMS 1/2 microMS	5,8	—	S (20)	Zéatine (0,1)	Badji <i>et al.</i> (1992)
<i>Acacia senegal</i>	plante axénique ou âgée de 4-5 ans en serre	induction de la rhizogénèse (12 j)	JOR/2	5,8	—	S (20)	ANA (9,3)	Badji <i>et al.</i> (1992)
<i>Acacia senegal</i>	plante axénique ou âgée de 4-5 ans en serre	expression de la rhizogénèse	JOR/2	5,8	—	S (20)	—	Badji <i>et al.</i> (1992)
<i>Prosopis tamarugo</i>	bouture unimodale	callogénèse puis caulogénèse et rhizogénèse	MS	5,7	—	?	NAA (3) K (0,01) GA3 (0,01) ou NAA (5)	Jordan <i>et al.</i> (1985)
<i>Prosopis chilensis</i>	bouture unimodale	callogénèse et rhizogénèse	MS	5,7	—	?	NAA (3) K (0,01) GA3 (0,01) ou NAA (5)	Jordan <i>et al.</i> (1985)
<i>Prosopis chilensis, P. alba</i>	culture d'apex	rhizogénèse	Jordan <i>et al.</i> (1982)	5,7	—	?	NAA (0,3) K (0,1) GA3 (0,01)	Jordan <i>et al.</i> (1985)
<i>Prosopis chilensis</i>	culture d'apex	rhizogénèse puis caulogénèse	MS	5,7	—	?	IBA (1) puis BA (>à.5)	Jordan (1987)
<i>Prosopis tamarugo, P. chilensis</i>	cais	caulogénèse et rhizogénèse	MS	5,7	cystéine (15)	?	NAA (5)	Jordan (1987)

11

Un modèle de structure prairiale, de cultivar et de plante dans l'amélioration de la luzerne

P. ROTILI, G. GNOCCHI, C. SCOTTI

Istituto Sperimentale per le Colture Foraggere, Lodi, Italie.

Une luzernière est une « société végétale » où les individus interfèrent entre eux. Nous représentons la luzernière comme un système qui se renouvelle d'une coupe à l'autre. Les plantes sont les éléments du système ; la structure du système est le résultat, au niveau morphologique, du réseau de relations qui s'installent entre les plantes. Le but du sélectionneur est d'améliorer le système et donc ses deux composants : la structure et les plantes. Les nombreuses expériences réalisées à Lodi ont permis de comprendre que les effets d'interférence entre les individus se manifestent sous la forme de domination. Les situations de domination expliquent bien pourquoi : (a) la luzernière possède une structure polystratifiée ; (b) la mortalité est en corrélation négative avec le degré d'homogénéité génétique du cultivar, tandis que la production fourragère est en corrélation positive. Pour améliorer la structure, il faut modifier les relations entre les plantes en minimisant la domination (+, -) vers des situations qui correspondent au neutralisme (0, 0). Nous aurons alors une structure idéale (structure monostratifiée). La luzernière caractérisée par cette structure devrait avoir les propriétés suivantes : (1) synchronisme total des plantes pour : temps de repousse, vitesse d'élongation des internœuds, temps d'émission du bouton vert ; (2) la plus grande homogénéité des plantes pour : tolérance aux coupes précoces (bouton vert), nombre et hauteur des tiges, réponse à la température et à l'eau.

Pour mettre en place une luzernière ayant une structure qui s'approche le plus possible du modèle monostratifié, il faut utiliser une variété suffisamment homogène. Le modèle variétal le mieux adapté à une agriculture très poussée et bien organisée est

représenté par un cultivar à base génétique étroite. Il semble que l'hybride libre à 8 parents S2 (ayant subi 2 autofécondations) est supérieur à la synthétique correspondante à la fois pour la production de fourrage et pour celle de la graine.

Une luzernière est très productive si elle est à la fois persistante et vigoureuse. La persistance est liée surtout à la structure ; la vigueur, au contraire, surtout à la plante. Un modèle de plante idéale concerne : 1 : le temps de dormance ; 2 : la réponse aux hautes températures et à l'irrigation ; 3 : la vitesse d'émission des feuilles après chaque coupe ; 4 : la tolérance absolue à la coupe au bouton vert ; 5 : la hauteur, la grosseur et le nombre des tiges.

Dans le procédé de fabrication variétale, une phase d'autofécondation permet : (1) d'homogénéiser le plus possible les caractères physiologiques et de voir conservée cette homogénéité ; (2) de concentrer les structures génétiques (gènes et linkats) favorables à la vigueur. Dans la luzerne, en tant que plante autotétraploïde, la sélection n'est pas efficace si on ne réduit pas le niveau d'hétérozygotie. Le démasquage, au moyen de l'autofécondation, nous permet d'améliorer la valeur génétique (aptitude générale à la combinaison) des plantes parentales.

12

Ressources génétiques et résistance aux maladies des arbres fruitiers : résultats et perspectives

M. LATEUR, C. POPULER

Station de Phytopathologie de l'État, CRA Gembloux, Belgique.

Résumé

Le programme de recherches mené par la Station de Phytopathologie depuis 1975, au sujet des ressources génétiques fruitières et de la résistance aux maladies, a permis de rassembler plus de 2 400 introductions d'arbres fruitiers originaires soit de Belgique soit de pays limitrophes (pommier, poirier, prunier, cerisier, pêcher). L'évaluation systématique de ce matériel dans nos vergers expérimentaux, au point de vue de la résistance aux maladies et des principaux caractères agronomiques, a, jusqu'à présent, conduit à la sélection de variétés intéressantes et à leur valorisation directe. En 1985, la station a diffusé les trois premières variétés ; actuellement 14 sélections de variétés recommandées par la station sont multipliées par les principales pépinières belges sous le sigle RGF (Ressources Génétiques Fruitières). Parmi celles-ci, 4 variétés de pommiers seront essayées en lutte intégrée par un groupement d'arboriculteurs professionnels. Les variétés RGF de pommiers ainsi que d'autres sélections spécifiques sont également expérimentées dans un verger pilote d'une importante cidrerie du pays. Ce matériel trouve, en plus, de nombreuses autres valorisations, notamment culturelles. Depuis 1988, des croisements et des semis clonaux de pommier sont réalisés avec l'objectif de créer de nouvelles variétés résistantes aux maladies faisant intervenir une

*résistance polygénique aux maladies. Des résultats préliminaires concernant la résistance à la tavelure (*Venturia inaequalis*) et à l'oïdium (*Podosphaera leucotricha*) sont discutés.*

Depuis 1975, la Station de Phytopathologie a rassemblé progressivement une vaste collection de variétés d'arbres fruitiers anciennement cultivés en Belgique ou y ayant leur origine [15]. Chaque introduction est plantée dans un verger d'évaluation ne subissant aucun traitement fongicide ou insecticide, dans le but d'évaluer sa résistance aux principales maladies ainsi que ses caractéristiques agronomiques (Tableau I).

La plupart des variétés commerciales de pommiers et poiriers cultivées actuellement

Tableau I. Évaluations des variétés rassemblées dans nos vergers expérimentaux ;
() = nombre d'introductions observées annuellement.

A. Évaluation de la résistance aux maladies et accidents physiologiques

1. Pommier (900)

- 1.1. *Venturia inaequalis*
- 1.2. *Erwinia amylovora*
- 1.3. *Podosphaera leucotricha*
- 1.4. *Nectria galligena*
- 1.5. *Monilinia fructigena*
- 1.6. Maladie des points ligneux (bitter pit)

2. Poirier (616)

- 2.1. *Erwinia amylovora*
- 2.2. *Venturia pyrina*

3. Prunier (145)

- 3.1. *Monilia fructigena*
- 3.2. *Tranzschelia pruni-spinosae*
- 3.3. *Coryneum beyerinckii*
- 3.4. Crevassement des fruits
- 3.5. *Taphrina pruni*

B. Évaluation des caractères agronomiques

1. Reprise au greffage et mesure de la croissance du scion d'un an (incompatibilité)
 2. Floraison
 - 2.1. Phénologie florale
 - 2.2. Sensibilité aux gelées printanières
 - 2.3. Étude *in vivo* de la qualité du pollen (pommier et prunier)
 - 2.4. Étude de l'autofertilité (prunier)
 3. Période de maturité
 4. Qualité gustative
 5. Rendement
 6. Poids moyen des fruits
 7. Durée de conservation
 8. Détermination pomologique de l'authenticité variétale
 9. Aptitude à la transformation industrielle
-

en Europe occidentale sont très sensibles aux principales maladies [4, 17]. En Belgique, cette forte sensibilité entraîne l'obligation, de la part des arboriculteurs, d'appliquer, en culture de pommier, entre 18 et 24 traitements fongicides par saison [18].

L'objectif de nos travaux est de sélectionner des variétés peu sensibles aux maladies et qui possèdent des caractéristiques agronomiques intéressantes. Au terme de 5 à 8 années d'observation en verger, une présélection peut être faite.

Depuis 1985, 9 variétés de pommes, 4 de prunes et une de pêches ont été diffusées par la station sous le sigle « RGF » (Ressources Génétiques Fruitières). Ces variétés se caractérisent toutes par une faible sensibilité aux maladies. Elles sont commercialisées par la plupart des pépiniéristes professionnels belges, avec lesquels nous sommes liés par un contrat de diffusion [14].

L'inéluctable intensification agricole entraîne une érosion accélérée des ressources génétiques fruitières [10]. Ce patrimoine régional ou local représente une richesse à évaluer et à exploiter en tant que réserve de variabilité pour de nombreux caractères de résistance et de rusticité, mais également de qualité gustative, de capacité à la conservation naturelle, d'aptitudes à la transformation industrielle, etc. Le projet de sauvegarde et de conservation de ces ressources génétiques s'est ajouté au projet initial de sélection de variétés résistantes. Actuellement, la banque de gènes de la Station de Phytopathologie comporte 1 150 introductions de pommier, 850 de poiriers, 310 de pommiers, 56 de cerisiers et 29 de pêchers. Cette banque de gènes est maintenue sous forme d'arbres dans des vergers conservatoires.

Les programmes mondiaux d'amélioration du pommier visant à obtenir des variétés nouvelles résistantes à la tavelure (*Venturia inaequalis* (Cooke) Wint.) ont abouti à la diffusion de 34 variétés connues à l'heure actuelle, dont 2 contiennent le gène *Vm*, qui est contourné par la race 5 de la tavelure, et 30 possèdent le gène *Vf*, qui provient du *Malus floribunda* Siebold ex Van Houtte clone 821, et qui a conféré une résistance totale à la tavelure durant près de 50 ans [3]. Cette dernière résistance a été contournée, au moins partiellement, par une nouvelle race de tavelure trouvée à Ahrensburg (Allemagne) ; la découverte de cette nouvelle race oblige les améliorateurs à adapter leurs stratégies et à explorer d'autres voies pour l'obtention de variétés possédant une résistance durable à la tavelure [12]. Notre programme d'amélioration du pommier a débuté modestement en 1988 [7]. Il a pour objectif l'obtention de variétés résistantes à la tavelure (*Venturia inaequalis*), possédant une faible sensibilité à l'oïdium (*Podosphaera leucotricha*), et de qualités agronomiques suffisantes pour la culture en production intégrée (IP). Depuis 1989, au total 4590 et 24 700 pépins ont été semés, ceux-ci provenant respectivement de croisements dirigés et de pollinisations libres. Dans le but d'obtenir des sélections possédant une résistance durable à la tavelure, les géniteurs utilisés sont des sélections de variétés anciennes possédant une résistance polygénique à la tavelure et à l'oïdium. Elles sont soit croisées entre elles ou avec des variétés plus modernes, possédant dans certains cas le gène *Vf* de résistance à la tavelure, soit utilisées en pollinisation ouverte. Les résultats partiels présentés ci-dessous proviennent de semis clonaux des variétés La Paix et Radoux.

Matériel et méthodes

Matériel

Les trois quarts du matériel rassemblé à la station proviennent de prospections dans les campagnes, il s'agit soit de « variétés paysannes » régionales ou locales, soit de variétés non nommées, plus rarement de variétés d'obteneurs nommées. L'autre quart provient de collections fruitières belges ; ces variétés retrouvées dans les collections sont presque toutes des variétés dites « d'obteneurs » dûment nommées [16].

Méthodes

• Vergers expérimentaux d'évaluations

Pour le pommier, nous utilisons le porte-greffe M9 à une densité de 1200 arbres/ha et pour le prunier, le St-Julien A et le St-Julien 655-2 à une densité de 300 arbres/ha. Les vergers ne subissent aucun traitement fongicide ni insecticide. Les méthodes d'évaluation de la résistance aux maladies ainsi que des caractères agronomiques des variétés ont été décrites antérieurement [1, 15].

• Semis et évaluation des plantules

Les semis clonaux sont issus de pollinisations libres d'une sélection de variétés anciennes provenant des vergers expérimentaux composés à 99,7 % de variétés qui ne possèdent pas de gènes majeurs de résistance aux maladies. Après une stratification humide de 90 jours à 5 °C, les pépins sont semés dans du terreau en serre à 20 °C.

Les plantules issues des semis clonaux de La Paix ont été inoculées avec une solution conidienne de tavelure (2×10^5 conidies/ml) au stade 3 feuilles déployées. Dans ce cas, les feuilles sont maintenues humectées durant 48 heures après l'inoculation, à une température de 20 °C.

La résistance à la tavelure des plantules inoculées artificiellement en serre est évaluée suivant l'échelle reprise au Tableau II. Les plantules des classes 0, 1 et 2 ont été plantées en champ sans aucune protection fongicide afin de contrôler leur sensibilité à la tavelure et d'évaluer leur sensibilité à l'oïdium.

L'évaluation en champ de la sensibilité des semis à la tavelure et à l'oïdium est effectuée à l'aide d'échelles allant de 0 à 5 [1] qui peuvent être aisément converties en cotes allant de 1 à 9 [13] suivant le système recommandé par l'IBPGR pour des raisons de facilité d'encodage [20].

Résultats et discussions

Réintroduction d'une sélection de variétés peu sensibles aux maladies dans le commerce des pépinières sous le signe « RGF » (Ressources Génétiques Fruitières)

Depuis 1985, 9 variétés de pommes, 4 de prunes et une de pêche sont commercialisées par la plupart des pépiniéristes belges multiplicateurs et sont essentiellement proposées au large public d'amateurs [15]. Ces variétés ont été sélectionnées pour leur faible sen-

Tableau II. Échelle de sensibilité à la tavelure (*Venturia inaequalis*), utilisée après inoculation artificielle en serre, sur semis issus du croisement de géniteurs possédant une résistance de type polygénique.

Échelle d'observation	Observation
0	Aucun symptôme de tavelure
1	Quelques lésions avec sporulation très restreinte ne dépassant pas 10% de la surface foliaire ; parfois zones restreintes légèrement chlorotiques
2	Même type de réaction qu'à la classe 1 mais la surface sporulée peut atteindre 25 % de la surface foliaire ; aucune défoliation
3	Nombreuses lésions sporulées et étendues pouvant couvrir jusqu'à 75 % de la surface foliaire ; défoliation
4	Même symptôme qu'à la classe 3 mais la surface sporulée couvre de 75% à l'entièreté de la surface foliaire ; défoliation très importante

Les plantules des classes 0, 1 et 2 sont sélectionnées pour une évaluation au champ.

sibilité aux maladies, pour leur bonne fertilité, leur rusticité ainsi que la qualité et l'originalité de leurs fruits.

Sélection de variétés de pommes pour la transformation industrielle

A la demande d'une importante fabrique wallonne de cidre et de jus (Stassen) et en collaboration étroite avec elle, nous sélectionnons des variétés de pommes peu sensibles aux maladies, de bonne productivité et répondant aux normes technologiques de transformation (teneur en jus, en sucres, en acidité, en tanins, etc.). Ces sélections de variétés ont été multipliées dans nos pépinières et livrées à la firme qui a développé un verger expérimental de plus de un hectare. Ce verger permettra d'évaluer leurs caractéristiques phytotechniques en comparaison avec d'autres sélections étrangères. L'objectif est de développer, dans la région, la culture de variétés cidricoles, à jus ou mixtes, afin de répondre à un marché en expansion de produits de hautes qualités organoleptiques obtenus à partir de fruits ne nécessitant pas ou peu de traitements phytosanitaires.

Expérimentation de variétés de pommes pouvant convenir pour la production intégrée

Les variétés fruitières diffusées par la station ne sont qu'au stade « présélection » pour ce qui concerne la culture commerciale. Des essais complémentaires à plus grande échelle doivent être mis en place afin de caractériser et adapter la phytotechnie de ces variétés (choix du porte-greffe, distance de plantation, méthode de taille et d'éclaircissage, protection phytosanitaire, etc.), et d'éprouver les possibilités de commercialisation de ces variétés. Actuellement, un groupement d'arboriculteurs professionnels pratiquant la lutte intégrée en Wallonie (GAWI), associé au Centre Régional de Ressources Génétiques Nord-Pas-de-Calais (CRRG) dans un pacte transfrontalier, développe un

projet de plantation de 10 ha de pommiers de variétés de table, dont moitié en France et moitié en Belgique, et installés chez des arboriculteurs professionnels [9]. Ces vergers expérimentaux, gérés conjointement par les arboriculteurs et un technicien du pacte, seront composés pour plus de 70 % par 5 variétés RGF pour le côté belge.

Un essai comparatif d'une sélection de variétés RGF a été installé au printemps 1993 par notre station dans le but d'étudier leur phytotechnie dans une parcelle non traitée.

Essais multilocaux et implantations diverses de vergers

Dès 1987, des essais multilocaux ont été mis en place dans diverses régions pédo-climatiques du pays (Tableau III) afin de mettre en expérimentation des présélections de pommiers sur les porte-greffe M9, M26 et MM106. Ces essais visaient à évaluer le comportement de ces variétés en interaction avec le porte-greffe, le sol et le climat, et également à les observer sous une pression d'inoculum plus faible que dans les vergers d'évaluation de la station.

Tableau III. Essais de présélections de variétés de pommiers (Po), pruniers (Pr) et cerisiers (Ce) multilocaux (M), de démonstration (D) et à titre récréatif (R) ou historique (H).

Lieu	Administration responsable	Altitude (m)	Nombre de variétés	Porte-greffe	Surface (ha)
Ciney (M)	Administration Provinciale	300	24 (Po)	MM106 M26 M9	0,22
Gembloux (M)	École Technique Horticole	150	30 (Po)	MM106 M26 M9	0,24
Izel (M)	École Technique Horticole	300	33 (Po)	MM106	0,16
La Reid (M)	École Technique Horticole	350	23 (Po)	MM106	0,13
Liège (M)	École Technique Horticole	200	26 (Po)	MM106 M26 M9	0,23
Malines (M)	École Technique Horticole	10	24 (Po)	MM106 M26 M9	0,22
Tournai (M)	École Technique Horticole	50	14 (Po)	MM106	0,1
Neufchâteau (D et M)	Association de Naturalistes	500	31 (Po) 7 (Pr)	Semis MM111 MM106 St-Julien GF655/2	1,6
Jemelle (R et H)	Administration Régionale	360	12 (Po) 3 (Pr) 5 (Ce)	Semis St-Julien GF655/2 F12-1	± 0,5

Les données provenant de tels essais ne sont pas toujours exploitables à cause du manque de suivi de certains vergers. L'étude du comportement de ces variétés sur différents porte-greffes, notamment leur croissance et leur fertilité, pourra néanmoins nous donner de précieuses indications quant à l'adaptation aux porte-greffes et quant aux distances de plantation et au mode de conduite à adopter. D'éventuelles différences de sensibilité aux maladies dues aux conditions pédo-climatiques parfois marginales pourraient permettre de compléter nos propres observations à Gembloux. Et enfin, la rusticité des variétés vis-à-vis de climats plus rudes (par exemple, à 500 m d'altitude) peut être mise en évidence par ces essais.

Des études de création de vergers de types démonstratifs ou récréatifs nous ont également été demandées (Tableau III). Deux projets de création de vergers historico-culturels sont en cours, l'un dans le cadre de « Malagne La Gallo-Romaine », qui est un projet de reconstitution d'une villa gallo-romaine à Jemelle et l'autre au Musée de la Vie Rurale à St-Hubert. Ce dernier projet vise à implanter des variétés locales ou régionales dans un musée de plein air de l'habitat rural.

Amélioration du pommier : tests précoces de sélection des plantules résistantes à l'oïdium et à la tavelure

• Oïdium

La Figure 1 illustre l'évolution de l'effectif des classes de sensibilité à l'oïdium dans une même population de plantules issues de pollinisation libre de la variété Radoux (R1), observée durant quatre années en pépinière. La variation de sensibilité de cette population semble suivre partiellement celle de l'épidémiologie de la maladie. Celle-ci est illustrée par la moyenne des cotes d'intensité de l'oïdium de variétés témoin cultivées dans nos vergers d'évaluation durant la même période d'observation. Il semble important d'observer les populations de semis plusieurs années de suite afin d'effectuer la présélection sur base de la cote de sensibilité la plus élevée. Aucun semis ne se retrouve dans les classes 1-2 après ces quatre années d'observation.

Visser *et al.* [19] signalent que les semis rangés dans les classes de faible sensibilité peuvent être tolérés dans le cas d'une présélection. Nous présélectionnons les plantules qui appartiennent aux classes allant de 1 à 4 ; la classe 4 se caractérisant par la seule présence de symptômes d'infections secondaires et une très faible infection primaire sur les pousses feuillées.

Prenant la cote de sensibilité la plus élevée des quatre années d'observation comme base de référence, à peine 7,4 % des plantules R1 peuvent être présélectionnées pour ce critère.

Le Tableau IV donne la répartition entre les différentes classes de sensibilité à l'oïdium, de deux populations issues de pollinisation ouverte des variétés La Paix (LP) et Radoux (R2). La population LP et, dans une moindre mesure, la population R2 semblent donner une plus forte proportion de semis peu sensibles qu'en R1 (respectivement 31,4 %, 22,7 % et 7,4 %). Ces résultats sont préliminaires et devront être confirmés après quelques années d'observation supplémentaires.

Cette répartition semble correspondre à celle d'un caractère à hérédité quantitative [2].

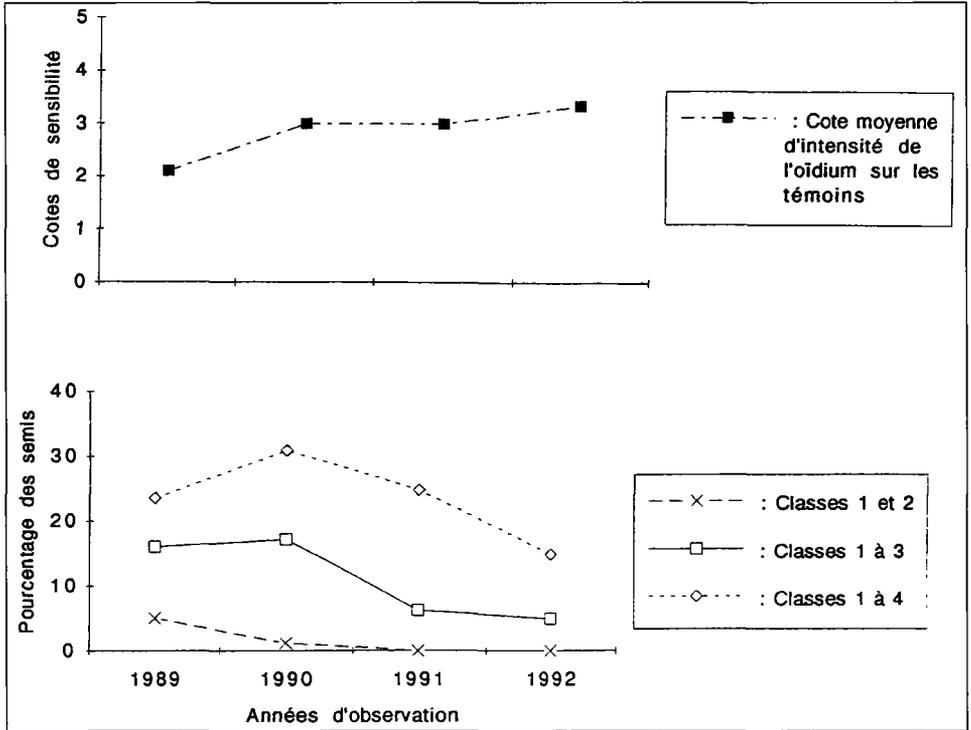


Figure 1. Évolution au champ de l'effectif des classes de sensibilité à l'oidium (*Podosphaera leucotricha*) dans une population de semis issue de pollinisation libre de la variété Radoux durant la période 1989-1992. Comparaison avec l'évolution d'intensité moyenne de l'oidium sur 20 variétés témoins du verger d'évaluation durant la même période d'observation. Nombre de plantules : 81.

Échelle de sensibilité : 1 = pas d'infection ; 9 = infection maximale.

Tableau IV. Répartition des plants de deux populations de semis issues de la pollinisation ouverte des variétés La Paix (LP) et Radoux (R2) en fonction de la sensibilité à l'oidium (*Podosphaera leucotricha*) (années 1991 et 1992). Échelle de sensibilité : 1 = pas d'infection ; 9 = infection maximale ; n = nombre de plants de semis ; % = pourcentage de plants ; () = nombre d'années d'observation.

Classes de sensibilité		1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
		La Paix (LP) (1)	n	2	0	29	55	95	31	48	13
	%	0,7	0	10,6	20,1	34,7	11,3	17,5	4,7	0,4	100
Radoux (R2) (2)	n	2	1	12	45	73	45	45	39	2	264
	%	0,8	0,4	4,5	17	27,6	17	17	14,8	0,8	100

• **Tavelure**

Ces mêmes populations évaluées pour leur sensibilité à l'oïdium ont également fait l'objet d'une sélection pour la résistance à la tavelure. Le Tableau V reprend la répartition des classes de sensibilité de ces populations concernant ce caractère. La population issue de la variété La Paix a subi un test d'inoculation artificielle en serre et a été ensuite observée au champ durant une année de croissance. Les deux populations issues de la variété Radoux (R1, R2) ont été directement évaluées au champ en condition d'inoculation naturelle durant respectivement 4 et 2 années de croissance. Seule la cote la plus élevée atteinte par un individu a été retenue pour l'élaboration de ce tableau.

La répartition des classes de sensibilité est conforme à celle d'un caractère sous contrôle polygénique, où une gradation continue suivant les classes de sensibilité est observée [19].

Les proportions de semis rangés dans les classes 1 et 2 pour les populations LP, R1 et R2 sont respectivement de 1,2 %, 1,2 % et 3,4 %. Une sensibilité à la tavelure pourrait être tolérée jusqu'à la classe 3, nous amenant à présélectionner les plantules rangées dans les classes 1, 2 et 3, ce qui porterait les pourcentages ci-dessus à 16,8 %, 6,1 % et 17,8 %.

Les résultats obtenus à partir des observations des populations LP et R2 devront être confirmés par des observations complémentaires.

• **Sélection de plantules résistantes à la fois à la tavelure et à l'oïdium**

La Tableau VI donne le pourcentage de plantules obtenu pour différentes combinaisons de résistance en champs aux deux maladies.

Le pourcentage de semis rangés dans les classes 1 et 2 simultanément pour les deux maladies est quasi nul. Si on tolère une certaine sensibilité (classes 3 et 4) à l'oïdium en maintenant l'exigence de résistance à la tavelure (S1), on se rapproche des valeurs obtenues avec des progénitures de la variété Antonovka [19], qui sont très basses : 0,45 %, 0,77 % et 0,12 %, respectivement pour R1, R2 et LP. La variété Antonovka confère également une résistance à la tavelure à contrôle polygénique mais s'accompagne d'une faible qualité organoleptique [19, 21]. Tolérer les semis pouvant atteindre les cotes 3 ou 4 de sensibilité à la tavelure (S2) est une approche à débattre.

En utilisant des gènes majeurs de résistance à la tavelure, comme le gène *Vf*, et à l'oïdium, comme les gènes Pl_1 et Pl_2 , les pourcentages de semis résistants aux deux maladies peuvent s'approcher de 16 % à 20 % [5, 6, 8], ce qui est au minimum trente fois supérieur à ceux obtenus à partir de la résistance polygénique. La voie monogénique offre néanmoins le désavantage, partant de géniteurs sauvages ou botaniques, de nécessiter plusieurs rétrocroisements afin d'améliorer les caractères agronomiques [11]. Plus important encore est le fait que la stabilité dans le temps de ce type de résistance n'est pas toujours assurée [12]. La combinaison d'une résistance polygénique et d'une ou plusieurs résistances mono ou oligogéniques semble par contre être une voie prometteuse [8, 11].

Ces résultats préliminaires ne peuvent servir que de valeur indicative pour une orientation dans le choix de géniteurs car ils sont basés sur des pollinisations ouvertes. Nos résultats futurs à partir des croisements dirigés pourront nous donner des indications plus précises sur cette question.

Tableau V. Répartition des plants de trois populations de semis issus de la pollinisation ouverte des variétés La Paix (LP) et Radoux (R1 et R2) en fonction de la sensibilité à la tavelure (*Venturia inaequalis*). Échelle de sensibilité : 1 = pas d'infection ; 9 = infection maximale ; n = nombre de plants de semis ; % = pourcentage de plants ; () = nombre d'années d'observation.

Classes de sensibilité		1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total
La Paix (LP) (2)	n	2	1	42	53	80	54	29	8	0	269
	%	0,7	0,4	15,6	19,7	29,7	20,1	10,8	3	0	100
Radoux (R1) (4)	n	0	1	4	22	35	17	2	0	0	81
	%	0	1,2	4,9	27,2	43,2	21	2,5	0	0	100
Radoux (R2) (2)	n	0	9	38	81	69	49	18	0	0	264
	%	0	3,4	14,4	30,7	26,1	18,6	6,8	0	0	100

Tableau VI. Pourcentage de semis combinant différents niveaux de résistances à la tavelure et à l'oïdium. Échelle de sensibilité : 1 = pas d'infection ; 9 = infection maximale ; () : nombre d'années d'observations ; S : somme.

Classes de sensibilité	Tavelure Oïdium	1-2		S 1	3		S 2	Total S 1 + S 2
		1-2	3-4		1-2	3-4		
Radoux (R1) (4)		0,00	0,45	0,45	0,00	2,01	2,01	2,46
Radoux (R2) (2)		0,04	0,73	0,77	1,73	3,10	4,83	5,60
La Paix (LP) (2)		0,01	0,11	0,12	0,11	4,79	4,9	5,02

Conclusions

Les sélections de variétés peu sensibles aux principales maladies, réalisées à partir de nos ressources génétiques fruitières, ouvrent des perspectives dans des domaines très variés et connaissent déjà dans la pratique des applications très encourageantes.

Outre la valorisation directe de ces variétés anciennes, l'étude de la descendance de certaines variétés sélectionnées pour leur faible sensibilité aux maladies peut offrir la possibilité de les utiliser comme géniteurs dans un programme d'amélioration basé sur la résistance à la tavelure et à l'oïdium sous contrôle polygénique.

Références

1. Bauvin JP, Lateur M, Populer C (1987). La résistance aux maladies chez les anciennes variétés d'arbres fruitiers : évaluation et valorisation commerciale. *Meded Fac Landbouwwet Rijksuniv Gent* 52 : 763-769.
2. Brown AG (1959). The inheritance of mildew resistance in progenies of the cultivated apple. *Euphytica* 8 : 81-88.
3. Crosby JA, Jannick J, Pecknold PC, Korban SS, O' Connors PA, Ries SM, Goffreda J, Voordeckers A (1992). Breeding Apples for Scab resistance : 1945-1990. *Fruit Varieties J* 46 : 145-166.
4. Goddrie PD (1992). Gangbare rassen vatbare voor schimmelziekten. *Fruitteelt* 53 : 20, 21.
5. Knight RL, Alston FH (1972). Progress at East Malling in breeding for resistance to apple mildew, *Podosphaera leucotricha*. *Jugoslav Vocarstvo* 5 (17-18) : 317-324 (Traduction anglaise).
6. Krüger J (1983). Sources of resistance to apple scab (*Venturia inaequalis*) used at the Federal Research Centre for Horticultural Plant Breeding at Ahrensburg. La résistance aux maladies, composante de la lutte intégrée en vergers. *OILB-WPRS Bull VI/4* : 123-128.
7. Lateur M, Populer C (1994). Fruit tree genetic resources in Belgium : screening for disease resistance and other desirable characteristics. *Euphytica* (sous presse).
8. Lespinasse Y (1989). Breeding pome fruits with resistance to diseases. Genes, résistance mechanisms, present work and prospects. In : *OILB Working Group Integrated Control of Pome Fruit Diseases*. WPRS Bull/XII/6, vol. 11 : 100-115.
9. Marc Ph (1993). Développement de la lutte intégrée en verger de pommiers résistants aux maladies cryptogamiques – Coopération Transfrontalière Wallonie/Nord-Pas-de-Calais. *Le Fruit Belge* 443 : 82-83.
10. Moore JN, Ballington JR (1990). *Genetic resources of temperate fruit and nut crops*. Tome 1. ISHS, Wageningen.
11. Olivier JM, Lespinasse Y (1982). Résistance du pommier à la tavelure *Venturia inaequalis* (Cke.) Wint. : sources de résistance, comportement du parasite, programme de sélection. *Cryptog Mycol* 3 : 361-375.
12. Parisi L, Lespinasse Y, Guillaume J, Krüger J (1993). A new race of *Venturia inaequalis* virulent to apples with resistance due to the *Vf* gene. *Phytopathology* 83 : 533-537.
13. Populer C, Delmotte C, Bauvin JP (1985). Évaluation de la résistance aux maladies chez les anciennes variétés fruitières en Belgique. *ACFEV & BRG J Agricul Trad Botan Appli* : 131-137. Paris.
14. Populer C, Bauvin JP, Lateur M (1989). La réintroduction de variétés anciennes d'arbres fruitiers dans le commerce des pépinières. *Rev Agric* 42 : 113-124.
15. Populer C, Lateur M (1990). Variétés fruitières anciennes et résistance aux maladies : comportement des variétés de pommiers et de pruniers RGF recommandées aux pépiniéristes. *Meded Fac Landbouwwet Rijksuniv Gent* 55 (3a) : 851-858.
16. Populer C, Lateur M (1993). Sauvegarde et valorisation des ressources génétiques fruitières. *Annales de Gembloux* 99 : 97-107.
17. Van der Scheer HATH (1988). Susceptibility of apple cultivars and selections to scab and powdery mildew in The Netherlands. In : *OILB Working Group Integrated Control of Pome Fruit Diseases*. WPRS Bull/XII/6, vol. II : 205-211.
18. Van Melckebeke J (1990). La lutte intégrée permet-elle de limiter l'utilisation de produits phytopharmaceutiques ? *Agricontact* 23 : (IIa) 1-5.
19. Visser T, Verhaegh JJ, De Vries DP (1974). Resistance to scab (*Venturia inaequalis*) and mildew (*Podosphaera leucotricha*) and fruiting properties of the offspring of the apple cultivar Antonovka. *Euphytica* 23 : 353-364.
20. Watkins R, Smith RA (1982). *Descriptor list for apple (Malus)*. CEC Secretariat, Brussels & IBPGR Secretariat, Rome.
21. Kellerhals M (1989). Breeding of some fruits with stable resistance to diseases. Development of disease resistant some fruit varieties. In : *OILB Working Group Integrated Control of some Fruit Diseases*. WPRS Bull/XII/6, vol. 11 : 116-129.

13

Ressources génétiques et amélioration des plantes

M. EL GAZZAH, N. CHALBI

Laboratoire de Génétique et Biométrie, Faculté des Sciences Tunis, Tunisie.

Résumé

Bien que posé depuis déjà une vingtaine d'années, le problème de la gestion des ressources génétiques préoccupe encore de nombreux pays. Peu de stratégies ont réellement abouti à des solutions définitives. Cela est généralement lié à une mauvaise adaptation des solutions appliquées aux conditions locales des pays considérés (manque de formation dans le domaine des sciences de la nature ou/et moyens technologiques très limités ou souvent inexistantes). Pour les pays en voie de développement comme la Tunisie, toute stratégie de gestion des ressources génétiques se doit d'être liée aux impératifs d'un développement durable, favorable à une évolution équilibrée des écosystèmes. Ainsi, après l'analyse de la situation relative aux ressources génétiques, nous proposons une approche de gestion et d'exploitation de ces ressources, en tenant compte des besoins d'un développement intégré et en rapport avec les moyens technologiques dont peuvent disposer des pays comme la Tunisie.

Il est maintenant bien établi que les ressources génétiques végétales s'amenuisent çà et là et que la situation actuelle est remarquablement inquiétante pour de nombreux pays. Une action importante est indispensable, surtout au niveau des régions supposées à haut risque où l'appauvrissement génétique est aujourd'hui une réalité, entraînant dans un bon nombre de situations la disparition de plusieurs espèces végétales, certaines encore peu connues.

Toute stratégie de lutte contre une telle érosion génétique, surtout dans les régions cibles, devrait reposer sur une bonne définition de la structure floristique de ces

régions, mais aussi sur l'analyse des interactions qui existent dans un écosystème, entre les différentes composantes, tels les ressources génétiques, les facteurs abiotiques et les effets de l'action anthropique.

Il s'agit donc de parvenir à la mise au point d'un programme efficace de gestion et d'exploitation du « patrimoine génétique », sur les plans local, régional, voire international, compte tenu des exigences réelles et le plus souvent contradictoires des éléments en présence, classés selon les deux catégories suivantes :

- exigences humaines : croissance démographique et développement socio-économique ;

- exigences écologiques : protection et accroissement de la biodiversité et équilibre multidimensionnel de l'écosystème.

Il est évident de signaler que l'importance de l'antagonisme entre ces deux catégories d'exigences est à la mesure du degré de développement socio-économique des populations humaines concernées.

Dans ce qui suit, nous allons d'abord indiquer les causes de l'érosion des ressources phytogénétiques en Tunisie. Nous présenterons ensuite une nouvelle approche quant à « la protection et la gestion de ces ressources ». Nous réserverons la dernière partie de ce texte à la discussion d'une stratégie d'exploitation « équilibrée » de ces ressources, en relation avec la préservation de la biodiversité en rapport avec les exigences socio-économiques de la population humaine, dans le contexte de la Tunisie.

Érosion des ressources phytogénétiques en Tunisie

Diversité des systèmes écologiques

D'une superficie limitée (162 154 km²) dont 37 % à vocation agricole, la Tunisie est caractérisée par une variation écogéographique remarquable. L'examen de la carte bioclimatique [9] montre, en effet, la diversité des zones bioclimatiques. Les zones semi-aride, aride et saharienne couvrent environ 93 % de la superficie du pays (respectivement 42 %, 33 % et 18 %), alors que les zones subhumide et humide sont limitées seulement à 4 % et 3 %.

Les ressources phytogénétiques présentent une distribution liée aux conditions bioclimatiques [10, 11]. Ainsi, la flore tunisienne est représentée par 2 103 espèces végétales environ, dont 400 espèces rares ou très rares. Les familles des composées, papilionacées, graminées et crucifères représentent 66 % des espèces (respectivement 22 %, 18 %, 17 % et 9 %). Ces ressources sont concentrées surtout dans la moitié nord du pays, à cause de conditions écologiques plus favorables. Cependant, le Sud tunisien reste d'un intérêt évident, quant à la valeur génétique des espèces végétales caractéristiques, remarquablement bien adaptées aux zones arides et particulièrement celles qui sont adaptées aux milieux spécifiques que sont les oasis dans le sud du pays.

Désertification

La désertification est un phénomène qui progresse à partir du sud et menace le nord du pays. En réalité, même dans le nord, il existe des foyers de désertification ayant un effet direct sur l'amenuisement des ressources phytogénétiques. Les causes sont multiples et agissent conjointement :

Pression démographique et augmentation de la demande

La population tunisienne est de 8,5 millions d'habitants environ dont 58 % sont concentrés dans les grandes villes. Cette population atteindra les 12 millions d'habitants vers l'an 2010, dont 70 % seront dans les villes. Bien que le taux d'accroissement est maintenant de l'ordre de 2 %, il reste évident que la pression démographique entraîne une augmentation des besoins nutritionnels. Ces exigences nécessitent d'envisager, parmi les solutions, une augmentation de la production agricole, en relation avec l'objectif primordial que s'est fixé le pays, celui de l'autosuffisance alimentaire.

Dégradation et essai de développement de la nappe forestière

La nappe forestière joue un rôle remarquable dans la protection de la biodiversité. Avec trois millions d'hectares de forêts à l'époque romaine, mais seulement un tiers de million d'hectares en 1956 (soit 4 % des terres non désertiques), la situation de la nappe verte était devenue à l'époque inquiétante. Toutefois, une trentaine d'années après l'indépendance, la forêt tunisienne couvre environ deux tiers de million d'hectares. Cependant, avec la poursuite des efforts de reforestation entrepris depuis, l'objectif reste celui d'atteindre vers l'an 2000 un couvert forestier de l'ordre de 1,5 million d'hectares.

Érosion des sols

Les sols sont soumis en Tunisie à une forte érosion sous l'effet de facteurs divers (déforestation, ruissellement, vent, etc.). Il est important de signaler la disparition chaque année de 10 000 ha environ de terres agricoles qui donne à ce problème une dimension particulière (trois millions d'hectares sont réellement exposés à ce risque).

Introduction d'espèces végétales à « haut rendement »

Il est bien établi que les introductions de variétés améliorées entraînent souvent, à court ou à long terme, une érosion génétique des ressources locales, particulièrement au niveau des plantes allogames. Ainsi donc, un grand problème se pose pour les populations humaines installées dans des régions historiquement connues pour leurs ressources génétiques traditionnelles. Dans ces régions, une érosion massive et accélérée entraîne la disparition de nombreuses espèces végétales bien adaptées aux conditions locales du milieu, généralement peu favorables aux génotypes introduits en Tunisie pour leur haut rendement.

Gestion des ressources phytogénétiques : une nouvelle approche

Après l'indépendance, le pays a été l'objet d'un grand nombre d'introductions de semences, aussi bien au niveau de la production céréalière qu'au niveau des plantes vivrières et sylvo-pastorales. De nombreux essais de comportement ont été entrepris en vue de valoriser les végétaux introduits. Cela a eu pour effet d'entraîner une érosion génétique importante qui s'est déjà manifestée par la disparition d'écotypes locaux et de cultivars traditionnels dont l'intérêt est considérable (blé, orge, luzerne, etc.).

Ainsi donc, le problème de la gestion des ressources phytogénétiques reste posé. Les tentatives entreprises jusqu'alors ne semblent pas cadrer d'une manière générale avec les conditions locales des pays concernés comme dans le cas de la Tunisie

(manque de formation dans le domaine des sciences de la nature, moyens technologiques très limités ou souvent inexistants). En Tunisie, une prise de conscience se fait sentir depuis déjà quelques années. En effet, les problèmes de l'environnement préoccupent de plus en plus l'ensemble de la population, à différents niveaux. Pour des pays en voie de développement, une stratégie de gestion des ressources phylogénétiques devrait être liée aux impératifs d'un développement durable. Aussi, une approche nouvelle de gestion de ces ressources tenant compte des besoins d'un développement intégré s'impose-t-elle [6]. Une telle approche devrait reposer sur les deux composantes stratégiques essentielles :

Protection des ressources phylogénétiques dans leurs milieux naturels, au niveau des écosystèmes

Il s'agit de définir une politique d'information et de formation à court, moyen et long terme. Elle aura pour objectif de montrer l'importance des ressources phylogénétiques locales et les méthodes de préservation et de conservation. Elle permettrait de réaliser un comportement socio-écologique responsable, fondé sur l'amour de la nature et la protection des richesses génétiques.

Approche écotechnologique d'appui

Parallèlement à cet aspect « socio-écologique » fondamental, une approche écotechnologique complémentaire est nécessaire et intégrera les éléments suivants :

- zones protégées écogéographiquement spécialisées et bien intégrées dans les régions bioclimatiques du pays ;
- jardins botaniques dans toutes les zones bioclimatiques ;
- espaces verts et développement de la végétation forestière ;
- contrôle des introductions génétiques ;
- recherche et protection des cultivars traditionnels ;
- recherche analytique et valorisation des « savoir-faire » populaires dans les domaines de la protection et de l'utilisation des ressources génétiques locales ;
- création de variétés améliorées locales, bien adaptées mais présentant une identité génétique certaine ;
- maîtrise réelle des biotechnologies pour une meilleure analyse des flux géniques en relation avec l'équilibre écogéographique.

Quel avenir pour l'amélioration des plantes ?

Civilisation agricole et civilisation du gène

La révolution néolithique a installé, sur plusieurs milliers d'années, une civilisation agricole. Ainsi, de nombreuses espèces végétales furent domestiquées, améliorées et mises au service de l'Homme. Aujourd'hui, on peut dire qu'une civilisation du gène est née, utilisant des biotechnologies de plus en plus précises. Cette nouvelle situation pourrait être appelée à modifier complètement les facettes de la civilisation agricole et dans un temps relativement court. Les banques de gènes et les enceintes climatisées de multiplication des souches tissulaires et cellulaires remplaceront-elles les écosystèmes,

les grandes superficies de multiplication et de production des semences et les méthodes de sélection classique ?

Qu'en sera-t-il pour les ressources phytogénétiques ?

Une approche intégrée « socio-écotechnologique » est nécessaire pour lutter contre l'appauvrissement génétique et contribuer efficacement à une gestion équilibrée des ressources végétales. En effet, l'utilisation des biotechnologies ne peut se concevoir à elle seule en dehors d'une stratégie efficace de gestion équilibrée de ces ressources, dans leurs milieux naturels. Ainsi donc, des programmes de recherches visant à identifier ces phyto-ressources et à définir les meilleures méthodes de leur protection nous paraissent indispensables avant toute tentative d'utilisation de ces ressources par voie biotechnologique.

Quel avenir pour l'amélioration des plantes ?

L'amélioration des plantes a toujours eu pour objectif essentiel la création de variétés à haut rendement ou ayant une caractérisation spécifique comme la résistance à une maladie, au stress hydrique, salin, etc. L'utilisation de ces variétés a entraîné dans beaucoup de cas la disparition de cultivars traditionnels maintenus jusqu'alors en culture. L'introduction de ces variétés dans des régions écogéographiquement défavorables a le plus souvent montré leur faible valeur adaptative, en relation avec leur forte homogénéité génotypique. Dans une autre mesure, l'amélioration des plantes devrait à l'avenir viser l'obtention de variétés présentant une bonne souplesse adaptative, localement performantes et fortement intégrées dans l'écosystème (conservation de la biodiversité). Pour cela, l'intervention d'équipes pluridisciplinaires reste indispensable (généticiens, écologues, physiologistes, botanistes, biochimistes, biométriciens, etc.). Dans une telle approche, tout programme d'amélioration des plantes reposerait sur la stratégie suivante :

Identification des ressources phytogénétiques locales

De nombreuses espèces végétales autochtones ont déjà disparu ou sont très menacées. Dans ce domaine, les statistiques peuvent être trompeuses. En effet, seules sont indiquées les espèces ayant fait l'objet d'une étude particulière. Très nombreuses sont les espèces disparues ou en train de le devenir, mais non recensées dans les prospections déjà entreprises, parce que sans intérêt dans les objectifs immédiats. Par ailleurs, des cultivars traditionnels remarquablement adaptés aux conditions locales de l'environnement [1] ont été abandonnés par les paysans et remplacés par des variétés supposées à haut rendement. L'identification des ressources locales repose essentiellement sur :

- l'étude de la répartition écogéographique des populations naturelles [3] : il s'agit de l'analyse de la variabilité inter et intra-populations, à travers des critères morphologiques ou/et biochimiques. L'utilisation des marqueurs moléculaires est d'un apport considérable [7, 8] mais reste liée aux moyens technobiologiques, quelquefois difficiles à réunir dans des pays comme la Tunisie ;

- la définition des flux géniques par l'examen des caractéristiques du système de reproduction sexuée, dans les conditions naturelles de pollinisation [2, 5], par les méthodes de l'analyse génétique classique, moins onéreuses ;

- l'examen des conséquences de l'amélioration « traditionnelle » des plantes par la prospection et la collecte des cultivars encore disponibles ;

– l'élargissement de la variabilité génétique par l'acquisition de nouvelles ressources et l'enrichissement des collections existantes.

Définition d'une stratégie appropriée d'amélioration des plantes

Certes, l'accès aux biotechnologies a modifié de façon évidente les méthodes de la création variétale. En effet, des marqueurs moléculaires s'ajoutent aux marqueurs classiques et permettent de réaliser des contrôles et des identifications rapides et précis des génotypes. Cependant, les équipements, comme on le sait déjà, sont onéreux et exigent une technicité particulière qui n'est pas encore à la portée d'un bon nombre de laboratoires des pays en voie de développement. Il demeure donc indispensable, là même où ces moyens ne sont pas encore disponibles, de continuer à progresser à l'aide des méthodes classiques de l'amélioration des plantes. C'est à ce titre-là que différents programmes d'analyse de la diversité génétique aux niveaux de populations naturelles, tout comme pour des cultivars, continuent à progresser par l'utilisation des voies de l'exploration génétique classique, comme c'est le cas dans les programmes suivants, dans notre laboratoire :

- l'étude du système de reproduction sexuée de populations naturelles et de cultivars chez *Hedysarum coronarium* L. Deux marqueurs sont utilisés : le port « prostré-érigé » des plantes et la « présence-absence » d'anthocyanes [5] ;
- l'analyse du polymorphisme génétique chez *Vicia faba* L. par l'utilisation de marqueurs simples comme la couleur du hile, la couleur des graines, la « présence-absence » d'anthocyanes sur les tiges [2] ;
- l'étude de la diversité génétique par l'analyse de la répartition géographique et des adaptations au niveau du genre *Atriplex* L. en Tunisie [3].

Conclusion

Ainsi donc, une stratégie d'amélioration des plantes appropriée reposera sur :

- une bonne connaissance biologique des ressources phytogénétiques considérées (populations autochtones, cultivars, collections diverses). Dans ce domaine, les méthodes biotechnologiques très variées [4] sont d'un apport considérable et peuvent être utilisées, compte tenu des moyens disponibles ;
- une définition précise des objectifs de la sélection (caractéristiques génétiques des biotypes, souplesse adaptative), en relation avec les moyens techniques disponibles ;
- les conséquences de cette opération de sélection sur la biodiversité (relations « biotopes-cultivars-populations »).

Les efforts pour mener à bien une telle stratégie dans les pays en voie de développement, comme c'est le cas de la Tunisie, devront considérer les deux axes essentiels suivants :

- **protection des ressources génétiques dans leurs milieux naturels** : définir une politique de formation à court, moyen et long terme, pour montrer l'importance des ressources génétiques locales et bien asseoir les méthodes de préservation et de conservation et mener une recherche d'analyse et de valorisation des « savoir-faire » populaires dans les domaines de la protection et de l'utilisation de ces ressources,

- **approche écotecnologique d'appui**, en vue d'intégrer les éléments suivants :

- recherche et préservation des cultivars traditionnels ;
- définition des systèmes de reproduction des espèces à améliorer, dans les conditions naturelles ;
- analyse de la diversité génétique au niveau des complexes d'espèces et enrichissement des collections ;
- maîtrise réelle des biotechnologies pour une exploration approfondie du polymorphisme génétique dans ces collections.

Références

1. Beninga M (1992). Évaluation et utilisation des ressources génétiques des mils et des sorghos. Collecte et valorisation des formes sauvages. In : *Complexes d'espèces, flux de gènes et ressources génétiques des plantes*. Éd Lavoisier-Technique et Documentation : 73-86.
2. Ben Fadhl-Haffani ZY (1993). Le polymorphisme génétique chez *Vicia faba* L. ; définition et exploitation. DEA, Fac. Sc. Tunis, 87 p.
3. Bezzaouia A (1993). Diversité génétique, répartition et adaptations au niveau du genre *Atriplex* L. ; cas d'espèces de Tunisie. DEA, Fac. Sc. Tunis, 98 p.
4. Demarly Y, Sibi M (1989). Amélioration des plantes et biotechnologies. John Libbey Eurotexte, Science en marche, 152 p.
5. El Gazzah M (1992). Contribution à l'étude du système de reproduction sexuée de populations de Sulla (*Hedysarum coronarium*) ; conséquences sur la structure génétique. Thèse de Doctorat d'État, Fac. Sc. Tunis, 284 p.
6. El Gazzah M (1992). Ressources génétiques et développement : une nouvelle approche. *The North African environment at risk : environment sustainability and economic development*. Tanger, Morocco, American Legation Museum, 21-26 June.
7. Friar E, Kochert G (1991). Bamboo germplasm screening with nuclear restriction fragment polymorphism. *Theor Appl Genet* 82 : 697-703.
8. Leonardi A, Damerval C, Hebert Y, Gallais A, de Vienne D (1991). Association of protein amount polymorphisms (PAP) among maize lines with performances of their hybrids. *Theor Appl Genet* 82 : 552-560.
9. Le Floch E, Carrière A, Nabli MA (1986). Carte bioclimatique de la Tunisie (Échelle : 1/1 000 000).
10. Nabli MA (1991). Diversité floristique en Tunisie. In : *Conservation des ressources végétales, Actes Éditions* : 51-52.
11. Nabli MA (1991). Ressources végétales en Tunisie : évaluation, valorisation et conservation. In : *Conservation des ressources végétales. Actes Éditions* : 53-58.

14

Amélioration de la tomate pour la résistance au flétrissement bactérien provoqué par *Pseudomonas solanacearum*

E. NSIKA-MIKOKO

Département de Biologie et Physiologie végétales, Faculté des Sciences, Brazzaville, Congo.

Résumé

*L'amélioration de la tomate pour la résistance aux maladies, et particulièrement le flétrissement bactérien provoqué par *Pseudomonas solanacearum* par la voie classique des hybridations, permet d'obtenir des résultats qui satisfont aux exigences de la culture en sols contaminés pendant au moins deux cycles de culture.*

Du fait de la ségrégation de l'hybride, les caractères parentaux réapparaissent et le nombre d'individus présentant la résistance se réduit au cours des générations.

Après avoir fait le point sur l'un des systèmes de culture qui permet, dans les conditions de culture paysannes, d'atténuer les effets du flétrissement, il a été envisagé l'utilisation de la voie biotechnologique, en espérant obtenir des variants somaclonaux présentant une tolérance qui pourrait se conserver à travers le passage par la méiose.

*Sur des cals obtenus par mise en culture des cotylédons excisés des jeunes plants de tomate, des bactéries appartenant à une souche de *Pseudomonas solanacearum* ont été inoculées avant la formation des racines ; des tests effectués sur les plantes régénérées et sur le terrain montrent une conservation du caractère tolérance obtenue.*

Depuis qu'il s'est organisé en communautés sédentaires pratiquant l'agriculture, l'homme, de manière empirique d'abord, puis en utilisant les données scientifiques ensuite, a toujours œuvré pour l'augmentation de la productivité des agroécosystèmes :

- en choisissant dans les populations naturelles les plantes les plus productrices et surtout aptes à produire dans différentes conditions de culture ;
- en protégeant les semences en les conservant dans des silos clos ou des greniers enfumés ;
- en utilisant des plantes à cycles courts qui arrivent à maturité avant la période de grande multiplication du parasite.

Avec la naissance de la lutte chimique, suite aux expériences de l'abbé Pluchet [6], les plantes ont été traitées en période végétative, pour prévenir les maladies, pour arrêter la progression d'une épidémie ou en retarder l'évolution à partir des molécules qui bloquent la croissance ou qui tuent les ennemis de culture. Mais malgré l'abondance des molécules actives que la chimie des pesticides a pu mettre sur le marché, il reste des agents pathogènes pour lesquels aucun produit ne permet une éradication efficace. C'est le cas de certaines bactérioses et en particulier celle provoquée sur la tomate par *Pseudomonas solanacearum*.

Bien que, dans les conditions de culture paysannes, il existe des techniques culturales permettant d'obtenir des productions appréciables, et que les progrès en génétique mettent de temps en temps au point des variétés hybrides, il serait préférable de disposer des variétés présentant une tolérance durable à ce fléau, pour produire la tomate dans toutes les conditions de culture en sols contaminés.

Depuis une dizaine d'années, un recours constant est fait aux biotechnologies dans la résolution des problèmes qui se posent en phytopathologie et en amélioration des plantes [8, 9].

Dans la recherche de la variété tolérante (voire résistante), la culture *in vitro* a été pratiquée en référence aux travaux de Sibi [19], Nsika-Mikoko [14], Chagvardieff [5], Demarly [8], Aaouine [1], Chlyah [7] et Nsika-Mikoko [17].

Pour rendre sélective cette variabilité, il a été procédé à des inoculations des bactéries sur les cals avant la formation des racines sur le milieu artificiel.

Symptômes et distribution de la bactériose au Congo

Symptômes

L'apparition des symptômes se fait par étapes progressives. Dans un premier temps, il y a ramollissement puis recourbement vers le bas de certaines feuilles ou moitiés de feuilles vertes aux heures les plus chaudes de la journée, puis le flétrissement gagne l'ensemble des feuilles ; la plante continue à végéter mais avec une croissance fortement freinée [4]. Ce flétrissement se poursuit jusqu'à ce que les feuilles jaunissent puis sèchent.

L'élimination de l'écorce de la tige laisse entrevoir un brunissement des tissus. Au niveau du collet, apparaissent des protubérances qui sont des ébauches de racines avortées d'environ 1 mm de diamètre [11]. L'apparition de ces protubérances correspond à une réaction de défense, mais tardive, de l'hôte, par suite de l'obturation des faisceaux.

Distribution de la maladie au Congo

En pratique, toutes les régions congolaises sont touchées par les dégâts causés par le flétrissement bactérien dû au *Pseudomonas solanacearum* ; on le rencontre dans les régions :

- des Plateaux, sur la pomme de terre, le tabac et la tomate ;
- de la Bouenza, sur la totalité des solanacées et sur l'arachide [15] ;
- du Niari, du Pool, de la Lékoumou et de Brazzaville, sur toutes les solanacées en général [21].

Les données sur la distribution du flétrissement sont résumées dans la Figure 1.

Une technique culturale permettant de contourner efficacement les dégâts du flétrissement bactérien

Pendant la préparation du terrain qui commence très tôt au mois de juillet pour les prochains semis d'octobre, l'herbe coupée à la houe ou à la pelle est mise à sécher, placée suivant la forme d'un grand matelas de 2 à 3 mètres de longueur, 1 à 1,50 m de largeur et 50 à 70 cm de hauteur, sur lequel on étale tous les débris d'herbe.

A la fin, autour des planches rectangulaires décrites précédemment, on creuse la terre pour en déposer une couche de 10 à 15 cm répartie régulièrement sur tout le matelas des débris herbacés. On y met le feu qui brûle à l'étouffée pendant longtemps, permettant une pénétration de la chaleur jusqu'à une certaine profondeur dans le sol.

Avec l'arrivée de la saison des pluies d'octobre ou même de novembre, les planches sont retournées en vue de mélanger les cendres et le sol et, à ce stade, elles sont prêtes à recevoir les semis. Cette méthode permet, en sols reconnus infestés, de réussir la culture sans qu'il y ait manifestation des symptômes de flétrissement bactérien ; mais elle présente l'inconvénient majeur de laisser pendant longtemps le terrain en jachère : le temps que l'herbe repousse.

Or, dans la pratique des cultures intensives, les mêmes planches doivent être retournées plusieurs fois dans l'année, et l'herbe à brûler manque souvent après la première défriche. C'est une des raisons qui conduit à la recherche d'une tolérance, voire d'une résistance durable, comme une solution pour les cultures à venir.

Données expérimentales et résultats

Matériel et méthodes

Sur les jeunes plants de trois variétés de tomate dont les caractéristiques ont été décrites [16], des cotylédons ont été excisés et mis en culture *in vitro* sur un milieu de culture synthétique [12]. Des cals ont pu être obtenus dans des conditions axéniques, les repiquages se faisant tous les 15 jours, d'une part ; d'autre part, nous avons, à partir d'une tige de plante infectée par la bactérie *Pseudomonas solanacearum*, isolé la bactérie qui a été caractérisée de la manière suivante : c'est une bactérie dont le métabolisme respiratoire est oxydatif. elle possède une catalase, ne produit pas de levane et n'hydrolyse pas l'amidon. La réaction d'hypersensibilité sur le tabac donne une réponse positive au bout de 24 heures [3, 16]. L'isolat a été conservé dans des conditions permettant le maintien du pouvoir pathogène.



Figure 1. Zones où le flétrissement bactérien a été recensé au Congo.

Préparation de la dilution bactérienne et inoculations

Les bactéries cultivées en boîtes de Pétri sont prélevées avec une anse de platine et diluées dans de l'eau distillée stérile ; la solution est titrée de manière à obtenir une concentration de plus de 5 000 bactéries au ml [2, 13].

Pour les inoculations des cals, 1 ml de la solution décrite plus haut est prélevé dans une seringue et injecté dans le cal qui a déjà initié des bourgeons.

Pour l'inoculation des plantes en terre, la même quantité de la suspension bactérienne est déposée à 2 endroits diamétralement opposés, au niveau des premières racines sous le collet ; ce, après avoir réalisé une entaille dans l'écorce de la plante à inoculer.

Résultats

Plusieurs plantes ont pu être régénérées à partir des milieux ne contenant pas de bactéries ; la variation qui se produit s'exprime surtout sur les caractères morphologiques, à savoir : opposition des feuilles 3 et 4, se traduisant par l'absence d'un entrenœud et qui conduit à des plantes plus courtes par rapport au phénotype normal, cela pour la variété TM103. En présence des bactéries, sept plantes seulement ont été régénérées, à partir des cals de la variété locale (5) et la variété PT778 (2).

Ces plantes régénérées ont été mises en terre puis multipliées par bouturage avant leur mise à fleurs. Le Tableau I indique les principaux résultats obtenus sur la régénération.

Tableau I. Résultats des régénérations après inoculation des bactéries.

Variétés	TC103	PT778	Local My 104
Nombre des repiquages	1 5 8	1 5 8	1 5 8
Nombre de plantes régénérées (témoins)	36 43 21	28 35 17	19 15 23
Nombre de plantes régénérées en présence des bactéries	- - -	- 2 -	- - 5

Après la mise à fruits, les graines ont été prélevées et mises en terre dans les conditions naturelles de culture. Au stade 7 feuilles, des inoculations artificielles ont été réalisées. Sur les descendances par autofécondation des plantes régénérées en présence des bactéries, et jusqu'au stade premier bouquet floral (qui est en général le stade d'apparition des symptômes du flétrissement bactérien), nous n'avons noté aucun signe de flétrissement, ce qui traduit une certaine mémorisation du caractère « Tolérance au flétrissement bactérien ».

Si, au cours des autofécondations suivantes, le phénomène pouvait se maintenir, la culture *in vitro* pourrait donc apparaître comme une source par laquelle on pourrait induire une tolérance au flétrissement bactérien provoqué par *Pseudomonas solanacearum*. Pilowsky et Zutra [18] sont arrivés à des résultats similaires en travaillant sur tomate avec une souche de *Pseudomonas syringae* p.v. tomato. Signalons que dans notre cas, ne sont présentés ici que les résultats préliminaires ; il nous faudra par la suite examiner, au niveau des descendances après autofécondations, s'il s'agit des mutations qui ont conduit à la manifestation de cette tolérance ou alors si c'est le phénomène variation somaclonale qui s'est réellement manifesté.

Nsika-Mikoko [14] montrait qu'il pouvait se produire des mutations après une certaine durée de vie du matériel sur milieu en culture synthétique. Dans tous les cas, qu'il s'agisse d'une mutation ou de l'expression d'une variation somaclonale après passage en culture *in vitro*, cela témoigne de la souplesse de l'expression des gènes sur le chromosome, dans le noyau de la cellule entière [8, 20]. En effet, l'existence des introns,

des exons, des éléments d'insertion, des transposons, ainsi qu'une coopération des pseudogènes dans une séquence, peut faire apparaître des séries d'adaptations à des situations données.

Ce travail, qui doit être complété par une étude histologique quant à l'impossibilité de pénétration ou de multiplication de la bactérie, devrait conduire à la mise au point d'une variété résistante susceptible de passer dans le processus de culture dans les régions aux sols contaminés.

Cette technique de contamination artificielle de cals avant la régénération des plantes présente plusieurs avantages.

C'est un modèle simple, reproductible et rapide, ne présentant aucun danger pour la dissémination du pathogène, mais permettant aussi de travailler sur un espace réduit avec une grande quantité de matériel.

Conclusion

L'apparition des clones variants mis en évidence par les praticiens de la culture *in vitro* sont d'un apport important en amélioration des plantes ; plusieurs questions (surtout en ce qui concerne la maîtrise de la production de la variabilité) doivent trouver une solution pour une bonne réussite sur le terrain de la confrontation entre la qualité des clones variants et les pratiques agricoles.

Références

1. Aaouine M (1990). Les biotechnologies et leurs applications. Cours sur les cultures *in vitro* IAVH II, 17 mai-15 juin, Agadir, Maroc.
2. Boher B (1987). Les bactéries des plantes cultivées en République du Congo. Communication au séminaire sur la plante et l'homme. Brazzaville, 4-6 mars, 6 p.
3. Bounkoulou A (1987). Comportement de quelques variétés de tomate vis-à-vis d'un ennemi tellurique *Pseudomonas solanacearum*. Mémoire de Diplôme d'Ingénieur de Développement Rural. IDR Université Marien Ngouabi, Brazzaville, 42 p.
4. Buyckx EJE (1962). Précis des maladies et des insectes nuisibles rencontrés sur les plantes cultivées au Congo, Rwanda et Burundi. *Phytopathologie et entomologie agricole*. INEAC : 195-196.
5. Chagvardieff P (1985). L'utilisation de la variabilité exprimée spontanément en culture, en vue de l'amélioration des plantes. *Bull Soc Bot Fr* 132, *Actual Bot* 3/4 : 37-103.
6. Chevaugéon J (1979). Méthodes de lutte contre les maladies des plantes. Cours de Phytopathologie (DEA Amélioration des plantes). Université Paris-XI, Orsay.
7. Chlyah H (1990). Culture de Protoplastes et variation somaclonale. Cours sur les cultures *in vitro* IAVH II, 7 mai-15 juin, Agadir, Maroc.
8. Demarly Y (1989). Technical aspects of plant biotechnologies. In : *Plant biotechnologies for Developing countries*. Proceedings of an International Symposium organized by CTA and FAO. 26-30 June. Luxembourg, p. 47-58.
9. Inzé D (1992). Plant defence systems against invading pathogens. Interactions plantes-microorganismes. Séminaire IFS, 267.
10. Larkin PJ, Scowcroft WR (1981). Somaclonal variation : a novel source of variability from cell cultures for plant improvement. *Theor Appl Genet* 60 : 197-214.
11. Messiaen CM (1975). Le potager tropical. Tome 2. PUF. Paris : 197-230.

12. Murashige R, Skoog F (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol Plant* Vol. 15 : 473-497.
13. N'dir Sy M, Bâ AT (1992). La stemphyliose de *Solanum aethiopicum* L, GR Kumba causée par *Stemphylium solani* Weber. Comptes rendus du séminaire FIS sur les interactions Plantes-micro-organismes. Dakar, Sénégal : 277-283.
14. Nsika-Mikoko E (1982). Analyse de la variabilité dans la descendance des plantes obtenues par culture *in vitro* de tissus somatiques de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Thèse de Doctorat 3^e Cycle. Université Paris XI, Orsay, 118.
15. Nsika-Mikoko E (1987). La bactériose de la tomate en République du Congo. Communication présentée lors du séminaire sur la Plante et l'homme. Brazzaville 4-6 mars, 9 p.
16. Nsika-Mikoko E (1989). Le flétrissement bactérien : un handicap à la culture de la tomate au Congo. Annales de l'Université du Bénin. Série Sciences Tome IX : 36-48.
17. Nsika-Mikoko E (1992). Induction de la tolérance au *Pseudomonas solanacearum* par l'utilisation de la variation somaclonale en culture *in vitro*. Comptes rendus du séminaire FIS sur les interactions plantes-micro-organismes. Dakar, Sénégal : 397-400.
18. Pilowsky M, Zutra D (1986). Reaction of different tomato genotypes to the bacterial speck pathogen (*Pseudomonas syringae* p.v. tomato). *Phytoparasitica* 14 (1) : 39-42.
19. Sibi M (1976). La notion de Programme génétique chez les végétaux supérieurs. II. Aspect expérimental : obtention des variants par culture de tissus *in vitro* sur *Lactuca sativa* L., apparition de vigueur chez les croisements. *Ann Amelior Pl* 26 (4) : 523-547.
20. Sibi M (1979). Expression of cryptic genetic factors *in vivo* and *in vitro*. In : Zeven Ac, Van Harten AM, eds. *Proc. Conf. Broadening Genet Base Crops* 1978. Wageningen Pudoc, Wageningen : 339-340.
21. Zenzéké AH (1984). Contribution à l'étude d'un ennemi tellurique des Solanacées : *P. solanacearum*. Mémoire. Université M. Ngouabi. IDR, 66 p.

