

UTILISATION DE LA POLYPLOIDIE INDUITE

METHODE DE CREATION DE CULTIVARS TETRAPLOIDES

**Etude sur ray-grass d'Italie (F. BERTHOU, P. MANSAT, J.-C. RENE)
et fétuque des prés (M. GILLET, J. JADAS-HECART,
puis P. MANSAT, A. MATHIAN, J.-C. RENE)**

La création d'un cultivar tétraploïde de plante fourragère allogame est couramment effectuée en traitant à la colchicine des graines de populations diploïdes, puis en sélectionnant parmi les plantes tétraploïdes obtenues et en les réunissant en variété synthétique.

En fait, lors de la production d'une population tétraploïde, deux phénomènes se produisent successivement :

- un effet sur l'individu traité, c'est-à-dire le doublement immédiat du nombre de chromosomes qui conduit à une structure duplex ;
- un effet sur la population au cours de la multiplication, par recombinaison des gamètes : il y a réorganisation des associations alléliques sur quatre chromosomes.

Ceci correspond en pratique aux deux phases classiques de la création variétale : sélection des individus, recombinaison en une synthétique.

Par ailleurs, on sait que la structure diploïde permet une sélection et une homogénéisation plus rapide que la tétraploïde. Par contre, la multiplicité des loci de cette dernière donne lieu à des interactions alléliques plus nombreuses et entraîne une stabilité un peu plus grande dans l'évolution des populations synthétiques lors des multiplications nécessaires à la fabrication d'une variété, voire un gain lors de la création d'un hybride double par rapport à l'hybride simple.

De cet ensemble de faits, il est logique de concevoir la méthode de création suivante :

- sélection des individus au niveau diploïde ;
- doublement du stock chromosomique des lignées ;
- recombinaison de ces nouvelles plantes tétraploïdes en une synthétique (hybrides simple ou double multipliés étant des cas particuliers).

La réussite d'une telle méthode est subordonnée à l'existence de corrélations entre les qualités de l'individu diploïde et celles du tétraploïde isogénique qui en est directement issu. A priori, elles ne peuvent qu'exister, variables selon la complexité d'expression des caractères mis en parallèle.

Pour le vérifier, il est nécessaire de faire appel à des couples isogéniques, clones issus de plantes mixoploïdes ou croisements contrôlés réalisés à partir d'eux ; en effet, les comparaisons de populations tétraploïdes, aux diploïdes dont elles sont issues selon la technique classique, sont biaisées par des sélections conscientes ou non et elles sont effectuées après la phase de recombinaison.

Cette étude a été réalisée sur ray-grass hybride (*L. perenne* × *L. italicum*) et fétuque des prés en collaboration avec J. PICARD et J. BERTHAUT travaillant sur trèfle violet à Dijon.

Les résultats concernant le ray-grass ont été publiés (15, 16). Le tableau III en présente les éléments chiffrés essentiels, le tableau IV fournit des mesures recueillies sur fétuque des prés.

Les clones ont été créés par éclatements successifs de plantes mixoploïdes issues de graines traitées à la colchicine. Les observations ont eu lieu en châssis, en pépinière de plantes isolées, en micro-essai. Douze clones de ray-grass ont été étudiés, vingt-neuf en fétuque des prés. Sur cette dernière espèce, deux polycross comparables correspondant à seize paires ont permis de comparer les caractéristiques de fertilité.

Il apparaît que l'effet du doublement est plus ou moins prononcé suivant les caractères. Classiquement, le tallage est diminué, la taille des organes augmentée, le taux de leur apparition plus faible. La production totale est moindre surtout en fétuque des prés, mais il s'agit d'individus partiellement homozygotes. Les caractéristiques de qualité mesurées sont peu différentes. La fertilité est peu affectée chez le ray-grass, plus chez la fétuque.

Des corrélations significatives existent pour la plupart des caractères. En ce qui concerne le tallage, la compétition limitant son extériorisation, la corrélation apparaît en pépinière mais moins en essai. Ceci montre que la polyploïdie ne perturbe pas de manière importante les classements établis au niveau diploïde. L'échelle même des valeurs n'est pas trop modifiée.

TABLEAU III

CORRELATIONS ENTRE DIPLOIDES ET TETRAPLOIDES ISOGENIQUES
RESULTATS SUR RAY-GRASS HYBRIDE

Caractère mesuré	Tétradi %	Coeff. corrél.	Coeff. régres. tétradi
Nombre de talles par plante :			
(a)	47	0,64	0,39
(b) 1 ^{re} c.	70	0,31	
2 ^e c.	76	0,49	
3 ^e c.	71	0,39	
Poids frais par talle :			
(a)	116	0,76	0,96
(b) 1 ^{re} c.	131	0,59	0,69
2 ^e c.	110	0,64	0,62
3 ^e c.	110	0,59	0,42
Poids sec par talle :			
(a)	92	0,56	0,47
(b) 1 ^{re} c.	114	0,43	
3 ^e c.	117	0,52	0,48
Surface de feuille :			
(a)	113	0,74	0,93
(b) 1 ^{re} c.	132	0,75	0,86
2 ^e c.	120	0,79	0,79
Longueur de feuille :			
(a)	102	0,63	0,73
(b) 1 ^{re} c.	109	0,64	0,70
2 ^e c.	107	0,80	0,68
Largeur de feuille :			
(a)	112	0,60	0,68
(b) 1 ^{re} c.	111	0,76	0,73
2 ^e c.	113	0,70	0,75
Taux d'apparition des feuilles :			
(c)	86	0,52	0,30
Production M.V. par parcelle :			
(b) 1 ^{re} c.	95	0,52	0,50
2 ^e c.	89	0,64	0,97
3 ^e c.	84	0,68	0,53

(a) Plante cultivée sous châssis.

(b) Plante cultivée en micro-essai.

(c) Plante cultivée en culture hydroponique en serre. 1^{re} c. Première coupe.

2^e c. Deuxième coupe. 3^e c. Troisième coupe.

Valeur limite du coefficient de corrélation au niveau 10 %, 5 %, 1 % pour 12 paires : 0,50 - 0,58 - 0,71. 31

TABLEAU III (Suite)

CORRELATIONS ENTRE DIPLOIDES ET TETRAPLOIDES ISOGENIQUES
RESULTATS SUR RAY-GRASS HYBRIDE

Caractère mesuré	Tétra/di %	Coeff. corrél.	Coeff. régres. tétra/di
Production M.S. par parcelle :			
(b) 1 ^{er} c.	98	0,40	
3 ^e c.	87	0,59	0,50
Poids sec de racines :			
(c)	133	0,48	
% de matière sèche :			
(b) 1 ^{er} c.	102	0,51	0,30
2 ^e c.	106	0,42	
Teneur en N (N Kjeldahl) :			
(a)	98	0,81	0,54
(b) 1 ^{er} c.	99	0,63	0,57
Teneur en cellulose brute :			
(a)	96	0,84	0,82
(b) 1 ^{er} c.	104	0,58	0,69
Teneur en cendres :			
(a)	106	0,87	1,06
(b) 1 ^{er} c.	99	0,59	0,71
Teneur en glucides solubles :			
(a)	99	0,86	0,57
Digestibilité (méthode Tilley) :			
(a)	98	0,69	0,64
Nombre d'épis par ligne :			
(b) 1 ^{er} c.	142	0,64	0,67
2 ^e c.	143	0,77	1,29
Sensibilité à la rouille :			
(a)		0,9 (rang)	

(a) Plante cultivée sous châssis.

(b) Plante cultivée en micro-essai.

(c) Plante cultivée en culture hydroponique en serre. 1^{er} c. Première coupe.

2^e c. Deuxième coupe. 3^e c. Troisième coupe.

32 Valeur limite du coefficient de corrélation au niveau 10 %, 5 %, 1 % pour 12 paires : 0,50 - 0,58 - 0,71.

TABLEAU IV
CORRELATIONS POUR DIFFERENTS CARACTERES ENTRE DIPLOIDES
ET TETRAPLOIDES ISOGENIQUES SUR *FESTUCA PRATENSIS*

<i>Rendements et caractéristiques de qualité, sur plantes isolées (29 couples)</i>						
Date de coupe	21/6/65	5/8/65	4/9/65	1/6/66	27/7/66	11/10/66
Etat de dévelop. ..	<i>végétatif</i>	<i>végétatif</i>	<i>végétatif</i>	<i>épié</i>	<i>végétatif</i>	<i>végétatif</i>
Poids vert	0,65	0,67	0,63	0,73	0,63	0,54
Poids sec	0,72	0,66	0,55			
% de M.S.	0,75	0,83	0,61			
% d'N (Kjeldahl) .	0,63		0,74			
% de cellulose (Weende)	0,66		0,76			
Digestibilité <i>in vitro</i>						0,40

<i>Caractéristiques de fertilité (16 couples)</i>					
Caractères	<i>Longueur de l'épi</i>	<i>Nbre de fleurs par épillet</i>	<i>Nbre total de fleurs par plante</i>	<i>Nbre de fleurs fertiles</i>	<i>Coefficient de fertilité</i>
Corrélation	0,55	0,72	0,81	0,40	0,42

Valeurs limites du coefficient de corrélation :

	10 %	5 %	1 %
29 couples :	0,32	0,38	0,48
16 couples :	0,42	0,49	0,62

Cependant, au sein de cette loi générale de corrélation, apparaît une interaction « génotype \times ploïdie » significative pour certains caractères. Ceci est mis en évidence par la variation du rapport $\frac{\text{tétra}}{\text{di}}$ entre éléments des paires. Dans l'analyse factorielle de certains résultats, cette interaction apparaît significative. C'est le cas du rendement chez le ray-grass d'Italie, mais pas chez la fétuque. Cependant, les effets « ploïdie » et « génotype » prennent toujours une part beaucoup plus importante de la variation. Le coefficient de régression montre comment un gain de une unité chez le diploïde peut être transmis au niveau tétraploïde.

La méthode envisagée est donc applicable. Il suffit de la compléter par un tri rapide, après doublement des lignées diploïdes, pour tenir compte de l'interaction.

TECHNIQUE DE DOUBLEMENT DU GENOME

Pour traiter des graines germantes par la colchicine, la technique de WIT a été appliquée sur le ray-grass ; dans le cas de la fétuque des prés, la dose est du même ordre, égale à 0,2 % pendant quatre heures (J. JADAS-HECART).

Afin d'assurer la pleine utilisation de la méthode précédente et la création d'amphidiploïdes de fétuque élevée, il faut pouvoir doubler le génome de plantes adultes. La méthode de BELL, améliorée par Y. CAUDERON, fournit des résultats intéressants, mais irréguliers sur ray-grass et fétuques. Le tempage de talles dans de la colchicine à 0,3 % pendant douze heures, puis dans l'eau durant dix heures est efficace sur fétuque élevée : 20 % de morts, 30 à 80 % de plantes mixoploïdes selon les origines (J. JADAS-HECART). Sur ray-grass, une technique semblable, à 0,1 % pendant vingt-quatre heures, apparaît prometteuse : elle procure 25 à 30 % de plantes mixoploïdes (A. MATHIAN).

La détection des plantes ou fragments de plantes tétraploïdes se fait par tri à l'œil et comptage de chromosomes. La mesure comparative de la taille des stomates peut rendre service avec quelques précautions. F. BAUBION a montré (14) sur ray-grass et fétuque qu'il y a des variations fortes entre plantes à un même niveau de ploïdie, et que s'il n'y a pas d'effet de l'ordre de la talle prélevée ou de l'âge de la feuille (du moins important), la posi-

tion du stomate sur cette dernière est source de différences notables. Il est prudent d'opérer sur une feuille d'ordre stable ($n - 1$) et surtout toujours sur la même portion dans le sens de la longueur (premier tiers).

CREATION D'UN AMPHIDIPOÏDE DE FÊTUQUE ÉLEVÉE « MÉDITERRANÉENNE × EUROPÉENNE »

(M. GILLET, J. JADAS-HECART).

Les hybrides entre fêtuques élevées de la zone méditerranéenne d'une part (telle *Grombalia*) et européennes de l'autre, quoique entre parents de même nombre chromosomique, sont de grande vigueur mais stériles. Le doublement du stock de chromosomes de ces F1 est utilisé pour restaurer la fertilité.

Actuellement tous ces amphidiploïdes, à 84 chromosomes, produisent des graines, mais il existe une grande variabilité : 45 % ont de un à deux grains par épillets, 15 % en ont plus de deux. Une sélection est entreprise pour améliorer cette production.

Le rendement en matière sèche, sur plantes isolées, de la famille la plus vigoureuse a atteint 150 % du parent méditerranéen, et 117 % du nordique, à la C₀ (*). Avec l'augmentation de l'hétérozygotie au cours des générations, le gain de vigueur devrait augmenter.

MODALITÉ D'EXPLOITATION DES CULTIVARS TÉTRAPLOÏDES ARTIFICIELS

Le taux de croissance des tétraploïdes est considéré comme inférieur à celui des diploïdes, le taux d'apparition des feuilles tend à l'être, la tardivité un peu plus grande des tétraploïdes en est une manifestation. Faut-il les exploiter à un rythme plus lent pour en tirer l'optimum ? Des essais ont été entrepris sur ray-grass d'Italie avec Samo, Tetrone, Tedis à Lusignan et au Pin-au-Haras (J. LAISSUS), sur ray-grass anglais avec Reveille et Atempo à Lusignan, comparativement à des cultivars diploïdes. Il apparaît qu'avec 4, 6 ou 8 semaines de repos entre les coupes (3, 5 et 6 au Pin), ils se comportent comme les diploïdes. Il n'y a pas d'interaction « ploïdie × rythme de coupe ». En pratique, on peut les exploiter comme les diploïdes.

(*) C₀ : génotypes traités à la colchicine et dont le doublement chromosomique a été obtenu.

Une étude comparée de l'influence de la date de première coupe sur Tétrone et Tiara (ray-grass d'Italie tétra et diploïde) conduit à la même conclusion.

VALEUR D'UTILISATION DES CULTIVARS TETRAPLOIDES PAR LES ANIMAUX

Lorsque les herbivores (lapins, moutons, vaches) ont le choix, ils consomment d'abord les cultivars tétraploïdes de ray-grass anglais ou italiens.

Une comparaison de la production laitière permise en pâturage rationné par Tétrone, ray-grass italien tétraploïde, par rapport à des diploïdes : Tiara en 1963, Fat en 1967-1968, a été effectuée. Deux lots de vaches comparables par la méthode des couples ont pâturé les premières pousses en 1963 (prairie installée au printemps 1962), deux pousses en années d'installation en 1967, la première en année suivante 1968. Aucune différence notable n'apparaît quant à la production laitière par vache, les taux butyreux et azoté du lait, la teneur en U.F. et M.A.D., la digestibilité *in vivo* et la quantité consommée par les moutons. Si la résistance aux rouilles de Tétrone permet à l'automne 1967 une production supplémentaire de 1 kg par vache, sa teneur en matière sèche plus faible est vraisemblablement cause d'une consommation inférieure par les moutons et en parallèle d'une production laitière un peu moins élevée à la coupe précédente.

L'avantage de ce tétraploïde actuel dépendra de la fréquence des attaques de parasites (débris végétaux moindres, meilleure consommation).

PUBLICATIONS :

- (1) CHAUME R. (1968) : « Etude de la structure de la variance génétique d'une population panmictique à l'équilibre chez une espèce autotétraploïde ». Thèse Doct. 3^e cycle ORSTOM, Paris.
- (2) DEMARLY Y. (1963) : « Génétique des tétraploïdes et amélioration des plantes ». Thèse Fac. Sci., Paris, *Ann. Amél. Pl.* 13, 307-400.
- (3) GALLAIS A. (1967) : a. « Modèle pour l'étude des effets génétiques ». *Ann. Amél. Pl.* 17, 3, 229-242.
- (4) GALLAIS A. (1967) : b. « Evolution de la vigueur des variétés synthétiques diploïdes au cours des générations de multiplication. I. En régime de panmixie ». *Ann. Amél. Pl.* 17, 3, 291-228.
- (5) GALLAIS A. (1967) : c. « Moyennes des populations tétraploïdes ». *Ann. Amél. Pl.* 17, 3, 215-228.
- (6) GALLAIS A. (1968) : a. « Evolution de la vigueur des variétés synthétiques tétraploïdes au cours des générations de multiplication. I. En régime de panmixie ». *Ann. Amél. Pl.* 18, 1, 5-15.
- (7) GALLAIS A. (1968) : b. « Etude théorique et comparée de la vigueur de différentes structures variétales chez les plantes allogames autotétraploïdes ». *Ann. Amél. Pl.* 18, 2, 99-124.
- (8) GALLAIS A. (1968) : c. « Interactions between alleles and their variability in autotetraploid cross-fertilised plants. Consequences for selection ». V^e Congress of Eucarpia, Milan 1-2 octobre 1968 (sous presse).
- (9) GUY P. (1966) : « Etude de l'évolution de quelques structures autotétraploïdes au cours des générations de multiplication ». *Génét. Agr.* 20, 56-65.
- (10) GUY P., GENIER G. (1967) : « Structure et évolution au cours des générations de multiplication en panmixie d'un hybride autotétraploïde ». *Ann. Amél. Pl.* 17, 3, 277-290.
- (11) GUY P. (1968) : « Nombre de plantes nécessaires à la multiplication d'un hybride autotétraploïde ». *Ann. Amél. Pl.* 18, 4, 307-379.
- (12) LENOBLE M. (1967) : « Etude théorique au cours des générations de multiplication des fréquences géniques de l'autoincompatibilité. Conséquences possibles sur les valeurs moyennes de ces générations ». *Ann. Amél. Pl.* 17, 3, 267-276.
- (13) LENOBLE M. (1968) : « Description of an effect of the link of the self-incompatibility gene on quantitative characters in the case of white clover ». V^e Congress of Eucarpia, Milan 1-2 octobre 1968 (sous presse).
- (14) BAUBION F. (1963) : « Obtention et identification de tétraploïdes chez les graminées fourragères ». Mémoire de fin d'études. E.N.S.A, Rennes.
- (15) MANSAT P. et PICARD J. (1966) : « Créations de tétraploïdes et sélection préalable au niveau diploïde ». *Acta Agriculturae Scandinavica*, suppl. 16, 1966, (présenté au Congrès Eucarpia, Lünd, 1965).
- (16) MANSAT P. PICARD J. and BERTHOU F. (1966) : « Value of selection at diploid level before tetraploidization ». Proc. X^e Int. Grassld Cong., 1966.