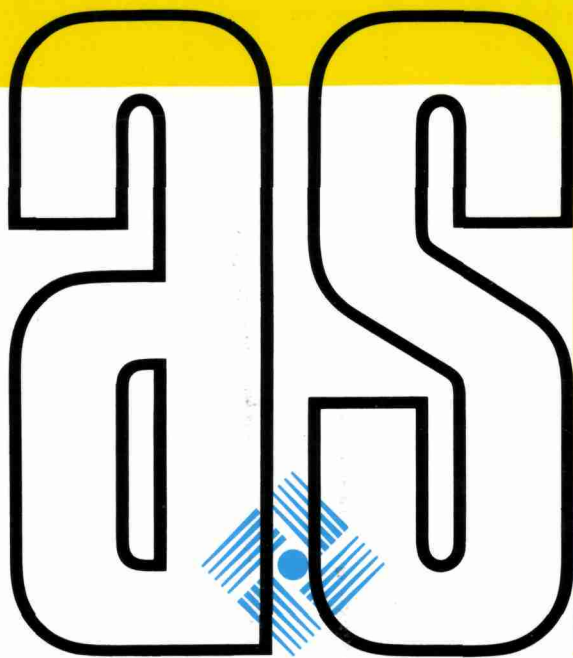


Claude-André Saint-Pierre
Yves Demarly

AMÉLIORATION
et PROTECTION
des
PLANTES VIVRIÈRES
TROPICALES

AUPELF



actualité scientifique

**AMÉLIORATION
ET PROTECTION
DES PLANTES VIVRIERES
TROPICALES**

British Library Cataloguing in Publication Data

Amélioration et protection des plantes vivrières tropicales

1. Tropical regions. Plants

I. Saint-Pierre, C.A. II. Demarly, Y.

581.808'3

ISBN 0-86196-220-6

Editions John Libbey Eurotext

6, rue Blanche, 92120 Montrouge, France.

Tél. : (1) 47.35.85.52

John Libbey Company Ltd

13, Smith Yard, Summerley Street, London SW18 4HR, England

Tél. : (01) 947.27.77

© 1989, Paris

AMÉLIORATION ET PROTECTION DES PLANTES VIVRIERES TROPICALES

Journées Scientifiques du Québec
31 août-1^{er} septembre 1987

RESPONSABLES SCIENTIFIQUES :

- Pr C.A. Saint-Pierre (Montréal)
- Pr Y. Demarly (Paris)



Les collections « *Universités francophones* » de l'UREF :

Un instrument nouveau pour consolider l'espace scientifique francophone

L'Université des Réseaux d'Expression Française (l'UREF), qui est appelée à devenir l'Université de la francophonie, a créé un ensemble de collections « Universités francophones » qui sont les instruments nécessaires d'une vie scientifique de qualité dans l'espace scientifique francophone.

La collection dans laquelle s'inscrit le présent ouvrage est constituée de monographies qui contribuent à établir régulièrement, en français, un bilan des travaux de recherche, notamment dans les domaines d'activité scientifique des réseaux de recherche de l'UREF.

Nous espérons répondre ainsi à une demande souvent exprimée et servir les intérêts des chercheurs et de tous ceux qui attendent une relance de la production d'ouvrages scientifiques de langue française.

Cette nouvelle collection est complétée par une collection de manuels universitaires et par une collection (« Actualité scientifique ») d'actes de journées scientifiques et de colloques.

Professeur Michel Guillou
Délégué Général de l'UREF

Sommaire

Liste des auteurs	VI
1. Les facettes multiples de la création végétale. Y. Demarly (Paris), C.A. Saint-Pierre (Québec)	1
2. Historique des recherches en agronomie tropicale africaine. M.V. Drachoussof (Bruxelles)	5
3. Importance des banques de ressources phytogénétiques. B. Fraleigh (Ottawa)	13
4. Biotechnologie et amélioration des plantes. J. Dubois (Gembloux)	19
5. Vitro-variations ou variations somaclonales. M. Sibi (Nancy)	27
6. Culture <i>in vitro</i> et amélioration des plantes vivrières tropicales. C. Teisson (Montpellier)	51
7. Test précoce de productivité chez le palmier à huile. B. Kouame (Bingerville)	55
8. Production et amélioration variétale du mil au Mali. O. Niangado (Segou)	69
9. Amélioration de la productivité du mil pénicillaire (<i>Pennisetum americanum</i> L.) au Niger. Conditions de travail et principales orientations de la recherche en matière de sélection variétale. N. Jika (Niamey)	83
10. Protection des plantes. Evolution. Adaptation. Propositions pour les cultures vivrières tropicales. A. Coleno (Paris)	91
11. Transferts de biotechnologies et culture <i>in vitro</i> des végétaux. J. Semal, Ph. Lepoivre (Gembloux)	103
12. Déploiement mondial de la résistance génétique des céréales au virus de la jaunisse nanisante de l'orge. C.A. Saint-Pierre, A. Comeau (Québec)	107

Liste des auteurs

Coleno A. INA - PG, 16 rue Claude Bernard, 75231 Paris Cedex, France.

Comeau A. Agriculture Canada, Sainte-Foy, Québec, G1V2J3, Canada.

Demarly Y. Laboratoire d'amélioration des plantes, université de Paris-Sud, France.

Drachousoff M.V. 48, rue du Général-MacArthur, 1180 Bruxelles, Belgique

Dubois J. Station d'amélioration des plantes, 5800 Gembloux, Belgique

Fraleigh B. Centre de recherches phytotechniques, Direction générale de la recherche, Agriculture Canada, Ottawa, Ontario, Canada

Jika N. INRAN, BP 429, Niamey, Niger

Kouame B. Station principale de la Me, BP 13, Bingerville, Côte d'Ivoire

Lepoivre Ph. Laboratoire de pathologie végétale, faculté des sciences agronomiques, 5800 Gembloux, Belgique

Niangado O. Directeur de la Station de recherche agronomique de Cinzana, BP 214, Segou, Mali

Saint-Pierre C.A. Département de phytologie, université Laval, Québec, G1K7P4, Canada

Semal J. Laboratoire de pathologie végétale, faculté des sciences agronomiques, 5800 Gembloux, Belgique

Sibi M. ENSAIA, 2 avenue de la Forêt de Haye, 54500 Vandœuvre, France

Teisson C. CIRAD, Centre de recherches de Montpellier, BP 5035, 34032 Montpellier Cedex, France

1

Les facettes multiples de la création végétale

Y. DEMARLY*, C.A. SAINT-PIERRE**

* *Laboratoire d'amélioration des plantes. Université Paris-Sud*

** *Département de phytologie, université Laval, Québec G1K7P4, Canada*

Depuis l'apparition des hominidés, la collecte alimentaire et la consommation des végétaux sur les lieux d'habitation ont entraîné des modifications des espèces végétales. On peut, de manière un peu artificielle, découper le temps en quatre grandes périodes comportementales de l'homme face à la plante :

Une première, de domestication inconsciente, où les diverses ethnies goûtent, cueillent et transportent les organes consommables du végétal. A ce stade, les graines peuvent germer dans les détritux à proximité des habitations et les organes permettant une multiplication végétative prolifèrent dans les déchets, et déjà les démographies végétales et les régimes de reproduction se trouvent perturbés.

Une seconde, d'adaptation volontaire, où la plante est soignée par l'homme, avec les premiers pas du jardinage, les collections de semences et les transports de plantes par les grands navigateurs, par les envahisseurs et par les croisades. Ici, l'empirisme paysan permet déjà de sélectionner les meilleures formes, permettant ainsi les effets additifs, déclenchant la structuration de nouveaux linkats et renforçant l'autogamie.

La troisième est celle du sélectionneur scientifique de cultivars où, suite aux lois de Mendel, les règles de l'amélioration des plantes sont formulées : gestion des ressources génétiques, hybridations, exploitation de la vigueur hybride chez les allogames, fixation de lignées pures chez les autogames... Dans toutes ces opérations, les sélectionneurs ont été limités, pendant des décennies, par une conception rigide du gène et par les difficultés liées à la production d'hybridations interspécifiques et intergénériques.

La quatrième période, celle du phytogénéticien contemporain, subsiste depuis environ vingt ans et est caractérisée par des progrès remarquables dans le décodage des gènes, dans

la régulation de leur expression et dans les technologies de clonage et de transfert de l'ADN. Un espace nouveau naît d'une conjugaison entre la sélection par des voies conventionnelles et les outils génétiques nouveaux tels que culture *in vitro*, vitrovariants, haploïdisation, fusion de protoplastes, manipulations moléculaires et transferts de gènes.

Aujourd'hui, à l'intérieur de chacune des quatre grandes phases d'un programme d'amélioration d'une espèce, on peut réserver une place à ces voies récemment découvertes :

1. Phase de gestion des ressources et extraction de génotypes sources

— La préservation des ressources pose des problèmes chez les allogames. Les biotechnologies peuvent permettre une miniaturisation des plantes à partir d'embryons ou de microspores congelés. L'entreposage sous la forme d'ADN nucléaire ou cytoplasmique est maintenant possible.

— La gestion dynamique des ressources à l'aide d'une forme de sélection récurrente. La haploïdisation permet d'accélérer le progrès génétique par cycle. Le clonage végétatif *in vitro* est un outil utile.

— L'évaluation morphologique et agronomique des ressources. Les cartes génétiques et les descripteurs permettront de faciliter ce travail pénible. Les sondes moléculaires, les anticorps monoclonaux, les RFLP (Restriction Fragments Length Polymorphism) et l'étiquetage par transposons aideront à simplifier le travail d'évaluation.

2. Phase de remaniement des génotypes bruts issus des sources

— Les hybridations intraspécifiques et interspécifiques seront facilitées à l'aide de manipulations biochimiques et d'analyses cytogénétiques.

— La mutagenèse sera améliorée par l'injection directe d'ADN, par l'irradiation directe *in vitro* et par l'utilisation de vitrovariants.

— Les transferts d'ADN et le génie moléculaire ouvrent la voie à de nouvelles manipulations du code génétique.

— Les attaques post-transcriptionnelles permettront les manipulations de l'ARN.

3. Phase de sélection et stabilisation des types retenus

— La sélection pédigrée conventionnelle et ses dérivés. Diverses méthodes progressives de sélection et de fixation d'un protocultivar ou de ses parents par consanguinité. Sélection brutale et fixation par androgenèse, gynogenèse, aposporie induite, etc. permettent de nouvelles associations de caractères.

— Evaluation monogénotypique suivie de clonage. La fixation somatique d'un hétérozygote après détection individuelle sera possible.

4. Phase de multiplication en nombre du génotype retenu

— En utilisant la voie sexuée. Le cas des autogames se répète. Chez les allogames, il existe de multiples formules de production de structures hybrides.

— En utilisant le clonage à l'aide des voies usuelles de multiplication végétative. Les clonages *in vitro* de vitroplants d'embryons somatiques et de semences artificielles sont devenus possibles.

Les exposés qui suivent illustrent parfaitement ces facettes multiples de la phytogénétique contemporaine. Les points de vue des sélectionneurs traditionnels sur le terrain s'y mêlent à ceux des spécialistes des manipulations génétiques modernes. Au lecteur qui, suite à un parcours rapide des conférences présentées ici, serait étonné de l'hétérogénéité des choix, nous voudrions dire que la cohérence est plus profonde, qu'elle réside dans la confrontation des voies et de l'objet. Elle tente ainsi, avant tout, de définir et d'amorcer la venue de nouveaux regards, de nouveaux dialogues, sur l'amélioration des plantes traditionnelles.

2

Historique des recherches en agronomie tropicale africaine

M.V. DRACHOUSSOF

48, rue du Général-MacArthur, 1180 Bruxelles, Belgique

De 1880 à 1960, la recherche agronomique en Afrique francophone fut menée principalement par les colonisateurs belges et français. On peut subdiviser ces quatre-vingts ans en deux parties : une phase d'exploration et de démarrage, qui se termina en 1934/1939, et une phase d'épanouissement, de 1945 à 1960.

A partir de 1960, d'autres pays et des institutions régionales et internationales participent à l'effort de recherche. De leur côté, les Etats nouvellement indépendants développent leur potentiel scientifique propre.

1880-1960. L'époque coloniale

1880-1934/39. Exploration. Etudes préparatoires. Mise en place institutionnelle

Les premières années de la colonisation n'étaient guère propices à une recherche scientifique méthodique : il fallut d'abord explorer, recenser, valoriser les ressources naturelles et créer une capacité de production agricole.

Recherche agronomique belge

Dès le début, les explorations et les études botaniques bénéficièrent de l'appui des institutions scientifiques et universitaires métropolitaines. Les jardins de Kisantu et d'Eala, fondés en 1900, servirent à la fois de jardin botanique et de centre d'acclimatation et d'essai. Plusieurs stations agricoles s'ouvrirent ensuite, dont Yangambi, un peu après la Première

Guerre mondiale : la mise en place d'un réseau éco-climatologique permit d'entamer l'étude climatologique du Congo.

En Belgique, le Musée du Congo belge fut installé à Tervuren, près de Bruxelles. Le premier numéro d'un périodique scientifique et technique, le *Bulletin agricole du Congo belge*, sortit en 1910 et parut sans interruption jusqu'en 1962. Dans son numéro de mars 1914, le directeur général E. Leplae insistait déjà sur l'importance de la recherche scientifique pour le progrès de l'agriculture congolaise. Des essais de plantes vivrières et de lutte anti-érosive débutèrent dans les territoires sous mandat du Ruanda-Urundi au cours des années vingt, tandis que des plantations privées se multipliaient au Congo et que se mettait en place un service d'encadrement technique de l'agriculture villageoise africaine.

Vers 1925, il devint évident que l'évolution de l'agriculture en Afrique centrale exigeait la création d'un organisme scientifique et technique doté d'une autonomie administrative, financière et opérationnelle. Ce fut la Régie des Plantations, qui fonctionna de 1926 à 1933. Elle avait un double objectif de recherche et de production et s'intéressa d'abord au coton et aux cultures pluri-annuelles. Des travaux sur les plantes vivrières furent cependant entamés à Yangambi en 1927 et en Ituri (Nioka). L'amélioration de la réduction vivrière et de la défense et restauration des sols restaient prioritaires au Ruanda-Urundi, avec l'appui de la station de Rubona (Rwanda).

Vers 1931, il apparut que la formule hybride de la Régie était dépassée par l'évolution agricole du pays : elle ne permettait pas de développer la recherche fondamentale et de mener des activités multidisciplinaires avec efficacité. L'exemple du centre de Buytenzorg aux Indes néerlandaises montra la voie à suivre, compte tenu des conditions particulières de l'Afrique centrale. Sous l'impulsion du prince Léopold de Belgique, l'INEAC (Institut national pour l'étude agronomique du Congo belge) fut institué en décembre 1933 et installé en mars 1934. Vers la même époque, des sections tropicales furent créées dans les facultés belges d'agronomie.

Recherche agrohomique française

Dans les territoires dépendant de la France, les premiers explorateurs, administrateurs, négociants et industriels se sont attachés à évaluer, valoriser et développer les ressources naturelles. De même qu'au Congo belge, les équipes de recherche dépendirent d'abord des services agricoles. Comme ces derniers ne disposaient pas des moyens nécessaires pour mener une recherche planifiée et continue, les autorités françaises ouvrirent des stations d'essai au niveau fédéral (Bambey au Sénégal en 1921, Lac Alaotra à Madagascar en 1928).

Dans la Métropole, les chaires universitaires et le Museum d'Histoire naturelle de Paris ont mené des recherches importantes dans certaines disciplines. L'Ecole nationale vétérinaire de Maisons-Alfort créa une filière tropicale. Un laboratoire étudiant les bois tropicaux ouvrit ses portes en 1917.

De leur côté, les industriels créaient des organismes spécialisés tels que le Syndicat général de l'industrie cotonnière (1901) et l'Association cotonnière (1903) qui permirent d'entamer des recherches appliquées dans le domaine des textiles tropicaux.

Dans l'ensemble, la recherche agronomique tropicale française était, en 1939, moins développée que celle de la Grande-Bretagne, des Pays-Bas et de la Belgique. Aucun centre ne pouvait encore rivaliser avec Kuala-Lumpur, Buytenzorg et Yangambi.

1945-1969. Maturité de la recherche belge. Epanouissement de la recherche française

L'INEAC

De 1934 à 1940, l'INEAC étoffa ses divisions scientifiques et techniques et ouvrit plusieurs nouvelles stations réparties à travers le Congo et le Ruanda-Urundi. Les recherches sur les cultures vivrières entamées précédemment s'étendirent et se diversifièrent. Des résultats importants furent obtenus en matière de plantes industrielles et plus particulièrement le palmier à huile, le caféier, l'hévéa et le coton.

L'étude des systèmes agricoles africains, menée notamment à Yangambi, Bambesa, Gandajika et ensuite à Mulungu, Nioka et Rubona, permit d'installer quelques noyaux de paysans, prélude à l'organisation de vastes paysannats.

Les années 1940-1945 furent difficiles pour l'Institut, coupé de l'Europe et privé d'une partie de son personnel. Les activités essentielles furent cependant maintenues, pendant que les dirigeants préparaient l'après-guerre.

A partir de 1946, l'Institut reprit son expansion, en suivant avec souplesse quelques principes stratégiques simples :

- organisation unitaire et hiérarchisée garantissant la cohérence des options, des objectifs et des méthodes de travail ;
- subdivision thématique de la recherche entre des «divisions», les unes spécialisées par discipline, les autres par filières de production ;
- essaimage spatial, avec création de centres ou stations de recherche dans presque toutes les zones agricoles du Congo et du Ruanda-Urundi ;
- souplesse interne par la constitution de groupes de travail interdisciplinaires, l'établissement de passerelles et de procédures de concertation à tous les échelons et entre les échelons ;
- liaison permanente entre la recherche et la pratique : diffusion des conseils et du matériel de plantation sélectionné *via* le Service de l'agriculture et les plantations et élevages privés ; évaluation critique des résultats obtenus sur le terrain ;
- collaboration régulière avec les centres scientifiques et les universités belges, de même qu'avec les organismes internationaux et nationaux de recherche agronomique ;
- étude pédo-botanique et climatique systématique des zones naturelles les plus représentatives.

Au 30 juin 1960, l'INEAC comprenait, outre le centre de recherches de Yangambi, 32 stations, plantations ou centres expérimentaux, répartis en 8 secteurs géographiques couvrant l'ensemble du Congo et du Ruanda-Urundi. L'Institut menait certains travaux en collaboration avec le secteur privé. Il a joué un rôle déterminant dans la préparation, le démarrage et la supervision scientifique des paysannats. Il disposait de 412 agents de cadre moyen et supérieur dont 263 avaient un diplôme universitaire.

Quelques noms méritent d'être cités, car ils ont bien mérité de la recherche agronomique en Afrique : ce sont Beirnaert, De Wildeman, Germain, Lebrun, Louis, Robyns et, plus particulièrement, Emile Laurent, le pionnier, Edmond Leplae, l'initiateur, Floribert Jurion, le patron de l'INEAC. Il convient également de rappeler le soutien que la recherche agronomique tropicale a toujours reçu de la Famille royale belge.

Réalisations françaises

La défaite de 1940 avait provoqué en France un vaste mouvement d'autocritique auquel n'a pas échappé sa politique coloniale. Sous l'impulsion notamment de Robert Michaux, qui

avait observé les réalisations hollandaises dans le Sud-Est asiatique, il fut décidé de créer un certain nombre d'instituts spécialisés par filière de production, associant l'administration, les producteurs et les industriels. Le prototype en fut l'Institut français du caoutchouc, créé dès 1936.

En 1942 furent installés l'Institut de recherches pour les huiles et les oléagineux (IRHO) et l'Institut français des recherches fruitières outre-mer (IFAC). L'Institut de recherches du coton et des textiles exotiques (IRCT) commença ses activités en 1946. Ces organismes étaient subventionnés par les pouvoirs publics et les organisations professionnelles et jouissaient d'un degré d'autonomie financière leur permettant de disposer des ressources provenant de la production de leurs plantations expérimentales ou rémunérant les services qu'ils rendaient.

Un autre schéma d'organisation s'articulait autour de l'Office de la recherche scientifique et technique d'outre-mer (ORSTOM) et insérait la recherche agronomique dans un organisme scientifique à vocation générale.

La mise en place de ces deux systèmes a donné lieu à des débats de principe et de méthodologie dont certains aspects restent pertinents aujourd'hui :

— faut-il donner priorité aux productions commercialisables ou promouvoir d'abord l'autosuffisance des petits paysans ?

— faut-il rattacher la recherche agronomique au département de l'Agriculture et des Eaux et Forêts ou bien la faire dépendre des universités et/ou de l'ORSTOM ?

— comment concilier les priorités et les susceptibilités locales et nationales et les besoins d'une recherche qui doit atteindre une dimension régionale et multinationale pour être efficace au plan scientifique.

Entre 1945 et 1960, la recherche agronomique pour et dans les territoires d'outre-mer a ouvert plusieurs centres à vocation régionale : en zone sahélo-soudanienne (Bambey); tropicale humide (Bouake, Bingerville, Kankan, Sérédou); équatoriale (Boukolo); guinéenne (Loudima); tropicale de moyenne altitude (Lac Alaotra). Chacun de ces centres disposait d'un réseau de stations et sous-stations.

Aux instituts précités sont venus s'ajouter le CTFT (Centre technique forestier tropical) en 1947 et l'ITEMVT (Institut d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux) en 1948. L'IRHO, l'IRCT et l'IFAC disposaient de plusieurs stations en Afrique. Parmi les grands noms de la recherche française, il faut citer les Prs Portères et Chevalier, le Dr Pagot, MM. Aubreville, Lhuillier et Guillerme, ainsi que beaucoup d'autres.

En 1960, un chemin considérable avait été parcouru et la recherche de langue française avait bâti des assises scientifiques et techniques solides pour l'agronomie, la zootechnie et la sylviculture tropicales.

1960-1987. L'Afrique indépendante

L'évolution de la recherche agronomique au cours de ce premier quart de siècle d'indépendance a été influencé par trois facteurs importants :

— les problèmes d'installation des nouveaux Etats et l'affaiblissement ou le démantèlement des anciennes structures de recherche régionales ou fédérales. La transition fut relativement aisée dans certains pays, plus complexe et plus difficile dans d'autres ;

— la fin du monopole scientifique des anciens colonisateurs et l'entrée en scène d'autres pays et d'institutions internationales ;

— la mise en place d'organismes scientifiques nationaux.

Recherche internationale et régionale

Cette recherche, de plus en plus importante, n'entre pas dans le cadre de notre communication, encore que de nombreux spécialistes francophones y tiennent une place éminente et qu'elle reçoive l'appui des anciens pays colonisateurs. Le Canada et la Suisse ont accru considérablement leur recherche orientée vers l'Afrique francophone, en premier lieu dans leurs secteurs traditionnels d'expertise, ensuite dans d'autres domaines.

Recherche belge

Faute d'une volonté politique cohérente et d'une opinion publique motivée, la recherche agronomique belge a perdu de son ampleur et de sa continuité ; elle s'est dispersée entre les universités et les facultés d'agronomie, les centres de recherche qui leur sont liés, certaines institutions spécialisées telles que l'Institut royal des sciences naturelles, le musée de l'Afrique centrale, le Jardin botanique de l'Etat, etc. Beaucoup d'anciens de l'INEAC ont continué leurs activités scientifiques au sein d'organismes internationaux, régionaux et nationaux, notamment français.

Malgré cette dispersion regrettable, d'ailleurs partiellement corrigée par les procédures formelles et surtout informelles de concertation interne, la recherche agronomique belge a gardé de nombreux points forts et notamment la bio-technologie, les sciences du sol, la phytotechnie du cotonnier, du théier, du bananier, des légumineuses et des plantes vivrières, la phytopathologie, la zootechnie, etc. Sa collaboration scientifique avec l'Afrique et d'autres pays tropicaux reste appréciée. Elle a notamment apporté son appui scientifique à des institutions scientifiques internationales, à l'INERA (Zaïre), à l'ISAR (Rwanda), à l'ISABU (Burundi).

Recherche française

Grâce aux structures vigoureuses mises en place avant 1960 et à la continuité de sa politique, la recherche agronomique française n'a pas été perturbée mais au contraire stimulée par l'indépendance des membres de l'Union française.

Trois nouveaux Instituts spécialisés s'occupèrent des plantes vivrières (IRAT), des plantes stimulantes (IFCC), de l'hévéa en Afrique (IRCA). Les équipes scientifiques françaises bénéficièrent du renfort de chercheurs venant de l'INEAC et d'Asie du Sud-Est. Les huit Instituts spécialisés ont constitué une structure d'intervention originale couvrant les secteurs agronomique, zootechnique et forestier de la recherche appliquée.

Dans le cadre des accords de coopération entre la France et les nouveaux pays indépendants, les Instituts se sont vu confier la gestion des centres de recherche agronomique, propriété des nouveaux Etats. Les chercheurs africains et les chercheurs expatriés y ont collaboré amicalement.

Dès 1960, il est apparu qu'une coordination plus étroite était nécessaire entre les programmes et les activités des Instituts et un Comité de liaison fut établi en 1961. C'est également des années soixante que datent les premières implantations en Amérique latine et en Asie.

A partir de 1970, le développement de la recherche agronomique, son engagement dans les agricultures nationales, la formation d'un nombre croissant de chercheurs autochtones, ont tout naturellement conduit à la création d'organismes nationaux de recherche dans la plupart des Etats francophones d'Afrique noire et à Madagascar. La mise en place ne fut pas toujours facile, la volonté politique étant parfois en avance sur les moyens scienti-

fiques, financiers et logistiques. Face à cette évolution, les pouvoirs publics français ont pris trois orientations fondamentales :

- création du GERDAT (Groupement d'études et recherches pour le développement de l'agronomie tropicale), chargé de définir les grandes orientations scientifiques ; de répartir les fonds publics destinés à la recherche tropicale et d'en contrôler l'emploi ; de coordonner les rapports entre les Instituts spécialisés et les pouvoirs publics français et étrangers ;

- regroupement des services centraux de huit des dix Instituts à Montpellier et installation dans cette ville de toutes les équipes françaises orientées vers l'agronomie méditerranéenne et tropicale, ce qui a abouti à la création du complexe d'Agropolis ;

- rapprochement entre les recherches agronomiques tempérées et tropicales.

Le développement des coopérations internes et externes et la nécessité d'un dialogue permanent avec des partenaires comme le Groupe de la Banque mondiale ont amené les pouvoirs publics français à créer un Etablissement public formé des huit Instituts et du GERDAT. Au sein de ce nouvel organisme, le CIRAD (Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement), les Instituts devenaient Départements tout en bénéficiant d'une large décentralisation. La réforme est devenue effective le 1^{er} janvier 1985.

Le CIRAD, dont la mise en place n'est pas encore achevée, a pour vocation d'organiser de nouvelles relations avec les organismes nationaux africains et de les aider à mettre en place une coopération interrégionale. Des réunions entre les institutions de recherche africaines de langue française sont organisées périodiquement. Le CIRAD a également renforcé les contacts avec d'autres pays européens, la Commission européenne et le Groupe consultatif pour la Recherche agricole internationale.

Recherches nationales

L'évolution des recherches nationales de la majorité des Etats d'Afrique tropicale issus de l'Union française a passé par trois phases :

- une dépendance plus ou moins étroite vis-à-vis des institutions et des chercheurs de l'ancienne Métropole ;

- la mise en place d'organismes nationaux, avec des ajustements parfois difficiles ;

- la substitution aux anciennes relations d'assistance d'un partenariat avec la France, d'autres pays, des organismes régionaux et internationaux.

Cette évolution ne fut pas toujours aisée, mais elle a surmonté les obstacles et les crises temporaires pour le plus grand profit de la recherche agronomique. Malheureusement, le développement des organismes nationaux de certains pays est aujourd'hui sérieusement compromis par la dégradation de leur moyens de fonctionnement, suite à la situation difficile des finances publiques.

L'histoire de la recherche agronomique dans les Républiques du Zaïre, du Rwanda et du Burundi a été quelque peu différente, du fait de la dislocation de l'INEAC, des graves problèmes que le Zaïre a dû affronter après 1960, de la modestie des moyens matériels du Burundi et du Rwanda. Les trois pays ont pu bénéficier de nombreuses coopérations scientifiques bilatérales et multilatérales et cette diversité n'a pas toujours facilité la cohérence de la recherche.

Au Zaïre, l'INERA a remplacé l'INEAC, mais il a rencontré beaucoup de difficultés. Parallèlement, trois programmes nationaux sectoriels se sont consacrés au maïs (PNM), au manioc (PRONAM), aux légumineuses (PNL). Ces programmes ont bénéficié d'une aide extérieure importante et sont aujourd'hui regroupés dans le projet RAV (Recherche appliquée et Vulgarisation).

La recherche agronomique au Zaïre a fait l'objet de nombreuses études et de programmes multiples. Les éléments d'une politique de relance existent aujourd'hui. Les lignes de force de cette politique seraient :

- un ajustement des objectifs de l'INERA en fonction des moyens disponibles,
- le rétablissement d'une coordination institutionnelle et opérationnelle entre l'INERA, le projet RAV et les universités,
- une collaboration plus étroite avec les réseaux internationaux et d'autres organismes nationaux de recherche agronomique.

On peut raisonnablement espérer que la recherche zaïroise retrouvera son rôle éminent dans le développement rural d'un pays dont le potentiel agricole est particulièrement élevé.

La recherche agronomique dans les Républiques du Rwanda et du Burundi a bénéficié d'une plus grande continuité et d'une aide extérieure plus cohérente. La division de l'ancien secteur INEAC en deux Instituts de recherche nationaux : l'ISAR et l'ISABU, ainsi que la modestie des moyens financiers propres des deux Etats, ne leur ont pas permis de répondre à tous les besoins. L'ISABU a cependant continué ses activités de recherche appliquée et étendu ses travaux sur le terrain, élaborant et supervisant plusieurs programmes importants de développement. L'ISAR, de son côté, a poursuivi et développé des recherches en matière de cultures vivrières et de pédologie.

En décembre 1979, les chefs d'Etat du Burundi, du Rwanda et du Zaïre ont décidé de créer un institut destiné à promouvoir la recherche dans les trois pays, ceci dans le cadre de la Communauté économique des Grands Lacs. La fondation de l'IRAZ (Institut de recherches agronomiques et zootechniques) ouvre des perspectives transnationales intéressantes, plus particulièrement pour l'agriculture dans les zones d'altitude, densément peuplées, qui bordent la dépression des Grands Lacs.

Près d'un siècle d'explorations, d'études et de recherches systématiques a abouti à des résultats spectaculaires. L'environnement écoclimatique de l'agriculture tropicale et les conditions de la conservation sont aujourd'hui bien connus. Les travaux en laboratoire et sur le terrain ont permis de tripler et de sextupler... le rendement de certaines cultures pluriannuelles, d'accroître considérablement la productivité des cultures vivrières sèches et notamment des céréales ; d'atteindre des rendements « asiatiques » pour le riz irrigué. Et les progrès en zootechnie et en sylviculture ont été tout aussi impressionnants. Les percées contemporaines dans les sciences biologiques, les techniques de reproduction végétative, la télé-détection, l'informatique, ouvrent des horizons presque illimités aux chercheurs d'aujourd'hui.

Encore faudrait-il que les Etats reconnaissent pleinement l'importance de la recherche agronomique et lui accordent les moyens qui lui sont nécessaires. Et aussi que les résultats de la recherche parviennent jusqu'au producteur agricole. Ce qui n'est pas toujours le cas, car le parcours entre le centre scientifique et le champ ou la plantation est long et semé d'obstacles. Et c'est parce que l'efficacité de la recherche agronomique se mesure avant tout par son application, que je voudrais terminer cet exposé par trois réflexions terre-à-terre.

1. Il n'y a pas de recherche noble et de recherche roturière. Il n'y a pas de stratification hiérarchique entre le laboratoire, la parcelle expérimentale et le champ, entre l'amélioration des systèmes traditionnels et l'élaboration de systèmes modernes, entre les besoins des petits et moyens planteurs et ceux des grands ensembles ou des grosses unités agro-industrielles, entre l'intensification à base de travail humain et animal et l'intensification à base d'équipements mécaniques et d'intrants, l'Afrique est diverse et mouvante et tous les systèmes, tous les types d'exploitation y sont importants.

Négliger le petit paysan, c'est vouer à la stagnation et probablement à la régression la majorité du monde rural ; reporter à plus tard la modernisation, c'est renoncer à la sécurité

alimentaire, condamner l'agriculture africaine à décrocher de l'agriculture mondiale, priver le paysan ambitieux, le promoteur, le cadre, le chercheur, de tout espoir et de tout horizon.

2. Il n'est pas de recherche efficace sans une politique agricole adéquate, une coordination horizontale, une continuité temporelle, des filières verticales :

— *politique agricole* mobilisant et épaulant le dynamisme des chercheurs, des entrepreneurs et des paysans, tout en protégeant l'environnement ;

— *coordination horizontale* entre les diverses disciplines, entre la recherche, les services publics et le secteur privé, entre les institutions nationales et internationales ;

— *continuité temporelle* intégrant les multiples expériences du passé, les réalisations du présent, les perspectives d'avenir ;

— *filières verticales* à double flux de circulation entre la recherche, l'adaptation, la formation, la vulgarisation, l'application sur le terrain ; la recherche peut beaucoup donner au praticien ; elle peut aussi en recevoir beaucoup.

3. Il est normal et il est sain qu'un peuple et un Etat veuillent acquérir la maîtrise des activités scientifiques dans leur territoire, coordonner des aides extérieures souvent disparates. Mais cette nationalisation a des limites car il n'y a plus de recherches cloisonnées et de progrès ponctuels. L'autarcie est incompatible avec le progrès scientifique et notre colloque en est la meilleure confirmation.

3

Importance des banques de ressources phytogénétiques

B. FRALEIGH

*Centre de recherches phytotechniques, Direction générale de la recherche, Agriculture
Canada, Ottawa, Ontario, Canada*

L'agriculture dépend de ressources naturelles. Au même titre que l'eau, le sol et le climat, les ressources phytogénétiques sont des ressources naturelles de l'agriculture. Dans un système agricole donné, la nature et la structure génétique des variétés cultivées sont en relation étroite avec les autres éléments du système : la technologie, le climat, les marchés, etc. Or le changement dans les éléments du système agricole entraîne le changement des buts de la création variétale. Bien gérer les ressources génétiques, c'est faire face efficacement au changement dans le système agricole.

Classiquement, l'amélioration variétale est un processus de raréfaction génétique : le brassage de gènes inclus dans un réservoir initial crée de nouvelles combinaisons génétiques que la sélection ramène à un idéotype correspondant aux besoins du moment. Chaque nouvelle création variétale exige un retour à l'étape du brassage des gènes. Un changement dans les buts de la sélection imposera une réévaluation de la base génétique du réservoir initial disponible. Souvent, le sélectionneur éprouvera le besoin d'agrandir cette base génétique, d'insuffler du «sang nouveau».

Traditionnellement, on a recherché la diversité génétique dans les «centres d'origine» ou les «centres de diversité» des plantes cultivées, définis et identifiés par Vavilov [5] et ensuite par Harlan [2], parmi d'autres. Ces centres se trouvent en majorité dans les pays du «Tiers Monde». L'agriculture traditionnelle prédominant dans ces pays favorisait à la fois la création et la conservation de diversité génétique. Pendant la période précédant la Deuxième Guerre mondiale, les sélectionneurs ont souvent suivi la stratégie suivante : il était sinon facile au moins possible de monter une expédition pour prospecter des ressources phytogénétiques des centres de diversité. Le matériel prospecté pouvait être ramené dans la collection de travail du sélectionneur, où ce dernier pouvait faire le tri et éliminer ce qui s'avérait inadapté à ses besoins. D'autres sélectionneurs pouvaient recommencer toute la procédure, s'ils le voulaient, au cours d'un cycle ultérieur de création variétale.

L'avènement, depuis la fin de la Deuxième Guerre mondiale, des changements dramatiques que chacun connaît dans l'agriculture des pays du Tiers Monde a bouleversé cette stratégie. L'introduction de variétés à haut rendement, capables de mieux utiliser des ressources chimiques (engrais, pesticides) et climatiques (grâce à leur haut degré d'adaptabilité), a certes amélioré la capacité productive de l'agriculture de nombreux pays du Tiers Monde. Mais, en même temps, ces nouvelles variétés ont déplacé les variétés traditionnelles, source de diversité génétique. Le nouveau a chassé l'ancien. Parfois même, la perte de terrains agricoles suite à la désertification ou à l'urbanisation a fait que c'était le vide qui chassait l'ancien... La diversité génétique s'est ainsi trouvée prise entre deux forces : l'érosion génétique dans les centres de diversité et l'étroite base génétique liée à une certaine stratégie d'amélioration des plantes. Il est devenu évident que cette diversité devait être protégée d'une façon ou d'une autre.

Voilà la logique qui a donné naissance à la discipline des ressources phytogénétiques. Des collections de ressources phytogénétiques comprennent des assemblages de génotypes représentant des variétés traditionnelles et des variétés de pays, des vieilles variétés dont la culture a été abandonnée, des variétés modernes, cultivées aujourd'hui, et des plantes spontanées et adventices apparentées aux espèces cultivées.

Attardons-nous quelques instants sur quelques particularités des ressources phytogénétiques en tant que ressources naturelles. Certaines ressources, non renouvelables, peuvent être conservées «passivement». Si le gisement de minerai ou de pétrole n'est pas exploité tout de suite, la ressource restera là, sans changer, en attendant que l'on veuille bien s'en occuper. Par contraste, les ressources phytogénétiques non seulement sont renouvelables, mais elles exigent une conservation active. Certes la diversité génétique sera en partie préservée dans le système d'agriculture lui-même, mais n'est-il pas dangereux de faire confiance exclusivement à cette stratégie, face à la vulnérabilité de l'agriculture traditionnelle à laquelle nous avons déjà fait allusion ? Des ressources phytogénétiques disparues sont perdues pour tout le monde, y compris le pays d'origine. Une politique active de conservation est nécessaire dans tous les cas de figure.

La valeur économique des ressources naturelles s'établit normalement de façon assez évidente. Un litre d'eau, obtenu dans des conditions données, de qualité définie, vendu dans un marché donné, vaudra autant que le prochain litre d'eau tirée du même puits. Dans le cas des ressources phytogénétiques, il est impossible de savoir si la poignée de semences que vous tenez dans la main vaut des millions, ou rien, avant d'évaluer ses qualités agronomiques. Il faut considérer non seulement la valeur propre du stock génétique, mais aussi et surtout sa valeur en combinaison avec le matériel déjà existant, adapté à un système agricole déjà établi. L'évaluation de la valeur agro-économique d'une ressource phytogénétique ne peut donc être effectuée que dans le contexte d'un système d'agriculture.

On songe au dialogue de deux diplomates hypothétiques chargés par leur gouvernements respectifs de négocier un échange de ressources phytogénétiques «à valeur égale». Un diplomate dit à l'autre : « Voilà, j'ai ces ressources génétiques, je ne sais pas ce qu'elles valent pour l'agriculture de votre pays car vous n'avez évidemment pas pu les évaluer encore. Cependant je dois en échange obtenir de vous des ressources phytogénétiques de valeur égale. » Le deuxième diplomate répond : « Très bien, en échange je vais pouvoir vous offrir d'autres échantillons dont nous sommes tout aussi ignorants de la valeur pour votre agriculture. » Cette particularité des ressources phytogénétiques, qui doit parfois rendre la vie difficile aux diplomates, a fait en revanche l'affaire des scientifiques qui travaillent avec la diversité génétique. Nous sommes d'avis que c'est cette impossibilité d'évaluer la valeur économique des ressources phytogénétiques en dehors du système d'agriculture qui

a été le facteur prépondérant agissant en faveur du libre accès traditionnellement accordé aux utilisateurs des ressources phytogénétiques.

Le facteur temps présente d'autres exigences. Un stock génétique sans valeur aujourd'hui peut s'avérer demain ou après-demain la clé de la résolution d'un problème agricole que nous n'avons pas encore envisagé. Il y a cinquante ans, qui aurait prévu qu'il faudrait sélectionner, par exemple, pour la capacité à régénérer des plantes par culture *in vitro* ? Or, une fois perdue, une combinaison génétique peut être perdue à jamais. La conservation des ressources phytogénétiques doit donc aussi être envisagée dans la durée, à perpétuité.

Composants d'un programme de ressources phytogénétiques

Nous ne prétendons pas pouvoir fournir ici davantage qu'un bref aperçu des approches et des activités qui font partie d'un programme de ressources phytogénétiques. Le travail des Ressources phytogénétiques du Canada (RPC) sera pris comme exemple pour illustrer nos propos. Les lecteurs qui cherchent une description plus détaillée sont priés de consulter les excellents ouvrages de Pernès *et al.* [3] en français, et Plucknett *et al.* [4] en anglais.

Obtenir les ressources phytogénétiques

Il y a deux voies d'acquisition des ressources phytogénétiques, ce sont la prospection et l'échange. De 1983 à 1986, les RPC ont reçu presque 7 500 échantillons provenant de trente-quatre pays [1]. Du matériel obtenu par des prospecteurs canadiens tels que T. Rajhathy, G. Fedak, B.R. Baum, A. Comeau et S. Jana, en particulier lors de leurs voyages en Moyen-Orient, a aussi été versé à la banque des gènes des RPC. Signalons, au niveau international, l'effort très important consacré par le Conseil international sur les ressources phytogénétiques (CIRP) pour soutenir et effectuer des prospections.

Préserver les ressources phytogénétiques

Le stockage des semences, organe «naturel» de conservation, est la méthode de choix pour la préservation des ressources phytogénétiques. Aux RPC, les échantillons sont séchés dans les unités de stockage à +4°C et 20% H.R. avant d'être scellés hermétiquement et placés à -20°C pour le stockage à long terme. Les Tableaux I et II montrent les collections

Tableau I. Collections de semences conservées aux Ressources phytogénétiques du Canada à titre d'engagements internationaux.

Type de collection	Mode de stockage	Espèces	Nombre d'échantillons
Collection principale globale de base	long et moyen termes	avoine orge	42 000
Collection globale dupliquée de base	long terme	mil à chandelles <i>Pennisetum</i> <i>Brassica</i> oléagineuses et engrais vert	4 000

Tableau II. Collections de semences conservées aux Ressources phytogénétiques du Canada à titre de collection nationale.

Type de collection	Mode de stockage	Espèces	Nombre d'échantillons
Collection de base (CN)	long terme	blé, avoine, orge, tomate, luzerne	18 000
Collection active (PGR)	moyen terme	diverses	20 400

actuellement conservées aux RPC. La préservation des collections principales globales de base d'orge et d'avoine et des collections dupliquées de base de mil *Pennisetum* et de *Brassica* représentent la participation canadienne à l'effort international de conservation coordonné par le CIRP.

Dans certains cas, on a recours à d'autres méthodes de conservation. Parfois c'est la plante entière qui est conservée dans une collection de plein champ, soit parce que la semence ne peut pas être préservée («graines récalcitrantes»), soit pour préserver certaines combinaisons génétiques. La Ferme expérimentale Smithfield, qui se trouve à Trenton, Ontario, a récemment été désignée comme centre principal canadien de ressources phyto-génétiques clonales. La conservation *in vitro*, la cryoconservation et le stockage du pollen font l'objet de recherches. La méthode la plus efficace pour la préservation des gènes des plantes spontanées pourrait être la conservation *in situ*, c'est-à-dire dans l'écosystème.

Maintenir la diversité génétique

Ce sont les gènes qu'on conserve, par les graines ! Quelle que soit la méthode de conservation choisie, la quantité de matériel vivant diminuera inévitablement avec le temps, soit par la mort des semences, soit par distribution d'échantillons. Il deviendra nécessaire de reconduire les échantillons. Le but, pas toujours facile à atteindre, sera de limiter l'érosion génétique au cours de cette étape. En fait, la gestion de la diversité génétique d'échantillons de populations hétérozygotes nécessite une connaissance poussée de la dynamique des populations. Combien de plantes faut-il semer ? Quelles seront les conséquences génétiques de l'autofécondation ou de la fécondation libre dans tel ou tel cas ? La question du maintien de la stabilité génétique des échantillons se pose aussi dans le cas des espèces à reproduction végétative.

Evaluation et caractérisation

Il n'est pas suffisant de collectionner les ressources génétiques, de les conserver et de les maintenir, il faut aussi connaître quelque chose de leurs caractéristiques, de manière à pouvoir répondre aux problèmes posés par l'utilisation. Suivant Pernès, nous distinguerons l'évaluation agronomique et l'évaluation génétique. Le premier vise à fournir des renseignements sur les propriétés agronomiques des échantillons, par exemple les rendements dans des conditions données, les résistances aux maladies, les réponses aux stress, etc. Cette évaluation s'adresse le plus souvent à des caractéristiques polygéniques fortement influencées par l'environnement ; elle est donc de portée limitée, à moins d'être entreprise

dans plusieurs lieux au cours de plusieurs années. Au Canada, l'on considère que l'évaluation agronomique fait partie des programmes de sélection ; les RPC se contentent d'enregistrer des résultats en vue de leur inclusion dans une base de données.

L'évaluation génétique, par contre, est le travail propre d'un programme de ressources génétiques. Il s'agit de l'analyse de la diversité génétique comprise dans une collection : recherche des distances génétiques au moyen d'outils biochimiques moléculaires, ou d'analyses de génétique quantitative, études cytogénétiques, études des relations phylogénétiques, et biosystématiques, etc. Ces renseignements contribuent à l'orientation de voyages de prospection, à la détermination de stratégies de conservation et de reconduction, et à la détection de la duplication dans les collections.

Regrouper des échantillons sur la base de la ressemblance génétique permet de constituer une collection réduite représentative (idée de la «collection de cœur», en anglais *core collection*). Alternativement, les échantillons qui forment les groupes peuvent être maintenus ensemble dans une stratégie de «conservation dynamique» [3]. Le regroupement fournit en outre un critère pour le choix d'échantillons destinés à l'évaluation agronomique.

Documentation et communication

Un système moderne et accessible de gestion informatisée des données est essentiel à la fois à la bonne gestion de l'inventaire d'une banque de gènes et pour assurer la communication entre le centre de ressources génétiques et sa clientèle. Aux RPC, l'exploitation d'un prototype du système TAXIR-EXIR a contribué à la publication de catalogues des ressources génétiques canadiennes du blé, de l'orge, de l'avoine et de la tomate. Nous avons récemment pris la décision de développer un système moderne de gestion de bases de données, qui fonctionnera avec le logiciel «System 1032» créé par la société CompuServe. Il s'agit d'un système relationnel utilisant le système d'exploitation VMS sur les ordinateurs VAX. L'application est actuellement en cours de réalisation. Pour l'échange informatisé de données entre différents centres de ressources phylogénétiques, nous préconisons l'adoption d'un format standard au niveau international. Ainsi chaque centre ne devra connaître que deux systèmes, le sien et le format standard.

Notons en passant que les imprimés sont toujours un bon outil de communication. Les inventaires et catalogues imprimés tombent dans cette catégorie, ainsi que les bulletins de liaison comme le *Bulletin RPC*, publié deux fois par an en français et en anglais.

Utilisation des ressources phylogénétiques

Ce sont surtout les sélectionneurs qui ont recours aux centres de ressources phylogénétiques en tant que source de gènes pour la création de nouvelles variétés de plantes cultivées. Mais la clientèle comprend aussi des physiologistes, des biochimistes, des pathologistes et, de plus en plus souvent, des biotechnologistes.

Afin que ces scientifiques puissent utiliser les ressources phylogénétiques, la banque des gènes doit être en mesure de distribuer des échantillons. De 1983 à 1986, les RPC ont expédié plus de 11 500 échantillons à des sélectionneurs et des scientifiques de cinquante-six pays, et presque 11 000 échantillons à des collaborateurs canadiens [1]. Au niveau international, le Canada a toujours soutenu et pratiqué le principe du libre accès aux ressources phylogénétiques.

Références

1. Fraleigh B. (1987). Plant Gene Resources of Canada : Four years of international germplasm exchanges. *Plant Genetic Resources Newsletter*, N° 69.
2. Harlan JR. (1975). *Crops and Man*. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Madison, Wisconsin. (Traduction française : *Les Plantes cultivées et l'homme*, 1987, Agence de coopération culturelle et technique et Conseil international de la langue française, Paris.)
3. Pernès J, *et al.* (1984). *Gestion des ressources génétiques des plantes. Tome 1 : Monographies. Tome 2 : Manuel*. Agence de Coopération Culturelle et Technique, Paris.
4. Plucknett DL, Smith N J H, Williams J T, Anishetty N M. (1987). *Gene Banks and the World's Food*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.
5. Vavilov NI. (1926). *Studies on the origin of cultivated plants*, Inst Appl Bot Plant Breed, Leningrad.

4

Biotechnologie et amélioration des plantes

J. DUBOIS

Station d'amélioration des plantes, 5800 Gembloux, Belgique

Introduction

Le but de cette communication est de présenter l'utilisation de techniques non conventionnelles en amélioration des céréales.

Pendant longtemps, l'approche se borna à utiliser soit la sélection massale dans des populations existantes, soit la technique des croisements simples ou complexes, interspécifiques ou intergénériques suivis de sélection généalogique. D'autres méthodes telles que les transgressions, les mutations, la polyploidie furent appliquées. Ces méthodes classiques, toujours utilisées, ont fourni à l'agriculture de nombreuses variétés qui se sont imposées grâce à des rendements régulièrement élevés et à une qualité satisfaisante. Néanmoins, la variabilité génétique obtenue, naturelle ou induite, par cette méthodologie s'est montrée limitée.

Plus récemment, le développement de la pratique des cultures *in vitro* a permis, de façon générale, l'expression de nombreux caractères restés silencieux dans les conditions de croissance naturelle. L'exploitation des phénomènes de totipotence et de régénération a conduit à l'introduction de nouvelles méthodes : l'haplodiploidie, la variation somaclonale et l'embryogenèse somatique. En outre, depuis peu, les manipulations génétiques sont entrées à leur tour dans le domaine de l'amélioration.

Dans les lignes qui suivent, nous définirons et commenterons l'intégration de ces différentes approches dans le schéma d'amélioration. Cette revue ne se prétend pas exhaustive ; elle se bornera à la description des derniers résultats parus dans la littérature ou ceux obtenus dans notre laboratoire.

Totipotence et régénération

Connue depuis longtemps, la culture de tissus repose sur les travaux de Haberlandt, White et Gautheret élargis par Morel et Maheshwari. La régénération, par contre, est plus récente ; ce dernier phénomène rend compte de la capacité que possèdent les cellules, tissus et organes à restructurer une plante entière et fertile. L'exploitation de cette caractéristique propre aux végétaux devait ouvrir la voie à de nombreuses applications en génétique et en amélioration.

Haploïdie

La régénération peut se faire à partir de cellules haploïdes (grains de pollen) ou d'organes (ovaires) : on parle d'androgénèse ou de gynogénèse.

En 1968, Nijzekei et Oono [34] réussirent à induire des plantes de riz haploïdes à partir de culture d'anthères. Plus tard, à partir de 1973, plusieurs rapports parurent sur la régénération des céréales : Picard et De Buyser [39], Kasha [20], Fedak [16], Chen [11] notamment ; en 1978, notre laboratoire et une équipe japonaise annoncèrent la régénération du blé à partir d'agréats cellulaires pour l'un et d'embryons immatures pour l'autre. Depuis lors, de nombreux articles ont paru. En 1985, la première variété androgénétique de blé fut inscrite au catalogue officiel français. Une revue récente établie par Picard *et al.* [40] fait le point sur les résultats obtenus par l'androgénèse, qui offre l'avantage d'une fixation très rapide du matériel en sélection et par là une diminution très sensible du temps dévolu à la création d'une variété. Causse [10] propose une évaluation de cette méthode. Tout dernièrement, Zhang [64] a montré le potentiel que recélait cette approche. Pour terminer, citons une revue générale établie par Morrison et Evans [28].

Diploïdie, Polyploïdie

Parmi les méthodes relevant de la régénération à partir de matériel somatique, nous distinguerons l'utilisation de cellules et de protoplastes, l'hybridation somatique et la cybridation.

Sybenga [54], Negritiu [31], Vasil [59] proposent, parmi d'autres, des revues sur ce sujet. Le principal intérêt des cultures de cellules et de protoplastes somatiques réside dans le fait que l'on peut les utiliser en les traitant comme du matériel microbiologique, c'est-à-dire que l'on peut appliquer la loi des grands nombres à la recherche de mutants induits ou naturels de type biochimique ou autre. La séquence mutation-sélection-régénération devient applicable en sélection ; elle ouvre de grandes perspectives pour l'avenir.

Malheureusement, jusqu'à ces derniers temps, les méthodes de régénération à partir de cellules et de protoplastes étaient singulièrement limitées les céréales, alors qu'elles s'appliquaient aisément aux dicotylées et plus précisément aux solanées. En ce qui concerne les céréales, l'ouvrage édité par Bright et Jones [9] présente un bilan des recherches effectuées sur les céréales. Depuis lors, des travaux de régénération ont été présentés par Coulibaly et Demarly [13] sur le riz, Rhodes *et al.* [43] sur le maïs. Il est probable que ce schéma de sélection par la voie cellulaire va se développer dans la mesure où ces techniques cellulaires seront mieux connues. En ce qui concerne les cybridations, elles ne sont pas encore applicables chez les céréales.

Variabilité somaclonale

Le sélectionneur est sans cesse à la recherche de variabilité ! Tirer profit de cette variabilité reste l'une de ses préoccupations constantes [24].

La variabilité somaclonale constitue l'ensemble des variations héréditaires obtenus après passage *in vitro* d'un matériel cellulaire ou tissulaire régénéré en plantes cytologiquement stabilisées avec ou sans pression de sélection.

Des travaux déjà anciens [21, 55] font mention du phénomène ; Sibi dès 1974 [49, 50], puis Barbier et Dulieu [6] ont suivi et étendu les investigations, respectivement, sur la laitue (*L. sativa*) et sur le tabac (*N. tabacum*) ; en 1981, Sibi [51] a réussi à intégrer l'utilisation des variants en amélioration des plantes. Toujours en 1981 parut un article de mise au point par Larkin et Scowcroft [23] ; la même équipe, en 1987, a appliqué ces données à l'amélioration du blé pour des caractères tels que la capacité de tallage, la hauteur de la paille, la date d'épiaison et divers autres caractères morphologiques et physiologiques. D'autres céréales et graminées ont été travaillées : le ray-grass [3], le maïs [8], l'orge [35], le riz [15, 53], l'avoine [27] et le triticales [30]. Depuis lors, de nombreux travaux sont venus confirmer les résultats antérieurs [5, 48, 59] ; pour le blé, signalons l'article de Ryan *et al.* [44].

Embryogenèse somatique

Une autre source de variabilité nous est donnée par l'embryogenèse somatique, laquelle consiste en l'obtention d'embryons di- ou polyploïdes – à partir de cals ou de suspensions cellulaires – qui ensuite sont capables de régénérer en plantes fertiles caryologiquement stables ; ces embryons sont dits «somatiques» par opposition aux embryons sexués provenant de la fécondation normale.

C'est Radhavan [41] qui, le premier, observe le phénomène ; peu après, Tisserat *et al.* [56] publièrent une étude approfondie de l'embryogenèse somatique chez les angiospermes. Nabors [29] et Smith et Murashige [52] développent une étude quantitative du phénomène; depuis 1984, le groupe de Vasil [62] étudie l'embryogenèse chez le millet (*Pennisetum americanum*). Des travaux ont été menés sur le blé [36, 37], le maïs [57, 62], le seigle [22, 45], l'orge [42], le riz [26]; la génétique de la régénération a été étudiée sur le maïs [4].

Pour finir, mentionnons l'utilisation d'embryons somatiques pour la production de semences artificielles, qui ont un avenir certain.

Manipulations génétiques

C'est sans conteste la méthode universelle conduisant à l'exploitation de la transformation génétique, c'est-à-dire la pénétration dans le noyau et les organites cellulaires d'information génétique (ADN) suivie de son expression et de sa régulation de même que par sa transmission héréditaire au travers de la méiose.

Vers les années 1970, trois groupes – Schell et Van Montagu à Gand, Schilperoort à Leiden et M.D. Shilton à Seattle – ont découvert l'existence chez la bactérie *Agrobacterium tumefaciens* de propriétés relatives à la transformation des dicotylédones ; en 1983, Herrera Estrella *et al.* rapportèrent la construction d'un plasmide porteur du gène de résistance à un antibiotique – la kanamycine. Depuis lors, la technologie de la transformation ne cesse de se développer [19, 32, 46, 47].

Chez les céréales – monocotylées difficiles à manipuler –, signalons les rapports de Lörz *et al.* [25], Rhodes *et al.* [45], Vasil [60] ; chez le blé dans notre laboratoire, associé à l'Université de Paris-Sud (Forgeois, 1988, sous presse).

D'autres recherches liées à l'amélioration ont donné des résultats prometteurs : elles concernent des caractères tels que la résistance aux herbicides [14, 63], au milieu [38], aux viroses [2]. Enfin, Fischhoff *et al.* [17] ont produit des tomates transgéniques résistantes aux lépidoptères par clonage du gène de la toxine de *Bacillus thuringiensis*.

Terminons en signalant un aspect important dans la pratique de l'amélioration : il s'agit du marquage moléculaire. Tout obtenteur pourra désormais identifier biochimiquement et par là défendre son matériel en utilisant le polymorphisme des fragments de restriction [33].

Discussion

Les lignes qui précèdent ont tenté de décrire succinctement une approche globale de l'amélioration des plantes et des céréales en particulier.

Plus que jamais, cette discipline devient synthétique et non seulement fait appel aux connaissances traditionnelles, mais, de plus en plus, intègre la biochimie, la microbiologie, la génétique moléculaire et naturellement le génie génétique : des gènes de structure et leurs séquences régulatrices sont isolés, des transposons repérés. La liste des gènes isolés, séquencés et introduits dans des plantes transgéniques grandit avec le temps ; si l'opération reste longue et difficile, il n'en reste pas moins que la technologie se développe et que son emploi s'impose. S'il est vrai que le travail d'amélioration garde un rôle primordial et incontesté, il est non moins vrai que la biologie moderne prendra une part de plus en plus grande dans le processus de création variétale.

Les observations ne manquent pas pour soutenir cette thèse : depuis plusieurs années, les «géants» de la chimie s'intéressent de très près au monde des sélectionneurs ; des investissements énormes sont engagés et les études de type moléculaire de plus en plus développées. Un avenir proche verra sans doute l'application en grand de ce qui était de simples hypothèses de travail, il y a peu.

Conclusion

L'amélioration des plantes est et reste difficile, comme toute discipline de synthèse. Nous avons simplement voulu essayer de montrer dans cette revue que la «sélection moderne», tout en restant fondée sur les approches traditionnelles, doit intégrer les méthodes cellulaires, tissulaires et moléculaires. La combinaison des méthodes classiques et des techniques moléculaires, désormais mutuellement dépendantes, conduit à une meilleure compréhension des principes sous-tendant la discipline et par là aboutit à des résultats mieux définis, moins aléatoires et donc mieux intégrés qui constituent l'équilibre précaire qu'est une variété.

Références

1. Abdullah R, Cocking EC, Thompson C. (1986). Efficient plant regeneration from rice protoplasts through somatic embryogenesis. *Biotechnology* ; 4 : 1087-1090.
2. Abel P *et al.* (1986). Delay of disease development in transgenic plants that express the tobacco mosaic virus coat protein gene. *Science* ; 232 : 738-743.
3. Ahloowalia BS. (1975). Regeneration of rye-grass plants in tissue cultures *Crop Sci* ; 15 : 449-452.
4. Armstrong CL, Phillips RL. (1988). Genetic and cytogenetic variation in plants regenerated from organogenic and friable, embryogenic tissue cultures of maize. *Crop Sci* ; 28 : 363-369.
5. Bajaj YPS. (1986). *Biotechnology in Agriculture and Forestry*. Vol 1. Crops XVIII + 608 p. Springer Verlag, Berlin.
6. Barbier M, Dulieu H. (1980). Effets génétiques observés sur des plantes de tabac régénérées à partir de cotylédons par culture *in vitro*. *Ann Am Pl* ; 30 (3) : 321-344.
7. Baulcombe D *et al.* (1986). Expression of biologically active viral satellite RNA from the nuclear genome of transformed plants. *Nature* ; 321 : 446-449.
8. Beckert M, Pollacsek M. (1979). Expression de variabilité génétique du maïs (*Zea mays* L.) en différentes conditions de culture.
9. Bright SWJ, Jones MG. (1985). *Cereal tissue and cell culture*. Martinus Nijhoff, Dordrecht.
10. Causse M. (1985). *Etude bibliographique sur les méthodes de création variétale chez les plantes autogames*. Ceba Gis Moulon, Gif-sur-Yvette.
11. Chen CC. (1976). Studies on the anther culture of rice pollen stage and low temperature treatment. *Nat Sci Counc Taipei* ; 4 (2) : 2187.
12. Chen Y, Li LT. (1978). Investigation and utilization of pollen derived haploid plants in rice and wheat. *Proc Symp Plant Tiss Cult*. Science Press, Beijing, pp. 199-211.
13. Coulbaly MY, Demarly Y. (1986). Regeneration of plantlets from protoplasts of rice *Oryza sativa* L. *Z Pflanzenzüchtg* ; 96 : 79-81.
14. De Block M, Botterman J, Vandewiele M, Dockx J, Thoen C, Gossele V, Rao Movua N, Thompson C, Van Montagu M, Leemans J. (1987). Engineering herbicide resistance in plants by expression of a detoxifying enzyme. *EMBO J* ; 6 (9) : 2513-2518.
15. Dossou-Yovo S, Prioul JL, Demarly Y. (1982). Croissance et photosynthèse comparées de phénovariants de riz. *Agronomie* ; 2 (5) : 493-502.
16. Fedak G. (1977). Haploids from barley x rye crosses. *Can J Genet Cytol* ; 19 : 15-19.
17. Fischhoff DA, Bowdsh KS, Perlak FJ, Marrone PJ, McCormick SM, Niedermeyer JG, Dean DA, Kusano-Kretzmer K, Mayer EJ, Rochester DE, Rogers SG, Fraley RT. (1987). Insect tolerant transgenic tomato plants. *Biotechnology* ; 8 : 807-813.
18. Fromm M, Taylor LP, Walbot V. (1986). Stable transformation of maize after gene transfer by electroporation. *Nature* ; 319 : 791-793.
19. Horsch RB, Fry JE, Hoffmann NL, Eichholtz D, Rogers SG, Fraley. (1985). A simple and general method for transferring genes into plants. *Science* ; 227 : 1229-1231.
20. Kasha KJ (1974). *Haploids from somatic cell in Haploids in higher plants. Advances and potentials*. Kasha, Univ of Guelph ; 67-87.
21. King PJ, Potrykus V, Thomas. (1978). *In vitro* genetics of cereals : problems and perspectives. *Phys vég* ; 16 (3) : 381-399.
22. Krunbiegel-Schoeren G, Finger J, Schoeren V, Binding H. (1984). Embryoid formation and plant regeneration from callus of *Secale cereale*. *Z. Pflanzenzüchtung* ; 92 : 89-94.
23. Larkin PJ, Scowcroft WR. (1981). Somaclonal variation - a novel source of variability from cell cultures for plant improvement. *Theor Appl Genetics* ; 60 : 197-214.
24. Lefort-Buson M, Hebert Y, Damerval MP. (1988). Les outils d'évaluation de la diversité génétique. *Agronomie* ; 8 (3) : 173-178.
25. Lörz H, Gobel E, Brown P. (1988). Advances in tissue culture and progress towards genetic transformation of cereals. *Plant Breeding* ; 100 : 1-25.

26. Man-Si Wang Zapata FJ, De Castro DC. (1987). Plant regeneration through somatic embryogenesis from mature seed and young inflorescence of wild rice. *Plant Cell Reports* ; 6 : 294-296.
27. McCoy TJ, Phillips RL, Rines HN. (1982). Cytogenetic analysis of plants regenerated from oat (*Avena sativa*) tissue cultures. *Can J Genet Cytol* ; 28 : 299-329.
28. Morrison RA, Evans DA. (1988). Haploid plants from tissue culture : new plant varieties in a shortened time frame. *Biotechnology* ; 6 : 684-690.
29. Nabors MW, Heyser JW, Dikes TA, Demott KJ. (1983). Long duration, high frequency plant regeneration from cereal tissue culture. *Planta* ; 157 : 385-391.
30. Nakamura C, Keller WA. (1982). Plant regeneration from inflorescence cultures of hexaploid triticale. *Pl Sci Lett* ; 24 : 275-280.
31. Negrutiu I, Jacobs M, Caboche M. (1984). Advances in somatic cell genetics of high plants. *Pl Sci Lett* ; 24 : 275-280.
32. Negrutiu I, Mouras A, Horth M, Jacobs M. (1987). Direct gene transfer to plants and some future perspectives. *Plant Physiol Biochem* ; 25 (4) : 493-503.
33. Nienhuis J, Helentjaris T, Slocum M, Ruggero B, Schaefer A. (1987). Restriction fragment length polymorphism analysis of loci associated with insect resistance in tomato. *Crop Sci* ; 27 : 797-803.
34. Nizeki H, Oono K. (1968). Induction of haploid rice plants. *Proc Jpn Acad* ; 44 : 554-557.
35. Orton TJ. (1980). Chromosomal variability in tissue cultures and regenerated plants of *Hordeum*. *Theor Appl Gen* ; 56 : 101-112.
36. Ozias-Akins P. (1983a). Callus induction and growth from the mature embryo of *Triticum aestivum* (wheat). *Protoplasma* ; 115 : 104-113.
37. Ozias-Akins P, Vasil IK. (1983b). Improved efficiency and normalization of somatic embryogenesis in *Triticum aestivum* (wheat). *Protoplasma* ; 117 : 40-44.
38. Petolino JF, Collins GB. (1984). Cellular approaches to environmental stress resistance. In : *Applications of genetic engineering to crop improvement*. Crops VIII + 604 p. Martinus Nijhoff, Dordrecht.
39. Picard E, De Buyser J. (1973). Obtention de plantules haploïdes de *Triticum aestivum* L à partir de cultures d'anthers *in vitro*. *CR Acad Sci Paris* ; 277 D : 1463-1466.
40. Picard E, Rode A, Roussel M, Doussinault G. (1988). Androgenetic doubled haploids of wheat : genetic, physiological molecular and breeding aspects (sous presse).
41. Radhavan V. (1976). *Experimental embryogenesis of vascular plants*. Crops VIII + 603 p. Academic Press, London.
42. Rengel Z. (1987). Embryogenic callus induction and plant regeneration from cultured *Hordeum vulgare* mature embryos. *Plant Physiol Biochem* ; 25 (1) : 43-48.
43. Rhodes CA, Pierce DA, Mettler IJ, Mascarenhas D, Detmer JJ. (1988). Genetically transformed maize plants from protoplasts. *Science* ; 240 : 204-207.
44. Ryan SA, Larkin PJ, Ellison FW. (1987). Somaclonal variation in some agronomic and quality characters in wheat. *Theor Appl Gen* ; 74 : 77-82.
45. Rybczynski JJ, Zdunczyk B. (1986). Somatic embryogenesis and plantlet regeneration in the genus *Secale*. 1. Somatic embryogenesis and organogenesis from cultured immature embryos of five wild species of rye. *Theor Appl Gen* ; 73 : 267-271.
46. Saul MW, Pazkowski J, Shillito RD, Potrykus I. (1987). Methods for direct gene transfer to plants. *Plant Physiol Biochem* ; 25 (3) : 361-364.
47. Schell J. (1987). Transgenic plants as tools to study the molecular organization of plant genes. *Science* ; 237 : 1176-1183.
48. Semal J. (1985). *Somaclonal variations and crop improvement*. Martinus Nijhoff, Dordrecht.
49. Sibi M. (1974). Création de variabilité par culture de tissus *in vitro* sur *Lactuca sativa* L. Thèse de spécialité Univ Paris-Sud, 128 p.
50. Sibi M. (1976). La notion de programme génétique chez les végétaux supérieurs : obtention de variants par culture de tissus *in vitro* sur *Lactuca sativa* L., apparition de vigueur chez les croisements. *Ann Amélior Pl* ; 26 (4) : 523-547.
51. Sibi M. (1981). Hérité de variants épigénétiques obtenus par culture de tissus *in vitro* chez les végétaux supérieurs. Thèse Univ Paris-Sud, 280 p.

52. Smith WA, Murashige T. (1984). A method for quantitative study of development in somatic embryo in plant cell cultures. *In vitro* ; 20 : 256.
53. Sun Zong-Xiu, Zhao Cheng-Zhang, Zheng Kang-Le, Xi Xiu-Fang, Fu Ya-Ping. (1983). Somaclonal genetics of rice. *Theor Appl Gen* ; 67 : 67-73.
54. Sybenga J. (1983). Genetic manipulations in plant breeding : somatic versus generative. *Theor Appl Gen* ; 66 : 179-201.
55. Thomas E, King PJ, Potrykus V. (1979). Improvement of crop plants *via* single cells *in vitro* : an assessment. *Zeit Pflanzenzüch* ; 82 : 1-30.
56. Tisserat B, Esan EB, Murashige T. (1979). Somatic embryogenesis in vascular angiospermes. *Hort Rev* ; 2 : 1-78.
57. Tomes DT. (1984). Embryogenic callus cultures from immature embryos of Elite corn (*Zea mays*). *In vitro* ; 20 (abstracts).
58. Vasil IK. (1982). Somatic embryogenesis and plant regeneration in cereal and grasses. In : *Plant Tissue Culture*. Fujiwara, éd. Maruzen, Tokyo.
59. Vasil IK. (1987). Developing cell and tissue culture systems for the improvement of cereal and grasses crops. *J Plant Physiol* ; 128 (3) : 193-309.
60. Vasil IK. (1988). Progress in the regeneration and genetic manipulations of cereal crops. *Biotechnology* ; 6 : 397-402.
61. Vasil V, Vasil IK. (1984a). Induction and maintenance of embryogenic callus cultures of graminaceae. In Vasil IL, ed. : *Cell culture and somatic cell genetics*, vol. 1. Academic Press, Orlando, pp. 36-42.
62. Vasil V, Vasil IK, Chin-Yi Lu. (1984). Somatic embryogenesis in long term callus culture of *Zea mays*. *Am J Bot* ; 71 : 158-161.
63. Wersuhn G, Kirsch K, Gienapp R. (1987). Herbicide tolerant regenerates of potato. *Theor Appl Gen* ; 74 : 480-482.
64. Zhang L. (1988). Contribution to the study of regeneration of wheat plantlets (*Triticum aestivum*) from embryo and anther cultures. Thèse Fac Sc Agr, Gembloux.

5

Vitro-variations ou variations somaclonales ?

M. SIBI

Amélioration génétique, ENSAIA, 2 avenue de la Forêt de Haye, 54500 Vandœuvre, France

Introduction

La régénération à partir de cultures *in vitro* est l'un des outils de plus en plus utilisé soit pour la multiplication, soit pour la conservation du germplasma, soit pour les biotechnologies. Mais au cours de ces régénérations, il arrive que, de façon surprenante, de nombreux phénotypes apparaissent.

Mise en évidence de la variabilité issue de culture *in vitro*

Etapes successives

La première expérience de culture *in vitro* de tissus végétaux fut publiée par Nobécourt en 1946 [73] et de nombreux travaux réalisés dans les années 1950 ont été présentés par Gautheret [41, 42, 43]. Ultérieurement, les techniques se sont diversifiées et l'identité ou reproduction conforme du matériel de départ était posée comme dogme.

En fait, le développement de plantes entières à partir de méristèmes amène rarement aux variations telles que celles rapportées sur le chou par Clare et Collin [20], alors que la régénération de bourgeons à partir de cals primaires ou de souches entretenues semble être une source commune de variabilité.

Des réflexions relatives aux causes et aux origines biologiques de ce phénomène ont été proposées par Sibi dès 1974 [97, 98, 99], Brettell et Ingram en 1979 [9], Larkin et Scowcroft en 1981 [57], Reisch en 1983 [87], Orton en 1984 [78], Karp et Bright en 1985 [51] et par Gould en 1986 [44]. La terminologie désignant les nouveaux types obtenus a été très diversifiée, mais la dénomination «phénovariant» fut la première proposée par Sibi en

1971 [96]. Cependant, en 1981, Larkin et Scowcroft [57] employèrent l'expression «variation somaclonale», qui paraît être maintenant communément utilisée.

Les premières plantes variantes régénérées sur tissus somatiques ont été signalées avant 1970 sur le tabac par Lutz [59] et Mousseau [68] et sur la canne à sucre par Heinz et Mee [47].

La transmission héréditaire par autofécondation de ces variants a été effectuée pour la première fois sur la laitue par Sibi [96, 97, 98], puis sur le tabac par Binns et Meins [5]. Depuis, ce type d'analyse a été largement utilisé, ainsi de nombreuses expériences sur la tomate ont été rapportées [37, 67, 100], et donnent une vaste gamme de résultats.

Cependant l'utilisation de dispositifs expérimentaux avec analyse de croisements réciproques a été assez peu fréquente. Les premiers travaux de ce type ont été réalisés par Sibi chez la laitue [97, 98] et la tomate [101, 102, 103, 105].

L'apparition de plantes modifiées après régénération de gamétophytes mâles par culture *in vitro* puis doublement des chromosomes a également été signalée chez le riz [34, 54, 76, 93, 94, 121, 122], le blé [82] et le tabac [60]. De plus, chez l'orge, l'androgenèse (par culture d'anthers) aussi bien que la gynogenèse (par culture d'ovaires non fécondés) amènent à des variations qui ont été décrites et soigneusement analysées par San-Nœum et Ahmadi [91].

Il semble donc que les termes «vitro-variant» et «vitro-variation» pourraient être des dénominations plus globales et pratiques pour désigner la variation exprimée au travers de la culture *in vitro* des divers tissus, ou encore la régénération créative.

Mémoire ou hérédité

Le niveau biologique impliqué dans la « vitro-variation » a parfois été recherché par analyse de la « mémoire », ou de la stabilité, ou même de la transmissibilité du caractère modifié.

Sur le plan biochimique, que les souches établies soient animales ou végétales, les changements manifestés ne peuvent être interprétés en seuls termes de mutations. Ainsi, en comparant les fréquences des mutants et des révertants chez des cultures de tissus humains, De Mars [31] conclut à un nouvel état de fonctionnement du matériel ; il qualifie de « péri-génique » le phénomène pour signifier qu'il devait impliquer un compartiment cellulaire situé autour du gène. Par ailleurs, des variants de lin obtenus *in situ* ont été décrits par Durrant [35] comme des « génotrophes », et des mécanismes de modifications de même type chez le maïs furent appelés « paramutations » par Brink *et al.* [11], terme repris et discuté par Tartoff [118] puis Holliday [49]. Holliday, pour regrouper cet ensemble, proposa le terme « épimutation », désignant des modifications au niveau de l'ADN et qui apparaissent *in situ* à très fortes fréquences. Simultanément, sur des cultures de tissus de tabac, des modifications soit transitoires, soit stables, après régénération et reproduction sexuée, ont été appelées « habituations » par Binns, Meins et Lutz [5, 64, 65, 66], ou « mutation-like adaptation » par Shokut et Filner [110]; ces changements, en effet, ne pouvaient être classés comme des résultats de mutations spontanées conventionnelles.

Le fait que certaines de ces modifications aient été classées comme « épigénétiques » (c'est-à-dire non permanentes) bien qu'elles soient héréditairement transmissibles par voie sexuée amena Filner [39] à souligner les confusions de la terminologie.

Depuis 1971, des recherches entreprises par Sibi sur des lignées homozygotes de laitue [97-99] et de tomate [100-105] ont montré que la culture *in vitro* s'accompagne d'un taux accru de mutations. Plus de 10% de mutants nucléaires monogéniques ont été observés

chez la laitue ; et, sur la tomate, le taux de mutations, monofactorielles ou multiples, atteint 56% des individus régénérés. Ceci est en accord avec les résultats de Buiatti *et al.* [13] et de Evans *et al.* [37] sur la tomate qui signalent des taux de 17% et 5,6% de plantes mutantes.

Par ailleurs, à la fois chez la laitue et la tomate [97, 105], on a pu enregistrer une autre catégorie de variations qui, dans ce cas, ne peuvent être explicitées en termes de supports génétiques strictement cytoplasmiques ou nucléaires. La stabilité héréditaire et la fixité génétique de ce type de variation ont pu être vérifiées à travers plusieurs générations d'autofécondation. Les descendance de croisements réciproques manifestent une dissymétrie de transmission, plus précisément des effets maternels ou parfois paternels. Dans certains cas, lorsque l'on croise ces variants issus d'un même génotype soit entre eux, soit avec le type d'origine, il apparaît des descendance manifestant des transgressions de performances (mimant la vigueur hybride) au-delà des types parentaux du croisement : ceci est d'autant plus étonnant que le génome nucléaire du matériel de départ est homozygote et *a priori* non modifié.

Ce même type de comportement héréditaire avec asymétrie d'expression des croisements réciproques a été observé sur des variants de riz [54] et d'orge [91] obtenus après haploïdisation suivie de doublement chromosomique.

Compte tenu de cet ensemble de faits, l'expression « variation épigénétique » a été proposée et discutée par Sibi [97-105] et par Demarly [29] pour décrire ces modifications transmissibles par voie sexuée et dont le comportement héréditaire est inhabituel.

Eléments de base de la variabilité

Le fond génétique

L'impact du génotype sur la réussite de la culture *in vitro* a été mis en évidence par des analyses quantitatives chez le trèfle violet [53] et chez le pétunia [4].

Les relations entre structure génétique et mutabilité (gènes spécifiques et interactions avec l'ensemble du génotype) ont aussi été montrées par De Nettancourt et Devreux [72] chez la tomate après analyse de l'auto-incompatibilité gamétophytique de *Lycopersicon peruvianum*.

Chez cette espèce allogame et très fortement hétérozygote, les auteurs ont signalé que des changements transformant un allèle d'auto-incompatibilité en un autre ($S_1 \rightarrow S_2$) n'avaient jamais pu être obtenus par des traitements mutagènes, alors qu'ils apparaissent au cours de la fixation de lignées par consanguinité comme si des mécanismes alternatifs contrôlaient une forme ou l'autre selon le degré d'homozygotie de la plante. En outre, les cultures *in vitro* de tissus somatiques engendrent spontanément l'apparition de nouveaux allèles S chez les plantes régénérées.

Ces analyses ont été poursuivies par Sree-Ramulu [115], qui a établi la régénération *in vitro* de plantes de *Lycopersicon peruvianum* par les diverses voies suivantes : culture d'entre-nœuds, de tiges, et culture d'anthères [112]. Les plantes issues d'entre-nœuds, restant donc hétérozygotes, ne manifestent aucune modification au locus S, alors que pour les plantes issues de culture d'anthères, les auteurs observent de nouvelles expressions d'allèles S, dont des réversions, et même quelquefois le passage d'un contrôle gamétophytique vers un contrôle sporophytique. Ceci confirme la stabilité de l'allèle S dans un fond génétique à fort degré d'hétérozygotie, et l'impact marquant de la consanguinité sur les modifications

de comportement du système — S. La conclusion est alors tirée que les nouvelles spécificités — S apparues ne résultent pas de mutations ponctuelles au locus S [114].

Durée de la culture *in vitro*

La durée de la culture *in vitro* et, plus précisément, la longueur de la phase non morphogène était apparue depuis longtemps comme facteur de variabilité [26, 97, 99]. Plusieurs expériences ont permis de vérifier cette relation. Ainsi, un fort accroissement de la fréquence des mutants et l'expression de types ancestraux ont été observés [97, 98], mais aussi les taux de mutations semblent liés au nombre de transferts *in vitro* [10, 33, 58, 62, 67, 107], comme si cette phase avait un effet mutagène sur les cellules cultivées ou si la régulation des systèmes de réparation de l'ADN était perturbée [102].

Par exemple, les plantes de tomates obtenues à partir des apex [74] ou régénérées directement à partir de feuilles [52] ne donnent aucune variation, alors que de nombreux auteurs ont pu observer des variabilités de tous types sur des plantes régénérées à partir de cals [13, 36, 38, 55, 67, 79, 101, 102, 105], la majorité des vitro-variants de tomate paraissent être des mutants de gènes nucléaires, avec les taux extrêmes déjà signalés de 56% [100] à 5,6% [37] et la valeur intermédiaire de 17,04% [13].

L'un des cas, assez particulier, concerne l'effet de la culture *in vitro* sur l'expression des taux de recombinaison observé par Sibi *et al.* [104]. Chez la tomate, après culture *in vitro* de génotypes possédant des marqueurs, l'accroissement de taux atteint 25 à 30%. Ceci impliquerait soit l'amplification de gènes entre les marqueurs, comme le suggèrent les travaux de Nuti Ronchi [75], Nagl [69, 70], Buiatti [12] et de Schimke *et al.* [95], soit des modifications du contrôle du crossing-over [49].

Ainsi, outre l'apparition fréquente de mutants, la culture *in vitro* semble entraîner de nouvelles régulations particulières qui s'expriment à travers différents systèmes comme ceux qui contrôlent le crossing-over ou qui régulent la mutabilité.

Cependant, l'impact de la durée de culture *in vitro* observé sur les taux de mutation ne semble pas affecter la fréquence des modifications épigéniques, celle-là semble essentiellement dépendre du génotype (espèce, variété) et des conditions du culture *in vitro*. Ces modifications peuvent apparaître dès le premier cycle *in vitro* et leur fréquence semble stabilisée à partir du troisième ou quatrième transfert [67, 98, 102, 105]. Pour la tomate, les plantes régénérées après une courte phase de culture *in vitro* ont donné jusqu'à 17% de descendantes issues de plantes-mères porteuses de modifications épigéniques. Cette valeur n'est pas plus élevée chez les souches plus âgées.

Le passage par cal et parfois le nombre de cycles de culture *in vitro* apparaissent donc comme les principaux facteurs induisant, ou permettant, ou révélant une variabilité, mais il semble aussi que la plasticité du génotype et de l'espèce ait un rôle essentiel.

Types de modifications

L'observation des vitro-variations obtenues aléatoirement peut se situer à plusieurs niveaux phénotypiques (cytologique, morphologie générale...). Les premières expériences incluant des pressions sélectives, effectuées par Carlson chez le tabac [15], ont donné des résultats positifs mais, à cette époque ces expériences difficiles à interpréter furent controversées.

Cependant, depuis, des sélections *in vitro* pour tout type de caractéristique ont de plus en plus été tentées, et de nombreux auteurs les ont signalées. Par exemple, la résistance ou

la tolérance à des maladies [88], à des herbicides [17, 18, 22, 50], aux sels minéraux [84], au froid [19], aux traumatismes [117], etc., ou l'obtention de qualités spécifiques [124]. Toutes ces recherches sont très stimulantes pour l'amélioration des plantes dans la mesure où ces nouvelles potentialités avantageuses sont maintenues dans la plante régénérée et passent par les organes de multiplication (tubercules ou graines, par exemple).

Régénération de plantes modifiées

Le matériel mis en culture

In situ, une cellule fait partie d'un organe, intégré à l'ensemble de la plante. Son expression et sa régulation sont très précisément programmées et corrélées à l'ensemble [27]. La taille de l'explant prélevé pour la culture *in vitro* détermine des modifications structurales ou relationnelles et joue un rôle majeur sur la diversité d'expression [30, 99, 102]. Un entrenœud, un bourgeon préformé ou un apex différencié sont déjà « stratifiés » ou programmés [28] : peu de modifications sont à attendre de la culture de tels explants, sauf si la composition du milieu déclenche de fortes perturbations ou entraîne un développement sous forme de cal. Au contraire, les tissus excisés, les cellules dissociées et les protoplastes donnent une large variabilité, et ceci d'autant plus que leur développement passe par un stade cal, sauf dans les cas où une embryogenèse somatique se produit (Tableau I).

En fait, la cellule possède maintes voies d'expression car l'information chromosomique de base peut fonctionner selon diverses modalités [27, 29]. Dans un cal non morphogène, seules les fonctions de survie sont nécessaires et doivent de ce fait demeurer intactes. Par contre, des modifications portant sur les structures biologiques et génétiques de toute autre fonction sont possibles et sans conséquences à ce stade. Elles apparaissent donc plus fréquemment que dans les tissus organisés, entraînant l'apparition d'un large spectre de variations [97]. Les observations et conclusions touchant à la durée de la phase cal et à son rôle sur l'accroissement du taux de variations semble alors tout à fait logique.

Organogenèse à partir de cellules modifiées

Quand la morphogenèse se produit, elle peut maintenir les modifications déjà présentes au stade cal, mais elle risque de bloquer l'apparition de nouveaux changements [25]. Les cellules se divisent et s'organisent pour donner un bourgeon. En conséquence, les cellules aux potentialités nouvelles, et concernées par cette morphogenèse, seront étendues à l'ensemble de l'organisme. Les nouvelles expressions génomiques seront alors « amplifiées » et visualisées au niveau de la plante entière [97]; il est alors possible de poursuivre l'analyse de la stabilité génétique et de la transmissibilité des caractéristiques phénotypiques correspondantes.

Transmissibilité héréditaire des modifications

Structure d'une plante

Un bourgeon régénéré peut être issu d'une seule cellule [107, 108], mais, plus fréquemment, son origine est pluricellulaire. Les plantes de pétunia régénérées à partir d'un

Explant	Conformité	Vitro-variation	
		Modifications extrachromosomiques	Modification au niveau des gènes codants
<u>Tissus somatiques</u> Embryons immatures  Embryons somatiques  Bourgeons  Méristèmes  Apex  Tissus  Cals  Cellules  Protoplastes et fusion, etc.  	? Micropropagation Elimination de virus et micropropagation Embryogenèse et régénération identiques ou différant <i>biosynthèse de substances biochimiques quantitativement ou qualitativement</i>	? Croisements interspécifiques inviables Résistances aux maladies, froid, etc. Modification des gènes nucléaires codants variants épigéniques pas d'hybridation naturelle introduction de nouvelles potentialités (stérilité mâle cytoplasmique, résistances aux herbicides, etc.) par utilisation de deux espèces ou dans la même introduction d'organites ou d'ADN	? Croisements interspécifiques inviables Résistances aux maladies, froid, etc. Modification des gènes nucléaires codants variants épigéniques pas d'hybridation naturelle introduction de nouvelles potentialités (stérilité mâle cytoplasmique, résistances aux herbicides, etc.) par utilisation de deux espèces ou dans la même introduction d'organites ou d'ADN
<u>Gamétophytes</u> Mâle  Femelle 	* Fixité génétique directe * Sélection de parents * Sélection de variétés	h a p l o - d i p l o i d i a t i o n ♂ * large spectre de variabilité ♀ * variation ténue	* expression de types sauvages * fixation chez les croisements interspécifiques * stabilisation d'aneuploïdes

Tableau 1. Type d'explant et vitro-variation.

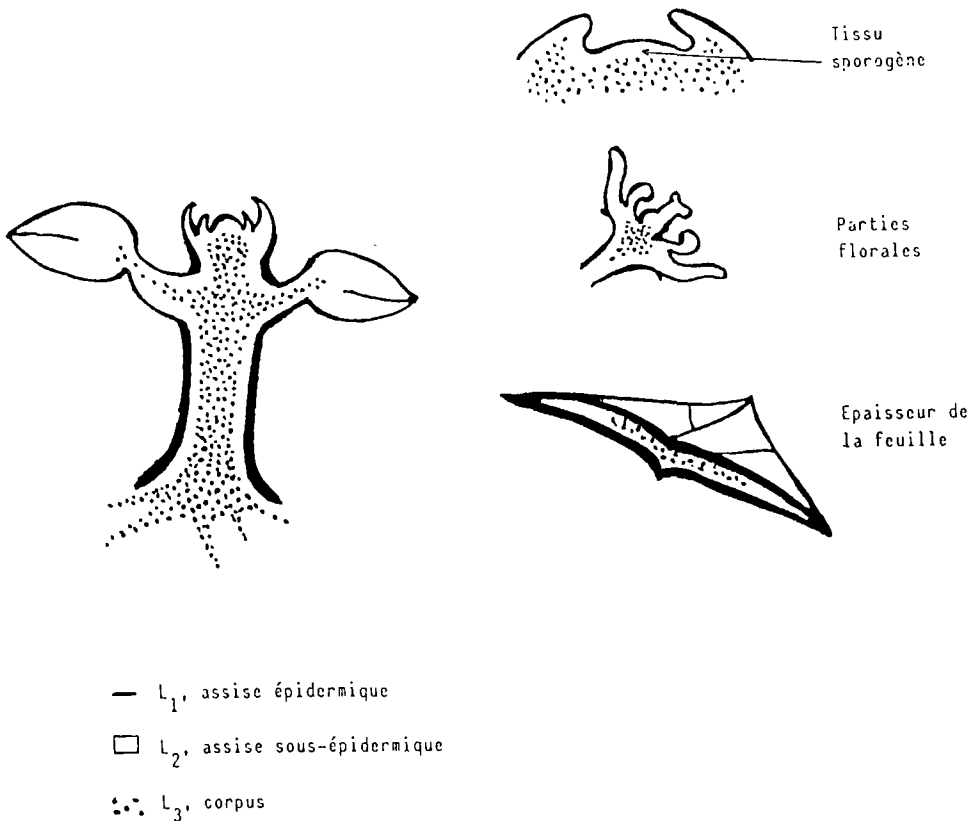


Figure 1. Organisation de la plante en chimère péricle.

Les embryons proviennent du tissu sporogène, constitué par L_2 , tandis que les racines sont issues de L_3 et que L_1 enveloppe les parties aériennes.

chimère péricle albinos et chlorophyllienne présentent 3 classes de phénotypes [3] : vert, blanc et mixte, ce dernier type démontrant que les assises albinos et vertes ont simultanément participé à la morphogenèse. Cette conclusion a été confirmée sur le tabac [16], la tomate [13, 112, 113], le maïs [111] et sur diverses espèces florales [109]. Les réflexions de Benzion et Phillips [2] sur ces expériences sont en accord avec les conclusions tirées par Sibi [97, 98] chez la laitue : les files cellulaires issues de cellules originelles spécifiques ne doivent pas être considérées comme des clones, mais comme des mosaïques ou comme des tissus en chimère [97, 98]. De plus, chez beaucoup d'espèces, la plante est structurée en au moins trois assises cellulaires [92] appelées L_1 , L_2 et L_3 (fig. 1) et le phénotype est le résultat de l'interaction entre ces assises [14, 32, 80]. Les racines ont pour origine la sous-couche L_3 , la plus profonde, qui est encore appelée corpus ; les embryons proviennent de L_2 , et L_1 recouvre les parties aériennes. L_1 et L_2 sont toutes deux impliquées dans la constitution de la graine et du fruit ainsi que L_3 dans certains cas [81, 89]. La lignée germinale, qui engendre la descendance, n'a donc pour origine que la sous-couche L_2 exclusivement.

Possibilité d'une hérédité des modifications

Le comportement et la stabilité des variations visibles ou non chez la plante régénérée dépendent de deux facteurs au moins :

Le type de modification chez la cellule originelle. L'amplification de gènes instables [12], des modifications biologiques réversibles ou transitoires [64, 85, 110], l'extinction ou la remise en expression de gènes [106] en fonction de l'intensité, l'efficacité ou la répartition des méthylations de l'ADN [6, 48, 49] constituent les éléments de modification qui peuvent éventuellement s'effacer plus ou moins rapidement à un stade donné de la morphogénèse de la plante régénérée, ou lors de la méiose dans le passage à la descendance, ou même encore à des stades ultérieurs.

Les assises tissulaires de la plante régénérée concernées par la (ou les) modification(s). Tout changement ne touchant pas des cellules de l'assise L_2 sera perdu à la méiose. Réciproquement, une plante régénérée, phénotypiquement normale, peut donner naissance, par autofécondation, à des descendances qui expriment de nouvelles caractéristiques si les modifications portées par la L_2 n'émergeaient pas phénotypiquement chez la plante mère. Un effet « retard » peut donc être observé en fonction des potentialités cryptiques de la plante.

En fonction de ces alternatives, on peut définir des séries de tests pour mettre en évidence le compartiment cellulaire impliqué dans la modification phénotypique.

Type d'hérédité et niveau biologique impliqué (Tableau II)

Un matériel biologique convenable pour une approche expérimentale fiable doit inclure les points suivants :

- une espèce diploïde, c'est-à-dire possédant des critères génétiques qui suivent des lois classiques mendéliennes ;
- une structure génétique homozygote, c'est-à-dire un matériel génétiquement fixé ;
- un système floral permettant d'effectuer facilement des croisements ou des autofécondations, c'est-à-dire ne dépendant ni d'auto-incompatibilités ni de stérilité mâle ;
- un nombre de chromosomes assez faible, c'est-à-dire un dénombrement aisé ;
- un matériel où l'on maîtrise *in vitro* la formation de cals et les conditions de régénération.

Remarque

Tous les tests qui vont suivre doivent porter sur des effectifs individuels suffisants, à la fois chez les témoins et les catégories traitées. Des dispositifs expérimentaux, de type blocs aléatoires avec répétitions, conduits en bonnes conditions (c'est-à-dire sans compétition ni effets d'interaction entre chacun des individus observés et sa position dans la parcelle) devraient donner des résultats cohérents.

Dénombrement chromosomique chez les plantes régénérées

Des modifications caryotypiques comme l'aneuploïdie ou des changements du niveau de ploidie peuvent être directement détectés par des comptages chromosomiques sur les extrémités radiculaires des plantes régénérées. Ce type de variabilité a été largement décrit

Tableau II. Tests expérimentaux et bases biologiques des modifications touchant la plante régénérée (issue de matériel homozygote).

Type de test	Résultat	Bases biologiques impliquées
Observation cytologique du caryotype	Modification du nombre de chromosomes ou du niveau de ploïdie	Niveau de ploïdie, ou même aneuploïdie
Descendances issues de l'autofécondation	Ségrégation des caractères	• Recombinaisons • Mutations dominantes ou récessives sur l'un des 2 chromosomes de la paire
Croisements diallèles des parents «fixés» et du témoin	Identité des croisements réciproques	• Double-mutant : monogénique, délétion, amplification spécifique, conversion particulière...
Autofécondation des croisements réciproques	Ségrégation des critères avec retour des classes parentales	
Croisements diallèles des parents «fixés» et du témoin	Comportement dissymétrique des croisements réciproques	• Sélection gamétique différentielle selon la voie mâle ou femelle
Autofécondation des croisements réciproques	Phénotype fixé, pas de catégorie parentale	
Croisements diallèles des parents «fixés» et du témoin	Asymétrie des croisements réciproques : effets maternels, paternels ou de transgression ; retour possible des classes parentales	Nouvelles expressions du génome par : • Modification au niveau des organites ou de leur démographie
Autofécondation des croisements réciproques	Maintien des potentialités des croisements et de l'homogénéité intra-descendance	• Modification de systèmes extrachromosomiques même nucléaires

[1, 23, 24, 51, 87]. Ici encore, il faut souligner que les chromosomes doivent être à nouveau dénombrés chez la descendance issue de l'autofécondation, pour vérification.

Quand l'absence d'anomalies caryotypiques a été confirmée malgré les modifications phénotypiques, l'analyse doit alors porter sur les produits de l'autofécondation.

Analyse des autofécondations

Chaque plante régénérée est une entité propre et les comparaisons entre les descendances de l'autofécondation, à la fois des témoins homozygotes d'origine et des plantes régénérées, amènent aux alternatives suivantes :

Conformité au témoin

Si la descendance de la plante régénérée autofécondée ne montre aucune variation, il semble raisonnable de conclure à la conformité de cette descendance. La modification exprimée par la plante régénérée était transitoire : effet momentané de la culture *in vitro* avec retour au type de départ, ou perte de la modification avant la différenciation des cellules reproductives, ou encore l'assise L_2 du variant n'était pas touchée.

Ségrégation de la descendance

Cette ségrégation peut s'exprimer par une simple disjonction mendélienne pour une caractéristique quantitative, donnant alors naissance aux catégories classiques de génotypes parmi lesquelles le type témoin est représenté. Dans le cas où une caractéristique quantitative est touchée, on observe un accroissement significatif de la variance intra-descendance par rapport à la variance du témoin.

Cette situation est en général attribuée à des modifications de gènes codants situés sur l'un ou l'autre des deux chromosomes d'une même paire et elle entre dans la catégorie des mutations (éventuellement, effets de transposition [61]) déjà signalées, ou elle peut être due à certains remaniements chromosomiques (délétions, inversions...) de petite amplitude et difficilement détectables par la cytologie, sauf par technique de « banding ».

Cependant, il ne faut pas oublier que la ségrégation d'éléments cytoplasmiques [7, 77] peut entraîner une gamme assez large de catégories qui peuvent se superposer (ou rester indépendantes) aux effets précédents.

Phénotype variant homogène sur toute la descendance

Dans ce cas plus étonnant, on peut observer de nouveaux types ou de nouvelles caractéristiques biométriques, mais le phénotype témoin n'apparaît jamais et la variance intra-descendance n'est pas accrue.

Ainsi, quel que soit le site de modification au sein de la cellule, les deux chromosomes d'une même paire s'expriment identiquement. Le niveau biologique de ce type de vitrovations pourrait être localisé dans le compartiment cytoplasmique, mais il peut aussi s'agir d'un phénomène qui affecte simultanément les deux locus homologues comme des doubles mutations, des délétions ou des amplifications spécifiques par conversions particulières [8, 71] ou par des mécanismes de réparation de l'ADN [48] ou encore de nouvelles expressions géniques dues à des modifications de systèmes extrachromosomiques.

Ajoutons que tous les types de modification cités peuvent se cumuler. Simultanément à un événement mutationnel, d'autres modifications peuvent se produire : cytoplasmiques par exemple, inhibant ou masquant l'expression du phénotype témoin. On ne peut ainsi à partir des descendance d'autofécondation clarifier définitivement les hypothèses et il faut avoir recours aux croisements réciproques.

Descendances des croisements réciproques

Ce type d'analyse est fréquemment utilisé pour démontrer la transmission asymétrique des potentialités parentales par les gamètes mâles ou femelles de la plante hermaphrodite. Deux entités parentales vont donc être confrontées symétriquement, et la série des croisements réciproques pourra être analysée par comparaison des deux croisements entre eux, ou avec le couple de parents respectifs.

Vitro-variations ou variations somaclonales ?

-*-	+-	-o-	} A témoin B et C variants parentaux
-*-	+-	-o-	
<u>A</u>	<u>B</u>	<u>C</u>	

Tableau diallèle

♂ \ ♀	A	B	C
A	-*- -*	+- -*	-o- -*
B	-*- +-	+- +-	-o- +-
C	-*- -o-	+- -o-	-o- -o-

Autofécondation des croisements réciproques CB ou BC

$$\left\{ \begin{array}{l} + \quad 1/4 \quad \underline{BB} \\ + \quad 1/2 \quad B/C \\ o \quad 1/4 \quad \underline{CC} \end{array} \right.$$

Figure 2. Doubles-mutants.

Les croisements réciproques sont identiques ; leur autofécondation amène aux seules catégories représentées, parmi lesquelles apparaissent les classes parentales.

Un dispositif diallèle complet est souvent délicat à réaliser, mais c'est lui qui aboutit aux meilleures informations. Plusieurs modèles mathématiques d'analyse de ce dispositif sont proposés, mais la méthode de Griffing [46] sans les autofécondations semble être l'une des moins restrictives.

Des informations complémentaires peuvent être obtenues en opérant un test de « comparaison multiple des moyennes » sur les séries de performances des parents (ou de leur autofécondation) et des croisements. Les valeurs des variances doivent ici encore être testées pour s'assurer de la fiabilité des caractères mesurés. Dans le dispositif diallèle, une paire de croisements réciproques est issue d'un même couple de parents dont chaque individu est fécondé par l'autre. L'analyse des données amène à divers résultats correspondant chacun à une hypothèse spécifique :

*** ***	ooo ...	=== ---	$\left\{ \begin{array}{l} \text{A témoin} \\ \text{B et C variants parentaux} \end{array} \right.$
<u>A</u>	<u>B</u>	<u>C</u>	

Tableau diallèle

$\begin{array}{c} \sigma^* \\ \diagdown \\ \varphi \end{array}$	A_{σ^*} ***	B_{σ^*} ooo	C_{σ^*} ===	Autofécondation de BC et CB	
	A_{φ} ***	B_{φ} ...	C_{φ} ---		
A_{φ} ***	<u>AA</u> *** ***	AB ooo ***	AC === ***	<u>BC</u> $\begin{array}{c} \sigma^* \\ \diagdown \\ \varphi \end{array}$	$\begin{array}{c} \sigma^* \\ \diagdown \\ \varphi \end{array}$
B_{φ} ...	BA *** ...	<u>BB</u> ooo ...	BC === ...		
C_{φ} ---	CA *** ---	CB ooo ---	<u>CC</u> === ---	<u>CB</u> $\begin{array}{c} \sigma^* \\ \diagdown \\ \varphi \end{array}$	$\begin{array}{c} \sigma^* \\ \diagdown \\ \varphi \end{array}$

Figure 3. Sélection gamétique et annulation des recombinaisons.

Par ces mécanismes, il y a homogénéité du phénotype des croisements réciproques et maintien après autofécondation, mais les types parentaux n'apparaissent jamais.

Identité des croisements réciproques

Le comportement identique des descendance réciproques, à la fois pour les traits qualitatifs et quantitatifs, indique une transmission équivalente des potentialités géniques par la voie paternelle et par la voie maternelle. Les nouveaux phénotypes observés sont alors imputés à des modifications de gènes nucléaires; ceci peut être vérifié par autofécondation de ces croisements (fig. 2).

Les croisements symétriques présenteront dans leur descendance issue d'autofécondation les mêmes catégories de phénotypes ou la même variabilité ; c'est-à-dire des caractères simples ségrégeant de la même manière pour des modifications dues à quelques gènes, ou des valeurs identiques des moyennes réciproques pour les caractéristiques quantitatives.

Comportement dissymétrique des croisements réciproques

De nombreux travaux révèlent la diversité potentielle cellulaire [40, 45, 83]. La contribution dissymétrique selon le sens de croisement est fondée sur ce fait, et sur des mécanismes aboutissant soit à des contenus génétiques distincts selon que le gamète est mâle ou femelle [21, 56, 90], ou même à des expressions différentielles selon l'origine mâle ou femelle du gamète. Les phénotypes exprimés par les descendance dépendent en fait de modifications des bases génétiques propres à chaque parent. Ces différences peuvent s'installer pendant la différenciation sexuelle [120], avant la maturation des cellules gamétiques [21], ou pendant les étapes précédant la fécondation (pénétration du tube pollinique...), ou même encore dans le zygote par le biais d'un « sceau » ou marquage imprimé au matériel et spécifique de l'origine sexuelle [119, 120].

Par ailleurs, deux types d'effets doivent être distingués : la sélection gamétique, et les potentialités différentielles extrachromosomiques. Pour ces deux éventualités, les phénotypes réciproques, dans le cas de caractères qualitatifs, ou les valeurs moyennes, dans le cas de caractères quantitatifs, doivent être différents.

La sélection gamétique. Cette première hypothèse est liée à des différences de composition en gènes nucléaires chez les gamètes mâles et chez les gamètes femelles qui participent à la fécondation. Ceci peut impliquer des effets sélectifs directs durant la différenciation sexuelle qui aboutissent à la survie de stocks haploïdes spécifiques différents pendant la formation des gamètes mâles ou femelles. Peuvent intervenir aussi des types spécifiques de correction systématique, par réparation différentielle des ADN [48, 49], pouvant même court-circuiter les événements de recombinaison [71, 116] et donnant régulièrement naissance à des gamètes mâles et à des gamètes femelles de types différents.

De même, les mécanismes de recombinaison pourraient être limités par des structurations chromosomiques empêchant l'appariement entre homologues, comme l'ont décrit Sugawara et Szostak [116], ou encore ces remaniements pourraient être réparés systématiquement. Ceci pourrait expliquer la stabilité génétique des descendance en autofécondation à partir de parents hétérozygotes (fig. 3). Ici, les variances des croisements réciproques pourraient être significativement différentes. D'autre part, avec ce seul mécanisme qui agirait en permanence, les potentialités parentales pourraient être maintenues chez les descendants d'autofécondation, mais elles devraient être perdues définitivement en croisement et donner des formes intermédiaires par hérédité additive, ou des types nouveaux dans le cas d'effets d'interactions.

Le maintien d'un tel mécanisme devrait conserver les phénotypes des hybrides dans leur descendance d'autofécondation par complémentarité gamétique systématique, et les caractéristiques parentales d'origine ne devraient jamais réapparaître. Cependant, dans le cas où

le système se bloquerait, divers types de ségrégations pourraient être observées pour chaque croisement selon les lois mendéliennes classiques.

Effets différentiels extrachromosomiques. Dans le cas de cette seconde hypothèse, l'identité nucléaire des croisements réciproques amène à l'homogénéité des variances intra-descendances et à l'uniformité du phénotype au sein d'un sens de croisement. Les différences significatives entre les phénotypes réciproques, ou entre des valeurs moyennes des croisements réciproques, mènent à la conclusion que le même génome s'exprime de façons différentes en fonction des structures extrachromosomiques. Ces dernières peuvent aussi bien concerner des systèmes cytoplasmiques que des éléments nucléaires autres que les séquences codantes mendéliennes (fig. 4).

Dans les croisements diallèles, les potentialités d'un parent seront confrontées à celles de tous les autres. Pour une hybridation donnée, tout type de situation peut être obtenu en fonction de l'évolution, la stabilisation et les interactions des potentialités du gamète mâle et du gamète femelle.

Le même comportement pour tous les descendants d'une hybridation entraîne une variance intra-descendance non modifiée. Des expressions nouvelles asymétriques peuvent se déterminer au moment de la fécondation et apparaître comme des effets maternels. Mais, dans le cas d'une évolution propre de chacun des apports parentaux, il peut y avoir amplification de certains éléments par le biais de cinétiques de réplication spécifiques. Par ailleurs, des effets synergiques peuvent être dus à la rencontre d'entités extrachromosomiques parentales complémentaires ou à de nouvelles interactions nucléo-cytoplasmiques.

Des comportements inattendus, tels que les effets paternels ou même de transgressions (pseudo-hétérosis), peuvent donc apparaître. Néanmoins, du fait du maintien des gènes nucléaires inchangés, l'expression du variant parental ou du témoin peut dans certains cas réapparaître.

Les descendances de l'autofécondation des croisements réciproques restent homogènes, dans la mesure où le système extrachromosomique ne ségrège pas [7] après la méiose, et elles peuvent alors présenter à l'identique les performances de la génération hybride antérieure.

Vitro-variants de laitue et de tomate

Les recherches ont été conduites sur deux espèces : la laitue (*Lactuca sativa*, $2n = 18$) et la tomate (*Lycopersicon esculentum*, $2n = 24$). Nous donnons ci-dessous une synthèse de travaux qui se sont déroulés de 1971 à 1986 (plus spécialement Sibi [98] pour la laitue, et Sibi [105] pour la tomate).

La culture des tissus *in vitro* a été entreprise après vérification du comportement homozygote des génotypes, c'est-à-dire l'absence de caractères en ségrégation après autofécondation. Ces cultures *in vitro* donnent une très grande gamme de variabilité chez les individus régénérés. Les étapes d'analyse sont les suivantes :

Etudes cytologiques

Les analyses de caryotypes sont réalisées à la fois pour la laitue et pour la tomate à chacun des stades opératoires explicités en page 34.

Vitro-variations ou variations somaclonales ?

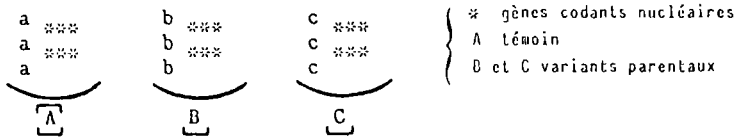


Tableau diallèle.

Tous les individus sont isogéniques aussi seuls sont représentés les systèmes extrachromosomiques, symbolisés en petits caractères.

♂ \ ♀	A ♂ a	B ♂ b	C ♂ c	
A ♀ a	AA a a a	AB b ab a a	AC c ac a a	Autofécondation de BC et CB
B ♀ b	BA a ba b b	BB b b b b	BC c bc b b	
C ♀ c	CA a ca c c	CB b cb c c	CC c c c c	

Figure 4. Modifications extrachromosomiques ou épigéniques.

Lors de la fertilisation, les croisements réciproques peuvent différer sous l'angle qualitatif et quantitatif (types et nombre de lettres). Les couples de lettres tels que «cb» et «bc» représentent des interactions de nature différente, donc $cb \neq bc$. La complexité peut s'accroître par le biais d'interactions supplémentaires de type «cbb» (ou en ajoutant des symboles au sein de chaque structure parentale).

Selon le croisement, la rencontre peut amener, par stabilisation, ou par évolution des structures jusqu'à un équilibre spécifique, à diverses situations. Ainsi, outre des effets paternels ou maternels, il peut apparaître des cas d'identité aux parents ou même des effets de transgression.

Le schéma présente des effets dissymétriques directs, tels que maternels ou paternels.

L'autofécondation de chaque croisement peut maintenir ces états pour toute la descendance.

La culture *in vitro* de laitue ne donne jamais naissance à des caryotypes modifiés, aussi bien dans les cellules de cals que dans les pointes racinaires des vitro-variants ou de leurs descendance par autofécondation. Par contre pour la tomate, une variabilité chromosomique est largement exprimée dans les cals et parfois même chez les plantes régénérées ; sur 70 individus, 7 sont aneuploïdes et 1 est tétraploïde. Des caryotypes normaux sont aussi observés sur les autres plantes et ces caryotypes restent stables dans la descendance en autofécondation.

Analyse des descendance

Une série d'analyses statistiques successives est effectuée pour des caractères qualitatifs et quantitatifs (couleur, forme, aspect, taille et nombre de feuilles ; poids et hauteur des plantes ; etc.) amenant au traitement d'environ 42 000 données chez la laitue et 24 000 chez la tomate.

Descendance d'autofécondation

Cette première comparaison inclut uniquement les descendance des individus à caryotype normal. Elle comprend les 22 descendance issues de l'autofécondation de 15 variants et de 7 témoins pour la laitue et les 30 descendance issues de 25 variants et de 5 témoins pour la tomate.

Des situations de mutation sont trouvées pour 2 descendance chez la laitue et pour 17 chez la tomate, alors que chez toutes les autres descendance de laitue, et dans 8 cas chez la tomate, les nouveaux phénotypes s'expriment sans ségrégation.

Toutes les caractéristiques quantitatives, dans le cas de descendance uniformes, ont été suivies pendant deux générations successives et se révèlent être parfaitement stables, permettant de conclure à l'homozygotie. Les traits qualitatifs des variants stables de laitue les plus faciles à identifier ont fait l'objet de comparaison avec les témoins pendant 6 générations successives et ils restent échangés.

On peut donc rattacher ce type de variation au « phénotype variant homogène » tel que décrit plus haut (p. 36) et qui doit être suivi en croisements réciproques. Dans l'expérience en croisements diallèles qui suit, seuls ont été inclus les descendance bien typées et les témoins.

Croisements diallèles

Ces dispositifs diallèles comprennent les variants (3 pour la laitue et 4 pour la tomate) et un témoin. Les descendance sont comparées, les analyses donnent les résultats suivants :

Les caractères variants de la laitue suivent, pour la plupart, une hérédité maternelle, de même que certains traits quantitatifs variants chez la tomate. Plus curieusement, une hérédité paternelle fréquente est observée chez la tomate.

Pour la laitue aussi bien que pour la tomate, les descendance d'hybridation entre variants (ou avec le témoin), relativement à certains critères, se comportent statistiquement comme le témoin et peuvent cependant, pour d'autres caractéristiques, exprimer des effets transgressifs tout à fait nets. En outre, selon le partenaire du croisement, un même parent peut exprimer dans la descendance soit des effets transgressifs, soit une absence de variation, ce dernier cas conférant le maintien de l'intégrité parentale. Dans tous les cas, la variance intra-descendance reste identique.

Autofécondation des produits de croisement

Ce type de test n'a été effectué que sur les descendance du diallèle de tomate. L'autofécondation n'a été menée que sur une série « ligne-colonne réciproque » du dispositif diallèle, et également sur des descendance réciproques manifestant des effets transgressifs asymétriques, ainsi que sur leurs parents.

Les analyses des données recueillies après essais comparatifs ont mis en évidence la « mémoire » des expressions transgressives asymétriques et confirme l'homogénéité des variances de l'ensemble des descendance.

Hypothèse avancée

Ces derniers résultats sont de grande importance et infirment l'hypothèse de doubles mutations ou de sélection gamétique pour expliciter la stabilité des vitro-variants en autofécondation. Par le fait que les hybridations entre variants ou avec témoin n'ont jamais donné de ségrégation, on peut assurer que le génome nucléaire est resté homozygote et sans modifications. Les phénomènes de transgression observés ne peuvent donc pas être expliqués par des hypothèses d'hétérozygotie résiduelle.

Les transgressions asymétriques et les effets paternels fréquents observés dans ces expériences sont donc en faveur de modifications extrachromosomiques qui auraient une hérédité stabilisée. La multiplicité des réactions d'un parent dans les divers croisements évoque une multiplicité de mécanismes qui pourraient jouer simultanément. Parmi ceux-ci, on pourrait impliquer des rythmes oscillatoires héréditaires au niveau des populations de molécules ou d'organites, ou des interactions entre les ADN nucléaires et cytoplasmiques [123]... Et, par le fait de la transmissibilité par voie sexuée de ces mécanismes, ils ont été groupés par Sibi [98] sous le terme de « modifications épigéniques », c'est-à-dire des modifications qui concernent les structures biologiques ou des systèmes dynamiques, n'impliquant pas directement les gènes codants et ne donnant pas de ségrégations dans la descendance.

Conclusion

La régénération de plantes *in vitro*, après passage par cals, donne naissance à un large spectre de variations. Les nouveaux phénotypes observés sont depuis longtemps notre principal centre d'intérêt. « Vitro-variants » et « vitro-variations » sont donc proposés comme des termes ouverts pour qualifier ce phénomène. La possibilité d'une transmission génétique de ces nouveaux caractères est fonction du type de changement qui s'opère au sein d'une cellule destinée à régénérer, et de l'assise végétale concernée par cette modification chez la plante régénérée.

Seules les modifications liées à une mémorisation au niveau des caractéristiques génétiques et touchant le tissu sporogène de l'assise L₂ chez la plante régénérée exprimeront une hérédité par voie sexuée.

Dans chaque cas, une approche expérimentale systématique peut être mise en œuvre pour déterminer le compartiment cellulaire impliqué et le mode d'hérédité du nouveau phénotype : comptages chromosomiques des régénérants et de leurs descendants, puis analyses génétiques par autofécondation et croisements réciproques ; ceci peut être complété par l'étude des familles issues de l'autofécondation des hybrides réciproques.

Les conclusions tirées de ce type d'analyses effectuées chez la laitue et chez la tomate montrent que, outre les hypothèses classiques reposant sur des changements nucléaires (nombres chromosomiques modifiés ou apparition fréquente de mutations), des systèmes extrachromosomiques doivent être impliqués pour expliquer le comportement génétique des nouvelles caractéristiques apparues.

Ainsi, tant pour des critères qualitatifs que quantitatifs, une stabilité génétique s'exprime au travers des autofécondations successives.

Les descendance des croisements réciproques donnent des effets paternels fréquents et, dans un certain nombre de cas, des performances transgressives asymétriques qui se maintiennent chez les autofécondations.

De plus en plus de données biochimiques relatives aux comportements particuliers des plantes régénérées apparaissent dans la littérature. Mais ici les premières étapes, avant même les analyses biochimiques qui abordent les bases moléculaires de ces phénomènes, ont porté sur l'identification du compartiment cellulaire concerné par ces modifications. On peut d'ailleurs supposer que plusieurs systèmes peuvent être modifiés soit simultanément, soit par inter-relations en cascade.

Cet ensemble démontre qu'aussi bien des modifications de l'ADN codant du noyau que des modifications strictement cytoplasmiques constituent des hypothèses insuffisantes pour rendre compte des comportements exprimés après culture *in vitro*.

Le terme de « modifications épigénétiques » proposé implique donc des changements qui ne suivent ni les lois classiques mendéliennes ni même une hérédité cytoplasmique maternelle stricte.

Quoi qu'il en soit, tout cela laisse supposer qu'un système héréditaire qui passe au travers de la méiose et qui joue sur des régulations variées peut être modifié pendant la culture de tissus. Ce système peut être situé non seulement dans le cytoplasme, mais aussi dans des zones nucléaires extrachromosomiques ou même sur le chromosome dans les parties non codantes comme l'ADN répété non exprimé dont on ne connaît pour l'instant que peu de choses en ce qui concerne le rôle et la réplication.

Références

1. Ahloowalia BS. (1986). Limitations of the use of somaclonal variation in crop improvement. In : Semal J, ed. *CEC Symposium Somaclonal variation and crop improvement*. 1985, Gembloux, Belgique, pp. 14-27.
2. Benzion G, Phillips RL, Rines HW. (1986). Case histories of genetic variability *in vitro* : Oats and maize. In : Vasil IK, ed. *Cell culture and somatic cell genetics of plants. Vol 3, Plant regeneration and genetic variability*. Academic Press, London, pp. 435-448.
3. Bergounioux C. (1974). Déclenchement des phénomènes de régénération sur des pétales de *Petunia hybrida*. *Ann Amélior Plantes* ; 24 (1) : 55-62.
4. Bergounioux C, Perennes C, Miloux B. (1982). Analysis of the nucleoplasmic interactions in the phenomenon of heterosis. In : Earle ED, Demarly Y, eds. *Variability in plants regenerated from tissue culture. Proc. NSF-CNRS Congrès 1980 Orsay*. Praeger CBC, New York, pp. 331-342.
5. Binns A, Meins F. (1973). Evidence that habituation of tobacco pith cells for factors promoting cell division is heritable and potentially reversible. *Proc Natl Acad Sci USA* ; 70 : 2660-2662.
6. Bird AP, Taggart MH, Gehring CA. (1981). Methylated and unmethylated ribosome RNA genes in the mouse. *J Mol Biol* ; 152 : 1-17.
7. Birky CW Jr. (1983). Relaxed cellular controls and organelles heredity. *Science* ; 222 : 468-475.
8. Borst P, Greaves DR. (1987). Programmed gene rearrangements altering gene expression. *Science* ; 235 : 658-667.

9. Brettell RIS, Ingram DS. (1979). Tissue culture in the production of novel disease-resistant crop plants. *Biol Rev* ; 54 : 329-345.
10. Brettell RIS, Thomas E, Ingram DS. (1980). Reversion of Texas male-sterile cytoplasm maize in culture to give fertile, T-toxin resistant plants. *Theor Appl Genet* ; 58 : 55-58.
11. Brink RA, Styles ED, Axtell JD. (1968). Paramutation : directed genetic change. *Science* ; 159 : 159-161.
12. Buiatti M. (1977). DNA amplification and tissue culture. In : Reinert J, Bajaj YPS, eds. *Applied and Fundamental aspects of plant cell, tissue and organ culture*. Springer Verlag, Berlin, pp. 358-374.
13. Buiatti M, Marcheschi G, Tognoni F, Lipucci di Paola M, Collina Greci F, Martini G. (1985). Genetic variability induced by tissue culture in the tomato *Lycopersicon esculentum*. *Z Pflanzenzucht* ; 94 : 162-165.
14. Cameron JW, Soost R, Olson F. (1964). Chimera basis for color pink and red grapefruit. *J Heredity* ; 55 (1) : 23-28.
15. Carlson PS. (1973). Methionine-sulfoximine resistant mutants of tobacco. *Science* ; 180 : 1366-1368.
16. Carlson PS, Chaleff RS. (1974). Heterogeneous associations of cells formed *in vitro*. In : Ledoux L, ed. *Genetic Manipulations with Plant Materials*. Plenum Press, New York, pp. 245-261.
17. Chaleff RS. (1983). Selection for herbicide-resistant mutants. In : Evans DA, Sharp WR, Ammirato PV, eds. *Handbook of Plant Cell Culture. Vol 4, Techniques and Applications*. Macmillan, New York, pp. 133-148.
18. Chaleff RS. (1986). Isolation and characterization of mutant cell lines and plants : herbicide-resistant mutants. In : Vasil IK, ed. *Cell culture and somatic cell genetics of plants. Vol 3, Plant regeneration and genetic variability*. Academic Press, London, pp. 499-512.
19. Chen THH, Gusta LV. (1986). Isolation and characterisation of mutant cell lines and plants : cold tolerance. In : Vasil IK, ed. *Cell culture and somatic cell genetics of plants. Vol 3, Plant regeneration and genetic variability*. Academic Press, London, pp. 527-547.
20. Clare MV, Collin HA. (1974). Meristem culture of brussels sprouts. *Hort Res* ; 13 (2/3) : 111-118.
21. Clauhs RP, Grun P. (1977). Changes in plastid and mitochondrion content during maturation of generative cells of solanum (*Solanaceae*). *Amer J Bot* ; 64 (4) : 377-383.
22. Crocomo OJ, Ochoa-Alejo N. (1983). Herbicide tolerance in regenerated plants. In : Evans DA, Sharp WR, Ammirato PV, Yamada Y, eds. *Handbook of plant cell culture. Vol 1, Techniques for propagation and breeding*. Macmillan, New York, pp. 770-781.
23. D'Amato F. (1952). Polyploidy in the differentiation and function of tissues and cells in plants. A critical examination of literature. *Caryologia* ; 4 : 311-357.
24. D'Amato F. (1978). Chromosome number variation in cultured cells and regenerated plants. In : Thorpe TA, ed. *Frontiers of Plant Tissue Culture*. Intern Ass Plant Tissue Culture 197, Calgary ; pp. 287-295.
25. Demarly Y. (1972). Régulation et hétérosis. *Ann Amélior Pl* ; 22 : 143-166.
26. Demarly Y. (1974). Les effets cytoplasmiques et l'amélioration des plantes. *Le Sélectionneur Fr* ; 19 : 61-88.
27. Demarly Y. (1976). La notion de programme génétique chez les végétaux supérieurs. I. Aspects théoriques. *Ann Amélior Pl* ; 26 : 117-138.
28. Demarly Y. (1977). *Génétique et amélioration des plantes*. Coll. Sciences Agronomiques, Masson, Paris, 287 p.
29. Demarly Y. (1985). L'épigénétique. *Bull Soc Bot Fr ; Actual Bot* ; 132 (3/4) : 79-94.
30. Demarly Y. (1986). Experimental and theoretical approach of *in vitro* variations. In : Semal J, ed. *CEC Symposium Somaclonal variation and crop improvement*. 1985, Gembloux, Belgique, pp. 84-99.
31. De Mars R. (1974). Resistance of cultured human fibroblasts and other cells, to purine and pyrimidine analogues in relations to mutagenesis detection. *Mutation Res* ; 14 : 335-364.
32. Dermen H, Stewart RN. (1973). Ontogenic study of floral organs of peach utilizing cytochimera plants. *Amer J Bot* ; 60 (3) : 283-291.

33. Deshayes A. (1976). Effets de cycles successifs de néoformation de bourgeons *in vitro* sur l'aptitude à la variation somatique chez un mutant chlorophyllien de *Nicotiana tabacum* var *Samsun*. *Mutation Res* ; 35 : 331-246.
34. Dossou-Yovo S, Prioul JL, Demarly Y. (1982). Croissance et photosynthèse de phénovariants de riz. Effet de l'ombrage. *Agronomie* ; 2 : 493-502.
35. Durrant A. (1962). The environmental induction of heritable change in *Linum*. *Heredity* ; 17 : 27-61.
36. Evans DA, Sharp WR. (1983). Single gene mutations in tomato plants regenerated from tissue culture. *Science* ; 221 : 949-951.
37. Evans DA, Sharp WR, Medina-Filho HP. (1984). Somaclonal and gametoclonal variation. *Amer J Bot* ; 71 : 759-774.
38. Evans DA. (1986). Case histories of genetic variability *in vitro* : tomato. In : Vasil IK, ed. *Cell culture and somatic cell genetics of plants. Vol 3, Plant regeneration and genetic variability*. Academic Press, London, pp. 419-434.
39. Filner P. (1980). Possible origins of heritable variations in plant cell cultures. *J. Tissue Culture Assoc «In Vitro»* (abstr) ; (16) 3 : 232.
40. Frankel R, Scowcroft WR, Whitfield PR. (1979). Chloroplast DNA variation in isonuclear male-sterile lines of *Nicotiana*. *Molec Gen Genet* ; 169 : 129-135.
41. Gautheret RJ. (1954). Catalogue des cultures de tissus végétaux. *Rev Gen Bot* ; 61 : 672-702.
42. Gautheret RJ. (1959). *La culture des tissus végétaux*. Masson, Paris, 863 p.
43. Gautheret RJ. (1964). La culture des tissus végétaux : son histoire, ses tendances. *Rev Cytol Biol Vég* ; 27 : 99-220.
44. Gould AR. (1986). Factors controlling generation of variability *in vitro*. In : Vasil IK, ed. *Cell culture and somatic cell genetics of plants. Vol 3, Plant regeneration and genetic variability*. Academic Press, London, pp. 549-567.
45. Gray MW. (1982). Mitochondrial genome diversity and the evolution of mitochondrial DNA. *Can J Biochem* ; 60 : 157-171.
46. Griffing B. (1956). Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. *Aust J Biol Sci* ; 9 : 463-493.
47. Heinz DJ, Mee GWP. (1971). Morphologic, cytogenetic and enzymatic variation in *Saccharum* species hybrid clones derived from callus tissue. *Amer J Bot* ; 58 : 257-262.
48. Holliday R, Pugh JE. (1975). DNA modification mechanisms and gene activity during development. Developmental clocks may depend on the enzymatic modification of specific bases in repeated DNA sequences. *Science* ; 187 : 226-232.
49. Holliday R. (1987). The inheritance of epigenetic defects. *Science* ; 238 : 163-170.
50. Hugues KW. (1983). Selection for herbicide resistance. In : Evans DA, Sharp WR, Ammirato PV, Yamada Y, eds. *Handbook of plant cell culture. Vol 1, Techniques for propagation and breeding*. Macmillan, New York, pp. 442-460.
51. Karp A, Bright SWJ. (1985). On the causes and origins of somaclonal variation. *Oxford Surv Plant Mol Cell Biol* ; 2 : 199-234.
52. Kartha KK, Champoux S, Gamborg OL, Pahl J. (1977). *In vitro* propagation of Tomato by shoot apical meristem culture. *J Amer Soc Hort Sci* ; 102 (3) : 346-349.
53. Keyes GJ, Collins GB, Taylor NL. (1980). Genetic variation in tissue of red clover. *Theor Appl Genet* ; 58 : 265-271.
54. Kouadio YS. (1979). Analyse génétique de la variabilité observée dans une descendance de lignée pure de riz (*Oryza sativa* L, var Cigalon) traitée par androgenèse *in vitro*. Thèse Doc-Ing, Amélior Pl, Univ Paris-Sud, Orsay, 161 p.
55. De Langhe E, De Bruijne E. (1976). Continuous propagation of tomato plants by means of callus cultures. *Sci Hort* ; 4 : 221-227.
56. Lansman RA, Avise JC, Huettel MD. (1983). Critical experimental test of the possibility of «paternal leakage» of mitochondrial DNA. *Proc Natl Acad Sci USA* ; 80 : 1969-1971.
57. Larkin PJ, Scowcroft WR. (1981). Somaclonal variation — a novel source of variability from cell culture for plant improvement. *Theor Appl Genet* ; 60 : 197-214.

58. Lee M. (1984). Cytogenetic analysis and progeny evaluation of maize (*Zea mays* L) plants regenerated from organogenic callus cultures. MS Thesis, University of Minnesota, Minneapolis.
59. Lutz A. (1969). Etude des aptitudes morphogénétiques des cultures de tissus. Analyse par la méthode des clones d'origine unicellulaire. *Rev Gén Bot* ; 76 : 309-359.
60. Matzinger DF, Burk LG. (1984). Cytoplasmic modification by anther culture in *Nicotiana tabacum* L. *Heredity* ; 75 : 167-170.
61. McClintock B. (1956). Intracellular systems controlling gene action and mutation. *Brookhaven Symp Biol* ; 8 : 58.
62. McCoy TJ, Phillips RL. (1982). Chromosome stability in maize (*Zea mays* L) tissue culture and sectoring in some regenerated plants. *Can J Genet Cytol* ; 24 : 559-565.
63. Medina FJ, Risueño MC, Rodríguez-García MI. (1981). Evolution of the cytoplasmic organelles during female meiosis in *Pisum sativum* L. *Planta* ; 151 : 181-225.
64. Meins F, Binns A. (1977). Epigenetic variation of cultured somatic cells : Evidence for gradual changes in the requirement for factors promoting cell division. *Proc Natl Acad Sci* , USA ; 74 : 2928-2932.
65. Meins F, Lutz J. (1980). The induction of cytokinin habituation in primary pith explants of tobacco. *Planta* ; 149 : 402-407.
66. Meins F. (1983). Heritable variation in plant cell culture. *Annu Rev Plant Physiol* ; 34 : 327-346.
67. Mikoko-Nsika 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 Spéc, Amélior ; Univ Paris-Sud, Orsay, 118 p.
68. Mousseau J. (1970). Fluctuation induite par la néoformation de bourgeons *in vitro*. Colloque CNRS. Les cultures de tissus de plantes, 1969, Strasbourg, pp. 235-239.
69. Nagl W. (1972). Evidence of DNA amplification in the orchid *Cymbidium in vitro*. *Cytobiol* ; 5 : 145-154.
70. Nagl W, Hendon J, Rucker W. (1972). DNA amplification in *Cymbidium* protocorms *in vitro* as it relates to cytodifferentiation and hormone treatment. *Cell Diff* ; 1 : 229-237.
71. Nagylaki T, Petes TD. (1982). Intrachromosomal gene conversion and the maintenance of sequence homogeneity among repeated genes. *Genetics* ; 100 : 315-337.
72. De Nettancourt D, Devreux M. (1977). Incompatibility and *in vitro* cultures. In : Reinert J, Bajaj YPS, eds. *Applied and Fundamental aspects of plant cell, tissue and organ culture*. Springer Verlag, Berlin, pp. 426-464.
73. Nobécourt P. (1946). Productions de nature caulinare et foliaire sur des cultures de racines de carotte en milieu synthétique. *CR Soc Biol* ; 140 : 944-953.
74. Novák FJ, Maskova I. (1979). Apical shoot tip culture of tomato. *Scientia Horticulturae* ; 10 : 337-344.
75. Nuti Ronchi V. (1971). Amplificazione genica in cellule differenziate di cotiledoni di *Lactuca sativa in vitro*. *Atti Ass Genet Ital* ; 16 : 47-50.
76. Odjo JA. (1978). Analyse biométrique de niveaux de variations observées chez des plantes de riz (*Oryza sativa* L, var. Cigalon) obtenues par androgenèse *in vitro*. Thèse Doc-Ing, Amélior PI ; Univ Paris-Sud, Orsay, 123 p.
77. Ohta T. (1980). Two-locus problems in transmission genetics of mitochondria and chloroplasts. *Genetics* ; 96 : 543-555.
78. Orton TJ. (1984). Somaclonal variation : Theoretical and practical considerations. In : Gustafson JP, ed. *Gene Manipulation in Plant Improvement*. Plenum, New York, pp. 427-468.
79. Padmanabhan V, Paddock EF, Sharp WR. (1972). Plantlet formation from *Lycopersicon esculentum* leaf callus. *Amer J Bot* ; 52 : 1429-1432.
80. Péreau-Leroy P. (1974). Genetic interaction between tissues of carnation petals as periclinal chimeras. *Radiation Botany* ; 14 : 109-116.
81. Péreau-Leroy P. (1975). Recherches radiobiologiques sur des chimères d'œillet, *Dianthus caryophyllus* L. Thèse Doc ès Sci ; Univ Clermont-Ferrand, 169 p.
82. Picard E. (1984). Contribution à l'étude de l'hérédité et de l'utilisation en sélection de l'haploïdisation par androgenèse *in vitro* chez une céréale autogame : *Triticum aestivum* L. Thèse Doc ès Sci ; Univ Paris-Sud, Orsay, 292 p.

83. Preer JR Jr. (1971). Extrachromosomal inheritance : hereditary symbionts, mitochondria, chloroplasts. *Ann Rev Genet* ; 5 : 361-406.
84. Rains DW, Croughan SS, Croughan TP. (1986). Isolation and characterisation of mutant cell lines and plants : salt tolerance. In : Vasil IK, ed. *Cell culture and somatic cell genetics of plants. Vol 3, Plant regeneration and genetic variability*. Academic Press, London, pp. 537-547.
85. Reisch B, Bingham ET. (1979). *In vitro* selection of ethionine-resistant variants of diploid alfalfa. *Agronomy Abstr* ; p. 74.
86. Reisch B, Bingham ET. (1981). Plants from ethionine-resistant alfalfa tissue cultures : Variations in growth and morphological characteristics. *Crop Sci* ; 21 : 783-788.
87. Reisch B. (1983). Genetic variability in regenerated plants. In : Evans DA, Sharp NR, Ammirato PV, Yamada Y, eds. *Handbook of plant cell culture. Vol 1, Techniques for propagation and breeding*. Macmillan, New York, pp. 748-769.
88. Sacristan MD. (1986). Isolation and characterisation of mutant cell lines and plants : disease resistance. In : Vasil IK, ed. *Cell culture and somatic cell genetics of plants. Vol 3, Plant regeneration and genetic variability*. Academic Press, London, pp. 513-525.
89. Sagawa Y, Melquist GAL. (1957). The mechanism responsible for some X-ray induced changes in flower color of the carnation, *Dianthus caryophyllus*. *Amer J Bot* ; 44 : 397-403.
90. Sager R, Grabowy C. (1983). Differential methylation of chloroplast DNA regulates maternal inheritance in a methylated mutant of *Chlamydomonas*. *Proc Natl Acad Sci USA* ; 80 : 3025-3029.
91. San-Noeum LH, Ahmadi N. (1982). Variability of doubled haploids from *in vitro* androgenesis and gynogenesis in *Hordeum vulgare*. In : Earle ED, Demarly Y, eds. *Variability in plants regenerated from tissue culture*. Proc NSF-CNRS, Congrès 1980, Orsay. Praeger CBC, New York, pp. 273-283.
92. Satina S, Blakeslee AF, Avery AG. (1940). Demonstration of the three germ layers in the shoot apex of *Datura* by means of induced polyploidy in periclinal chimeras. *Amer J Bot* ; 27 : 895-905.
93. Schaeffer GW. (1982). Recovery of heritable variability in anther-derived doubled haploid rice. *Crop Sci* ; 22 : 1160-1164.
94. Schaeffer GW, Sharp FT Jr, Cregan PB. (1984). Variation for improved protein and yield from rice anther culture. *Theor Appl Genet* ; 67 : 383-389.
95. Schimke RT, Kaufman RJ, Alt FW, Fellems R. (1978). Gene amplification and drug resistance in cultured murine cells. *Science* ; 202 : 1051-1055.
96. Sibi M. (1971). Création de variabilité par culture de tissus *in vitro* chez *Lactuca sativa*. DEA Amélior Pl; Univ Paris-Sud, Orsay.
97. Sibi M. (1974). Création de variabilité par culture de tissus *in vitro* chez *Lactuca sativa*. Thèse spéc Amélior Pl ; Univ Paris-Sud, Orsay, 142 p.
98. Sibi M. (1976). La notion de programme génétique chez les végétaux supérieurs. II. Aspect expérimental : obtention de variants par culture de tissus *in vitro* sur *Lactuca sativa* L., apparition de vigueur chez les croisements. *Ann Amélior Pl* ; 26 (4) : 523-547.
99. Sibi M. (1978). Multiplication conforme, non conforme. *Le Sélectionneur Fr* ; 26 : 9-18.
100. 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, pp. 339-340.
101. Sibi M. (1980). Variants épigéniques et cultures *in vitro* chez *Lycopersicon esculentum* L. In : *Application de la culture in vitro à l'amélioration des Plantes Potagères*. CR Eucarpia CNRA 1980, Versailles, pp. 179-185.
102. Sibi M. (1981). Hérité de variants épigéniques obtenus par culture de tissus *in vitro* chez les végétaux supérieurs. Thèse Doct ès Sci ; Univ Paris-Sud, Orsay, 280 p.
103. Sibi M. (1982). Heritable epigenic variation from *in vitro* tissue culture of *Lycopersicon esculentum* (var. Monalbo). In : Earle ED, Demarly Y, eds. *Variability in plants regenerated from tissue culture*. Proc NSF-CNRS, Congrès 1980, Orsay. Praeger CBC. New York, pp. 228-244.

104. Sibi M, Biglary, Demarly Y. (1984). Increase in the rate of recombinants in tomato (*Lycopersicon esculentum*) after *in vitro* regeneration. *Theor Appl Genet* ; 68 : 317-321.
105. Sibi M. (1986). Non-mendelian heredity. Genetic analysis of variant plants regenerated from *in vitro* culture : Epigenetics and Epigenics. In : Semal J, ed. *CEC Symposium Somaclonal variation and crop improvement*. 1985, Gembloux, Belgique, pp. 53-83.
106. Siminovitch L. (1976). On the nature of heritable variation in cultured somatic cells. *Cell* ; 7 : 1-11.
107. Skirvin RM, Janick J. (1976). Tissue culture-induced variation in scented *Pelargonium* spp. *J Amer Soc Hortic Sci* ; 101 : 281-290.
108. Skirvin RM. (1977). Separation of the phenotypes in a periclinal chimera. *J College Science Teaching* ; 7 : 33-35.
109. Skirvin RM, Carlson CL, Gorske S. (1982). Natural and tissue cultured-induced variation in *Portulaca* hybrid. In : Earle ED, Demarly Y, eds. *Variability in plants regenerated from tissue culture*. Proc NSF-CNRS, Congrès 1980, Orsay. Praeger CBC, New York, pp. 245-267.
110. Skokut TA, Filner P. (1980). Slow adaptative changes in urease levels of tobacco cells cultured on urea and other nitrogen sources. *Pl Physiol* ; 65 : 995-1003.
111. Springer WD, Green CE, Kohn, KA. (1979). A histological examination of tissue cultures initiated from immature embryos of maize. *Protoplasma* ; 101 : 269-281.
112. Sree Ramulu K, Devreux M, Ancora G, Laneri U. (1976 a). Chimerism in *Lycopersicum peruvianum* plants regenerated from *in vitro* cultures of anthers and stem internodes. *Z Pflanzenzüchtg* ; 76 : 299-319.
113. Sree Ramulu K, Devreux M, De Martinis P. (1976 b). Origin and genetic analysis of plants regenerated *in vitro* from periclinal chimeras of *Lycopersicum peruvianum*. *Z Pflanzenzüchtg* ; 77 : 116-124.
114. Sree Ramulu K. (1980). Failure of EMS to induce S-locus mutations in *Nicotiana alata* Link and Otto. *Environ Expt Bot* ; 20 : 149-155.
115. Sree Ramulu K. (1982). Genetic instability at the S-locus of *Lycopersicon peruvianum* plants regenerated from *in vitro* culture of anthers : generation of new S-specificities and S-allele reversions. *Heredity* ; 49 : 319-330.
116. Sugawara N, Szostak JW. (1983). Recombination between sequences in nonhomologous position. *Proc Natl Acad Sci USA* ; 80 : 5675-5679.
117. Tal M. (1983). Selection for stress tolerance. In : Evans DA, Sharp NR, Ammirato PV, Yamada Y, eds. *Handbook of plant cell culture. Vol 1, Techniques for propagation and breeding*. Macmillan, New York, pp. 461-488.
118. Tartof KD. (1973). Unequal mitotic sister chromatid exchange and disproportionate replication as mechanisms regulating ribosomal RNA-gene redundancy. Cold Spring Harbor Symp, *Quant Biol* ; 38 : 491-500.
119. Tilney-Basset RAE, Birky CW Jr. (1981). The mechanism of mixed inheritance of chloroplast genes in *Pelargonium* : Evidence from gene frequency distributions among the progeny of crosses. *Theor Appl Genet* ; 60 : 43-53.
120. Tilney-Basset RAE, Abdel-Wahab OAL. (1982). Irregular segregation at the *Pr* locus controlling plastid inheritance in *Pelargonium* : gametophytic lethal of incompatibility system ? *Theor Appl Genet* ; 62 : 185-191.
121. Truong I. (1977). Variabilité des plantes issues de l'androgenèse *in vitro* ; tentatives d'application directe en sélection par cette variabilité et de la mutagenèse par voie haploïde chez le riz, *Oryza sativa*. Thèse spéc Amélior PI ; Univ Paris-Sud, Orsay, 188 p.
122. Wakasa R. (1982). Application of tissue culture to plant breeding. Method improvement and mutant production . *Bull Nat Inst Agric Sci* ; D 33 : 121-200.
123. Whisson DL, Scott S. (1985). Nuclear and mitochondrial DNA have sequence homology with a chloroplast gene. *Plant Molec Biol* ; 4 : 267-273.
124. Yamada Y, Sato F. (1983). Selection for photoautotrophic cells. In : Evans DA, Sharp NR, Ammirato PV, Yamada Y, eds. *Handbook of plant cell culture. Vol 1, Techniques for propagation and breeding*. Macmillan, New York, pp. 489-500.

6

Culture *in vitro* et amélioration des plantes vivrières tropicales

C. TEISSON

CIRAD, Centre de recherches de Montpellier, BP 5035, 34032 Montpellier Cedex, France

La culture *in vitro* appliquée à l'amélioration des plantes est déjà devenue un outil indispensable à plusieurs secteurs de l'agriculture des zones tempérées.

Son utilisation au profit de l'agriculture des régions chaudes prend de plus en plus d'importance. Elle sera illustrée par quelques exemples prélevés en grande partie, mais non exclusivement, dans le cadre de l'activité du CIRAD (Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement), organisme scientifique spécialisé dans l'agriculture des régions chaudes qui agit dans le cadre d'accords de coopération avec plus de cinquante pays.

Parmi les plantes qui seront mentionnées, certaines — citrus, bananes ou palmiers à huile — n'ont pas toujours auprès du grand public une image de culture vivrière. C'est oublier que 75% de la production de bananes ou d'huile de palme ne font pas l'objet d'un commerce international, mais sont consommés localement.

La culture *in vitro* des végétaux intervient très classiquement à deux niveaux : la diffusion et la création de matériel végétal amélioré.

Parce qu'il peut avoir des impacts immédiats sur les systèmes agronomiques existants, le premier de ces thèmes — la diffusion de matériel végétal — est celui qui se développe le plus rapidement.

Il répond à trois objectifs majeurs :

- l'amélioration des conditions sanitaires ;
- l'accroissement du taux de multiplication ;
- la propagation végétative d'espèces qui ne présentent pas cette capacité en conditions classiques.

L'amélioration des conditions sanitaires par la culture *in vitro* est très souvent associée à l'éradication des viroses. Celle-ci est effective, par exemple, par microgreffage d'apex sur les agrumes et il s'est établi à partir de plusieurs centres reconnus par l'IBPGR un réseau de diffusion, au niveau mondial, de matériel sain.

Des problèmes importants de même origine se posent pour le manioc, la patate douce, l'igname et le taro qui sont au niveau mondial les deuxième, troisième et quatrième fournisseurs de tubercules alimentaires. L'éradication des viroses sur ces espèces n'a fait, pour l'instant, que l'objet d'études préliminaires. Elles devraient être renforcées, car la lenteur de l'évolution pathologique liée au virus et le caractère saisonnier des cultures permet d'envisager une amélioration considérable de la productivité par la diffusion régulière de matériel sain.

Les virus, cependant, ne sont pas les seuls pathogènes pour lesquels la culture *in vitro* peut apporter une amélioration. Ainsi, les plantains, bananiers dont les fruits restent amylacés à maturité et qui représentent dans de nombreux pays une part importante de l'alimentation, subissent les attaques de deux parasites telluriques : les charançons et surtout les nématodes. Ceux-ci sont inféodés à l'espèce *Musa* et sont donc absents des sols de déforestation sur lesquels les plantains sont généralement cultivés. La plantation avec du matériel végétal classique, rejets ou souches, entraîne la dissémination de ces parasites. C'est ce qui s'est produit, par exemple, dans plusieurs pays lors d'opérations de distribution aux agriculteurs de variétés améliorées. La diffusion de matériel issu de culture *in vitro* permet alors de fournir du matériel sain et d'éviter ou de retarder fortement tout recours à des pesticides.

A ce chapitre concernant l'amélioration de l'état sanitaire on peut évidemment rattacher tout ce qui a trait aux échanges internationaux de génotypes avec des garanties phytosanitaires accrues par rapport aux techniques classiques. L'igname, la canne à sucre, l'ananas, la banane, les agrumes, le palmier à huile ont fait l'objet de tels échanges dans le cadre d'accords bilatéraux ou internationaux.

Le deuxième objectif des techniques de diffusion par la culture *in vitro* concerne l'accroissement du taux de multiplication d'espèces qui peuvent se reproduire végétativement par des techniques horticoles. Dans ce cadre, on peut citer l'établissement à partir d'un effectif très réduit de populations suffisantes pour engager une multiplication efficace par une technique horticole classique. Ce procédé a été utilisé pour des variétés particulières d'igname ou de canne à sucre et le sera dans un avenir proche, après leur création dans le cadre d'un programme de génétique classique, pour des variétés d'ananas mieux adaptées aux conditions équatoriales ou, au contraire, soudanaises.

Le palmier dattier, dont il est inutile de rappeler l'importance capitale pour l'agriculture saharienne, ne produit de rejets qu'en nombre relativement limité pendant ses phases de jeunesse. Ce faible taux de multiplication est un inconvénient majeur face en particulier au bayoud, une fusariose qui a ravagé les palmeraies du Maroc et de l'Ouest algérien. Des variétés tolérantes existent, la culture *in vitro* pourrait résoudre le problème de leur diffusion. Des succès dans ce domaine ont été acquis depuis plusieurs années. Ils ne sont pour l'instant que partiels et les plants produits n'ont pas toujours un développement harmonieux. Plus récemment, des résultats très prometteurs ont été obtenus par la voie de l'embryogenèse somatique.

A ce chapitre également, on peut rattacher les problèmes de diffusion de variétés d'espèces forestières, Casuarina, Acacia, sélectionnées pour l'efficacité de leurs symbioses avec des mycorhizes fixatrices d'azote.

Le troisième objectif de la diffusion par culture *in vitro* concerne le clonage des espèces qui ne se reproduisent habituellement pas par voie végétative.

L'exemple le plus important concerne le palmier à huile. Cette palmarcée ne produit aucun rejet ; elle est exploitée sous la forme de populations d'hybrides créées pour leur bonne qualité agronomique moyenne, mais qui présentent une certaine hétérogénéité. La multiplication des individus d'élite permettrait une augmentation de rendement de l'ordre

de 30%. Elle est possible par l'embryogenèse somatique à partir d'organes foliaires jeunes d'individus adultes. La multiplication des embryoides assure la production de masse ; 90% des arbres testés, soit près de 400 génotypes, répondent aux techniques actuelles.

Parmi les espèces tropicales, c'est pour le palmier à huile que l'utilisation de la culture *in vitro* a connu le développement le plus ancien et le plus important. Plusieurs laboratoires de production industrielle existent dans le monde, dont une en Côte d'Ivoire.

Le cocotier pose des problèmes voisins de ceux du palmier à huile et les premiers succès sur l'embryogenèse somatique ont été récemment enregistrés.

A cet objectif on peut également rattacher les projets de diffusion d'hybrides non fixés de céréales par embryogenèse somatique. Un important programme existe actuellement pour la création de graines artificielles de riz hybrides.

Le deuxième thème d'intérêt de la culture *in vitro* a trait à l'amélioration variétale. Ce thème, actuellement moins développé que le précédent du fait de la plus grande complexité des mécanismes mis en jeu, est appelé à jouer un rôle déterminant à l'avenir et à déboucher, par exemple, sur les manipulations de génie génétique.

La culture *in vitro* peut intervenir dans l'amélioration génétique soit en apportant un appui aux méthodes classiques, soit en créant directement de la variabilité génétique.

L'exemple le plus développé de l'appui aux méthodes classiques concerne la création d'homozygotes par doublement d'haploïdes obtenus par gynogenèse ou plus fréquemment par androgenèse.

Le cas du riz pluvial est le plus avancé, la maîtrise de l'androgenèse permet déjà de cribler régulièrement, sur des croisements proposés par les sélectionneurs, ceux qui répondent le mieux à cette technique et de créer ainsi chaque année plusieurs centaines d'homozygotes.

Un programme analogue a débuté sur le sorgho, la cinquième céréale mondiale, pour lequel les programmes d'amélioration peuvent être reconsidérés au vu des acquis récents sur l'organisation de l'espèce et les problèmes d'auto- ou d'allogamie.

L'appui aux méthodes classiques d'hybridation peut également concerner la culture d'embryons immatures, en particulier pour le sauvetage des produits de croisements interspécifiques. Une action de ce type a été entreprise sur croisements *Musa acuminata*, *Musa balbisiana* dans le cadre de l'amélioration des bananiers plantains.

La culture *in vitro* peut également être une source directe de création de variabilité lorsque des problèmes génomiques ou biologiques empêchent le recours aux techniques classiques.

Ce volet concerne la recherche de variants, avec si possible des pressions de sélection précoce, la culture de cellules isolées et surtout la culture et la fusion de protoplastes et, de là, toutes les manipulations de génie génétique. Ces programmes concernent l'igname, la canne à sucre et surtout les plantains. La triploidie de ces derniers rend impossible l'amélioration par hybridation, alors que ces plantes sont l'objet de nouvelles agressions parasitaires — le cercospora noir — qui menacent au niveau mondial leur culture, au moins sous sa forme actuelle.

Les plantes citées sont malheureusement toutes des monocotylédones pour lesquelles, à part quelques exceptions récentes, la technique des protoplastes est mal maîtrisée.

Comme l'agriculture des zones tempérées, l'agriculture des régions chaudes peut profiter très largement des possibilités offertes par la culture *in vitro*. A l'heure actuelle, les applications à grande échelle sont effectives en premier lieu pour le palmier à huile, mais aussi pour les bananiers et plantains.

L'agriculture des régions chaudes est bien souvent réalisée dans un contexte économique qui autorise peu d'intrants. La culture *in vitro* a-t-elle une place réelle dans ce

cadre ? Nous pensons que oui, même si cela ne concerne évidemment pas toutes les espèces et toutes les situations économiques.

La plus-value apportée par ces techniques couvre largement le coût supplémentaire du matériel végétal, soit par une augmentation de rendement, cas du palmier à huile, soit par un affranchissement vis-à-vis de l'utilisation et de l'importation des pesticides, cas du plantain. Face à des pressions parasitaires croissantes, la culture *in vitro* est également, à long terme, la meilleure réponse et la plus écologique pour maintenir ou accroître les niveaux de production actuels.

L'inévitable concentration des circuits de diffusion de matériel végétal qui accompagne l'utilisation des vitroplants devrait permettre aux autorités locales de mieux encadrer la production : variétés et époque de production.

Par ailleurs, les investissements matériels nécessaires à l'établissement d'ateliers de production industrielle sont bien plus légers que pour des industries agricoles classiques. Comme par ailleurs les investissements humains — formation de chercheurs et de techniciens — sont déjà largement engagés, on peut prévoir et espérer pour les années à venir un développement d'unités de production *in vitro* dans les pays tropicaux.

Entre ces unités et la recherche, les liens doivent demeurer très étroits. D'une part, les recherches *in vitro* évoluent actuellement très vite dans le sens d'une diminution des coûts et de la fourniture de matériel de plus en plus vigoureux. D'autre part, la multiplication *in vitro* pour être parfaitement exploitée doit s'accompagner de changements importants au niveau des techniques culturales et même, comme dans le cas du palmier à huile, au niveau des schémas de sélection. Ces changements doivent être encore étudiés ainsi que les problèmes de conformité.

De nombreux pays sont conscients, depuis plusieurs années, de l'importance pour leur avenir des possibilités offertes par la culture *in vitro*. Plusieurs laboratoires de recherche ont été créés. On peut malheureusement regretter souvent le manque d'envergure de ces laboratoires, le manque de liaisons entre eux et leur participation au niveau international à des circuits scientifiques différents. Une évolution paraît souhaitable pour mieux promouvoir la culture *in vitro* au service de l'agronomie tropicale : liaisons étroites, création de laboratoires centraux, etc. Il faudrait s'efforcer, dans cette évolution, de ne jamais couper la culture *in vitro* de la recherche agronomique, car connaissances génétiques et botaniques des espèces en amont et connaissances des problèmes agricoles en aval forment avec le laboratoire de culture *in vitro*, une chaîne qui doit être ininterrompue.

7

Test précoce de productivité chez le palmier à huile

B. KOUAME

Station principale de la Me. BP 13, Bingerville, Côte d'Ivoire

Introduction

Le palmier à huile *Elaies guineensis* Jacq est une plante pérenne, allogame et monoïque ; c'est une monocotylédone appartenant à la famille des Palmacées. D'origine strictement africaine, sa culture s'est développée dans toutes les zones tropicales humides, à 15 degrés de part et d'autre de l'équateur.

Sa culture est faite essentiellement pour la production d'huile, qui est de 7,6 millions de tonnes pour environ 2,5 millions d'hectares, et accessoirement de sous-produits. De par sa double composition en acides gras saturé et insaturé, l'huile de palme trouve son principal débouché dans l'alimentation. L'amélioration du palmier constitue un des soins majeurs des recherches. La progression des productions ne continue que grâce aux nouvelles voies d'approche génétique et aux nouvelles techniques sophistiquées, culture *in vitro* d'une part, test mitochondrial d'autre part. L'objectif est de créer des palmiers ayant une production exceptionnelle.

Aperçu sur la sélection du palmier à huile

La sélection du palmier repose sur l'existence de cinq origines géographiques différentes. Des brassages entre les individus de ces origines aboutissent à l'obtention de croisements et à l'expression d'un fort accroissement de la productivité par hectare.

On distingue les origines : Indonésie-Malaisie, Angola, Zaïre, Côte d'Ivoire, Nigeria.

Deux étapes furent particulièrement importantes dans la poursuite de l'amélioration du palmier à huile, étapes qui sont importantes à rappeler :

1. Il a été mis en évidence, en 1941, l'hérédité monofactorielle de l'épaisseur de la coque du fruit. Ainsi, il existe trois types de palmiers :

- le palmier de type *Dura* à coque épaisse et homozygote AA,
- le palmier de type *Pisifera* sans coque et homozygote aa,
- le palmier de type *Tenera* à coque mince et hétérozygote Aa.

Le croisement $D \times P = 100\% \text{ Tenera}$.

2. Une expérience internationale fut organisée par l'IRHO en 1946. Il y eut cinq participants : l'INEAC (Yagambi, Zaïre), la SOCFIN (Malaisie) et trois stations de l'IRHO : la Me (Côte d'Ivoire), Pobe (Bénin) et Sibiti (Congo).

Les participants choisirent leurs dix meilleurs arbres et firent des croisements intra-origines. Simultanément des pollens de ces arbres étaient envoyés aux autres stations pour effectuer des croisements intra-origines. Cette expérience a permis d'avoir les résultats suivants :

- différence importante entre palmiers d'origine différente par les caractéristiques végétatives, la production de régime, les composantes de la production, le taux d'huile dans la pulpe ;
- les croisements entre populations non apparentées manifestent des productions nettement supérieures à celles des croisements intra-origines ;
- de plus, cette expérience a permis de classer les origines en deux groupes principaux et de mettre en évidence l'intérêt des croisements entre origines génétiques différentes.

S'appuyant sur ces résultats, il a été adapté au palmier à huile, le principe de sélection récurrente réciproque. Celui-ci consiste, à partir d'une population de départ à variabilité génétique large, à procéder à une succession de cycles de sélection comprenant chacun une phase de choix des meilleurs individus et une phase de brassage génétique où ils sont intercroisés.

Le principe appliqué au palmier à huile consiste à croiser des individus de deux origines différentes et à composantes de rendement complémentaires ou les plus diversifiées possibles.

On distingue le groupe A (*Dura*), comprenant les origines à petits nombres de gros régimes *PNGR*, et le groupe B (*Tenera* et *Pisifera*), comprenant les origines à grands nombres de petits régimes *GNPR*.

Le schéma de sélection récurrente réciproque résulte d'un certain nombre de compromis :

- le désir de réaliser un progrès génétique important et rapide,
- la nécessité de prendre en compte l'aptitude à la combinaison et de limiter la consanguinité,
- les contraintes inhérentes à la pérennité et à l'encombrement de la plante.

La sélection se fait avec les objectifs suivants :

- production élevée de régimes et d'huile,
- vitesse de croissance en hauteur faible,
- qualité de l'huile,
- tolérance à certaines maladies.

Le schéma de sélection met enfin l'accent sur deux points : la complémentarité des composantes et le degré de parenté entre les origines de chaque groupe. La sélection du palmier à huile exige de plus des tests de descendance en essai comparatif au champ.

Orientation de la sélection

Le test d'une descendance exige un demi-hectare de plantation et 7 années d'observations des caractéristiques de la production de 70 arbres / 1/2 ha (plantation année 0 ; production à partir de l'année 3, fin des observations à 10 ans).

Il faut théoriquement 20 ans pour un cycle de sélection chez le palmier à huile : 10 ans pour réaliser les essais comparatifs, puis 10 ans pour faire les recombinaisons et choisir les arbres qui seront utilisés au cycle suivant.

Mais, comme tous les essais ne peuvent pas être plantés en même temps, un cycle de SRR nécessite au moins 25 ans.

Le premier cycle de sélection récurrente réciproque, mis en place à partir de 1960, a nécessité la plantation de 500 ha d'hybrides des populations parentales, dont près de 400 ha d'essais comparatifs, et l'observation de 70 000 arbres correspondant à environ 446 croisements.

C'est donc réellement une expérimentation importante et coûteuse qui a été mise en place tant par les moyens mis en œuvre que par le matériel végétal testé, dont une faible partie sera finalement retenue. Ainsi, dans le cadre du premier cycle de sélection, 27 croisements seulement sur les 446 observés ont été retenus à la Me, soit 6%, ce qui est faible en regard de 20 ans d'observations et d'études.

C'est pourquoi la recherche de tests précoces pour déceler, à un stade jeune (graines, plantules, plants), la valeur d'un croisement présente un intérêt tout particulier pour le palmier à huile étant donné la longueur des générations et l'importance (en nombre de croisements) des tests hybrides dans les programmes. On peut penser qu'une nouvelle technique permettant d'évaluer économiquement la vigueur hybride représenterait un progrès certain en amélioration et augmenterait sensiblement l'efficacité de la sélection.

Cette vigueur hybride peut être évaluée de différentes manières par la mesure des activités enzymatiques et des vitesses de croissance : on peut apprécier les structures protéiques par électrophorèse ou mesurer le métabolisme photosynthétique et énergétique.

Nous avons choisi d'étudier un aspect de la régulation du métabolisme énergétique en supposant que les structures protéiques ou enzymatiques codées par les informations nucléaires et mitochondriales sont plus complexes chez l'hybride du fait de son état hétérozygote que chez les parents plus ou moins homozygotes.

L'étude biochimique de l'hétérosis mitochondriale chez le palmier à huile a donc été entreprise dans le but de trouver une relation entre le métabolisme mitochondrial et la vigueur hybride manifestée au champ, de mettre au point un test précoce s'intégrant parfaitement dans un programme d'amélioration et de voir dans quelle mesure ce test peut augmenter l'efficacité de la sélection.

Les mitochondries comme support expérimental

Les mitochondries sont les principaux sites de conversion d'énergie dans la cellule des eucaryotes ; elles jouent un rôle métabolique et physiologique vital pendant la croissance et le développement des plantes.

La plupart, sinon tous les changements importants qui se produisent pendant la croissance et la différenciation des végétaux supérieurs, sont associés à, ou dépendent des, modifications importantes dans le nombre, la structure et l'activité des chloroplastes ou des mitochondries.

Bien que les mitochondries contiennent leur propre ADN spécifique, la biogenèse d'un organe fonctionnel requiert l'expression coordonnée à la fois du génome nucléaire et de celui de l'organe.

Malgré son contenu en information génétique potentiellement vaste et le rôle crucial qu'il joue dans la biogenèse et la fonction des mitochondries, le génome mitochondrial a été négligé comme source de diversité génétique. La caractérisation et l'augmentation de cette diversité ont un intérêt potentiel non négligeable pour le sélectionneur qui recherche des hybrides d'un rendement supérieur, résistant aux maladies ou capables de se développer dans diverses conditions climatiques. Elles s'accompagnent en outre d'une meilleure appréciation de la base moléculaire et de l'expression phénotypique de la variation transmise par hérédité cytoplasmique qui a ses origines dans l'ADN mitochondrial.

La productivité plus élevée des hybrides du fait de leur activité métabolique énergétique intense pourrait être due aux interactions nucléo-cytoplasmiques particulièrement favorables. Ce qui implique une variabilité génétique importante tant mitochondriale que nucléaire. Cet aspect n'a néanmoins pas encore été abordé chez le palmier à huile, mais constitue certainement un sujet d'avenir.

La notion d'hétérosis

Le concept d'hétérosis et son expression ont été décrits par plusieurs auteurs. Des hypothèses explicatives de l'hétérosis ont été émises : génétiques, physiologiques. Les différentes manifestations de l'hétérosis tant génétiques que physiologiques et autres formes ont été exposées par ailleurs.

L'hétérosis mitochondrial a été également analysé. Cet hétérosis est un phénomène complexe qui se manifeste à tous les niveaux des organismes suivants. Malgré cette complexité, l'hétérosis peut être mis en évidence au moyen de plusieurs méthodes (biométrique, physiologique, biochimique) utilisant comme support expérimental des organites cellulaires et des structures moléculaires. Il peut être considéré comme un outil de sélection.

Ces approches nous ont permis de cerner notre hypothèse de travail relative à l'hétérosis mitochondrial. Cette hypothèse considère que les structures protéiques ou enzymatiques codées par les gènes mitochondriaux ou nucléaires sont plus complexes chez les hybrides de palmier à huile que chez leurs parents.

L'hétérosis au niveau mitochondrial

Plusieurs questions sont posées à propos de l'existence de l'hétérosis mitochondrial.

— A quel stade de développement et de croissance de la plante l'hétérosis au niveau respiratoire ou au niveau des activités mitochondriales peut-il être montré ? Où se manifeste-t-il réellement ?

— Quelle est la véritable relation entre l'hétérosis en champ, la respiration et l'activité mitochondriale ?

— Les mitochondries isolées des hybrides ont-elles des activités spécifiques différentes de celles des parents ?

— Si le contact physique entre mitochondries d'origines parentales différentes traduit une activité élevée, est-il nécessaire que l'hybride mitochondrial soit formé ?

— Si les mitochondries se multiplient à partir d'une source préexistante sous le contrôle nucléaire ou sous le contrôle de leur propre gène, est-ce que les mitochondries maternelles et paternelles ont des vitesses de multiplication différentes ?

— Est-ce que la souche maternelle produit plus de mitochondries, ou la proportion de mitochondries maternelles et paternelles est-elle la même chez l'hybride ?

Définition de l'hétérosis au niveau mitochondrial

Les questions précédentes constituent le support de notre hypothèse de travail.

A savoir : les structures protéiques ou alléliques mitochondriales sont plus complexes chez les hybrides de palmier que chez les parents.

Définition de l'hétérosis

— Supériorité des paramètres caractérisant les activités mitochondriales des hybrides comparés à la moyenne des parents ou au meilleur parent.

— Les mitochondries des hybrides présentent des activités enzymatiques supérieures à celle des parents.

— Les hybrides ont un polymorphisme enzymatique plus marqué que chez les parents.

Expression de l'hétérosis

L'hétérosis : dans un croisement de races, la valeur moyenne des descendance est supérieure à la valeur moyenne des races que l'on croise.

$$AB > \frac{A + B}{2}$$

La relation entre la moyenne des distribution phénotypique de 2 lignées pures P_1 et P_2 et de leur hybride F_1 peut être définie par 3 composantes : m, d et F.

$$P_1 = m + (d)$$

$$P_2 = m - (d) \text{ avec } P_1 > P_2$$

$$F_1 = m + h$$

où

$$m = 1/2 (P_1 + P_2) \quad m = \text{moyenne des distributions phénotypiques ou des lignées en absence d'interaction}$$

$$d = 1/2 (P_1 - P_2) \quad d = \text{constitue l'additivité}$$

$$h = F - m \quad h = \text{la dominance}$$

$$F - d \text{ ou } (h - d) \quad = \text{mesure l'hétérosis.}$$

Dispositif expérimental préliminaire

La mesure des activités mitochondriales n'a été possible que par des études préliminaires. On a pu définir les modes de prélèvement des échantillons et le nombre de répétitions nécessaires. On a également étudié les dispositifs expérimentaux et statistiques nous permettant une exploitation rationnelle des résultats ultérieurs. La précision des paramètres mitochondriaux a été appréciée et le nombre de cycles de phosphorylation par enregistrement a été fixé.

Tableau Ia. Comparaison des rapports ADP/O (indice de phosphorylation) de mitochondries isolées d'organes des hybrides et de leurs parents. Mise en évidence de l'hétérosis mitochondrial.

Hybrides La Me x Deli et Parents AF	Germe		Racine	
	ADP/O	% Hétérosis	ADP/O	% Hétérosis
L 7 T x D 128 D	1,85	116	2,4	148
L 7 T	1,49		1,7	
D 128 D	1,7		1,59	
L 7 T x D 6 D	1,82	122	1,74	102
L 7 T	1,49		1,7	
L 451 T x L 644 D	1,68	92	—	—
L 451 T	—			
L 644 D	1,83			
L 416 D x L 506 P	1,75	150	—	—
L 416 D	1,16			
L 452 T x L 414 D	—	—	1,71	113
L 452 T	—	—	1,51	
L 414 D			1,51	
L 9 T x D 8 D	—	—	1,54	112
L 9 T	—	—	1,37	
D 8 D	—	—	1,45	
Moyenne des hybrides c.v.	1,78 ± 0,11 4,28	116	1,85 ± 0,60 20	122
Moyenne des Parents c.v.	1,54 ± 0,46 18,92		1,52 ± 0,12 7,49	

Pour comparer valablement plusieurs croisements à l'aide des activités de mitochondries de racines ou d'inflorescences, il est judicieux et indispensable d'avoir le même stade de développement : même âge pour les apex radiculaires, même stade physiologique pour les inflorescences, car les activités mitochondriales varient avec l'état physiologique du matériel végétal.

Résultats obtenus

Les résultats obtenus portaient, d'une part, sur la mise en évidence de l'hétérosis mitochondrial, sur la parallèle entre paramètres mitochondriaux et caractères agronomiques chez les hybrides et, d'autre part, sur la recherche de test mitochondrial de tri précoce.

L'ensemble des résultats montre que :

— les activités mitochondriales (RC, QO_2 , protéine) et en particulier l'ADP/O des hybrides sont supérieures à celles des mitochondries des parents dans la plupart des cas, démontrant par là l'hétérosis mitochondrial (Tableaux Ia et Ib) ;

Test précoce de productivité chez le palmier à huile

Tableau Ib.

Hybrides Vangambi x Deli et Parents AF	Germe		Racine	
	ADP/O	% Hétérosis	ADP/O	% Hétérosis
L 238 T x L 270 D	1,54	101	2,18	156
L 238 T	1,77		1,21	
L 270 D	1,88		1,5	
L 426 T x L 564 D	1,87	136		
L 426 T	1,37		—	—
L 426 T x L 644 D	1,82	144		
L 426 T	1,37			
L 644 D	1,83			
L 238 T x D 10 D	1,88	160	1,84	152
L 238 T	1,77		1,21	
L 430 T x L 644 D	1,7	95	2,01	109
L 430 T	1,75		1,84	
L 644 D	1,83		—	
L 430 T x L 655 D	—	—	1,98	108
L 430 T	—	—	1,84	—
Moyenne des hybrides c.v.	1,76 ± 0,17 8	110	2,00 ± 0,22 6,97 %	131
Moyenne des Parents c.v.	1,60 ± 0,38 19,55		1,52 ± 0,50 20,79 %	

— les racines ont donné des valeurs supérieures et plus homogènes à celles des germes. Ce dernier point nous a conduit à choisir une fois pour toutes les racines comme étant le matériel idéal pour la suite de nos travaux ;

— enfin, le rapport ADP/O apparaît comme le seul paramètre énergétique mitochondrial qui puisse permettre de mettre efficacement en évidence l'hétérosis.

En ce qui concerne la relation entre activité mitochondriale de racines de plusieurs hybrides avec les caractères agronomiques, les essais montrent qu'il existe une forte relation positive entre ADP/O et production de régimes des croisements testés (Tableau II).

Les trois paramètres mitochondriaux ADP/O, RC, QO₂ ont été trouvés en bonne relation avec la valeur agronomique des hybrides. Il apparaît que c'est le rapport ADP/O qui donne les meilleures précisions.

Les résultats des différents essais ont été récapitulés et représentés graphiquement. Il ressort de cette représentation que les points expérimentaux sont répartis en 4 zones dans chaque essai (fig. 1).

1. une zone où les ADP/O sont inférieurs à la moyenne et les productions supérieures à la moyenne,

2. une zone où les ADP/O sont supérieurs à la moyenne et les productions inférieures à la moyenne,

Tableau II. Corrélation entre la production et les activités mitochondriales pour des croisements plantés dans 4 essais différents.

Essai	Caractères de production	ADP/O de mitochondries isolées de racines					
		En champ		De graines germées		De plantules	
		n (1)	R	n (1)	R	n (1)	R
LM 61	Prod. de régimes 6-9 ans	8	0,854**	6	0,675 NS	9	0,984***
	Prod. d'huile 6-9 ans	8	0,0517 NS	6	0,627 NS	9	0,046 NS
LM-GP 8	Prod. de régimes 6-12 ans	20	0,663**	13	0,680*	14	0,694**
	Prod. d'huile 6-12 ans	20	0,311 NS	13	0,116 NS	14	0,072 NS
LM-GP 9	Prod. de régimes 6-10 ans	24	0,849***	9	0,713*	13	0,796**
	Prod. d'huiles 6-10 ans	24	0,709***	9	0,544 NS	13	0,513NS
MD-GP 1	Prod. de régimes 6-9 ans	—	—	12	0,803**	16	0,833***
	Prod. d'huile 6-9 ans	—	—	12	0,503 NS	16	0,529*

(1) Nombre de croisements

3. une zone où les ADP/O et les productions sont respectivement inférieurs à la moyenne,

4. enfin, une zone où les ADP/O et les productions sont supérieurs respectivement à la moyenne.

On constate que le nombre de points répartis dans la zone 1 et 2 est faible. Cela signifie que les chances de trouver des croisements à forte production et à activité mitochondriale faible et réciproquement sont réduites.

Tous les résultats obtenus et représentés prouvent que le rapport ADP/O est un critère physiologique et biochimique de sélection précoce.

En effet, aux valeurs des ADP/O supérieures à la moyenne, on observe que les productions correspondantes sont élevées, et aux valeurs ADP/O inférieures à la moyenne correspondent des valeurs de production faibles. Cette représentation met en exergue la corrélation significative entre ADP/O et production.

Test mitochondrial par rapport au schéma de sélection

Le test précoce mitochondrial peut s'intégrer parfaitement dans le schéma de sélection. Cependant, un critère ne pourra être retenu comme critère de sélection précoce que si sa validité statistique est prouvée, ce qui se produira avec une forte probabilité s'il s'agit d'un caractère ayant une valeur biologique, c'est-à-dire un caractère causal. C'est le cas du paramètre ADP/O qui est fortement relié aux productions.

Les croisements sont créés en prenant en compte le nombre de régimes et le poids moyen de régime. On effectue ainsi un choix phénotypique sur la production de régimes. D'autres choix phénotypes des parents sont également pris en compte : il s'agit du pourcentage de fruit (% F) du pourcentage de pulpe (% P) et du pourcentage d'huile (% H), la

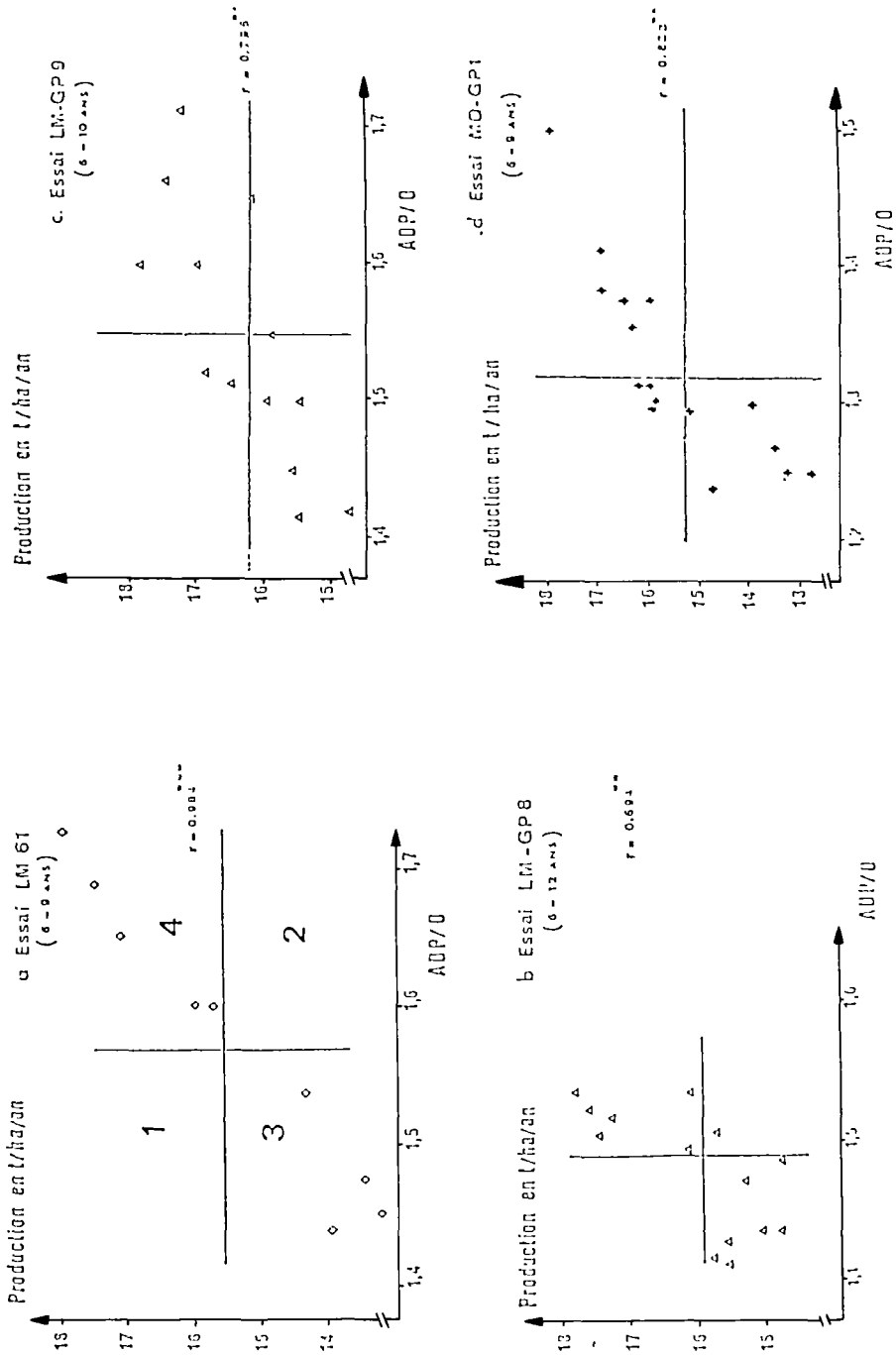


Figure 1. Relation entre le paramètre ADP/O et la production de régimes dans 4 essais différents.

croissance en hauteur, la résistance aux maladies. La résultante de ces facteurs conduisent au choix d'idéotypes d'hybrides facilement réalisable par croisement.

Ces idéotypes peuvent subir le test précoce mitochondrial afin de trier des croisements à tester sur le critère de production totale de régimes. Ce tri réduit le nombre de croisements à tester. La recherche d'autres tests similaires relatifs au % H ou au % P, permettrait d'améliorer le taux d'extraction théorique.

En fait, le tri par le test mitochondrial nous donne théoriquement des croisements ayant une meilleure production d'huile (fig. 2).

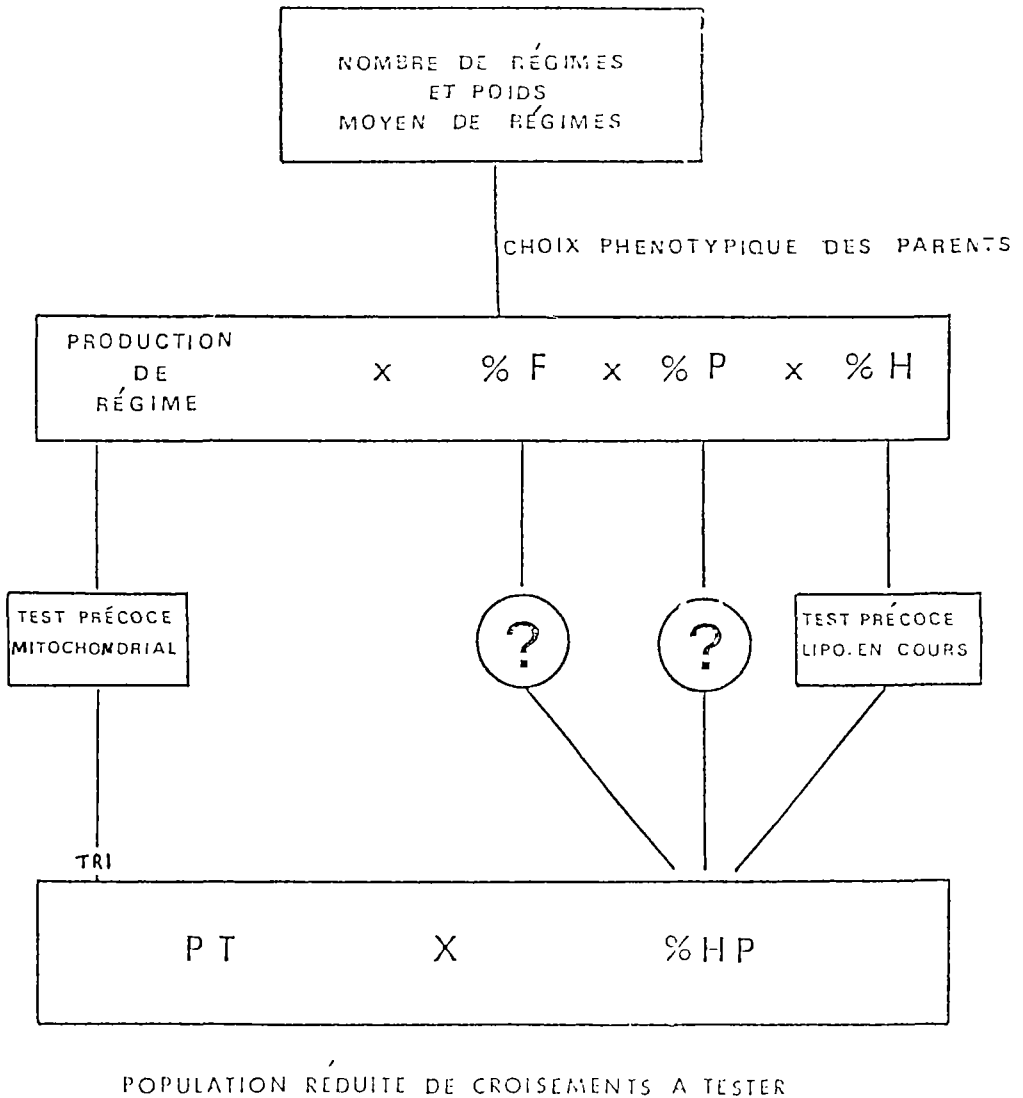


Figure 2. Place du test des mitochondries dans le schéma d'amélioration du palmier à huile.

Par rapport au schéma de sélection, le test :

- est efficace en amont du test de comparaison des hybrides,
- permet de choisir à l'avance, au stade précoce, les hybrides susceptibles d'être testés,
- permettra de réduire à court terme la durée de la génération par le choix des meilleurs hybrides.

On parviendra rapidement à une augmentation considérable de la productivité à partir des choix précoces d'hybrides.

La maîtrise du test précoce par les activités mitochondriales permettra une économie des moyens mis en œuvre, ce qui est un aspect fondamental chez le palmier à huile, à cause de la longueur des cycles. Ce qui est important, c'est que le test précoce rend la sélection efficace (résultat par rapport au coût).

Le test précoce est appliqué au programme d'amélioration ; au premier cycle, il doit être moins discriminant ; au second cycle, on a intérêt à être plus sévère. Le test peut être utilisé en fourniture de semences ainsi qu'au choix des têtes de clones ou de tri d'un certain nombre de clones pour déceler les meilleures. Enfin, le test peut être appliqué à d'autres plantes oléagineuses ou non.

Cependant, des questions de fond restent posées quant à la démonstration de façon claire de l'origine génétique de l'hétérosis mitochondrial, car les paramètres mitochondriaux peuvent être considérés comme des preuves circonstanciées qui doivent être traduites pour une compréhension moléculaire, biochimique ou physiologique.

Il sera alors nécessaire :

- de comprendre les facteurs intervenant dans la détermination du génome mitochondrial,
- d'identifier et d'assigner un rôle fonctionnel aux polypeptides mitochondriaux,
- d'isoler et de séquencer les gènes codant ces polypeptides et l'expression phénotypique de l'hétérosis,
- d'identifier, isoler et étudier le rôle des gènes nucléaires qui peuvent agir ou contrôler les gènes mitochondriaux.

L'élucidation des différents points énumérés apportera une réponse définitive à l'origine de l'hétérosis.

Conclusion

Cet aperçu du test mitochondrial permet d'imaginer les contraintes qui pèsent sur le sélectionneur et la multiplicité des disciplines de plus en plus spécialisées qu'il doit rencontrer vers son objectif.

C'est par nécessité que le sélectionneur découpe dans la plante des caractères qu'il cherche à manipuler, à recombinaison, alors que le végétal est une entité et un ensemble intégré résultant d'une longue évolution, comme tout être vivant.

Tout végétal possède un équilibre qui a tendance à s'opposer aux perturbations qu'on lui impose. C'est là une des nombreuses difficultés que doit surmonter le sélectionneur. L'aider dans cette tâche était notre ambition. Par l'étude de l'hétérosis mitochondrial et la mise au point d'un test précoce de la productivité, nous espérons lui avoir fourni un outil supplémentaire d'une grande valeur pratique.

Références

1. Adoutte A. (1977). La génétique des mitochondries chez la paramécie. Thèse d'Etat ; Univ Paris-Sud, Orsay.
2. Allard RW. (1960). *Principles of plant breeding*. John Wiley, London, 485 p.
3. Beal WJ. (1876). In : Allard RW, ed. *Principles of plant breeding*. John Wiley, London, 485 p.
4. Benard G. (1965). Caractéristiques qualitatives du régime d'*Elaeis guineensis*. Teneur en huile de la pulpe des diverses origines et des croisements interorigines. *Oléagineux* ; 18 : 163-1168.
5. De Berchoux Ch, Gascon JP. (1965). Caractéristiques végétatives de cinq descendance d'*Elaeis guineensis* (Jacq). Premières données biométriques. Relation entre divers caractères de la population. *Oléagineux* ; 1 : 1-7.
6. Beirnaert A, Vanderweyen R. (1941). Contribution à l'étude génétique et biométrique des variétés d'*Elaeis guineensis*. *Bull INEAC* ; Série Scient : 27.
7. Berville A, Labib A, Tiellement H, Kouame B. (1976). Hétérosis mitochondrial. I Résultats préliminaires chez un hybride simple de maïs. *Ann Amél Plantes* ; 26 : 607-622.
8. Berville A. (1977). Approches physiologiques et perspectives. *Agronomie Tropicale* ; 32 (2) : 141-147.
9. Chance B, Williams GR. (1955a). Respiratory enzymes in oxidative phosphorylation. I Kinetics of oxygen utilization. *J Biol Chem* ; 217 : 383-393.
10. Chance B, Williams GR. (1955b). A simple and rapid assay on oxidative phosphorylation. *Nature* ; 175 : 1120-1121.
11. Chance B, Williams GR. (1956). The respiratory chain and oxidative phosphorylation. *Adv Enzymol* ; 17 : 65-134.
12. Charbonnier M. (1981). Etude des interactions nucléo-cytoplasmiques dans la vigueur hybride par des paramètres respiratoires des mitochondries de maïs (*Zea mays* C). Thèse Doc 3^e cycle ; Univ Paris-Sud, Orsay.
13. Comstock RE, Robinson HF, Harvey PH. (1949). A breeding procedure designed to make maximum use of both general and specific combining ability.
14. Dagnelie P. (1970). Théorie et Méthodes Statistiques. Application Agronomique. Vol II : Les méthodes de l'inférence statistique. Duculot SA, Gembloux.
15. Ducet G. (1978). Action de la sérum-albumine sur les mitochondries de pomme de terre. *Physiol Vég* ; 16 : 753-772.
16. Ducet G. (1979). Influence of bovine serum albumine on the proton conductance of potato mitochondria membranes. *Planta* ; 147 : 122-126.
17. Durand R. (1985). Mitochondries, structure, isolement, fonction, biogenèse. *Encyclopædia Universalis* ; 12 : 366-378.
18. Durand R. (1986). L'assemblage des mitochondries. *Recherche* ; 174 (2) : 162-171.
19. Demarly Y. (1972). Régulation et hétérosis. *Ann Amél Plantes* ; 22 : 143-166.
20. Demarly Y. (1977). *Génétique et amélioration des plantes*. Masson, Paris.
21. Estabrook RW. (1976). Mitochondrial respiratory controls and the polarographic measurement of ADP/O ratio. In : Estabrook RW, Pullman ME, eds. *Methods in enzymology*, vol X. Academic Press, London, pp. 41-47.
22. Flavell RB, Barratt DHP. (1977). Mitochondrial efficiencys and grain yield in wheat. *Ann Bot* ; 41 : 1323-1331.
23. Gowen JW (1952). *Heterosis*. Iowa State College Press, Ames.
24. Graille J, Biang N'Zie E, Pina M, Frater C, Kouame B. (1983). Etudes des lipides foliaires d'un palmier à huile *E melanococca* x *E guineensis*. *Oléagineux* ; 38 (3) : 193-199.
25. Gallais A. (1975). Réflexions sur la nature de l'hétérosis chez les plantes allogames. *Bull Physiol* ; 30 (4) : 309-317.
26. Gallais A. (1977). Amélioration des populations, méthodes de sélection et création de variétés. *Ann Amél Plantes* ; 28 : 281-329.
27. Gallais A. (1978b). Amélioration des populations, méthodes de sélection et création de variétés. II. Le concept de valeur variétale et ses conséquences pour la sélection récurrente. *Ann Amél Plantes* ; 28 : 269-289.

28. Gallais A. (1981). Amélioration des populations en vue de la création de variétés. *Le Sélectionneur Français* ; 29 : 5-29.
29. Hartley CWS. (1977). *The oil palm*. Tropical agriculture series, 2^e édition. Longman, New York.
30. Kouame B. (1976). Bases biochimiques de l'hétérosis mitochondrial chez le palmier à huile, *Elaeis guineensis* Jacq. Thèse Doc 3^e cycle, Amélioration des Plantes ; Univ Paris-Sud, Orsay.
31. Kouame B. (1978). Mesure des activités mitochondriales chez le palmier à huile *Elaeis guineensis* Jacq. Mise en évidence de l'hétérosis mitochondrial et comparaison des activités mitochondriales de plusieurs hybrides (bilingue, français-anglais). *Oléagineux* ; 33 (6) : 267-273.
32. Kouame B, Noiret JM. (1981). Test précoce de la productivité chez le palmier à huile *Elaeis guineensis* Jacq. par mesure des activités mitochondriales. *Oléagineux* ; 36 (11) : 533-542.
33. Koutou A. (1983). Mesures de deux activités enzymatiques liées à la lipogénèse dans le fruit de palme *Elaeis guineensis* Jacq. DEA Sciences Agronomiques, Montpellier II.
34. Kridel DI. (1972). Mitochondrial complementation and heterosis in *Pisium satyrum*. Thesis, University of Arizona.
35. Leaver CJ, Gray MW. (1982). Mitochondrial genome organization and expression in higher plants. *Ann Rev Plant Physiol* ; 33 : 373-402.
36. Leaver CJ, Dixon LK, Hack E, Fox TD, Dawson AJ. (1983). Mitochondrial genes and their expression in higher plants. In : Ciffo, Dure L, ed. *Structure and function of the plant genome*. Plenum Press, New York, London, pp. 347-361.
37. Leaver CJ. (1986). Code mitochondrial : le génome mitochondrial des végétaux supérieurs. Structure, expression et stérilité mâle cytoplasmique. *Recherche en Biotechnologie* ; 3 : 18-25. Champ du monde, édition spéciale, Rhône-Poulenc.
38. McDaniel RG. (1969). Relationships of seed weight, seedling vigour and mitochondrial metabolism in barley. *Crop Science* ; 9 : 823-827.
39. Mitchell P. (1961). Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen transfer by a chemiosmotic type of mechanism. *Nature* ; 191 : 144-148.
40. Mitchell P. (1966). *Chemiosmotic coupling in oxydative and photosynthetic phosphorylation*. Glynn Research, Bodmin, England, 192 p.
41. Mitchell P. (1968). *Chemiosmotic coupling and energy transduction*. Glynn Research. Bodmin, England, 111 p.
42. McDaniel RG, Sarkassian IV. (1968). Mitochondrial heterosis in maize. *Genetics* ; 59 : 465-475.
43. Polinière JP, d'Auzac J. Introduction à une étude des critères de sélection génétique chez l'*Hevea brasiliensis*. *Rev Gen Caout Plast* ; 43 (1) : 85-92.
44. Palmer JM (1967). Rapid isolation of mitochondria from plant tissue. *Nature* ; 216 : 1208.
45. Palmer JM, Passam HC. (1970). The oxydation of exogenous NADH by plant mitochondria. *Biochem J* ; 122, 16 p.
46. Romani RJ, IDA K Yu, Fischer LK. (1969). Isolations of tightly coupled mitochondria from acidic plant tissues. *Plant Physiol* ; 44 : 311-312.
47. Sarkissian IV, Srivastava HK. (1967). Mitochondrial polymorphism in maize. II. Further evidence of correlation of mitochondrial complementation and heterosis.
48. Sarkissian IV, Srivastava HK. (1969). High efficiency heterosis and homeostasis in mitochondria of wheat. *Proc Nat Acad Sci USA* ; 63 : 302-309.
49. Whaley WG. (1944). Hétérosis. *Bot Rev* ; 10 : 461-498.
50. Zeven AC. (1964). On the origin of the oil palm. *Grana Palynologica* ; 5 : 121-123.

8

Production et amélioration variétale du mil au Mali

O. NIANGADO

Directeur de la Station de recherche agronomique de Cinzana, BP 214, Segou, Mali

Données statistiques

Le mil (*Pennisetum americanum* (L.) Leeke) constitue la plus importante céréale du Mali, tant par la superficie que par la production (Tableaux I et II).

Essentiellement autoconsommée, la culture est réalisée sous différentes conditions (pluviale et décrue). Les principales zones de production sont les régions de Ségou et de Mopti (Tableau III). Les rendements très variables d'une région à l'autre dépassent très rarement 1 000 kg/ha (Tableau IV).

Dans toutes les régions, la culture du mil coexiste avec celle du sorgho. Mais la conjonction des facteurs édaphiques et climatiques fait qu'il est très difficile de définir une large zone à sorgho distincte d'une zone à pénicillaire.

Tableau I. Evolution des superficies des principales céréales (toutes catégories d'exploitation, en hectares).

Années	Cultures					
	Mil	Sorgho	Maïs	Riz	Fonio	Total
1975	635 497	217 665	33 358	118 027	73 833	1 078 380
1976	528 290	258 736	30 708	116 596	58 450	992 780
1977	496 788	288 657	54 678	133 136	56 515	1 029 774
1978	575 901	338 866	42 814	111 322	54 322	1 123 578
1979	593 809	359 866	45 535	242 534	31 858	1 275 602
1980	697 589	408 605	40 865	135 275	49 270	1 331 604
1981	719 207	453 310	69 192	115 593	70 263	1 427 565
1982	920 511	441 098	47 361	181 624	40 226	1 630 820

Source : Rapport de l'Enquête agricole 1982-1983 [7].

Tableau II. Superficies cultivées des principales céréales par région, en hectares.

Régions	Cultures				
	Mil	Sorgho	Riz	Maïs	Fonio
Kayes	77 044	122 726	1 364	12 727	3 182
Koulikoro	39 936	47 923	270	4 526	4 526
Sikasso	23 944	88 843	16 692	17 643	5 461
Ségou	425 592	131 537	56 833	10 703	22 251
Mopti	323 555	36 655	72 660	1 762	4 582
Tombouctou	30 442	13 040	18 578	—	224
Gao	—	374	15 227	—	—
Total	920 511	441 040	180 624	47 361	40 286

Source : Rapport de l'Enquête agricole 1982-1983 [7].

Tableau III. Evolution de la production des principales céréales par région et année (toutes catégories d'exploitations, en tonnes).

Régions	Cultures				
	Mil	Sorgho	Maïs	Riz	Fonio
Kayes	46 889	68 247	7 829	1 208	1 777
Koulikoro	94 379	91 203	15 605	409	1 624
Sikasso	49 689	154 493	53 399	20 849	5 052
Ségou	327 223	82 249	10 940	76 613	11 944
Mopti	108 403	24 481	1 538	29 107	3 140
Tombouctou	2 663	6 785	—	4 588	—
Gao	—	—	—	19 859	—
Années					
1982	629 245	427 457	89 310	152 633	23 537
1981	537 900	412 200	61 100	134 800	53 400
1980	419 600	288 700	45 400	121 600	25 700
1979	349 701	395 857	73 915	240 116	17 317
1978	552 106	358 112	103 510	158 292	39 107
1977	521 491	439 987	114 887	303 203	51 367
1976	480 788	348 363	63 837	298 406	43 611
1975	618 839	277 080	62 336	190 036	57 005

Source : Rapport de l'Enquête agricole 1982-1983 [7].

Cependant, entre les isohyètes 700 mm et 800 mm, on assiste à une séparation des deux cultures avec le mil au nord et le sorgho au sud. Cette limite, qui passe au milieu de la zone soudanienne nord, correspondait à la limite nord de la zone à karité (*Butyros permum parkii*) (Bouchet, [3]).

Dans certaines zones, on note une préférence pour l'une ou l'autre de ces deux céréales. Toujours selon Bouchet [3], le groupe Malinké-Bambara aurait une nette préférence pour le sorgho, alors que le groupe Senoufo-Minianka serait attiré vers les pénicillaires. Ce qui expliquerait selon le même auteur l'importance de ceux-ci dans les cercles de Sikasso et

Tableau IV. Rendement des cultures pures pour les exploitations agricoles en kg/ha.

Régions	Année	Cultures				
		Mil	Sorgho	Riz	Fonio	Maïs
Kayes	1981	590	572	1 217	567	740
	1982	587	558	— (*)	559	522
Koulikoro	1981	1 066	1 649	1 115	307	1 096
	1982	887	1 440	—	403	1 432
Sikasso	1981	927	924	985	808	1 086
	1982	1 013	1 050	975	801	959
Ségou	1981	917	820	—	957	1 138
	1982	778	638	—	537	948
Mopti	1981	532	519	718	349	325
	1982	329	897	389	270	873
Tombouctou	1981	290	734	—	—	—
	1982	83	490	133	—	—
Gao	1981	—	—	260	—	—
	1982	—	—	952	—	—

Source : Rapport de l'Enquête agricole 1982-1983 [7].

(*) Non disponible.

Koutiala, bien que les conditions y soient favorables au sorgho. Par contre, pour Pasquereau [12], les Bambara préfèrent le mil au sorgho.

L'encadrement du monde paysan est réalisé par les ODR (Opération de Développement Rural). Dans ce cadre, la CMDT (Compagnie Malienne de Développement des Textiles) et l'OMM (Opération Mil Mopti) occupent 44% des superficies avec respectivement 23% pour la CMDT et 21% pour l'OMM. Il s'agit en fait ici des superficies des mils et des sorghos (Tableau I). Les zones hors opérations (ZHO) regroupent quant à elles 33% de la superficie totale des mils et sorghos et 34% de la production, alors que la zone CMDT et la zone OMM produisent respectivement 26 et 14%. Ce qui dénote un niveau de rendement assez important pour ces zones qui ne bénéficient que d'un encadrement sommaire.

Systèmes traditionnels de production du mil

Le mil est cultivé au Mali selon un système d'agriculture itinérante ou plutôt cyclique. Les cultures suivent une rotation variable selon les zones. Dans ce système, la fertilité des sols s'épuise au bout de 5 à 8 ans. La restauration de la fertilité est obtenue en laissant la terre en jachère pendant une longue période variant selon la fertilité initiale du sol, la superficie disponible et la croissance démographique. Le système de culture dominant est la culture pure. Mais, très fréquemment, on associe au mil d'autres espèces comme le niébé, l'ara-

Tableau V. Evaluation de la superficie cultivée en mil (*P. americanum*).

Cultures	Années				
	1978	1979	1980	1981	1982
Mil pur	575 563	593 372	697 589	719 207	920 511
Mil-niébé	62 208	9 584	39 151	14 580	55 473
Mil-maïs	29 100	21 958	10 562	16 345	33 685
Mil-arachide	2 678	—	2 461	2 195	1 186
Mil-sorgho	48 574	15 902	27 386	36 978	41 821

Source : Rapport de l'Enquête agricole 1982-1983 [7].

Tableau VI. Superficie des exploitations agricoles pour les principales associations à base de mil en 1982 (hectares).

Régions	Types d'association				
	Mil + niébé	Mil + maïs	Mil + sorgho	Mil + arachide	Mil pur
Kayes	—	15	2 727	144	77 044
Koulikoro	31 948	—	23 163	74	39 936
Sikasso	2 730	33 395	1 470	840	23 944
Ségou	—	275	4 788	128	425 592
Mopti	20 795	—	8 106	—	323 553
Tombouctou	—	—	1 567	—	30 442
Gao	—	—	—	—	—
Total	55 473	33 685	41 821	1 186	920 511

Source : Rapport de l'Enquête agricole 1982-1983 [7].

chide, le sorgho, l'oseille de Guinée, le sésame, le maïs, etc. Cette association peut également être constituée de deux variétés de mil, l'une précoce, l'autre tardive. La pratique de l'association est telle qu'on peut se demander si la culture seule de mil existe.

L'inventaire des principales associations à base de mil montre que ce sont les associations *mil-niébé*, *maïs-mil*, et *mil-sorgho* qui sont les plus importantes (Tableau V).

L'association mil-niébé. On la rencontre un peu partout. Lors de l'enquête agricole, en 1982 (Tableau VI), il apparaît que c'est dans les régions de Koulikoro et Mopti que cette association est pratiquée.

L'association maïs-mil est surtout pratiquée dans la région de Sikasso.

L'association mil-sorgho. On la rencontre également un peu partout. Mais elle est surtout importante dans les régions de Koulikoro, Ségou et Mopti.

Du point de vue topographique, on distingue par rapport au village deux types de champ :

— les So-foros ou «champs de case», qui sont en général bien fumés (ordures ménagères, fumier de parc, etc.); on y cultive surtout les variétés précoces destinées à la couverture des besoins en périodes de soudure ;

— les cougo-foros ou « champs de brousse », qui reçoivent les variétés tardives sur la fertilité naturelle des terres.

En zone sud, les variétés précoces du mil sont remplacées par le maïs qui est cultivé en association avec le mil tardif.

Les travaux champêtres occupent une place importante dans le calendrier agricole. Le ramassage des pailles ou le dessouchage des nouveaux champs sont exécutés à l'approche de l'hivernage. En fait de dessouchage, les paysans laissent dans leurs champs certains arbres utilitaires comme le karité (*Butyrospermum parkii*), le balanza (*Acacia albida*) et le néré (*Parkia biglobosa*). Seuls les arbustes sont coupés à ras de sol.

Même avec le développement de la culture attelée, les pieds de balanzas, de karités sont laissés sur place. L'agriculteur arrive à s'accommoder de la présence de ces arbres.

Très tôt, on a pu mettre en évidence le rôle fertilisant des balanzas [5]. Pour le karité et le néré, leur rôle dans l'alimentation humaine était établi depuis fort longtemps. Mais, à l'instar des balanzas, leur rôle sur les facteurs pédoclimatiques et les rendements des cultures n'a pas été étudié.

Généralement, le semis se fait sans préparation préalable du sol. C'est après qu'on pratique un « houage » pour ameublir la partie superficielle du sol. Dans certaines zones, la culture du mil se fait sur butte (Seno et Sikasso).

La lutte contre les adventices constitue le principal goulot d'étranglement. Le « flaké » (2^e sarclage) est courant. Tous ces travaux sont effectués à la daba pour la plupart des exploitations. Cependant, dans certaines zones, on assiste de plus en plus à l'utilisation de la culture attelée pour la préparation du sol. Le semis et le sarclage, la récolte et le battage sont en général effectués manuellement.

Si le mil est battu dans certaines zones avant d'être engrangé, dans d'autres, la conservation se fait en épis. Dans ce cas, le battage est effectué quotidiennement par les femmes pour la préparation des repas.

Principaux facteurs limitants de la production des mils

Il est très difficile de hiérarchiser ces contraintes tant elles sont complexes et variables d'une région à une autre. Cependant, on peut les classer en contraintes physiques ou environnementales, en contraintes biotiques et en contraintes socio-économiques.

Contraintes physiques

Edaphiques

Les sols tropicaux et spécifiquement ceux destinés à la culture du mil et du sorgho sont en général pauvres en éléments fertilisants (NP surtout) et en matière organique. Peu profonds, ils ont une faible capacité d'échange liée à un faible taux d'argile de mauvaise qualité (kaolinite). On peut noter cependant un gradient de fertilité Nord-Sud. Les sols des régions septentrionales sont plus pauvres et plus sensibles à l'érosion que les sols des régions méridionales.

Climatiques

La sécheresse constitue indiscutablement une des plus importantes contraintes à la production du mil. C'est un phénomène bien connu au Mali. Plusieurs périodes de sécheresse sont régulièrement mentionnées par les écrits et la tradition orale. Les plus récentes sont celles de 1910-1916, de 1944-1948, de 1968-1973 et 1979-1984 (Konate, 1984, et [8]). Selon Konate, d'une manière générale une sécheresse modérée ou sévère est observée 2 fois en 3 à 5 ans sur l'ensemble du Mali. On appelle sécheresse sévère une sécheresse où l'on a un déficit pluviométrique compris entre 25 et 50% de la normale. Par conséquent, la sécheresse doit être considérée comme une donnée permanente de notre écosystème.

Contraintes biotiques

Entomologiques

Au Mali, de nombreux insectes attaquent le mil depuis le stade végétatif jusque dans les greniers. Mais c'est surtout trois ravageurs qui sont considérés comme les plus importants :

Les cantharides (*Psalydolytta* spp et *Mylabris* spp). Ces insectes ont entraîné l'abandon de la culture du mil dans certaines localités (Dioumara, Kayes, Sirakorola). A l'heure actuelle, il n'existe aucun moyen de lutte. Traditionnellement, les paysans en enfumant le champ tentent de réduire leurs dégâts.

Les chenilles mineuses d'épis (*Raghuva* spp). On les rencontre dans toute la zone sahélienne. Les variétés tardives de mil semblent moins attaquées grâce au décalage entre le pic de pilulation et leur période de floraison. Mais cette tardivité expose ces variétés à la sécheresse de fin de cycle. Les variétés à épis très compacts semblent plus résistantes que celles à épis lâches. Dans ce contexte, les variétés suivantes se sont montrées moins infestées dans les tests d'évaluation : Toroniou de Ningari, Souna de Ségou, BC 50.

Les chenilles mineuses de tiges (*Acigona ignefusalis*). Elles sont également très importantes dans certaines zones (Ségou, Kolokani, falaises de Bandiagara).

Autres insectes. A ceux cités ci-dessus s'ajoutent d'autres insectes d'importance mineure dont les attaques sont sporadiques. Ce sont les punaises (*Dysdercus volkiri*), les sauteriaux (*Oedaleus senegalensis*), les cecidomyies (*Geromyia penneseti*). En outre, des insectes attaquent le mil stocké (*Charancens*), entraînant souvent des pertes très importantes.

Phytopathologiques

Il existe également trois principales maladies d'origine fongique chez le mil au Mali :

Le mildiou (*Sclerospora graminicola* Sacc, schroet). On ne dispose actuellement que de peu d'informations sur les pertes de rendement causées par ce parasite (Diaby, 1980, et [14]). Cependant de nombreux auteurs s'accordent à reconnaître que c'est la maladie la plus importante du mil au Mali [11, 15]. Il existe chez les cultivars locaux une grande diversité pour la tolérance. Dans la Collection Malienne de Mil (CMM), il existe de nombreuses souches de résistance (CMM 210 - variété Tiotioni, CMM 418 - variété Sounari).

Le charbon (*Tohyposporium penicillaria*, Ref). Ses dégâts sont moindres sur les cultivars locaux. Ce sont les variétés précoces qui y sont généralement très sensibles, notamment les introductions d'origine indienne.

L'ergot (*Clavicep fusiformis loveless*). On le rencontre surtout en zone soudanienne. La plupart des variétés locales y sont résistantes.

Malherbologiques

Les mils locaux, grâce à leur haute taille, sont assez compétitifs des adventices classiques. Outre les adventices classiques, caractéristiques des cultures pluviales, un certain nombre d'espèces pose des problèmes :

Le striga (Striga hermonthica). C'est un des plus importants facteurs responsables de la baisse de rendement du mil en zone sahélienne. De nombreux écotypes ont été souvent rapportés par les paysans comme résistants au striga, mais très peu ont confirmé cette résistance dans les évaluations. Le degré d'infestation des champs varie d'une année à l'autre. De par sa complexité, très peu de recherches ont été menées sur le striga du mil [13].

Le shibra (Pennisetum stenostachyum). C'est la forme adventice du mil. Elle provient du croisement entre mil cultivé et mil sauvage. Par un mécanisme de mimétisme, elle arrive à échapper au sarclage entraînant une pollution de la culture par son égrenage spontané. Dans certaines zones (Pays Dogon), le shibra est récolté pour la consommation. Cette récolte effectuée par les femmes est établie dans le calendrier agricole.

Selon certains auteurs ([18] et Tompa, 1983) l'élimination des shibras d'un cultivar pourrait contribuer à l'amélioration de la production de celui-ci.

Autres déprédateurs

Les oiseaux granivores. C'est un véritable fléau dans la zone du Delta du Niger. C'est surtout l'espèce Quélia-Quélia ou travailleur à bec rouge qui est la plus dangereuse. Certaines variétés locales aristées, appelées Konotiné, sont supposées plus ou moins attaquées par les oiseaux. Cette tolérance n'est que relative car, en l'absence de formes mutiques, les épis aristés sont également ravagés.

La localisation régionale des principales contraintes est donnée dans le paragraphe suivant.

Contraintes socio-économiques

La production des mils et des sorghos est essentiellement autoconsommée. Un très faible pourcentage (10 à 15%) est commercialisé. Cette production est réalisée par un système traditionnel utilisant très peu d'intrants agricoles. Dans ce contexte, on peut noter différentes contraintes socio-économiques qui interfèrent avec les solutions techniques, notamment le *prix aux producteurs*.

De 1960 à 1984, le prix aux producteurs des mils est passé de 5 F CFA à 55 F CFA, alors que le prix de l'engrais complexe coton est passé de 26,5 F CFA à 105 F CFA. Pendant la même période, le prix du multiculteur est passé de 6 500 F CFA à 44 397,5 F CFA. Cet état de fait maintient le paysan producteur de mil-sorgho dans un état de sous-équipement ; en conséquence celui-ci ne recherchera que l'autosuffisance alimentaire familiale.

Cette faiblesse du pouvoir d'achat, avec en corollaire un faible niveau d'équipement, est telle que, dans de nombreuses régions, la daba reste le seul outil de travail. La lutte contre les adventices se fait difficilement, constituant ainsi un important goulot d'étranglement dans le calendrier agricole. Pourtant, selon Sibanol [16], rien que par l'amélioration des techniques culturales, on peut améliorer la production des mils de 40%. Les prix aux producteurs doivent être à même de fournir assez de ressources aux producteurs pour s'équiper.

Productivité des variétés locales

Si les variétés locales sont en général très bien adaptées aux conditions de culture traditionnelle et conformes au goût des consommateurs, leur réponse aux intrants agricoles paraît très limitée. Ceci a nécessité la recherche de nouvelles structures variétales pouvant permettre l'intensification de la culture.

Zones de culture et diversité variétale du mil au Mali

Les mils du Mali sont très polymorphes, selon Niangado *et al* [11], on peut distinguer quatre principales zones de culture du mil en fonction des caractéristiques morphologiques et phénologiques.

La zone A. Correspondant au nord de la région de Ségou et celle de Koulikoro et de Kayes, c'est le pays du Souma, dont le cycle est de 90 jours. Outre cette variété, on en rencontre d'autres à cycle intermédiaire (Boboni à Ségou, Tiotioni à Kolokani et des Magankolo). Dans cette zone, on associe très fréquemment au mil : du niébé, du sorgho et beaucoup d'autres plantes condimentaires (oseille de Guinée, arachide, pastèque, etc.). Les principaux parasites sont : le mildiou, le complexe Raghava-massalia, les cantharides, les sauteriaux et les foreurs de tiges.

Selon les années, les oiseaux causent d'énormes dégâts. Dans les champs, on rencontre très fréquemment de nombreux pieds de balanzas, dont la densité la plus forte se rencontre dans le cercle de Ségou. En outre, la fréquence de pieds de karités augmente au fur et à mesure qu'on va vers le sud. Cette zone occupe la partie orientale du pays.

La zone B. C'est le pays des variétés appelées Haïnisi par les Sonraïs, Gaouris par les Peuls, Enélis par les Touaregs et Toroniou par les Dogons des falaises de Bandiagara. Cette zone couvre la région du delta central du Niger et le plateau Dogon. Ces variétés de précocité moyenne font de 90 à 110 jours du semis à la maturité. On y rencontre également l'association *mil-niébé*. Mais, très souvent, on associe au mil différentes espèces de cucurbitacées (moussa-moussa, kanéi). Dans cette zone, on ne rencontre plus que des balanzas dans le paysage agricole. Les principales contraintes sont les mêmes que celles de la zone A.

La zone C. Elle englobe la plaine du Seno et le pays Bobo. Les variétés sont de cycle intermédiaire de 110 à 120 jours. Ce sont les Niou-Kouniou et les Niou-Bobo pour les Dogons et les Doufoua pour les Bobos. Dans cette région, on rencontre surtout l'association *mil-niébé*, notamment dans la plaine du Seno. C'est le mildiou, les shibras, le complexe Raghava-massalia et le striga qui constituent les principales contraintes biotiques de cette zone. Dans cette même plaine du Seno, ce sont également les balanzas qui constituent la végétation arborée dominante.

La zone D. Cette zone s'étend sur la partie sud du pays. On y rencontre surtout des variétés tardives (de 150 à 180 jours). C'est dans la région de Sikasso et Koutiala que la culture devient beaucoup plus importante. La culture associée *maïs-mil* est une des principales caractéristiques de cette zone. Le mil est semé directement 15 à 20 jours après le maïs ou repiqué, et ce repiquage s'échelonne jusqu'au début août.

Dans les cercles de Kénieba et Bafoulabé, les populations manifestent peu d'intérêt pour le mil, il est souvent cultivé en association avec le sorgho ou l'arachide. Il en est de même dans le cercle de Kangaba. Du point de vue variétal, on peut y distinguer de nombreux morphotypes (Guénié, Flokou, Wouloukou, Djiko, Sanko). C'est le mildiou et le striga qui constituent les principales contraintes dans cette zone.

Bilan des travaux d'amélioration variétale du mil

Objectif du programme

Les objectifs du programme de création variétale ont porté et portent encore sur l'amélioration de la productivité du matériel et sur la garantie de sécurité et la régularité du rendement par une meilleure tolérance aux contraintes biotiques (mildiou, charbon, foreur des tiges, chenilles mineuses d'épis, striga) et aux aléas climatiques.

Pour atteindre ces objectifs, trois options ont été prises :

— La première visant l'amélioration des populations locales en vue de les doter des principales composantes du rendement (longueur des chandelles, grosseur du grain, tallage). Etant donné que bon nombre de ces composantes sont contrôlées par des gènes aux effets additifs, c'est la sélection récurrente avec test multilocal des SI qui a été utilisée.

— La deuxième vise la création dans un premier temps de composite et ensuite de variétés synthétiques. Ces nouvelles structures seront sélectionnées soit dans les populations locales, soit dans les descendances de croisement. En ce qui concerne les composites, ils seront réalisés à partir des populations locales et introduites pour créer une plus grande diversité.

— La troisième option porte sur l'amélioration du rapport grain/paille. Avec les variétés locales de haute taille, il est pratiquement impossible de dépasser une densité de 30 000 plants/ha. Au-delà, les risques de verse sont très grands surtout avec une forte fertilisation. C'est la méthode de rétrocroisement qui a été utilisée. La création de variétés synthétiques de courte taille dans un premier temps et plus tard d'hybrides FI est prévue.

Amélioration de populations locales

Les premiers travaux de sélection ont permis d'aboutir à l'obtention de 2 populations de cycle intermédiaire 90 à 110 jours (M2D2 et NKK) et 3 populations tardives (M9D3, M12DI et NBB). L'objectif portait sur l'obtention rapide d'une amélioration substantielle en vue d'une vulgarisation immédiate.

Dans ce contexte, on peut signaler que la variété M9D3 a produit en 1971 4,3 tonnes sur 2 ha. Mais ces variétés en test de pré vulgarisation n'ont pas toujours manifesté leur supériorité. A partir de 1976, des prospections ont été réalisées. Ces prospections ont permis de regrouper 570 écotypes de formes cultivées, auxquels se sont ajoutées, en 1985, 232 formes sauvages et intermédiaires.

Des introductions ont été réalisées à partir d'autres pays africains (Niger, Sénégal, Togo, Cameroun, Centrafrique, Maroc, Tunisie, Algérie) pour élargir la base génétique du matériel local.

Une évaluation agronomique multilocale a été réalisée pour mieux apprécier la diversité et les potentialités de chaque accession. A l'issue de cette évaluation, certaines variétés de populations ont été retenues pour leur tolérance à certaines contraintes (CMM 210 et CMM 418 pour la tolérance au mildiou, Toroniou pour la tolérance au foreur de tige et à la chenille mineuse d'épis) et d'autres pour leur potentiel productif (NBB, Trombédié, Magankolo).

Amélioration de la variété-population Trombédié. C'est une variété-population du plateau Dogon qui était très infestée de shibras et de mildiou. Les travaux portaient sur son épuration. A partir du Tableau VII, on peut noter l'efficacité de la sélection récurrente avec test des S-I.

Tableau VII. Evolution du pourcentage de shibra au cours de l'épuration de Trombédié (en pourcentage).

Famille	S ₀	S ₁	S ₂	S ₃
Présence shibra	100	59	41	3
Absence shibra	0	64	82	81
Fréquence famille à shibra	100	48	33	3,6
Fréquence famille sans shibra	0	52	66	96,4

Tableau VIII. Résultat de l'évaluation de NBB en kg/ha.

Entrées	Sotuba	Katibougou	Kita	Moyenne
Compel	1 640	2 360	880	1 626
NBB S2-R	2 720	2 600	790	2 037
Pool 6	1 180	1 320	1 790	1 430
M9D3	2 270	2 910	1 730	2 303
Témoin	2 090	2 940	940	1 990

Amélioration de la variété-population Niou Bobo de Bankass (NBB). C'est une variété de la plaine du Seno. Les travaux ont porté sur l'amélioration du rendement. Le Tableau VIII montre le bon comportement de NBB S2-R.

Programme composite

Ce programme vise à créer de la diversité par croisement de plusieurs populations à caractères complémentaires. Cette population est ensuite améliorée par croisement frère-sœur.

Composite à épis longs (compel). Ce composite a été créé par brassage de 6 écotypes à épis longs provenant du Mali et du Niger. Cette population a été ensuite recroisée avec la descendance F3 et des croisements NBB x Ankoutess et NBB x Filé. Après plusieurs générations de recombinaison, le composite est en cours d'évaluation.

Pools géniques. Des croisements ont été réalisés entre différents cultivars du Mali et d'autres pays africains. A l'issue de l'évaluation des F-I, différents composites ont été constitués par le vrac F-2 des meilleures descendance. Chaque pool ainsi constitué a été amélioré par des croisements frères-sœurs. Après 2 générations de recombinaison, l'évaluation du matériel qui se poursuivait encore permet de noter le bon comportement du composite *Souna x Sanio*.

Amélioration du rapport grain/paille

Les mils traditionnels sont caractérisés par une production de paille importante [9]. Cette caractéristique certes très intéressante dans une agriculture traditionnelle (la paille a des utilisations multiples en milieu rural) devient un obstacle dès qu'on veut augmenter la densité de peuplement et apporter des engrais.

Blondel [1], dans une étude comparative des besoins de différentes espèces en azote, a montré qu'à l'intérieur des espèces, ce sont les variétés produisant le moins de paille qui utilisent le mieux l'azote absorbé par la plante. Ces résultats et ceux obtenus sur d'autres

céréales ont permis d'aboutir à la conclusion que, dans le cadre de l'amélioration de la productivité des mils, on se trouverait en présence de facteurs limitants dus à l'architecture des mils traditionnels. Par conséquent, l'intensification de cette culture passerait donc nécessairement par la réduction de la production de la paille.

Sur cette base, un programme d'amélioration du rapport grain/paille en vue de créer des variétés à haute potentialité de rendement a été initié. L'objectif visé est l'obtention par rétrocroisement de populations 3/4 locales.

Ces travaux ont permis l'obtention de 2 populations 3/4 locales. Ce sont 3/4 MI2 pour les zones pluvieuses (900 à 1 200 mm) et 3/4 NKK pour les zones sèches (600 à 900 mm). L'évaluation du rendement de ces sélections n'a pas montré de différence par rapport aux parents récurrents sous les conditions d'intensification de productions [17]. Le matériel dans les 2 cas a dérivé vers la précocité. En outre, de nombreux problèmes d'adaptation se sont manifestés (sensibilité au mildiou, au charbon, mauvaise grenaison). Un nouveau cycle de sélection a été entamé sur les 2 obtentions en vue de corriger ces défauts.

En ce qui concerne ces populations naines, on est en droit de se poser la question sur leur finalité. En effet, de par l'écart sans cesse croissant entre les prix des intrants et les prix aux producteurs, on peut se demander si l'intensification de la production du mil par la voie classique est possible.

Selon Dancette [6], la production de paille d'un mil nain de 75 jours ne serait pas différente de celle d'un mil Souna de taille moyenne de 90 jours. Par contre, l'utilisation de ces nouvelles structures pourrait permettre de rentabiliser la production de certains systèmes de cultures associées.

Amélioration de la résistance aux maladies et insectes

Tant que le programme de sélection portait sur l'amélioration des écotypes locaux, les contraintes biotiques (entomologiques et phytopathologiques) avaient un impact relativement moindre. Mais avec la sélection de nouveaux génotypes et l'introduction d'obtentions d'autres programmes, ces problèmes se manifestent avec plus de sévérité. C'est pour pouvoir faire face à ces contraintes qu'une pépinière de maladie du mil a été mise en place à la Station de Cinzana pour sélectionner des variétés résistantes au mildiou et au charbon. Dans ce contexte, l'évaluation des formes sauvages a permis de noter l'existence de souche sauvage immune de mildiou [10]. En outre, ces formes sauvages de mil se sont révélées moins attaquées par le striga.

Dans le domaine de l'entomologie, l'évaluation des écotypes locaux a permis de mettre en évidence la tolérance de certaines accessions aux chenilles mineuses d'épis grâce à la compacité de leur épi.

Amélioration des qualités organoleptiques

Du fait que le programme de sélection était axé sur l'amélioration des écotypes locaux, les qualités organoleptiques n'ont pas constitué de problèmes majeurs dans les diffusions des variétés de mils.

Très apprécié des consommateurs, le mil présente une grande variabilité pour les caractéristiques technologiques [2, 4]. Dans le cadre d'un test multilocal d'évaluation de la facilité de décorticage, on a pu mettre en évidence le rôle de l'épaisseur du périsperme. Ce test a permis de mettre en évidence que le mil de Sikasso avec de gros grains gris clair était le

Tableau IX. Résultat de sélection du composite précoce.

Matériel	50% floraison en jours	Hauteur moyenne des plants (cm)	Nombre de talles utiles	Longueur épis (en cm)
Composite précoce CO	63	215	2	27
Composite précoce CI	45,8 ± 3,5	200 ± 8,2	3	20 ± 1,5

plus facile à décortiquer. Cela expliquerait sans doute pourquoi le mil de cette région est plus apprécié sur le marché céréalier.

Sur les autres caractéristiques (qualité et goût du tô), les études n'ont pas montré de différences significatives entre les variétés.

Une tentative d'amélioration de la qualité des bouillies de sevrage par adjonction de farine de niébé à celle du mil a été entreprise. Les résultats du test sont attendus.

Très récemment, un test sur la complémentarité de la farine du blé par celle du mil pour la fabrication du pain a été initié. Les premiers résultats sont concluants. L'utilisation de cette procédure pourrait permettre de réduire les importations de blé.

En dehors de cet aspect, le mil est essentiellement consommé sous forme de tô, de cous-cous, de «dégué», de beignets et de bouillies. En ville, sa part dans l'alimentation est de plus en plus réduite, eu égard au temps nécessaire pour préparer un plat (décorticage, mouture, cuisson).

Amélioration de la précocité

Les travaux de Dancette [6] au Sénégal ont montré que les besoins en eau des variétés variaient essentiellement avec la longueur de leur cycle. Ainsi, les besoins en eau peuvent être estimés comme suit :

- mil, de 120 jours,
- mil, de 90 jours,
- mil, de 75 jours.

Dans le souci d'éviter la sécheresse de fin de cycle, un programme de sélection de variétés précoces a été entamé :

Le composite précoce. Il a été créé par brassage de 10 écotypes les plus précoces de la Collection Malienne de Mils : semis - 50% floraison = 45 jours. Après 3 générations de recombinaison, ce matériel a été croisé avec la descendance F2/F2 Iniadi (variété togolaise très précoce). Sur un effectif de 1 000 individus de ce composite, les 10 plants les plus précoces ont été sélectionnés pour la constitution de la génération suivante. L'évaluation du produit de cette recombinaison a donné les résultats figurant au Tableau IX.

Création de lignées précoces. A partir des croisements entre les écotypes locaux et des introductions, une sélection généalogique a été appliquée aux meilleures familles F2. Ce matériel, actuellement en F8, s'est révélé très précoce. En outre, son évaluation a permis de mettre en évidence certains problèmes (attaques massives de punaises, plus grandes infestations de chenilles mineuses d'épis, problèmes de gardiennage contre les oiseaux et de séchage). Face à cette situation, il a donc été décidé d'orienter la sélection sur du matériel de cycle intermédiaire mais doté d'une tolérance à la sécheresse post-florale.

De nouveaux croisements entre mils nigériens (Tamangagui, Zongo, Bazaoumé, Guerguera, Zaoufaroua) et mils maliens (Toroniou, Tiotioni, Souna, Sanio, Gaouri) ont été

réalisés. A partir de la F2, une sélection généalogique a été entamée pour combiner la longueur des épis, la compacité de l'épi, la grosseur du grain et la tolérance au mildiou. La sélection dans ces ségrégations sera axée sur l'obtention de différents groupes de précocité (précocité intermédiaire et tardive).

Conclusion

Les contraintes qui pèsent sur l'amélioration de la production sont complexes. Le mil est essentiellement produit par les paysans démunis et dans un environnement très variable.

En ce qui concerne les contraintes techniques, il existe des solutions dont les coûts ne sont pas toujours à la portée de la majorité des paysans. Par conséquent, il est nécessaire d'en tenir compte dans la stratégie à promouvoir.

L'intensification de la production exigera du paysan un effort supplémentaire qui doit être bien rémunéré pour l'inciter à persévérer. L'agriculture traditionnelle est certes peu productive, mais c'est une agriculture très économe en intrants agricoles, donc entraînant très peu de risques économiques. Il est essentiel de partir de cette agriculture pour l'améliorer progressivement, en évitant de la rendre plus fragile :

En Amélioration variétale : pour améliorer les rendements, il faut mettre à la disposition des paysans des variétés améliorées. Certes les premières sélections en milieu paysan se sont révélées souvent inférieures aux variétés locales. Cela dénote toute l'importance des ressources phytogénétiques locales en attendant les nouvelles obtentions. Dans cette situation, la multiplication, le triage, la désinfection et la diffusion des variétés les plus courantes pourraient être une contribution appréciable à l'amélioration de la production. La création variétale doit surtout chercher à réduire le risque climatique en sécurisant la production agricole (résistance à la sécheresse ou meilleur cadrage de cycle des variétés).

En Agronomie et Techniques culturales : dans ce domaine, il est souhaitable de proposer des paquets technologiques facilement acceptables par le paysan. Ces technologies doivent être économes en produits importés, et en investissements faisant appel à l'extérieur. Aux engrais importés, on doit substituer les engrais locaux (phosphate naturel de Tilemsi, fumier amélioré). Les meilleures rotations, sous l'angle du maintien de la fertilité, doivent être développées. La recherche sur le système des cultures associées doit être intensifiée pour mieux définir les types variétaux.

Il est nécessaire que l'écoulement des produits soit assuré. Pour garantir cet écoulement de nouvelles orientations doivent être prises dans l'utilisation du produit.

L'agriculture intensive est une agriculture à rendement élevé mais également à risque économique élevé. Or le producteur de mil a difficilement accès au crédit. A l'heure où l'Europe et les Etats-Unis ont des difficultés à gérer leurs surplus agricoles, il est important d'avoir cela à l'esprit dans le cadre de la stratégie à promouvoir.

Références

1. Blondel D. (1971). Contribution à l'étude de la croissance de la matière sèche et de l'alimentation azotée des céréales de cultures sèches au Sénégal. *Agronomie tropicale* ; 26 : 697-706.
2. Bono M. (1973). Contribution à la morphosystématique de *Pennisetum annuel*, cultivés pour leurs grains en Afrique Occidentale Francophone. *Agronomie tropicale* ; 3 : 229-355.

3. Bouchet P. (1963). Les mils et sorghos dans la République du Mali. *Agronomie tropicale* ; 1 : 107-85.
4. Coulibaly SS, Kante A, Niangado O, Scheuring JF. (1984). Etude des qualités organoleptiques et nutritionnelles des mils maliens : Contribution à l'atelier régional sur l'amélioration variétale du mil en Afrique de l'Ouest. Centre Sahélien de l'ICRISAT : 31 août au 4 septembre 1984.
5. Dancette C, Poulain JF. (1968). Influence de l'*Acacia albida* sur les facteurs pédoclimatiques et les rendements des cultures. *African soils* ; 3 : 197-239.
6. Dancette C. (1983). Besoins en eau du mil au Sénégal. Adaptation en zone semi-aride tropicale. *Agronomie tropicale* ; 34 : 331-344.
7. DNSI. (1985). Rapport de l'Enquête agricole 1982-1983 Mali, février 1985.
8. Giri J. (1983). *Le Sahel demain : Catastrophe ou Renaissance ?* Editions Karthala.
9. Jacquinet L. (1972). Résultats et perspectives des recherches au Sénégal sur la potentialité du mil céréalier (*Pennisetum typhoides*). *Agronomie tropicale* ; 27 : 815-821.
10. Mariko MA. (1986). Evaluation de différents écotypes de mils sauvages et intermédiaires selon différentes caractéristiques morphologiques. Mémoire de fin d'étude IPR, décembre 1986.
11. Niangado O, Diourte M, Traore K, Scheuring JF. (1984). Production et amélioration variétale du mil au Mali. Contribution à l'atelier régional sur l'amélioration variétale du mil en Afrique de l'Ouest. Centre Sahélien de l'ICRISAT, 31 août au 4 septembre 1984.
12. Pasquereau J. (1985). L'inventaire des mils et des sorghos cultivés au Mali.
13. Roger ZC, Ramaiah KV. (1981). Recherche sur le striga du mil à l'ICRISAT Haute-Volta. Article présenté au second atelier international sur le striga par IGRISAT/IRDC, Ouagadougou, Haute-Volta 5-8 octobre 1981.
14. Scheuring JF. (1980). ICRISAT millet improvement in CILSS countries of West Africa. Paper presented at the CILSS meeting on food crop improvement 8-10 december 1980, Ouagadougou, Upper-Volta.
15. Selvaraj C. (1985). Rapport annuel de la Commission Technique SRCVO, avril 1986. Phytopathologie PLI/SRCVO.
16. Siband P. (1983). Essai d'analyse du fonctionnement du mil *Pennisetum typhoides* en zone sahé-lienne. *Agronomie tropicale* ; 38 : 36.
17. Sissco M. (1982). Etude de quelques-unes des populations d'intensification de la culture du mil : comparaison de 2 phénotypes *mil nain* - *mil local* sous différentes conditions de densité et de fertilisation; Mémoire de fin d'étude IPR, novembre 1982.
18. Williams RJ, Andrews DJ. (1982). Breeding for diseases and resistance in Pearl millet. Paper prepared for discussion at the FAO expert consultation and breeding for durable resistance in Africa. Iita, Nigeria, 25-29 october 1982.

9

Amélioration de la productivité du mil pénicillaire (*Pennisetum americanum* L.) au Niger. Conditions de travail et principales orientations de la recherche en matière de sélection variétale

N. JIKA

INRAN. BP 429, Niamey, Niger

Cadre géographique et systèmes de production

Situé dans la zone tropicale sèche, le Niger, comme tous les autres pays du Sahel, est soumis à l'influence d'un climat continental sahélien. Le pays bénéficie annuellement d'une saison de pluie allant de juin à septembre avec généralement un maximum de précipitation au mois d'août. La durée de la saison pluvieuse est d'autant plus courte que l'on remonte vers le nord du pays. Les isohyètes, approximativement parallèles aux tropiques, passent de 850 mm environ (extrême sud du pays) à 50 mm (nord du pays). La zone utile de production agricole s'étend de la frontière sud à l'isohyète 250. Dans cette bande de terre relativement large, le mil représente la culture principale ; environ 3 500 000 hectares de terres dunaires lui sont régulièrement consacrés. Il est le plus souvent cultivé en association avec d'autres espèces telles que le niébé (*Vigna unguiculata* L. wals), l'arachide (*Arachis hypogaea*) ou le sorgho (*Sorghum bicolor* L. Moench). Le rendement moyen des cultivars locaux dans le système de production traditionnel ne dépasse guère 500 kg à l'hectare. La production de mil est étroitement liée à l'importance, mais surtout à la répartition des pluies dans l'espace et le temps.

Evolution de la production globale de mil au Niger de 1973 à 1983 (en milliers de tonnes)

(Source : Ministère de l'Agriculture et de l'Environnement)

Année :	1973	1974	1975	1976	1977	1978	1979	1980	1981	1982	1983
Production :	627	883	581	1 019	1 130	1 123	1 255	1 363	1 314	1 292	1 320

L'augmentation sensible de la production à partir de 1977 est liée à plusieurs facteurs dont les plus importants sont l'accroissement progressif des superficies emblavées et la vulgarisation en milieu paysan de thèmes techniques développés par la recherche (variétés améliorées, densité de semis, engrais, traitements phytosanitaires, etc.).

Impact actuel des variétés locales dans la production globale

La contribution des cultivars locaux traditionnels dans la production du mil est encore très importante au Niger. Ces variétés de grande taille peuvent être généralement classées en deux grands groupes distincts :

Mils tardifs (120 à 130 jours). Photosensibles, ils fleurissent fin septembre dans les conditions du Niger. Ils sont surtout cultivés dans la partie sud du pays où la pluviométrie est généralement suffisante pour leur permettre d'accomplir leur cycle de développement. Leur contribution dans la production globale est inférieure à 10% (Jika et Ouendeaba, 1985).

Les mils précoces (cycle 80 à 95 jours). Peu sensibles à la photopériode, ils fleurissent aux environs de 60 jours après le semis. La majeure partie de la production de mil du pays (90 à 92%) provient des variétés de ce dernier groupe ; leur cycle cadre bien avec la durée de la saison des pluies.

Facteurs limitants de la productivité du mil

Bien que peu productifs, les populations locales de mil sont bien adaptées à leur environnement. En effet :

L'incidence du charbon (*Tolyposporium penicillariae* bref.) ou du mildiou (*Sclerospora graminicola* (sacc), shroet) sur leur rendement en grain est faible (Rapport INRAN, 1985) et à ce jour aucun cas d'ergot (*Claviceps microcephala* (wallr) Taul.) n'est signalé sur les populations locales de mils nigériens.

Cependant, les dégâts occasionnés par certains insectes tels que la mineuse des chandelles (*Raghuva albipunctella*), les borers des tiges (*Acigona ignefusalis*) et les insectes suceurs (*Dysdercus veulkeri*) sont parfois inquiétants (Rapport INRAN, 1987). Parmi ces mils, les plus précoces sont régulièrement exposés aux attaques des oiseaux granivores (*Quelea quelea*) avant et après la maturation des graines.

L'influence du *Striga hermonthica* (plante parasite du mil) sur le rendement en grain, bien que limitée à certaines zones de production du pays, est de plus en plus préoccupante, compte tenu de la rapidité de dissémination des semences de ce parasite (Rapport Annuel INRAN, 1986).

Outre les contraintes biologiques dues aux insectes et aux maladies, la productivité des variétés locales du petit mil est largement influencée par la faible fertilité des sols (sableux fortement lessivés, pauvres en matière organique) et les méthodes culturales ancestrales pratiquées par la majorité des producteurs.

Systèmes de production traditionnels

Dans le système de production traditionnel, les variétés locales et locales améliorées sont essentiellement cultivées en association avec d'autres espèces (Jika et Ouendeba, 1985 ; Reddy et Oumara, 1985). Les associations les plus fréquemment rencontrées sont les suivantes :

Mil-niébé. Mode d'association régulier dans toutes les exploitations du pays, mais prédominant dans l'ouest et le centre du pays.

Mil-sorgho. Association courante dans le centre du pays ; ce type d'association intervient généralement après une mauvaise levée du mil. Cette pratique permet de compenser, en semis croisés, les poquets manquants de mil.

Mil-arachide. Association moins courante mais pratiquée dans le centre et l'est du pays.

Quel que soit le type d'association utilisé, le but recherché par les producteurs est de garantir un minimum de production alimentaire par unité de surface.

Stratégies utilisées en matière d'amélioration génétique des mils nigériens

Le programme de sélection variétale du petit mil concerne surtout les variétés locales relativement précoces (80 à 85 jours), pour lesquelles une importante collection de travail est entretenue.

Collection de travail de l'INRAN : source de grande variabilité génétique

Les mils locaux nigériens, généralement de grande taille, sont très diversifiés et présentent une grande variabilité génétique inter- et intra- population (cycle : de développement des plants, diamètre, longueur et compacité de l'épi, hauteur et diamètre de la tige, poids de 1 000 grains, etc.). L'exploitation rationnelle de cette variabilité génétique doit permettre aux sélectionneurs d'accroître de manière substantielle non seulement la productivité en grain, mais également la résistance aux maladies et aux insectes ravageurs.

L'Institut National de Recherches Agronomiques du Niger (INRAN) dispose d'une importante collection de travail où tous les écotypes locaux sont représentés. Deux cent vingt-huit entrées de variétés locales sont actuellement disponibles. Par ailleurs, plusieurs cultivars introduits à partir d'autres pays sont intégrés et maintenus dans la collection de travail. Parmi ces cultivars, certains d'origine africaine s'apparentent beaucoup aux mils locaux nigériens. Les introductions d'origine américaine ou indienne, quant à elles, présentent une extrême sensibilité aux maladies (mildiou, charbon et ergot notamment).

L'INRAN dispose d'environ 500 lignées à variabilité étroite, toutes issues des populations locales ou exotiques. Ces lignées sont conservées pour leur éventuelle utilisation dans les travaux de sélection. Plus de 300 d'entre elles sont de grande taille. Les entrées à tige courte sont toutes issues de croisements entre les variétés locales et une source de brachytisme «D2» d'origine indienne. Des lignées mâles stériles et leur mainteneurs sont également conservés au sein de la collection.

Cette banque de gènes des populations autochtones régulièrement régénérées au niveau des structures de travail de l'Institut est constamment sollicitée tant par les sélectionneurs nationaux que par ceux des pays voisins et de certaines institutions internationales (ICRISAT, INSAH, SAFGRAD).

Techniques de sélection et principaux résultats obtenus

Les méthodes classiques de sélection (sélection récurrente, sélection massale et généalogique, etc.) appliquée aux populations locales ont déjà permis aux sélectionneurs de mettre au point de nouveaux cultivars plus productifs que les populations traditionnelles (Rapports techniques INRAN, 1985).

Associée à ces techniques de sélection bien connues, une méthode de sélection de population dite « méthode d'épuration » est pratiquée par les sélectionneurs du petit mil de l'INRAN. Cette approche pragmatique, fondée sur la grande variabilité des populations locales, et un contrôle plus ou moins répété du parent mâle ont pour finalité de mettre rapidement à la disposition des paysans nigériens des variétés – populations plastiques, productives et tolérantes aux maladies et insectes nuisibles. Ces cultivars présentent par ailleurs l'avantage d'être conformes aux populations originelles (forme de l'épi, couleur et qualité du grain, etc.) et donc plus facilement vulgarisables en milieu paysan.

La méthode d'épuration des populations locales dont le schéma est présenté ci-dessus présente trois avantages importants :

- 1) la mise au point et la multiplication après cinq ans de semences de populations à large variabilité génétique adaptées au milieu et directement transférables en milieu paysan,
- 2) le développement après six ans de nouvelles populations (P2) homogènes,
- 3) l'obtention de lignées à base génétique étroite (inbreds) utilisables dans d'autres programmes de sélection.

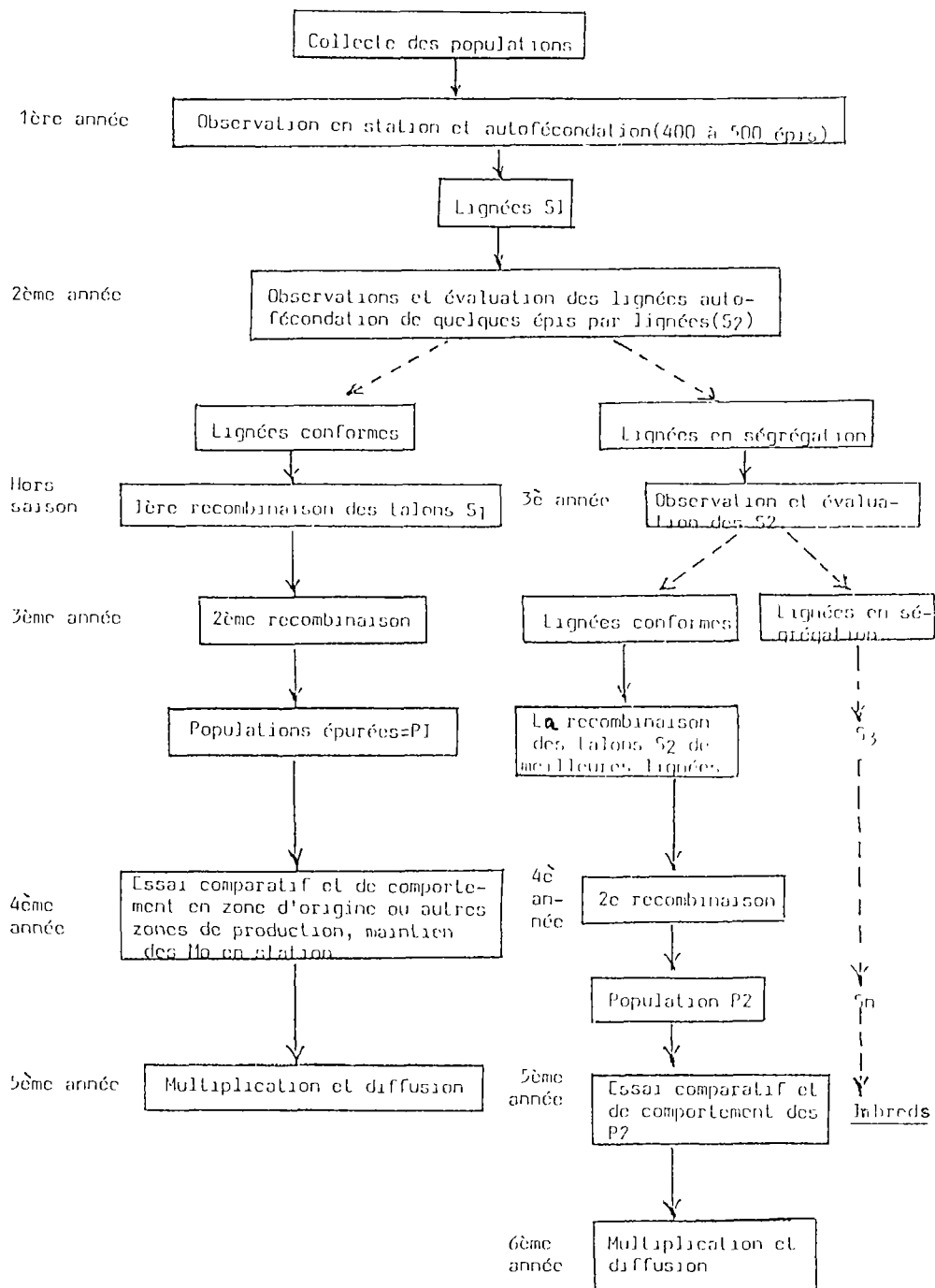
Méthode d'épuration

Voir figure 1.

Principaux résultats obtenus

D'importants progrès sont accomplis au Niger dans le domaine de l'amélioration de la productivité du mil tant par la pratique des méthodes classiques de sélection que par la méthode d'épuration des populations locales.

Figure 1. Méthode d'épuration.



Résultats des essais comparatifs de variétés améliorées par sélections récurrentes

Trois cultivars améliorés et deux locaux ont été comparés au témoin de productivité P3 Kolo dans six localités du pays en 1974 et 1975. Les résultats présentés dans le Tableau I illustrent le gain en rendement grain (exprimé en pourcentage) par rapport au rendement de kg/ha du témoin (Rapport technique IRAT/NIGER, 1975).

Tableau I.

Site	Kolo	Bengou	Kala-Paté	Kawara	Tarna	Magaria
Entrée :						
P3 Kolo (100 %)	1 342	1 515	865	1 519	1 934	677
HKN	116	110	124	25	103	124
CIVT	110	105	112	101	94	120
HKP	113	—	72	107	101	130
Ex-Bornu	52	83	73	69	—	54
Ankoutess (Locale)	56	84	74	69	76	106

Ce tableau montre que les méthodes de sélection classiques sont incontestablement efficaces pour le développement de nouveaux cultivars performants.

Dans la plupart des localités où les essais ont été conduits, les cultivars améliorés CIVT, HKN et HKP ont donné des rendements supérieurs à ceux du témoin :

- 24% à Kala-Paté et Magaria pour le HKN,
- 13 et 30% à Kolo et Magaria respectivement avec le HKP.

Résultats des essais comparatifs de cultivars développés par épuration

Des tests de comportement et de productivité conduits en deux campagnes consécutives, dans quatre localités ont donné les résultats présentés dans le Tableau II.

Tableau II.

Site	Tarna		Magaria		Kolo		Bengou	
	1981	1982	1981	1982	1981	1982	1981	1982
Entrée :								
GR-PI	—	556	—	1 360	—	1 990	—	—
HKB-PI	1 986	633	951	790	782	1 510	2 342	2 830
T-188L	2 369	627	—	1 126	—	1 600	—	3 190
DG-PI	1 776	453	1 188	813	644	1 310	2 226	2 910
HKP3	1 903	—	811	530	798	1 200	—	1 160
C. Zongo	1 907	1 300	1 195	170	2 477	—	1 940	1 590
CIVT								
(Témoin)	1 460	755	1 748	1 280	—	1 880	2 303	2 820
Pluviométrie (en mm)	(384)	(285)	(441)	(350)	(376)	(401)	(976)	(609)

Ces résultats montrent la bonne performance des nouveaux cultivars par rapport au témoin de productivité utilisé. Dans toutes les localités, exception faite de Magaria, le témoin est régulièrement dépassé par une variété nouvelle. Il est cependant important de noter que les rendements obtenus d'une année à l'autre dans chacune des localités sont étroitement liés à la quantité des précipitations et à leur répartition dans le temps.

Les cultivars améliorés mis au point par l'INRAN et actuellement vulgarisés ou en pré-vulgarisation au Niger peuvent être classés en deux grands groupes :

— Groupe à cycle intermédiaire (86 à 95 jours) : ZA-PI, TB-PI, GR-PI, DG-PI, T 18-L et CT-2

— Groupe à cycle court (80 à 85 jours) : HKB-PI, BA-PI, AK-PI, MO-PI, HKB-Tift, HKP3 et H 80-10 GR.

L'INRAN collabore étroitement avec plusieurs organismes régionaux et internationaux susceptibles d'apporter leur contribution à l'effort national d'amélioration de la productivité des mils nigériens. L'Institut du Sahel (INSAH), le SAFGRAD, l'ICRISAT (International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics) et l'IAR (Institut nigérien de Recherches Agronomiques) contribuent directement ou indirectement au développement et à l'évaluation de tout nouveau matériel obtenu par l'INRAN.

Conclusion

Les résultats exposés dans le présent document démontrent que les méthodes classiques de sélection restent efficaces dans l'amélioration de la productivité du mil. Ces méthodes constitueront pour longtemps encore les voies les plus facilement accessibles et les moins onéreuses pour le développement de nouveaux cultivars adaptés et productifs non seulement pour le mil, mais également pour les principales espèces vivrières cultivées dans les pays en développement. Il n'est cependant pas exclu que le rapide développement de nouvelles technologies en matière d'amélioration des plantes puisse contribuer efficacement dans ces pays à la mise au point de cultivars performants. Pour ce faire, il est indispensable que les compétences scientifiques internationales soutiennent les pays en développement pour la réalisation d'un inventaire exhaustif et la valorisation de toutes les ressources phylogénétiques qui y sont disponibles afin de leur permettre d'assurer l'autosuffisance alimentaire de leur population.

Références

1. IRAT. (1975). Rapport annuel.
2. INRAN. (1982, 1983, 1984, 1986). Rapports annuels.
3. INSORMIL-INRAN. (1987). Niger sorghum and millet workshop. 13-17 octobre 1987, Niamey.
4. Atelier régional sur l'amélioration du mil en Afrique de l'Ouest. (1984). 31 août-4 septembre 1984, Niamey.
5. INRAN. (1979). Programme développement de la culture du mil au Niger 1979, 1983.
6. INRAN. (1984). Programme développement de la culture du mil au Niger 1984, 1988.

10

Protection des plantes. Evolution, adaptation. Propositions pour les cultures vivrières tropicales

A. COLENO

INA. PG/INRA, 16, rue Claude-Bernard, 75231 Paris Cedex

Dans un monde où le problème de la faim est crucial, la protection des cultures et des denrées stockées prend une importance considérable. Les statistiques les plus récentes, celles de Sheets et Pimentel [11], évaluent selon le cas de 2 à 20% de la production les pertes dues aux ravageurs, aux maladies, à la concurrence des mauvaises herbes. Dans les pays tropicaux, ces chiffres sont fortement aggravés par l'importance des pertes en conservation. Ils sont à l'évidence directement reliés aux modes de développement et aux systèmes de culture choisis. Il ne peut y avoir de bonne protection des cultures qu'adaptée aux conditions de chaque agriculture et s'il est ambitieux et même irréaliste de prétendre définir exactement la protection des cultures vivrières tropicales, du moins peut-il être possible d'en dégager d'une manière non exhaustive quelques principes fondamentaux. Tel est l'objectif de cette étude. La lutte phytosanitaire moderne répond aux changements de l'agriculture, elle met en œuvre des méthodes chimiques, biologiques, génétiques.

Evolution des méthodes de lutte chimique

L'histoire des pesticides a été maintes fois contée et d'excellentes revues jalonnent la littérature. A titre d'exemple McCallan [3], dans le traité *Fungicides* de Torgeson, relate l'émergence de l'idée de substances antifongiques utilisables sur les plantes en soulignant les apports connus ou méconnus de tel ou tel de nos prédécesseurs. Il montre très bien la dépendance de cet événement avec la mise en évidence de l'origine biologique (fongique) de quelques grandes affections des végétaux. Il divise le temps en trois grandes périodes : celle du soufre, celle du cuivre, celle des substances organiques de synthèse. Dans les

premières préparations à base de soufre réalisées en 1802 par W. Forsyth [1], on peut noter la présence de décoction de feuilles de tabac et de bourgeons, ce qui leur donnait par ailleurs un effet insecticide. Les premiers insecticides utilisaient des substances naturelles (nicotine, pyrèthre). Tous ces produits naturels présentaient un intérêt incontestable accompagné souvent de phytotoxicités gênantes. En ce qui concerne les fongicides, Horsfall conte avec beaucoup d'humour et de vivacité la naissance de la troisième génération de substances fongicides : les organiques de synthèse. Chacun sait le développement qui a suivi et qui est le fruit de la formation scientifique de J.G. Horsfall et de ses approches pragmatiques. Mais ceci n'a été possible que par l'engagement certes intéressé, mais total, de la plupart des grandes entreprises chimiques. Les insecticides, les herbicides en général ont suivi des voies de développement analogue. Il s'est en effet rapidement mis en place des services de recherche pratiquant des screenings systématiques dans le cadre de grilles établies en fonction de critères de rentabilité.

Une telle approche a privilégié l'aspect qualitatif. Dans une telle opération, il est en effet fondamental de disposer de tests précis et rapides, peu encombrants, qui permettent de mesurer l'impact éventuel d'une substance d'épreuve, il faut également disposer de techniques de production d'inoculum, d'élevages d'insectes, de cultures de mauvaises herbes ou d'organismes végétaux, d'inoculations standardisées et également précises. Il n'est, par contre, pas vraiment nécessaire de bien connaître, au plan moléculaire, le mode d'action de la substance essayée. Enfin, le choix du couple plante/parasite, plante/insecte, plante/mauvaise herbe, dépend souvent de l'importance des futurs marchés. Dans ces conditions, tous les domaines d'application ont été abordés (traitement en champs, traitement de semences, traitement de bois, traitement de sols). Le bilan global de la protection chimique des plantes est à l'heure actuelle positif, quelle que soit l'acception que l'on donne à ce terme. On note en effet une réduction notable des pertes dues aux parasites. Ainsi la statistique citée plus haut [11] évalue entre 2 et 60% le gain de production assuré par une protection chimique correctement conduite.

Evolution de la lutte biologique

Cette forme de lutte s'est particulièrement développée depuis les années 1960, d'abord aux USA, puis en Europe, sous l'impulsion de l'OILB (Organisation Internationale de la Lutte Biologique). Elle a pour principe d'utiliser les antagonistes ou les prédateurs naturels (on les appelle auxiliaires), des populations de ravageurs de parasites ou de mauvaises herbes soit en favorisant leur développement, soit en réalisant des introductions contrôlées dans les milieux qui n'hébergent pas ces auxiliaires. Ces derniers peuvent être des microorganismes ou des animaux divers. Une voie particulière est celle qui permet d'une manière ou d'une autre de brouiller les communications entre individus de la même espèce. Tel est, par exemple, le cas des phéromones sexuelles, dont l'emploi au moment de l'accouplement empêche les mâles de localiser les femelles : c'est la confusion des mâles. Il existe quelques cas de lutte biologique appliquée aux parasites des plantes : le *Trichoderma viridae* ou *harzianum* est utilisé, par exemple, pour lutter contre les parasites des arbres fruitiers et de la vigne. Le phénomène d'hypovirulence contagieuse est à la base de la seule lutte possible contre le chancre à *Endothia* du châtaignier. Dans le domaine de la lutte contre les mauvaises herbes, la lutte biologique a également été proposée et on connaît quelques cas concrets d'application. Nos collègues du CSLRO ont une activité permanente dans ce domaine. Mais, d'une manière générale, ce sont les entomologistes qui ont fait en

ce sens le plus d'efforts et qui sont en mesure de proposer à l'heure actuelle les exemples les plus performants. On peut citer parmi d'autres la lutte biologique contre les vers du pommier par confusion ou par utilisation d'insectes (trichogramme), de virus (granulose), de champignons (*Beauveria*), la lutte biologique contre l'aleurode des serres par l'utilisation d'insectes (*Encarsia formosa*).

Dans un cas précis, la démarche a été plus complète. Après avoir étudié le mécanisme d'action d'une bactérie (*Bacillus thuringiensis*), la protéine toxique responsable a été isolée et produite par des procédés biotechnologiques. Le gène responsable a également été cloné puis introduit dans une plante, lui conférant ainsi une résistance incontournable.

Evolution de la lutte génétique

La recherche de la performance a fait évoluer de manière très rapide nos peuplements végétaux. Nous cultivons à présent, sur de grands espaces et en nombre réduit, des variétés à base génétique étroite (Marshall, 1977) offrant ainsi aux parasites et aux prédateurs un développement homogène, ce qui favorise l'extension de leur population. Pour différentes raisons, mais sans doute parce que nous avons privilégié dès le départ la recherche de résistance absolue, les géniteurs de résistance introduits dans les croisements ont apporté des résistances spécifiques sélectionnées vis-à-vis de telle ou telle race parasitaire. La pression de sélection ainsi imprimée aux populations parasitaires a souvent permis la sélection de souches capables de surmonter les gènes introduits. Les analyses de situation faites par différents auteurs [9, 10, 13] ont conduit à une réflexion stratégique sur la nature des gènes de résistance et sur leur mode d'emploi. Les programmes d'amélioration pour la résistance sont conduits maintenant de manière différente : définition des idéotypes après simulation [8], définition de nouvelles stratégies de sélection [4], recherche de modalités de sélection pour la résistance générale [5, 6] ; par ailleurs, des réflexions ont été engagées sur le mode d'emploi des gènes de résistance spécifique : alternance ou mélange de lignées isogéniques ne différant que par des gènes de résistance spécifique ou de variétés de composition connue. L'objectif étant chaque fois de diversifier au plan génétique la structure de la population végétale et de s'opposer à la sélection de races parasitaires adaptées.

Dans le domaine de la résistance aux prédateurs, les bases sont déjà rassemblées pour une réflexion parallèle. La comparaison du comportement des nématodes *Heterodera avenae* et *Meloidogyne naasi* sur céréales amène F. Person-Dedryver [7] à montrer que l'apparition de pathotypes est bien une réponse à la recherche et à l'utilisation de résistances oligogéniques. On peut trouver également des exemples caractéristiques de résistance générale qui pourraient être décomposés en plusieurs attributs exploitables. Ainsi, le comportement des pucerons sur diverses variétés de melon permet de mettre en évidence [2] des résistances à l'acquisition ou à la transmission des virus. Comme pour la résistance aux parasites, la résistance aux prédateurs utilise des résistances générales.

Dans ces trois domaines, lutte chimique, lutte biologique, lutte génétique, le développement des idées a été considérable, cela ne s'est pas fait sans conséquences, ni sans biais, dès lors que l'on considère une forme d'agriculture dispersée, ce qui est le cas des cultures vivrières.

Avant d'avoir, sur ce thème, une réflexion structurée et concluante quant à la protection moderne des cultures, nous allons voir que son développement a été générateur de progrès, mais qu'il pose des interrogations fondamentales.

Un développement générateur de progrès

D'ordre technique

Les premiers produits fongicides étaient principalement à base de métaux, essentiellement cuivre et mercure.

Ces produits étaient efficaces ; ils exerçaient une action de contact très diversifiée sur les composants cellulaires ; ils étaient aussi très toxiques soit pour la plante, soit pour l'environnement. Tour à tour, les substances se sont faites pénétrantes, puis systémiques (ascendantes ou descendantes). Enfin, rompant avec les modes d'action traditionnels, certaines exercent maintenant leur action non pas directement, mais en stimulant les défenses de la plante. La mise en évidence et l'étude des différentes modalités de pénétration et de translocation amènent des progrès considérables dans la compréhension du mode d'action des substances fongicides. Des recherches précises ont été stimulées portant sur le transport apo- ou symplastique, sur les cibles primaires de ces substances et les particularités moléculaires qui les expliquent. De même, des études sur le processus de dégradation à l'intérieur et à l'extérieur du végétal ont été développées, d'abord descriptives et maintenant explicatives. Je pense en particulier à ce qui est développé à l'heure actuelle sur le rôle des enzymes à cytochrome P 450. De même, les études sur la physiologie des insectes et des mauvaises herbes, d'une manière générale l'étude des cibles oriente la recherche vers une approche tout à fait déterministe du mode d'action des pesticides et des modalités de leur emploi.

Dans le domaine de l'application, des progrès considérables ont été obtenus pour la formulation. Nos collègues industriels savent, à partir d'une matière active, élaborer des préparations commerciales qui tiennent compte des conditions climatiques et des techniques culturales. Les procédés de dispersion ont considérablement évolué, jouant sur les vecteurs autant que sur les appareils. Nous sommes en mesure actuellement de disperser de manière homogène 1 litre par hectare, diminuant ainsi la charge polluante et le coût de dispersion.

Les études menées dans le cadre de la lutte biologique ont favorisé les recherches sur le comportement des espèces et sur les phénomènes de régulation qui portent sur leur population. La prise en compte des cycles biologiques et l'influence des facteurs du milieu permettent la réalisation de simulations fructueuses.

Les réflexions engagées en matière de résistance des plantes entraînent un renouveau des idées sur la résistance, son support génétique, sur les schémas de sélection.

L'importance de ce mode de lutte phytosanitaire, la connaissance des gènes impliqués dans ces mécanismes de résistance font de ce domaine un des premiers qui bénéficieront des techniques modernes de transfert de gènes (transfert par Ri ou Ti, transfert par électroporation, etc.).

D'ordre réglementaire

L'apparition d'un nombre croissant de substances antiparasitaires a posé rapidement des problèmes de protection industrielle et de nomenclature. Ces derniers résolus au niveau international dès les années 1950 par un Comité de l'organisation internationale de standardisation, la mise en marché de ces produits a été rapidement réglementée dans tous les pays développés. Des instances de contrôle de l'efficacité et de l'innocuité ont été installées. Les progrès correspondent globalement autant à la protection des découvertes qu'à celle de l'utilisateur et des consommateurs.

On peut mesurer les effets et les progrès par la précision des textes qui régissent actuellement la profession et par la généralisation de l'approche. On peut aussi les mesurer en entrant dans le détail des exigences auxquelles doit satisfaire un produit avant d'être accepté. Il faut en moyenne sept années d'expérimentation avant de présenter un dossier d'homologation qui ait des chances d'être retenu. Ce dossier de plusieurs centaines de pages rend compte de données d'efficacité (plusieurs années d'expérimentation sous tous climats et dans des conditions culturales variées), de toxicologie (toxicité immédiate, à court terme, à long terme, tératogénèse éventuelle), d'écotoxicologie (toxicité vis-à-vis de l'environnement, du gibier, des poissons, des auxiliaires de l'agriculture et maintenant des micro-organismes symbiotiques du sol et de la microflore en général), de physique et de chimie (conditions de translocation, de dégradation des produits, tant en ce qui concerne les voies utilisées que la durée de la dégradation, chacun des produits de la dégradation étant examiné au même titre que la substance originelle).

On peut enfin mesurer les progrès réalisés en observant l'évolution des techniques et des méthodes utilisées pour évaluer tel ou tel effet. C'est ainsi qu'en matière de toxicologie, ont été introduites successivement des épreuves permettant la mise en évidence de la toxicité à long terme puis de la tératogénèse et maintenant de la génotoxicité. Sans être spécifiques des substances antiparasitaires à usage agricole, elles s'inscrivent dans l'ensemble des mesures qui permettent de rendre toujours plus sûr l'emploi des pesticides. Par ailleurs, dans le vaste champ de la communication, l'évolution est notable depuis la première collection de données publiées sur les fongicides (Lodeman, 1896). Des ouvrages très divers ont vu le jour : traités sur les pesticides et leur action, sur les principes de la protection des plantes. Dans de nombreux pays existent à l'heure actuelle des index révisés annuellement, donnant les matières actives, les spécialités commerciales et leurs principales caractéristiques techniques : efficacité, dose d'emploi, toxicité, délai de carence éventuelle, formulation. Souvent y sont adjoints des renseignements de type réglementaire.

L'index phytosanitaire édité par l'ACTA en France ajoute depuis peu des données concernant l'usage sous climat tropical. Les usagers bénéficient en outre, sous forme de documents de présentation écrite ou diffusée par d'autres voies, de renseignements précis sur telle ou telle spécialité, sans oublier ceux ayant trait, d'une manière générale, aux précautions d'emploi. Cette information est-elle adaptée à tous public ? A notre avis, non. Un effort considérable reste à faire pour la rendre accessible au public des pays en voie de développement. Nous en reparlerons.

D'ordre tactique

Les produits pesticides, d'abord utilisés seuls, ont assez rapidement été proposés en mélange dans le souci de diminuer les interventions et de manière à assurer les protections simultanées souvent vis-à-vis des parasites et des prédateurs. La mise en évidence puis la prise en compte de l'évolution qualitative des populations parasitaires, surtout en ce qui concerne la résistance à tel ou tel produit de traitement, amènent à raisonner en terme d'alternance ou de mélange de produits possédant le même spectre mais agissant selon des modalités différentes. Ceci correspond à un changement fondamental de tactique. A un schéma, un produit, une cible, un effet, se substitue peu à peu un schéma plus global : ensemble de produits, un parasite ou un prédateur dans son environnement et au sein d'une population hétérogène, plusieurs effets.

D'ordre stratégique

Le chemin est long également entre une époque où le traitement chimique était considéré comme une arme définitive et celle dans laquelle nous sommes entrés où le concept de lutte intégrée est désormais établi. Il existe des cas concrets de protocole où des formes de lutte différentes (lutte chimique, biologique) se mêlent heureusement. Chacune d'entre elles concernant le même objet (traitement antiparasitaire du vignoble ou des arbres fruitiers, lutte intégrée en serre contre insectes et parasites). Il existe également des cas concrets où le raisonnement intègre la structure et l'importance du peuplement végétal, la structure et l'importance des populations parasitaires (lutte intégrée en vergers, lutte génétique sous couverture fongicide).

A l'évidence donc, à la suite de ces quelques remarques non exhaustives, l'histoire de la lutte phytosanitaire montre des progrès de tout ordre, tant au niveau conceptuel que pratique, directement initiés dans le cadre de la protection des plantes ou correspondant à des avancées scientifiques d'autres disciplines. Le tableau étant finalement celui d'une science en mouvement, avec ses succès et ses interrogations.

Des interrogations fondamentales

«*Nécessité fait loi*», il est certain que la plupart des progrès dont nous avons parlé sont les conséquences logiques du développement de la lutte chimique, mais bon nombre d'entre eux sont au moins partiellement des réponses aux grandes interrogations auxquelles les responsables de la protection des plantes ont dû faire face.

Problème de la toxicité pour l'homme et l'environnement

Pour le grand public, il a été soulevé en 1962 par le livre controversé et bien connu de Rachel Carson, *Printemps silencieux*, soulignant les problèmes d'empoisonnement des chaînes alimentaires et, d'une manière générale, le problème des résidus et de leur persistance. De temps à autre, heureusement rarement, une catastrophe à la source (drame de Seveso) nous rappelle les risques importants liés à l'industrie des pesticides. Au niveau de l'emploi, des accidents que l'on rencontre encore de nos jours, surtout dans les pays en voie de développement, montrent que nous avons encore beaucoup à faire pour que soient bien assimilées les règles élémentaires d'utilisation. En ce qui concerne l'impact sur la faune et la flore, si les effets non intentionnels négatifs des produits phytosanitaires ont fait l'objet de nombreux recensements d'ordre qualitatif, nul ne sait mesurer à l'heure actuelle l'impact sur un agroécosystème. Les écologues savent en effet décrire ce système et ils ne peuvent pas nous dire quels sont les paramètres internes qu'il conviendrait de suivre pour évaluer le moment où un agroécosystème va vers un déséquilibre irréversible.

A notre avis, le problème de l'environnement posé de manière ponctuelle (impact sur les abeilles, sur les bactéries fixatrices d'azote...) ne pourra être bien résolu que lorsque des textes d'ensemble pourront être proposés.

Problème de la résistance des parasites aux produits de traitements

Le phénomène de résistance concerne maintenant de nombreuses molécules. D'une manière générale, on peut dire que l'existence de variants résistants dans une population est l'ex-

pression de la variabilité de cette même population indépendamment de l'usage des fongicides. Leur emploi permet par contre de sélectionner ces variants. Nous sommes donc en présence d'un phénomène inéluctable dont l'importance est nulle ou plus ou moins grande selon la fréquence d'apparition des variants (donnée qui n'est pas connue exactement pour les molécules qui nous préoccupent) et la fréquence d'utilisation de la matière active. La solution du problème passe par la connaissance de ces données (variable pour la première en fonction de l'environnement), les connaissances des lois de développement des populations parasitaires concernées et la mise en place d'une stratégie nouvelle qui ne pourra se concevoir correctement qu'à l'échelle régionale [12].

Problème des cultures de petite dimension

La structure adoptée pour la recherche des molécules efficaces a privilégié un certain nombre de marchés porteurs au plan commercial. De ce fait, les solutions mises au point ne s'appliquent pas forcément à certains couples plantes-parasites ou bien ne tiennent pas compte d'un environnement particulier. C'est ainsi qu'en dehors des plantes industrielles, les cultures tropicales, surtout vivrières, n'ont guère bénéficié de recherche adaptée. Il en est de même pour quelques plantes maraîchères des climats tempérés.

Limitations de la lutte biologique

La lutte biologique n'offre pas à l'heure actuelle l'universalité souhaitée au départ, même si on peut la créditer de quelques résultats spectaculaires. Il est possible sans doute d'y trouver plusieurs explications parmi lesquelles nous en privilégierons quatre : les exigences considérables de précision et de mise au point qui se traduisent par un temps de travail très long (souvent plus de vingt ans), les difficultés de standardisation des techniques qui obèrent l'exploitation industrielle, l'exigence en qualification au niveau de l'utilisateur qui lui demande un engagement total, les problèmes d'homologation encore imparfaitement résolus.

En définitive, la protection des plantes offre le visage :

d'une discipline moderne avec

- le développement d'une recherche de substances actives fondée sur les relations entre structure et activité ;
- le développement d'études intégrées sur l'évolution qualitative et quantitative des populations des ennemis des cultures en relation avec le milieu et les peuplements végétaux ;
- l'introduction des techniques du génie génétique pour modifier et exploiter plantes et microorganismes ;
- les recherches sur les moyens de stimuler les défenses naturelles de l'hôte, les déplacements favorables des populations de surface et les moyens de maintenir de nouveaux équilibres ;
- la stimulation des mécanismes de contrôle biologique ;
- la mise en place de nouvelles stratégies de sélection pour la résistance.

d'une discipline de communication avec

- le développement de données informatisées ;
- l'introduction de logiciels d'aide à la décision utilisant concepts et méthodes de l'intelligence artificielle.

Cependant, tout cet ensemble répond à une agriculture de production, tant au niveau des techniques qu'à celui des stratégies. Il ne s'applique qu'à une partie des cultures vivrières tropicales.

Objectifs de la protection des plantes vivrières tropicales

Les plantes vivrières tropicales sont très nombreuses. Elles comprennent des céréales (mil, sorgho, maïs, blé, riz), des oléagineuses (arachide, soja, sésame), des tubercules (manioc, igname, patate douce, taro, macabo), des cultures maraîchères (tomate, aubergine, piment, oignon, cucurbitacées), des légumineuses à graines (niébé, haricot). A cela s'ajoutent bananes et plantains, ainsi qu'une foule d'autres plantes utilisées de manière traditionnelle dans les cuisines tropicales.

L'intérêt que l'on peut porter à telle ou telle de ces cultures peut se mesurer en termes techniques et scientifiques ou en termes socioculturels. Pour Hervé Bichat (1986), les grands facteurs de la crise de l'Afrique sont :

- la dégradation des agrosystèmes, notamment au Sahel,
- les bouleversements socioculturels, qui transforment radicalement les cadres traditionnels de la production agricole,
- l'évolution de l'Afrique au sud du Sahara, d'ici l'an 2000, caractérisée par l'urbanisation accélérée des grandes villes, notamment autour du golfe de Guinée.

La même analyse est exprimée en termes divers par d'autres auteurs. L'agronome doit donc faire face, dans ces régions, à deux problèmes : mettre l'agriculture tropicale en mesure d'alimenter (ou de participer au mieux à l'alimentation) des zones urbaines et périurbaines et développer les cultures traditionnelles.

Nous sommes donc amenés à distinguer, parmi les plantes vivrières, celles dont on recherchera l'intensification et pour lesquelles les techniques et les stratégies de protection des plantes modernes seront applicables directement (maïs, blé, riz, arachide, soja, manioc, maraîchères) et celles pour lesquelles la politique sera de maintenir la diversification (igname, taro, patate douce, macabo, mil, vigna). Il faudra, dans ce cas, raisonner différemment au sujet de la protection des plantes. Elle se fera au niveau de la parcelle, avec des techniques simples et bien comprises.

Propositions pour une agriculture intensifiée

La protection des cultures d'une agriculture intensifiée passe par un bon diagnostic (de cause ou de situations), la connaissance des évolutions des populations des ennemis des cultures, la détention de moyens adaptés d'intervention.

Le problème du diagnostic est à présent davantage un problème de banalisation que de recherche. C'est donc essentiellement au niveau du développement qu'il doit être traité. Il

faut une organisation solide des services de défense des végétaux, un appui scientifique sérieux national pour les cas difficiles ou nouveaux (le LPRC du CIRAD-Montpellier joue ce rôle en ce qui concerne les virus, les stations de recherche nationales également), une banalisation de l'expertise (dans ce cas, les systèmes d'aide à la décision fondés sur les techniques de l'intelligence artificielle comme ceux réalisés par l'INRA doivent selon le cas être entrepris ou étendus), tout cela demande bien entendu une coordination au niveau des Etats et un engagement formation conséquent.

La connaissance des évolutions des populations des ennemis des cultures suppose la connaissance précise de leur biologie. Elle est fondamentale car elle conditionne directement la mise en place d'une protection des cultures économe et sûre. Elle est encore très lacunaire et c'est le rôle de la recherche agronomique de définir les priorités et de réaliser les études d'épidémiologie nécessaires. Parmi les problèmes qui me paraissent prioritaires, je citerai volontiers : pour les céréales, le striga, les viroses, les maladies fongiques ; pour les légumineuses alimentaires, les insectes ; pour les plantes à tubercules ou les plantes maraîchères, les maladies de toutes origines. Pour tous les sujets, des programmes de recherche ORSTOM ou CIRAD ont été engagés en coordination avec les recherches agronomiques nationales.

Trop peu de recherches pures ou d'adaptations ont été menées sur les plantes vivrières tropicales pour nous permettre d'intervenir efficacement. Cependant des résistances spécifiques ou générales sont prises en compte dans les programmes de sélection (travaux de l'IRAT sur le riz, de l'IITA sur le maïs, programme nationaux des Etats africains, de diverses coopérations internationales). Dans la recherche puis le transfert des gènes de résistance nouveaux, les techniques modernes peuvent apporter beaucoup, c'est le cas par exemple des travaux en cours dans de nombreux laboratoires au monde sur les conséquences de l'intégration de parties de génomes viraux, inversées ou non. Il faut donc prévoir des travaux sur des modèles de plantes tropicales, mais il faut aussi être conscient de la difficulté du transfert de résistance générale à hérédité polygénique. La création par génie génétique de plantes résistantes aux herbicides peut également apporter des solutions intéressantes.

Les techniques de prévision sont développées chaque fois que possible (travaux du PRI-FAS sur l'écologie opérationnelle en matière de migration de criquets).

La prise en compte de multiples facteurs écologiques permet de définir les plus importants et d'apprécier les zones et les époques à risques. Dans ces domaines, les techniques sont connues, ce n'est qu'une question de définition des priorités, d'organisation et de moyens. En ce qui concerne la lutte chimique, à la fois intéressante et problématique, les exigences sont triples. Elles se situent au niveau des entreprises pour la mise en service de formulations adaptées aux conditions tropicales et aux cultures vivrières ; au niveau des Etats pour la mise en place d'un système d'homologation réaliste utilisant les dossiers existants et en les complétant éventuellement et surtout pour la mise en place d'un système de développement responsabilisé et efficace ; au niveau des entreprises et des Etats pour la définition et la mise en place de sécurités d'emploi.

Proposition pour une agriculture traditionnelle

Elle est caractérisée par une très grande diversité. La protection d'une telle agriculture doit être réaliste, c'est-à-dire mettre l'accent sur l'économie et la performance. Trois axes prioritaires de recherche et de développement semblent dès lors s'imposer : la qualité des

semences (état sanitaire, performance), les conditions de leur emploi, la conservation des récoltes.

Qualité des semences. C'est à ce niveau que le progrès génétique et technique peut apporter le plus. Avec les techniques classiques et modernes dont nous disposons, la qualité des semences est un objectif national que l'on sait atteindre si on en a les moyens. L'état sanitaire demande cependant un gros effort de recherche-développement : définition des maladies importantes transmises par les semences, condition d'implantation des cultures semencières, traitement des semences et, dans la mesure où tout cela ferait partie d'un plan semencier : certification et contrôle. Les outils de détection fine dont nous disposons à l'heure actuelle (anticorps polyclonaux ou monoclonaux, sondes moléculaires), parfois même dirigés contre des micro-organismes, parasites tropicaux, permettent de bien augurer d'une telle initiative.

Condition de l'emploi de semences de qualité. L'agriculture traditionnelle utilise beaucoup les cultures associées ou les schémas d'implantation en mosaïque. Quels sont, au plan phytosanitaire, les avantages ou les inconvénients d'une telle pratique ? Les avis sont partagés, il y a donc motif à évaluation pour dégager les solutions favorables. C'est un champ d'action riche pour les généticiens des populations, les agronomes, les modélisateurs.

Conservation des récoltes. Nous ne pouvions pas passer sous silence ce thème, tant il nous paraît important. Il intéresse les zoologistes, les phytopathologistes, les nutritionnistes. Mais chacun sait les initiatives maintenant nombreuses en ce sens de la part de la FAO, de multiples coopérations internationales, de nombreux Etats. Ce problème se pose en ambiance villageoise : les solutions doivent être simples, sûres et bien comprises.

En définitive, nous disposons dans le cadre de la protection des cultures de moyens très diversifiés dont on peut encore bien heureusement améliorer les performances. Les techniques issues de la biologie moderne nous y aident ou nous y aiderons puissamment, mais nous avons voulu montrer aussi la nécessaire coordination des efforts et l'impérieuse nécessité de réfléchir globalement. En terme d'agriculture, le progrès se mesure au niveau du paysan.

Références

1. Forsyth W. (1802). *A treatise on the culture and management of fruit trees*. Nichols, London.
2. Lecoq M, Labonne G, Pitrat M. (1980). Specificity of resistance to virus transmission by aphids in *Cucumis melo*. *Ann Phytopath* ; 12(2) : 139-144.
3. McCallan SEA. (1967). History of fungicides. In : Torgeson, ed. *Fungicides*, Academic Press, London.
4. Nelson RR. (1973). *Breeding plants for disease resistance*. University Park, Pennsylvania State, Univ-Press.
5. Notteghem JL. Définition d'une stratégie d'utilisation de la résistance par analyse génétique des relations hôte-parasite, cas du couple riz-*Pyricularia oryzae*. Thèse Doct Ing ; Univ Paris-Sud, Orsay.
6. Parlevliet JE. (1983). Race specific resistance and cultivar specific virulence in the barley leaf rust pathosystem and their consequences for the breeding of leaf rust resistant barley. *Euphytica* ; 32 : 367-375.
7. Person Dedryver F, Pannetier F. (1982). Les cultivars d'orge, facteur de dissémination des pathotypes d'*Heterodera avenae*. *EPPO Bulletin* ; 12 (4) : 393-394.

8. Rapilly F. (1976). Essai de modélisation d'une épidémie de septoriose à *Septoria nodorum* Berk. sur blé. Recherche de critères de résistance horizontale. Thèse Doct ès Sci ; Univ Paris-Sud, Orsay.
9. Robinson RA. (1973). Horizontal resistance. *Rev Appl Mycol* ; 52 : 483-501.
10. Robinson RA. (1976). *Plant pathosystem*. Springer Verlag, New York.
11. Sheets TJ, Pimentel D. (1979). *Pesticides contemporary roles in agriculture health and the environment*. The Humana Press.
12. Skylakakis G. (1982). Epidemiological factors affecting the rate of selections of biocide resistant plant pathogenic fungi. *Phytopathology* ; 72 : 271-273.
13. Vander Planck J E. (1963). *Plant disease : epidemic and control*. Academic Press, London.

11

Transferts de biotechnologies et culture *in vitro* des végétaux

J. SEMAL, PH. LEPOIVRE

Laboratoire de pathologie végétale. Faculté des sciences agronomiques. 5800 Gembloux, Belgique

Introduction

Le développement fulgurant des biotechnologies dans les pays industrialisés commande une analyse spécifique de leurs applications dans les régions chaudes du globe, où l'agriculture joue un rôle socio-économique majeur.

Plusieurs niveaux doivent être distingués en l'occurrence. Certaines méthodes de type « biotechnologique » ont été mises en œuvre et transférées depuis près d'un demi-siècle. Mentionnons notamment la production de clones végétaux assainis par culture de méristèmes ou thérapie thermique, ainsi que l'utilisation de *Rhizobium* pour l'enrobage des graines de légumineuses. Les produits dérivés de ces biotechnologies ont été largement utilisés dans les régions tropicales ou subtropicales.

Plus récemment, la micropropagation végétative a ouvert la voie à la production en masse de semenceaux ou de plantules de nouveaux cultivars, avec pour perspective le développement des semences artificielles à l'horizon 2000.

Parallèlement, l'utilisation de cultures de micro-organismes colonisant la rhizosphère ou la phyllosphère (mycorhizes, bactéries) fournit des résultats prometteurs, tant comme stimulants de la croissance des végétaux que comme agent de protection vis-à-vis des parasites et des prédateurs.

Par ailleurs, sur le plan des agro-industries, les cultures de micro-organismes (bactéries, levures) en vue d'assurer différents types de fermentations alimentaires ou industrielles (y compris le recyclage de la matière organique et la production d'énergie renouvelable) s'élargissent aujourd'hui aux cellules végétales, dont les cultures peuvent être orientées en vue d'assurer la production de molécules nobles à haute valeur ajoutée (arômes, édulcorants, médicaments, etc.).

Enfin, l'utilisation du génie génétique des plantes, couplées aux hybridations somatiques, à l'haploïdie, aux embryons somatiques, aux variants somaclonaux et gamétoclonaux, ouvre des perspectives quasi infinies pour l'obtention de cultivars possédant des propriétés nouvelles requises en vue d'usages déterminés : résistance aux facteurs de stress, aux herbicides, aux parasites, aux prédateurs, surproduction, précocité, synthèse de molécules particulières, etc.

Le transfert des biotechnologies dans la pratique agricole, horticole, forestière ou industrielle requiert une expérimentation progressive et contrôlée, s'effectuant dans les conditions réelles d'environnement et d'échelle correspondant à une pratique fonctionnelle, afin de s'assurer de leur faisabilité, de leur stabilité, de leur rentabilité et de l'absence d'effets négatifs lors de leur mise en œuvre.

Un prudent réalisme s'imposera d'autant plus que les transferts seront effectués dans des écosystèmes fragiles ou dans des régions ne disposant pas d'une infrastructure scientifique appropriée afin d'assurer le contrôle des applications nouvelles de la biotechnologie ou le suivi de l'apport de nouveaux organismes vivants (espèces et variétés cultivées, types de semences, micro-organismes).

Il s'agit dès lors d'apprécier, dans chaque situation concrète, les paramètres susceptibles d'orienter ou de limiter le transfert ou le développement des biotechnologies, notamment les coûts-bénéfices, les impacts socio-économiques et bio-écologiques, les arrières-effets imprévus. Il convient d'apporter une attention toute particulière à l'adaptation aux conditions spécifiques régionales ou sectorielles, en fonction des possibilités de développement des infrastructures, des qualifications et du coût des personnels assurant l'application des techniques, de la capacité de prise en charge des intrants et de l'état des filières de valorisation des produits.

Dans une telle optique, l'établissement de réseaux relationnels suivis et bien structurés entre zones géographiques et institutions de différents pays devient indispensable, afin d'échanger rapidement les données susceptibles de constituer la base d'un partenariat international fructueux, permettant la valorisation de filières biotechnologiques adaptées, dans l'intérêt commun des parties contractantes.

A cet égard, notre laboratoire est notamment intéressé aux programmes suivants qui illustrent la panoplie très diversifiée des travaux effectués dans un contexte de coopération internationale.

Hybridations classiques

Un programme d'étude sur l'ascochytose du haricot vise à sélectionner des cultivars de *Phaseolus vulgaris* résistants à cette affection et à tester le comportement à cet égard d'autres espèces de *Phaseolus* (*P. coccineus* et *P. polyanthus*) ainsi que de leurs hybrides respectifs avec *P. vulgaris* obtenus par l'Unité de phytotechnie des régions chaudes de notre faculté (Pr Maréchal) dans le cadre d'un programme de recherches financé par l'IGPBR.

Une première étape a constitué en l'identification des agents pathogènes en cause à partir d'échantillons provenant de Colombie (coopération avec le Centre international d'agronomie tropicale de Cali) et du Burundi (collaboration avec l'Institut des sciences agronomiques du Burundi de Bujumbura). Les espèces concernées ont été identifiées comme étant *Phoma exigua* var. *exigua* et *Phoma exigua* var. *diversispora* et *Stagonospora hor-tensis*.

Des différences de résistance des divers hôtes aux espèces fongiques utilisées ont été mises en évidence. Des études de résistance sur le terrain ont été conduites, tant en Colombie qu'au Burundi.

Une analyse des différents isolats des agents pathogènes en cause a été menée, sur la base de l'étude de divers isoenzymes, qui a conduit à proposer une taxonomie biochimique des champignons concernés.

Assainissement et micropropagation

Dans le cadre de contrats avec la Direction Générale XII de la Communauté Economique Européenne et l'Institut des Sciences Agronomiques du Rwanda, nous avons assaini et micropropagé des variétés locales de pommes de terre. Celles-ci ont été transférées dans le pays d'origine sous forme de microtubercules ou de micropantules.

Un travail analogue vient d'être initié en ce qui concerne la patate douce, en collaboration avec l'Upland Research Institute de l'Académie des Sciences de Guanzhou, Chine, et le laboratoire de morphogenèse expérimentale de l'université de Paris-Sud à Orsay.

Il est particulièrement important en la circonstance que les clones obtenus soient testés sur le terrain quant à leur uniformité et à leur comportement sur le plan sanitaire, notamment pour ce qui concerne les potentialités de réinfection du matériel assaini.

Manipulations génétiques

L'étude de variants somaclonaux a été menée depuis plusieurs années avec la pomme de terre, le blé et le poirier.

Chez la pomme de terre, on a obtenu des variants résistants à la gale commune (*Streptomyces scabies*), au mildiou (*Phytophthora infestans*), au virus Y (via la non-transmission par les pucerons), à la salinité. L'étude de gamétoclones de blé et d'orge est en cours en vue de sélectionner des variants résistants à divers agents pathogènes (virus et champignons).

Par ailleurs un variant surproducteur a été obtenu à partir du cultivar Bintje chez la pomme de terre.

Ces différents travaux bénéficient de l'aide financière de l'Institut pour l'encouragement de la recherche scientifique dans l'industrie et en agriculture.

Association avec les micro-organismes

Depuis plusieurs décennies, l'unité de microbiologie de notre faculté (Pr Bonnier) assure le service de fourniture de souches de *Rhizobium* adaptées aux cultures de différentes régions d'Afrique.

Des programmes de recherches ont été initiés par ailleurs afin de sélectionner des souches de *Bacillus sp.*, de *Pseudomonas sp.* et de divers agents mycorrhiziens en vue de stimuler la croissance d'espèces végétales cultivées ou d'assurer la protection de la rhizosphère vis-à-vis d'agents pathogènes des racines (bactéries et *Pythium*).

Ces programmes sont financés par la Région Wallonne.

Transposition des résultats de la recherche

Il est essentiel que les différents produits obtenus et les méthodes mises au point soient testés dans les conditions pratiques de leur emploi, notamment sur le plan de la conformité, de la stabilité et de la rentabilité dans les différentes conditions de sol, de climat et de techniques de production. Des essais comparatifs multilocaux sont effectués en l'occurrence en collaboration avec diverses Stations d'amélioration des plantes tant en Belgique (dans le cadre du Centre de recherches agronomiques de Gembloux) qu'à l'étranger.

Il y aura lieu de développer également des systèmes de production et de conservation des biomatériels (plantes ou micro-organismes) sélectionnés sous une forme qui assure leur stabilité génétique dans des états physiologiques et morphologiques appropriés, notamment pour ce qui concerne la dormance, la structure de l'enracinement, la morphogenèse du développement, la fructification, la tubérisation, etc.

Hybrider, assainir, manipuler, associer, transformer et conserver représentent autant de modalités de traitement des végétaux, en voie de diversification rapide.

Les nouveaux aspects de ces différentes techniques, qui sont fascinants sur le plan scientifique, n'atteindront cependant leurs objectifs économiques et sociaux que dans la mesure où ils seront adaptés à la très grande diversité des situations et des nécessités des régions et des populations concernées [1, 2].

Références

1. Delalande P. (1987). *Entreprise et transfert de technologie*. Economica et Agence de Coopération Culturelle et Technique, Paris, 206 p.
2. Sasson A. (1986). *Quelle biotechnologie pour les pays en voie de développement ?* Biofutur et Unesco, Paris, 200 p.

12

Déploiement mondial de la résistance génétique des céréales au virus de la jaunisse nanisante de l'orge

C.A. SAINT-PIERRE*, A. COMEAU**

* *Département de phytologie, Université Laval, Québec G1 K7 P4, Canada*

** *Agriculture Canada, Sainte-Foy, Québec G1V2J3, Canada*

Introduction

Importance de la maladie

Le virus de la jaunisse nanisante de l'orge (VJNO) est devenu, selon Havener [7], le virus qui cause le plus de dommages aux céréales; les spécialistes en ce domaine, réunis en Italie à l'été 1987, ont reconnu que le VJNO était devenu la maladie la plus importante des céréales dans le monde. Sous inoculation, les lignées sensibles ne peuvent former de grains et les modérément résistantes subissent des dommages variant de minimes à importants. Les cultivars résistants et bien adaptés à une région fournissent de très bon rendements. Il semble, de plus, que de tels cultivars résistants seraient moins sujets aux variations importantes de l'environnement. Comeau et Jedlinski [5] rapportent que les lignées les plus résistantes du VJNO se distinguent par leur rendement en conditions sèches et par leur bonne performance en conditions humides. Les céréales résistantes au virus sont souvent résistantes à l'hiver. Il ne fait pas de doute de le VJNO cause des dommages considérables aux céréales et qu'il est opportun de réprimer ses méfaits.

Problématique

Les chercheurs européens, en étudiant l'écologie et l'épidémiologie du VJNO et de ses pucerons, ont mis sur pied des méthodes raffinées de lutte chimique pour une protection de

la culture contre les pucerons vecteurs du virus. Les Américains ont préféré la résistance génétique de la céréale comme moyen de lutte du VJNO. Les chercheurs des deux continents ont aussi proposé diverses méthodes utiles pour exclure ou réprimer le pathogène. On peut exclure le pathogène dans le temps à l'aide de semis hâtifs et de toutes autres méthodes culturales favorisant le développement rapide de la culture. En absence de viricides, c'est par la répression des réservoirs de plantes infestées et des pucerons que l'on peut réduire l'incidence du pathogène. De multiples interventions, souvent peu coûteuses, sur diverses composantes du complexe «Virus-Vecteur-Céréale-Milieu» peuvent contribuer à réduire les méfaits de cette maladie (fig. 1).

Du côté de la résistance génétique, la résistance au pucerons qui transportent le virus a donné peu de résultats. Le consensus actuel est donc que la résistance génétique au virus semble la méthode la plus fiable et la plus économique de réduire les pertes engendrées par cette maladie. Voilà le mode d'intervention que nous voulons exposer dans cet article. Nous tenterons de démontrer la pertinence d'un déploiement mondial de la résistance génétique des céréales au VJNO.

Virus de la jaunisse nanisante de l'orge

Le virus

Le virus du VJNO est un représentant type des lutéovirus (Shepherd *et al.*, 1976). Ils sont petits, à ARN, et se multiplient dans les tissus du phloème des plantes infectées. Le virion est un polyèdre isodiamétrique qui peut mesurer de 20 à 24 nanomètres de diamètre et dont le poids moléculaire est de l'ordre de 2.10^6 daltons [11]. Les virions circulent dans le système sanguin et la salive de l'insecte. Lorsqu'ils sont transmis à la plante, ces virions se multiplient très rapidement et ils engendrent diverses jaunisses. Ce virus atteint une très faible concentration dans la plante et dans les pucerons, généralement moins d'une partie par million. Ses symptômes se manifestent par contre très rapidement, en moins de quinze jours.

Les hôtes

Le VJNO se retrouve sur toutes les céréales. On le trouve également sur plus de cent espèces de graminées fourragères et sur diverses mauvaises herbes. Bruehl [1] expliquait d'ailleurs la distribution géographique mondiale du VJNO par la diversité des hôtes de ce virus.

Les vecteurs

Plus de vingt espèces de pucerons peuvent transmettre le VJNO. Nous allons parler aujourd'hui de *Rhopalosiphum padi* et de *Sitobion avenae*, puisque nous travaillons surtout avec ces deux espèces de pucerons vecteurs.

Le cycle du virus

La figure 1 illustre le cycle du virus «hôte-puceron-céréale» tel qu'il se présente dans le nord de l'Amérique. Seul des pucerons, ailés ou pas, peuvent transmettre le virus aux végé-

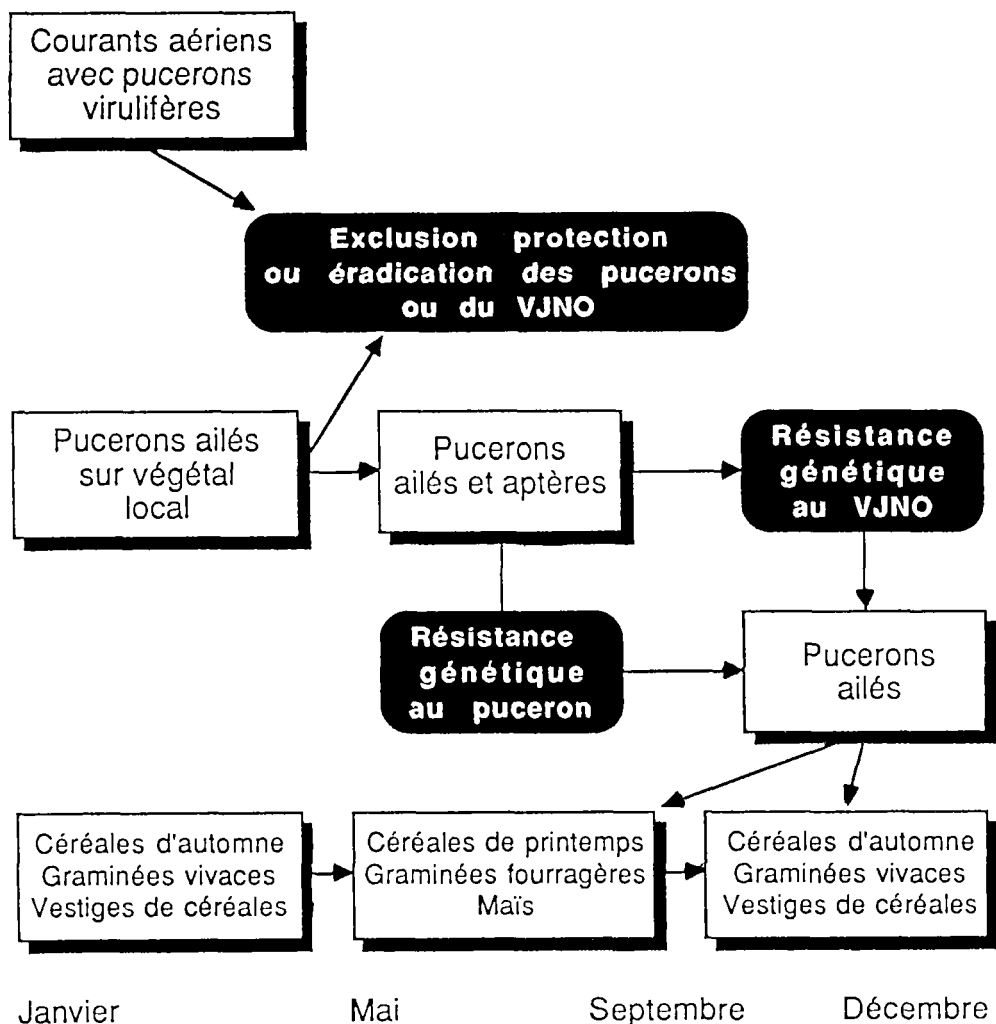


Figure 1. Cycle annuel du VJNO.

taux cultivés. On peut donc songer à exclure le virus, totalement ou partiellement, d'une culture en limitant sa reproduction, celle de ses pucerons vecteurs ou les deux à la fois. La protection chimique contre le virus est actuellement impossible avec l'absence de viricides. La protection chimique contre les pucerons présente de graves lacunes. En effet, le puceron n'a qu'à se nourrir quelques minutes pour transmettre la maladie. Le coût des insecticides, les risques pour les usagers et l'environnement ainsi que l'efficacité des produits limitent sérieusement cette option. La répression biologique, par exemple avec l'introduction de prédateurs et de parasites des pucerons, a donné des résultats intéressants en Amérique du Sud sans toutefois régler le problème.

Les pucerons ailés ou aptères qui échappent à ces barrières peuvent encore rencontrer la résistance génétique de la céréale au VJNO. Cette résistance s'exprime souvent malgré une

certaine multiplication du virus dans la céréale, par exemple chez le seigle, sans qu'on observe de dommages. Certains pucerons ailés peuvent donc acquérir le virus d'une plante résistante et regagner le réservoir des nombreux hôtes sensibles pour leur transmettre le virus, et ainsi redémarrer le cycle de la maladie. La répression de ces hôtes alternatifs semble toutefois impraticable, car les graminées disponibles sont trop nombreuses et trop répandues.

Symptômes et dommages

Les symptômes

Les feuilles jaunes, avec un V inversé, sont bien faciles à observer chez l'orge : les feuilles rouges de l'avoine ne présentent pas de problèmes d'identification lorsque l'infection est importante. Les infections tardives et légères occasionnent souvent des problèmes d'identification. Le blé présente des feuilles avec ou sans décoloration, mais plus courtes, rigides et à angles plus aigus par rapport à la tige que les feuilles saines. Ces symptômes deviennent plus caractéristiques avec une infection sévère : les entre-nœuds deviennent plus courts et le nanisme caractéristique du VJNO devient évident. Le tallage réduit peut facilement être associé à des dommages occasionnés par l'hiver ou le froid. De plus, les plants de blé d'automne deviennent plus susceptibles aux moisissures nivéales. Certains triticales d'automne présentent des symptômes similaires au blé tandis que d'autres semblent aussi résistants que le seigle d'automne. Collin [2] a décrit pour la première fois de tels symptômes avec précision. Il précise que la symptomatologie de la présence de VJNO particulière à chaque cultivar de blé peut facilement être confondue avec des dommages occasionnés par d'autres causes, erreur qui se produit fréquemment.

Les dommages

Les pertes de rendement et de qualité sont quelquefois évidentes et certaines fois minimales. Le rendement en grains, la biomasse et la longueur de la tige sont fortement altérés par la présence de VJNO. Les dommages varient de l'absence de récolte à de faibles pertes difficiles à observer. De toute façon, en l'absence de relevés précis des dommages, il suffit de se rappeler que Havener [7] cite le VJNO comme la maladie des céréales potentiellement la plus importante au monde. De plus en plus de spécialistes partagent d'ailleurs cette opinion.

Sources de résistance génétique au virus

Les résistances connues

Les collections internationales

Nous avons évalué, en microparcelles de trente plantes, la résistance génétique de non moins de vingt mille lignées de céréales de printemps et près de trois mille lignées de

Espèces	Cultivars	Particularités
Orge à 6 rangs	Q.B. 172-15 Gus Abate	TR, Québec TR, États-Unis TR, Californie
Orge à 2 rangs	Corris Shannon 85, kldn b 237	TR, Royaume Uni TR, Australie TR, ICARDA
Avoine	Ogle O.T. 247	TR, États-Unis TR, Canada
Blé tendre	Maringa 13 IBWSN 182 82 PCH 678	R, Brésil MR, Mexique R, Mexique
Blé dur	82 PCD 476	MR, Mexique
Triticale	Clercal Juanillo Whale	TR, France TR, Mexique TR, Mexique
Seigle	TOUS	TR

R = Résistant, MR = Modérément résistant, TR = Très résistant

Tableau I. Résistances génétiques chez les céréales de printemps.

céréales d'automne. A l'Université Laval, une serre-tunnel nous permet d'isoler le facteur survie à l'hiver de l'effet du VJNO.

Les hybridations interspécifiques

Dans le but de trouver de nouvelles sources de résistance, nous explorons certaines avoines sauvages ainsi que des élymes et des agropyres étrangers et indigènes. Landry *et al.* [8] ont identifié *Avena sterilis* comme source de résistance. Nous avons débuté l'évaluation des agropyres et des élymes. Chez le triticales, il est bien évident que le réservoir des gènes du seigle offre une source de résistance intéressante [3]. C. Nkongolo [9], du Zaïre, complète

Espèces	Cultivars	Particularités
Orge	W.B. 158-1 W.B. 168-2	R, Ontario R, Ontario
Avoine	Red rust proof	MR, États-Unis
Blé	OK 7211542 Apollo Elmo	TR, États-Unis R, Allemagne R, États-Unis
Triticale	OAC-Wintri OAC-Trillium GWT-112	TR, Ontario TR, Ontario TR, Ontario
Seigle	TOUS	TR
R = Résistant, MR = Modérément résistant, TR = Très résistant		

Tableau II. Résistances génétiques chez les céréales d'automne.

actuellement une thèse originale sur le transfert de la résistance génétique du triticale au blé. A. Plourde [10], étudiante également à l'Université Laval, cherche à vérifier le potentiel de résistance chez les hybrides entre le blé et les élymes.

Les mutations

Peu de travail a été fait en ce sens à l'Université Laval, même si cette avenue de recherche demeure intéressante. On a cependant cherché à utiliser les rayons gamma pour initier des translocations sur des hybrides interspécifiques.

L'incorporation de la résistance

Croisement

L'avenue traditionnelle consiste à croiser une variété résistante avec une sensible. Nous l'avons fait plusieurs fois pour étudier la transmission du caractère de résistance génétique

au VJNO. En général, nos travaux, comme ceux d'autres chercheurs, pointent vers quelques gènes qui confèrent une bonne résistance.

Sélection

Les conditions d'élevage des pucerons requièrent la technique particulière développée par Comeau [4] pour récolter et distribuer efficacement des millions de pucerons dans les pépinières de sélection. Cette innovation simple, mais essentielle, est de plus en plus utilisée par de nombreux chercheurs. Cette méthodologie permet de travailler avec des races particulières de virus en absence de facteurs extérieurs et facilite ainsi l'évaluation de la résistance. Elle permet de sélectionner de grandes populations de millions de plantes individuelles.

Evaluation de cultivars sous VJNO

Nous devons utiliser de plus grandes parcelles pour quantifier la résistance génétique sous VJNO afin de minimiser les effets majeurs de compétition dans une évaluation précise de cultivars résistants. Les Tableaux I et II présentent les cultivars les plus résistants observés dans nos essais.

Le déploiement mondial

La figure 2 présente une proposition de distribution des gènes de résistance au VJNO dans le monde. La discussion d'une telle proposition devrait mener à des réalisations concrètes tant au niveau local que mondial.

Evaluation sous inoculation

L'évaluation de la résistance génétique a débuté vers 1957 aux Etats-Unis et c'est au cours des dix dernières années que l'évaluation systématique des grandes collections sous inoculation artificielle du VJNO a débuté au Québec et aux Etats-Unis.

Les épidémies naturelles de la fin des années cinquante avaient alerté les scientifiques au problème du VJNO. Les fortes épidémies observées au Chili entre 1970 et 1977 ont causé des problèmes importants. A CIMMYT, à INIA-Chili et à ICARDA on fait depuis de la sélection sous des conditions naturelles ou à l'aide d'infections artificielles artisanales.

Sélection sans inoculation

Une sélection sous infection naturelle au Zaïre, réalisée par C. Nkongolo [9], a permis d'identifier de nouvelles sources de résistance génétique dans un matériel génétique local. La sélection naturelle a aussi permis aux sélectionneurs du Chili et du Brésil d'isoler des lignées résistantes.

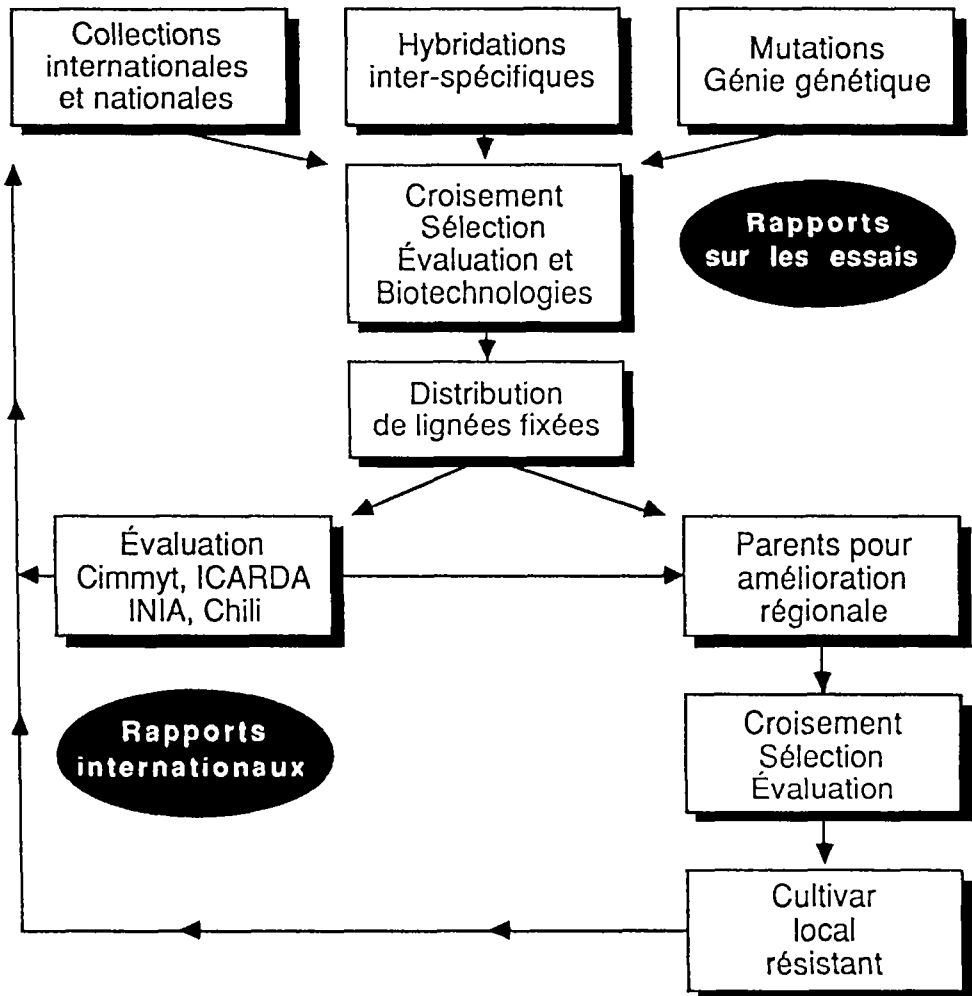


Figure 2. Le déploiement mondial de la résistance génétique du VJNO.

Condition d'un déploiement mondial réussi

La figure 3 présente les conditions nécessaires à la réalisation de la solution théorique proposée. Nous pensons qu'elle contribuera à résoudre le problème du déploiement mondial de la résistance génétique des céréales au VJNO.

Besoin d'évaluation avec des races régionales du VJNO

Le travail fait à l'Université Laval au cours des dix dernières années se poursuivra dans divers centres. Le Chili et ICARDA se sont déjà engagés, avec l'aide du CRDI, à mettre au

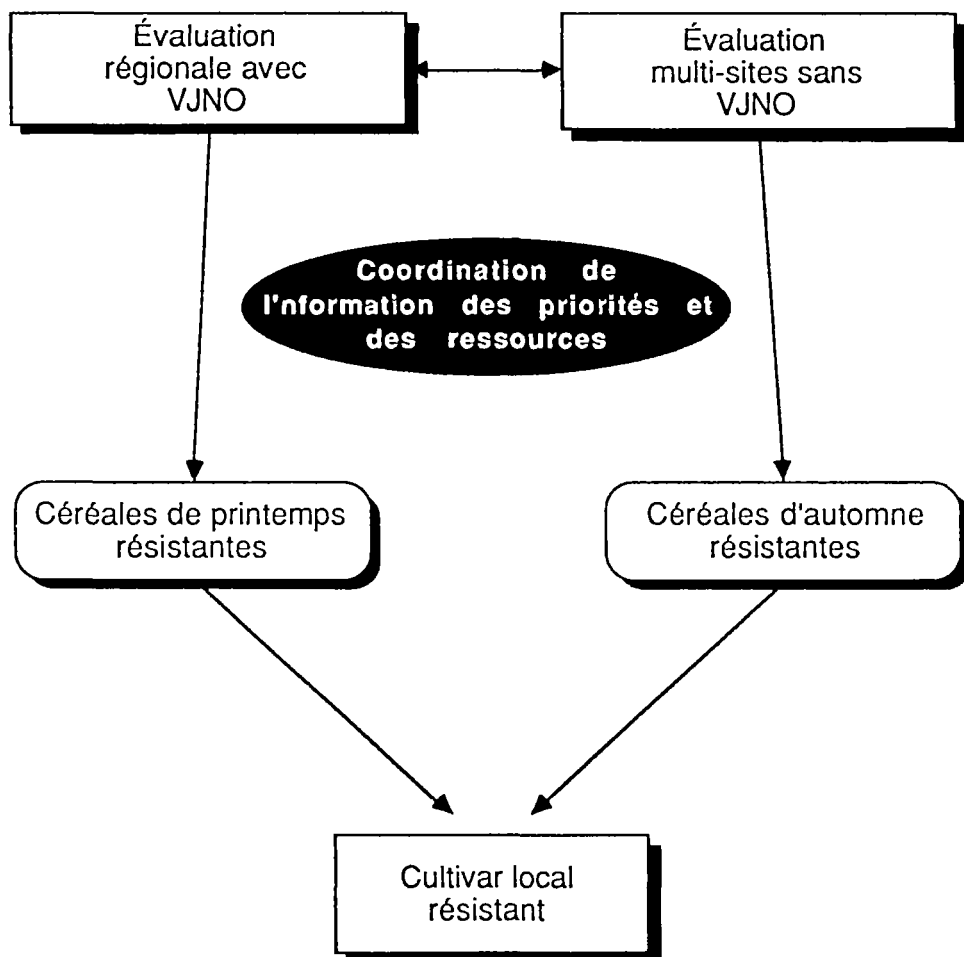


Figure 3. Les conditions d'un déploiement mondial de la résistance au VJNO.

point les méthodologies d'inoculation artificielle développées ici. Les centres de recherches des Etats-Unis et de CIMMYT s'ajoutant à ceux-la, nous pensons que l'ajout d'un centre en Asie et d'un autre en Afrique permettrait d'obtenir un réseau de base suffisant pour débiter l'évaluation avec des races régionales. Nous pourrions ainsi isoler plus facilement des gènes spécifiques.

Besoin d'évaluation multisites

Le matériel de base répertorié devra être évalué dans les diverses régions du globe de façon à pouvoir vérifier si les gènes de résistance correspondent aux diverses races de VJNO retrouvées sur le terrain. Ces évaluations se feront toutefois sans inoculation artificielle de VJNO.

Les gènes majeurs connus

Il importe de bien distribuer l'information générée par les centres internationaux d'évaluation de la résistance. Nos rapports des huit dernières années ont servi cette fin. CIMMYT est d'ailleurs en train de mettre sur pied une pépinière internationale qui fera rapport aux sélectionneurs du monde entier.

Intérêt des sélectionneurs régionaux

Les sélectionneurs locaux doivent être réceptifs aux possibilités d'incorporer des résistances génétiques au VJNO. A notre avis, en incorporant une résistance au VJNO, on introduit des gènes de productivité et d'adaptation. Le sélectionneur local sera donc intéressé par les nouveaux géniteurs qui posséderont une certaine adaptation locale. Il revient au sélectionneur local de soupeser un besoin de résistance au VJNO envers les autres besoins d'amélioration de sa région. Les chercheurs du réseau mondial doivent aider le sélectionneur local à constater l'importance du problème et à choisir les cultivars résistants appropriés.

Les projets de collaboration

Le succès d'un déploiement mondial réussi exige que l'axe central «information-priorités-ressources», présenté à la figure 3, serve d'amorce à un rapprochement des chercheurs fondamentalistes et des praticiens. Les premiers sauront bientôt incorporer un gène artificiel de résistance. Les derniers cesseront de se laisser tirer l'oreille sur la pertinence de déployer mondialement la résistance génétique du VJNO. Un déploiement mondial de la résistance génétique au VJNO, du moins c'est notre avis, apportera des gains de rendement sous forme de stabilité et de productivité accrues surtout en Amérique du Sud et en Afrique. De plus, il pourrait en résulter une réduction de l'incidence des maladies fongiques sur les céréales.

En conclusion, les chercheurs ont longtemps sous-estimé le besoin de recherche sur le VJNO puisque, trop souvent, l'absence de symptômes porte à croire que les pertes encourues sont négligeables. La mise au point de la trousse de diagnostic ELISA a permis de doubler, en trois ans, l'aire connue de la distribution mondiale de la maladie. Nous pouvons donc affirmer aujourd'hui que la maladie causée par le VJNO est devenue la maladie numéro un des céréales dans le monde. L'urgence d'un déploiement mondial de la résistance génétique au VJNO nécessitera des collaborations multiples tant entre les chercheurs des pays industrialisés (Canada, France, Belgique), qu'entre ceux des pays en voie de développement.

L'expertise développée ici, avec l'aide du CRDI, a permis de former de jeunes chercheurs, de mettre en place des méthodes efficaces, d'explorer de nouvelles sources de résistance et finalement de mieux comprendre la nature de la résistance génétique. Espérons que ces efforts pourront contribuer au déploiement mondial de la résistance génétique des céréales au VJNO.

Références

1. Bruehl GW. (1961). Barley Yellow Dwarf, a virus disease of cereals and grasses. Monogr Amer Phytopath Soc n° 1, 52 p.

2. Collin J. (1983). Evaluation comparative de 61 croisements de blé d'automne avec et sans inoculation artificielle de BYDV à l'automne. Thèse de maîtrise, Université Laval, 133 p.
3. Collin J, Comeau A, Saint-Pierre CA. (1987). Analysis of genetic resistance to BYDV in triticale, with special reference to the proper choice of estimators of resistance. Proceedings of the workshop in CIMMYT, Udine, Italy (sous presse).
4. Comeau A. (1976). Elevage en masse et épandage sur le terrain des pucerons (*Aphidae*) vecteurs du virus du nanisme jaune de l'orge (BYDV). *Canadian Entomology* ; 108 : 373-378.
5. Comeau A, Jedlinski H. (1987). Successful breeding for Barley Yellow Dwarf Resistance or Tolerance : systematic approach related to other agronomic characters. Proceedings of the workshop in CIMMYT, Udine, Italy, (sous presse).
6. Comeau A, Saint-Pierre CA. (1979-1987). Essais sur la résistance des céréales au virus de la jaunisse nanisante de l'orge (VJNO). Station de recherche de Sainte-Foy et Département de Phytologie, Rapports n° 1 à 9.
7. Havener RD. (1984). Welcome to the Barley Yellow Dwarf Workshop. Proceedings of the workshop, CIMMYT, Mexico, p. 14-15.
8. Landry B, Comeau A, Minvielle F, Saint-Pierre CA. (1984). Genetic analysis of resistance to Barley Yellow Dwarf Virus in hybrids between *Avena sativa* cv Lamar and virus resistant lines of *Avena sterilis*. *Crop Sci* ; 24 : 337-341.
9. Nkongolo C. (1987). Communication personnelle. Etudiant en doctorat, Université Laval.
10. Plourde A. (1987). Communication personnelle. Etudiante en doctorat, Université Laval.
11. Rochow WF. (1970). Barley Yellow Dwarf Virus. Commonwealth Mycological Institute, 4 p.

IMPRIMERIE LOUIS-JEAN
BP 87 — 05003 GAP Cedex
Tél. : 92.51.35.23
Dépôt légal : 17 — Janvier 1991
Imprimé en France

Universités francophones est la collection de l'Université des Réseaux d'Expression Française (UREF). Cette dernière, qui fonctionne au sein de l'AUELF comme une Université sans murs, a été choisie par le Sommet des Chefs d'Etat et de Gouvernement des pays ayant en commun l'usage du français comme l'opérateur privilégié du Sommet en matière d'enseignement supérieur et de recherche.

Cette collection de manuels universitaires et d'ouvrages de référence s'adresse à tous les étudiants francophones. Elle est appelée à constituer une bibliothèque universitaire en langue française dont les ouvrages sont proposés à des prix modérés.

120,00 FF

60,00 FF — UREF / Prix préférentiel : Afrique, Asie, Amérique du Sud, Haïti

REF 59 4196 8



U R E F



9 780861 962204

AUELF

