



HAL
open science

Problèmes de sélection chez *Delphinium hybridum* L.: stérilité mâle et résistance de la tige à la verse

Henri Cachon

► **To cite this version:**

Henri Cachon. Problèmes de sélection chez *Delphinium hybridum* L.: stérilité mâle et résistance de la tige à la verse. *Agronomie*, 1982, 2 (9), pp.819-828. <hal-00884451>

HAL Id: hal-00884451

<https://hal.science/hal-00884451v1>

Submitted on 11 May 2020

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

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



HAL Authorization

Problèmes de sélection chez *Delphinium hybridum* L. : stérilité mâle et résistance de la tige à la verse

Henri CACHON

I.N.R.A., Laboratoire de Recherche de la Chaire de Génétique de l'Ecole Nationale Supérieure d'Horticulture, 4, rue Hardy, F 78009 Versailles Cedex

RÉSUMÉ

Delphinium vivace,
Collection spécifique,
Cytogénétique,
Mutagenèse,
Stérilité mâle,
Production hivernale,
Structure de la tige,
Résistance à la verse,
Tenue en vase.

Deux résultats importants pour l'amélioration des *Delphinium* vivaces en vue de la production de fleurs coupées ont été obtenus à partir d'une collection d'espèces sauvages et de cultivars (50 espèces, 189 lots) :
1. — Obtention d'une stérilité mâle monogénique récessive, condition première pour produire des semences de variétés hybrides F₁ ; sélection de lignées ornementales porteuses de cette stérilité.
2. — Isolement dans les descendance de traitement mutagène de géniteurs possédant une structure de tige améliorée, résistante à la verse et ayant une meilleure tenue en vase en liaison avec des tissus de soutien (collenchyme et sclérenchyme) plus développés et introduction de ce caractère nouveau dans des lignées améliorées.

SUMMARY

Perennial Delphinium,
Species collection,
Cytogenetics,
Mutagenic treatments,
Male sterility,
Winter production,
Stem structure,
Lay resistant,
Vase life.

Breeding problems in Delphinium hybridum : male sterility and lay-resistant stems

Two important results for breeding perennial *Delphinium* for cut flower production have been obtained from a wild species and cultivar collection (50 species, 189 lots).

1. — Monogenic recessive male sterility, a major condition for F₁ variety seed production, has been detected in open pollinated cv « Pacific » descents. Ornamental male-sterile strains have been created.
2. — Lay-resistant stems, which give a better vase life to the cut flower, have been isolated in the progeny after mutagen treatment. Stem structure shows more extensive sclerenchyma and collenchyma tissue. This new character is currently being introduced into various ornamental strains.

I. INTRODUCTION

Depuis 1969, un programme de création variétale de fleurs coupées de serre a été entrepris par notre laboratoire, sur une série d'espèces à reproduction sexuée, pour une production hivernale à température basse (10-12 °C) et sans apport de lumière, cette production pouvant, en outre, permettre une modification des rotations en hiver. LAUDANSKI & MITTEAU (1973) ont établi un compte rendu des résultats des trois premières années sur plus de 20 espèces. En ce qui concerne les *Delphinium*, les espèces annuelles ont été abandonnées après quelques cycles de sélection, à cause du non-maintien des caractères ornementaux désirés. Les espèces vivaces, par contre, de par leur comportement favorable dans le même test, la beauté des inflorescences et leurs coloris bleus peu fréquents en fleurs coupées d'hiver, ont fait l'objet d'une amélioration plus approfondie. Trois points importants se posent en préalable pour poursuivre le programme mentionné :

— En premier lieu, les *Delphinium X hybridum* L. ou *D. X cultorum* Voss sont cultivés traditionnellement comme des plantes bisannuelles et leur cycle cultural est long (10-12 mois). Cependant, le fait que les semis de printemps permettent des floraisons en serre en hiver prouve qu'une technique culturale appropriée doit permettre de raccourcir le cycle de la plante et de la traiter en annuelle.

— Au cours des 3 premiers cycles en jours courts, il a été constaté que, non seulement l'aptitude à fleurir dans ces conditions culturales peut être fixée par autofécondation, mais aussi qu'une baisse de vigueur impose un objectif de variétés hybrides susceptibles de compenser l'effet dû à l'inbreeding. En présence d'une plante fortement allogame, à très faible coefficient de multiplication végétative, avec une floraison très étalée empêchant la castration chimique et une structure florale rendant impossible la castration manuelle, l'alternative se réduit à la variété hybride F₁ ou à la variété synthétique. Le choix dépend de l'existence d'une stérilité mâle inconnue jusqu'alors dans l'espèce.

— Les cultivars améliorés ont des hampes florales très longues et lourdes avec des tiges creuses peu rigides qui entraînent une verse fréquente nécessitant un tuteurage obligatoire, un mauvais comportement au transport et une tenue en vase aléatoire. Pour obtenir une production régulière de qualité, il faut améliorer la structure de la tige.

La sélection en hiver en serre a donc été remplacée par une sélection en été en champ, après la mise au point d'une

technique culturale appropriée, les deux objectifs déterminants étant donc :

- La création de génotypes possédant une stérilité mâle utilisable pour une production de semences hybrides F_1 .
- La recherche de géniteurs à structure de tige améliorée ayant acquis par sélection le maximum de caractères ornementaux requis pour une production de qualité.

TABLEAU 1

Collection de *Delphinium vivaces*.
Perennial *Delphinium* collection.

	nbr	origines	2n		n° de collection
<i>D. alpinum</i> Wald.	2	Eur.	32	<i>D. × hybridum</i> L.	
<i>amoenum</i> Ster.	1	Sib.	32	cv. 'Pacific Giants'	
<i>azureum</i> Mich.	1	Am.			
<i>bicolor</i> Nutt. W.	1	Am.		<i>Galahad blanc œil crème</i>	247
<i>biternatum</i> Huth.	1	Russ.		<i>Summer Sky bleu azur, centre clair</i>	248
<i>brunonianum</i> Royle	7	Him.		<i>Blue bird bleu clair, œil blanc</i>	249
<i>bulleyanum</i> Foss. et Dieb.	3	Am.	32	<i>Blue Jay bleu foncé, centre noir</i>	250
<i>cashmerianum</i> Royle	5	Him.		<i>Cameliard lavande, œil clair</i>	251
<i>caucasicum</i> C.A. Mey.	4	Cauc.		<i>Astolat rose, œil blanc</i>	252
<i>cheilanthum</i> Fisch.	4	Sib.		<i>Guinerve rose lavande, œil blanc</i>	253
<i>chinense</i> Fisch.	4	Sib.		<i>Black Knight violet foncé, œil noir</i>	254
<i>coclestinum</i> Franch.	1	Chine		<i>Percifal blanc, œil noir</i>	341
<i>coeruleum</i> Jacq.	1	Him.		<i>D. × belladonna</i> Hort.	2n = 48
× <i>cultorum</i> Voss.	2	Cult.	32		
<i>cuneatum</i> Stev.	2	Sib.	32	2n : nombre chromosomique	
<i>crassicaule</i> Ledeb.	1	Sib.		2n : chromosome number	
<i>dasycarpum</i> Stev.	2	Sib.	32		
<i>denudatum</i> Wall.	1	Him.			
<i>dhumburgii</i> Huth.	2	Russ.	16-32		
<i>dictyocarpum</i> Stend.	5	Sib.	32		
<i>elatum</i> L.	33	Eur. Him.	32		
<i>fissum</i> Waldst. et Kit.	2	Cult.	32		
<i>flexuosum</i> Bieb.	1	Calif.	32		
<i>formosum</i> Boiss. et Huct	1	Arm.	32		
<i>glaucum</i> S. Watts	1	Calif.			
<i>grandiflorum</i> L.	13	Sib.	16-32		
<i>hanseni</i> Greenc	1	Calif.	16-32		
<i>hortulanorum</i>	1				
× <i>hybridum</i> L.	16	Cult.	32		
<i>intermedium</i> Ait.	2	Sib.	32		
<i>laxiflorum</i> D.C.	2	Sib.	32		
<i>maackianum</i> Regel.	6	Am.			
<i>oxysepalum</i> Pax. et Borb.	1	Carp.	32		
<i>palmatum</i> Radde	3	Sib.			
<i>pentagynum</i> Lam.	1	Port.	32		
<i>przewalskii</i> Huth.	5	Mong.			
<i>pylzewi</i> Maxim.	4	Chine			
<i>pyramidalum</i> Royle	3	Cauc.	32		
<i>retropilosum</i> Huth.	1				
<i>revolutum</i> Derf.	1				
<i>regulosum</i> Boiss.	1	Perse			
<i>schmalhauseni</i> Alb.	2	Cauc.	32		
<i>semibarbatum</i> Bien	3	Perse			
<i>speciosum</i> Bieb.	6	Perse	32		
<i>staphysagria</i> L.	5	Med.	16-32		
<i>stratum</i>	1	Am. N.			
<i>subalpinum</i> A. Nels.	2	Am. N.	32		
<i>tatsienense</i> Franch.	5	Chine			
<i>tirolense</i> Kern.	1	Tyrol	32		
<i>tricolor</i> Bern.	1	Syrie			
<i>variegatum</i> Torr. et Gray	1	Am. N.	16-32		
<i>vestitum</i> Wall.	2	Him.			

II. MATÉRIEL ET MÉTHODES

A. Le matériel végétal

Le genre *Delphinium* comporte plusieurs centaines d'espèces et un très grand nombre de variétés. Le groupe des *Delphinium vivaces* est très vaste. Les travaux ont été centrés sur *D. hybridum* L. ou *D. cultorum* Voss. Ces espèces sont pérennes ou bisannuelles ; elles présentent $2n = 4x = 32$ chromosomes.

Nous avons donc commencé le programme par la constitution d'une collection, spécifique et variétale, la plus vaste possible, pour y rechercher les gènes correspondant aux deux problèmes prioritaires posés. Nous avons réuni, dans le tableau 1, uniquement les formes supposées vivaces ou bisannuelles, le plus souvent tétraploïdes qui représentent une cinquantaine d'espèces (soit 189 lots), de même nombre chromosomique que les *Delphinium vivaces* cultivés. Pour certaines espèces sauvages, nous avons rassemblé de nombreux écotypes et formes hybrides, soit récoltés par des botanistes sur les lieux d'origine, soit en provenance de jardins botaniques ou de muséums européens. Nous nous sommes appuyé sur l'identité donnée par les expéditeurs et sur les dénombrements chromosomiques des auteurs mentionnés. Par contre, pour les types cultivés et espèces voisines susceptibles d'être utilisés comme parents récurrents, une étude cytotologique a été entreprise.

d'après les données fournies par GAGE (1973), LEGRO (1961), LEWIS (1946), MALUYTIN (1973).

nbr : nombre de lots.

nbr : lot numbers.



PLANCHE I

Fleurs mâle stérile ♀ et fertile ♂ de *D. hybridum*
 1 - fl. mâle stérile ♀ : étamines vides, sans pollen
 2 - fl. mâle fertile ♂ : étamines gorgées de pollen

PLATE I

D. hybridum male sterile ♀ and fertile ♂ flowers
 1 - male sterile ♀ : empty-pollened stamens
 2 - male fertile ♂ : full-pollened stamens

● Parmi les variétés cultivées de l'espèce *D. hybridum* L., nous nous sommes limité aux cultivars « Giant Pacific ». Ils seraient le résultat d'hybridations entre *D. elatum* L. d'Europe occidentale et d'autres espèces curasiennes *D. formosum* B. et H. (4 x), *D. oxysepalum* P. et B. et *D. bulleyanum* F. et D. (LAWRENCE, 1936). Les races actuelles sont principalement utilisées pour la décoration des jardins, quelquefois pour la production de fleurs coupées et leur culture en contre-saison est actuellement envisagée sous abris (KNEISS, 1979 ; PENNINGSFELD *et al.*, 1980 ; PLÖMACHERH, 1980). Ce sont des plantes de plus de 1,50 m de haut avec des grappes très longues atteignant 1 m avec plus de 40 fleurs de 5 à 6 cm de diamètre, très doubles et presque actinomorphes avec de nombreux coloris passant par le violet, le bleu et le blanc.

● Les « hybrides remontants » issus de croisements avec *D. grandiflorum* L. ont été aussi utilisés (*D. × belladonna* Hort.) (MELHQUIST, 1962) dans ce programme.

● Nous n'avons pas fait intervenir, par contre, les « University hybrids » qui complètent cette gamme de coloris par des rouge, orange ou jaune. Ces cultivars ont été obtenus par LEGRO (1976), après hybridation interspécifique de diverses espèces diploïdes doublées, *D. nudicaule* T. et G., *D. cardinale* Hook, *D. zalil* A. et H., avec *D. elatum* L. et *D. × cultorum* Voss, espèces tétraploïdes, suivie d'un long programme de sélection pour restaurer la fertilité et acquérir tous les caractères ornementaux désirés ; ces travaux montrent que les deux dernières espèces se comportent en amphidiploïdes stabilisés.

B. Biologie florale et comportement méiotique

1. Les fleurs des cultivars améliorés sont doubles presque actinomorphes. Les pétales insérés en spirale sont nombreux et peuvent, sur la périphérie ou au centre, être des sépales ou des étamines transformées. Les étamines demeurent néanmoins très nombreuses (planche I). La production de pollen, la réceptivité des stigmates se poursuivent pendant une semaine de jours, durée de vie de la fleur. Les 2 à 5 follicules peuvent produire chacun une dizaine de graines dans de bonnes conditions. La fécondation est effectuée par les insectes et l'autofécondation réalisée par un secouage de la grappe fleurie ensachée. La production de semences dans ces conditions, bien que peu importante, 20 à 30 graines pour 3-4 fleurs, reste suffisante pour assurer la génération suivante, dans un schéma de sélection analogue à celui de plantes florales reproduites par graines.

2. Diverses études de cytogénétique du genre *Delphinium* ont montré que la plupart de ces formes à 32 chromosomes ont un comportement de diploïde (GAGE, 1953 ; LEWIS *et al.*, 1951). Une étude de ce comportement chromosomique a été faite au début du programme par l'analyse sur cultivar « Pacific » de mitoses de pointes de racines et de méioses de cellules mères de grain de pollen par les techniques classiques :

- écrasements de pointes de racines après traitement au β -chloronaphtalène puis fixation à l'alcool acétique et coloration au Feulgen.
- écrasements de contenus d'étamines fixés à l'alcool acétique ferrique et colorés au carmin acétique ferrique de Belling.

Un caryogramme a été dessiné à partir des chromosomes observés en mitose (planche II, 1a, 1b), en se limitant à une étude simplifiée des longueurs relatives des différents chromosomes. On retrouve les 8 types de chromosomes décrits par LEWIS *et al.* ; les 3 plus longs sont repérables en méiose (planche II, 2a, 2b, 2c) à la métaphase I, ils sont en général associés en bivalent droit avec un gros chiasma (2a) qui se terminalise avec retard à l'anaphase (2d). L'association régulière de ces 32 chromosomes en 16 bivalents confirme qu'il n'y a pas d'anomalie causée par l'homéologie supposée de ces chromosomes et que le comportement de ces plantes est celui d'un amphidiploïde stabilisé.

C. La technique culturale

Les *Delphinium* vivaces cultivés se sèment traditionnellement en mai ou juin ; après un hivernage en châssis froid, ils sont mis en place au printemps suivant pour produire 2 à 3 hampes florales. Les hampes sont plus nombreuses et plus développées les années suivantes.

En vue d'étudier leur comportement en jours courts, les cultivars de type « Pacific » ont été conduits ainsi : semis début juin, repiquage en pot pendant l'été, rentrée en serre en octobre ou décembre. Il apparaît que les *Delphinium* peuvent fleurir en jours courts et sans passage au froid (30 à 60 p. 100 de plantes fleuries) et qu'ils peuvent aussi fleurir en été 3 mois après le semis.

L'induction florale n'est donc liée ni à la longueur du jour, ni à l'action des basses températures. Le cycle peut être considéré comme celui d'une plante annuelle, photopériodiquement neutre dans nos conditions de cultures, qui, après une phase de croissance minimum, entre en floraison. Une technique culturale de plante annuelle a donc pu ici être appliquée : semis précoce début mars en serre chaude,

repiquage en champ en mai, floraison normale à 100 p. 100 en août sur une tige florale unique. De taille moyenne 90-120 cm, cette plante possède cependant les caractéristiques d'une fleur coupée commerciale.

D. Traitements mutagènes

N'ayant pas repéré de formes naturelles de stérilité dans la collection, nous avons envisagé une induction par mutagenèse. Les traitements par irradiation de graines en début de germination (après 48 h d'imbibition) aux rayons γ ou par immersion dans des solutions de méthane sulfonate d'éthyle, ont été réalisés par le laboratoire I.N.R.A. de Dijon. Dans un essai préliminaire, nous avons déterminé la D.L. 50 sur un cultivar « Pacific » par la comparaison de 4 doses de : 15-30-60-100 Grays et de 4 concentrations en MSE 1-2-3-5 p. 1 000. La D.L. 50 se situe entre 15-30 Grays et 2-3 p. 1 000.

E. Méthode de sélection

Compte tenu des observations que nous avons faites précédemment et du but poursuivi, la création de variétés hybrides F_1 par l'utilisation d'une stérilité mâle, trois directions de recherche ont été suivies :

- Observation des populations initiales et analyse de leurs descendance autofécondées ;
- Maintien de la variabilité génétique de départ et recherche de recombinants ;
- Criblage des mutants induits et fixation par sélection généalogique.

Après isolement des génotypes « mâle stérile » ou « tige améliorée », le travail s'est poursuivi en plusieurs étapes :

- Analyse du déterminisme des caractères sélectionnés.
- Recombinaison de caractères par hybridation contrôlée ; sélection récurrente, fixation du maximum de qualités ornementales et adaptatives dans des lignées devant servir de géniteurs pour des hybrides F_1 .
- Création de variétés F_1 , soit pour le jardin ou pour la production de fleurs coupées en pleine terre, soit pour la production en serre avec les objectifs retenus en réalisant un nouveau cycle de sélection pour l'aptitude à produire en hiver, soit pour une production printanière de fleurs à forcer à l'aide de tests de valeur en combinaison.

III. RÉSULTATS

A. Etude de la variabilité génétique naturelle ou induite

1) L'observation de la collection montre bien le fort taux d'allogamie des espèces qui, pour la plupart, s'hybrident naturellement. Nous avons constaté une variation continue de beaucoup de caractères comme la hauteur, le port, la taille, la forme de fleur, etc. La plupart des espèces sauvages possèdent des caractères défavorables ou peu ornementaux qui n'existent pas dans les formes cultivées : le port très buissonnant, la grappe ramifiée et courte, la fleur simple et zygomorphe, la pilosité forte des tiges et des pièces florales, le manque de pureté des coloris...

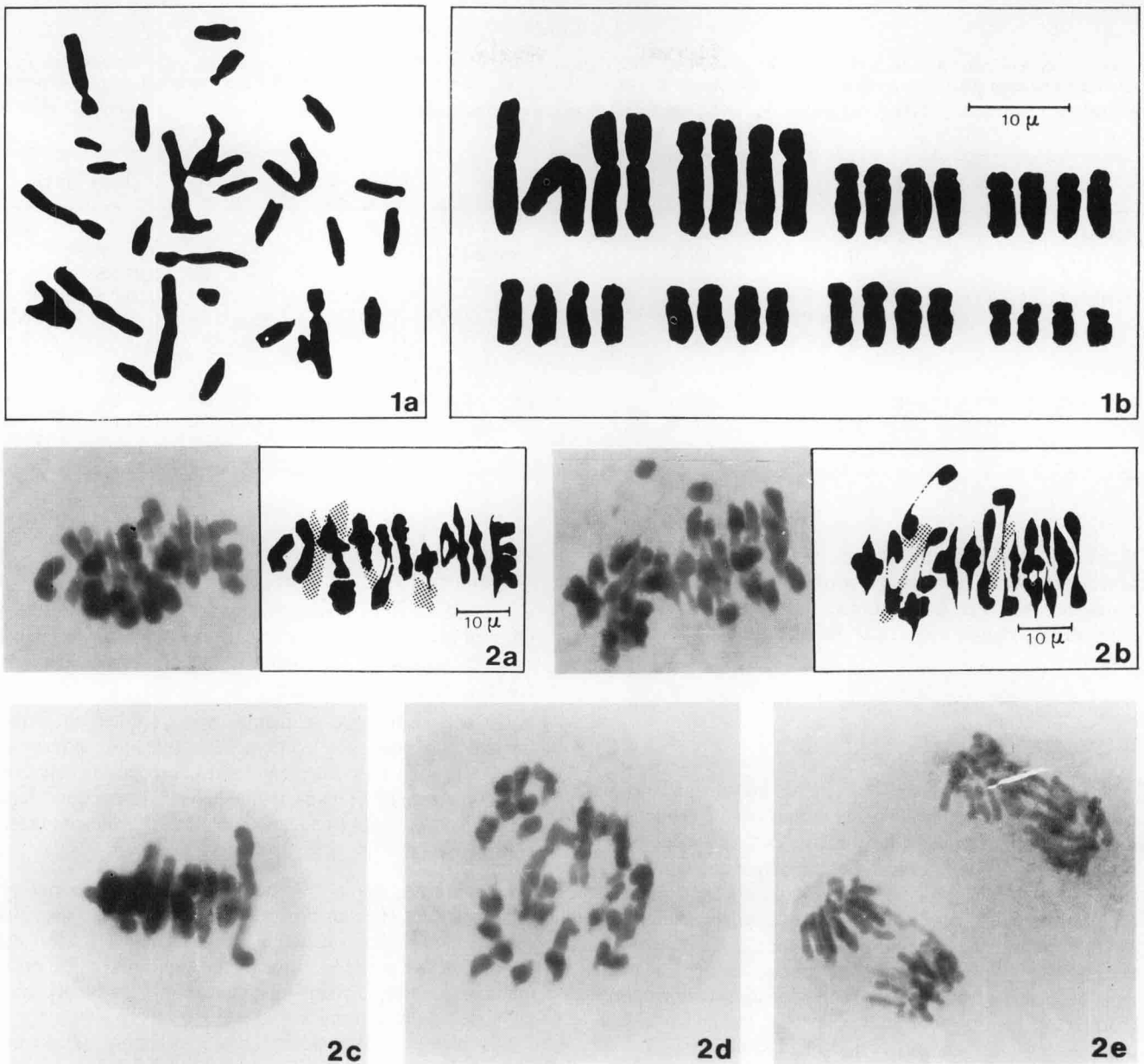


PLANCHE II

Mitose et méiose de *D. hybridum* (cv. « Pacific »)

1 - mitose : a, c-métaphase ; b, caryogramme

2 - méiose de cellules mères de grains de pollen : a, b, c, meta I et schémas ; d, ana I ; e, ana II

PLATE II

D. hybridum (cv. 'Pacific') mitosis and meiosis

1 - mitosis : a, c-metaphase ; b, chromosome diagram

2 - P.M.C. meiosis : a, b, c, meta I and schemes ; d, ana I ; e, ana II.

Ces caractères sont en général dominants puisqu'ils se retrouvent dès la 1^{re} génération de croisement avec les formes cultivées (cas de lots de cultivars récoltés en fécondation libre dans les jardins botaniques). Les géniteurs retenus ont dû être améliorés par sélection récurrente.

L'autofécondation forcée a été réalisée sur tous les lots. Seuls 129 lots ont pu être analysés dans leur descendance autofécondée chez laquelle nous n'avons pas observé de stérilité mâle. Quelques espèces, ayant sans doute une barrière de stérilité, n'ont donné, dans nos conditions de culture, aucune descendance ni en autofécondation ni en fécondation libre, bien que possédant un pollen normal.

L'absence de descendance pour certains lots, l'autofécondation avec des effectifs relativement faibles pour d'autres entraînent une perte de gènes de nature à appauvrir le « pool génique » de départ. Nous avons maintenu la variabilité et, dans une certaine mesure, enrichi ce pool en gènes

favorables en laissant s'établir des fécondations libres entre les populations d'origine et nos descendances en autofécondation. Dans ce type de brassage panmictique, nous avons observé des descendances où seule la plante mère était identifiée, en vue de trouver des mâles stériles ou des individus à tiges résistantes à la verse.

2) Deux séries de traitement mutagène ont été réalisées. La 1^{re} sur cultivar « Pacific » a permis de déterminer les doses efficaces. Elle a été suivie jusqu'en M₂ ; nous avons observé beaucoup d'aberrations chlorophylliennes et de déformations foliaires à la M₀, mais peu de mutations intéressantes. Une 2^e a été effectuée sur le mélange panmictique issu de la collection. Ces lots traités étaient, certes, très hétérogènes et les plantes fortement hétérozygotes. Les mutations, de ce fait, pouvaient apparaître dès la M₁, mais il était nécessaire de les rechercher aussi jusqu'en

TABLEAU 2

Disjonctions fertiles/stériles des trois premières générations, (F/S) test de conformité à l'hypothèse un gène récessif, dans les descendances : d'autofécondation (AA), de croisements frères × sœurs : C (20 × 22), d'hybridation : (B3 × C10) χ^2 0,05 = 3,84 pour un degré de liberté. Fertile/sterile segregation of the first 3 generations (F/S), test for single recessive gene : in selfing AA, in Sib C (20 × 22), in crossing (B3 × C10).

1 ^{re} génération	F/S	2 ^e génération	F/S	χ^2 (3 : 1)	χ^2 (1 : 1)	3 ^e génération	F/S	χ^2 (3 : 1)	χ^2 (1 : 1)
(248-14) FL (3 × 5) = A	19/0	B4 AA B (3 × 1)	14/8 18/28	1,51 NS		[A-(6-19)] × [B-(3 × 1)-37]	17/17		- NS
					2,17 NS	B-(3 × 1)- 4 AA	8/3	1,5 NS	
						-15 AA	14/6	0,27 NS	
(248-14) FL (3 × 6) = B	3/5	B3 × C10	21/18	0,23 NS		-37 AA	20/9	0,56 NS	
		B3 × C16	11/11	- NS		-(2 × 15)	12/21		2,45 NS
		B6 × C8	25/18	1,14 NS		-(2 × 37)	12/21		2,45 NS
						-(27 × 4)	19/10		2,79 NS
						B3 × C10-35 AA	26/12	3,44 NS	
(249-1) FL (5 × 10) = C	17/7	C (19 × 18)	24/20	0,36 NS		B6 × C8- 5 AA	4/2	- NS	
		C (20 × 22)	7/10	0,53 NS		-32 AA	17/2	2,12 NS	
						-(4 × 5)	10/11		0,05 NS

M₃ ou M₄. Il était cependant impossible de détecter dans les généalogies successives, ce qui revenait à l'action des agents mutagènes ou aux hybridations, mais ce traitement, de toute façon, devait augmenter la variabilité du « pool de départ ».

B. Stérilité mâle

Nous n'avons pas repéré de fertilités anormales dans les généalogies issues de traitements mutagènes. C'est dans les descendances maternelles de « Pacific 248 » et « 249 » provenant de I₁ suivies du brassage panmictique que nous avons trouvé une stérilité mâle associée à plusieurs caractères des espèces sauvages. Les 2 descendances autofécondées (248-14) AA, (249-1) AA n'ont révélé, sur 12 et 15 plantes, aucune anomalie pollinique ; par contre, l'année suivante, dans les descendances en lot groupé des fécondations libres (FL), nous avons observé une plante stérile dans chacune de ces 2 descendances : 248-14 FL-3 et 249-1 FL-5 du tableau 2 (1^{ère} génération).

Les étamines de ces 2 plantes présentaient les mêmes caractéristiques de couleur brunâtre et dépourvues de pollen (planche I). Trois croisements plante stérile × plante fertile de la même généalogie ont été réalisés, ainsi que quelques autofécondations des pollinisateurs (AA). Les résultats des 3 premières générations sont rassemblés dans le tableau 2 (les autofécondations de 248-14 FL-6 ou 249-1 FL-10 et 248-14 FL-5, à effectif trop faible, n'ont pas donné de mâle stérile). Les disjonctions des croisements A, B, C, ne peuvent être analysées sans les 2^e et 3^e générations de croisements frères × sœurs ou d'autofécondations :

- Les 1^{re} générations révèlent que cette stérilité reste stable pendant toute la végétation de la plante ; elle est relativement facile à repérer au stade bouton floral et très nette à l'épanouissement de la fleur : les étamines sont brunes, malformées, dépourvues de pollen.
- Dans les 2^e et 3^e générations, les effectifs des descendances étant plus importants, on peut tester les disjonctions dans l'hypothèse de l'action d'un seul gène à l'état récessif « ms ». Il y a une bonne conformité pour l'ensemble des résultats ; seules quelques généalogies, retenues pour leurs qualités ornementales, ont été indiquées dans le tableau 2 ainsi que les résultats au seuil 0,05 des tests de conformité 3 : 1 ou 1 : 1.

- Les 2 stérilités trouvées chez « 248 » et « 249 » sont isoalléliques, les croisements B × C le prouvent.

- Les méioses des plantes mâles stériles ont été étudiées, elles ne présentent pas d'anomalie. Le stade de dégénérescence du pollen se situe au-delà de la tétrade, mais il n'a pas été détecté avec précision.

- Un certain nombre de plantes mâles stériles ou fertiles ont été éliminées, dès le début de la sélection, pour leurs caractéristiques non ornementales trop proches de celles des espèces sauvages et dans lesquelles les disjonctions fertiles/stériles étaient analogues à celles des descendances conservées.

L'apparition, dès la 1^{re} génération, de caractères défavorables existant chez les espèces de la collection, laisse donc supposer que cette stérilité a été introduite chez le cultivar 248 ou 249 par le brassage panmictique. Cet allèle ms se maintient vraisemblablement à une faible fréquence dans les populations naturelles.

Les plantes mâles stériles des générations ultérieures étaient intermédiaires pour la taille, la dimension des inflorescences et la duplication.

Dès la 2^e génération, nous avons introduit le gène ms dans d'autres cultivars « Pacific » (251, 252, 254) et réalisé un 1^{er} cycle de sélection. Par des croisements effectués dans les 2 sens (♀ stérile $\frac{ms}{ms}$ × ♂ fertile 251 et ♀ 251 castré × ♂ fertile choisi dans les descendances F × S, donc hétérozygote $\frac{Ms}{ms}$) suivis d'autofécondations de croisements F × S et de rétrocroisements, nous avons cherché à détecter un effet maternel. Quelques résultats rassemblés dans le tableau 3 :

- confirmer l'action d'un seul gène dans les diverses disjonctions au cours des générations F₂, F₃, F₄.

- ne révèlent pas la présence d'un cytoplasme différent dans les divers génotypes utilisés, ce qui était attendu, compte tenu qu'il ne doit pas y avoir de variations cytoplasmiques importantes entre les divers cultivars « Pacific ».

La stérilité a été mise en évidence dans le cytoplasme 248 ou 249 et nous l'avons testée avec les cytoplasmes de 251, 253 de la même série.

A ce stade de la sélection, des progrès nets ont été enregistrés sur la taille des plantes, des grappes et la duplication des fleurs. Afin de disposer de cette stérilité sur

TABLEAU 3

Généalogies F_1, F_2, F_3, F_4 : A - 1^{er} cycle de récurrence, B - 2^e cycle de récurrence
 AA : autofécondations ; (2 × 1) : frères × sœurs ; F/S disjonctions fertiles/stériles ; BC₁ : 1^{er} rétrocroisement avec 251.
 Signification du χ^2 0,05 dans l'hypothèse 3 : 1 ou 1 : 1 ou χ^2 d'homogénéité ; n° : identité.
 F_1, F_2, F_3, F_4 generations : A - 1st recurrence cycle, B - 2nd recurrence cycle
 AA : selfing (2 × 1) : sib F/S Fertile/Sterile segregation χ^2 test 0.05 with 3 : 1
 or 1 : 1 hypothesis or homogeneity χ^2 ; n° : identity.

A - 1 ^{er} cycle de récurrence		n°	F/S	χ^2 0,05	n°	F/S	χ^2 0,05	n°	F/S	χ^2 0,05	
([ms] × 251)	Fertile	3 AA	13/4	3 : 1 NS							
		15 AA	7/4	3 : 1 NS							
		7 plantes	51/12	χ^2 homo NS							
251 × $\frac{ms}{MS}$	Fertile	1 AA	10/4	3 : 1 NS							
		23 AA	0/14	S							
		BC ₁ 7/14 NS (1 : 1) (2 × 1)	6/5	1 : 1 NS	→	3 AA	22/13	→	$\left[\begin{array}{l} 43 \text{ AA} \quad 6/3 \\ (3 \times 43) \quad 15/14 \quad 1 : 1 \text{ NS} \\ (40 \times 41) \quad 17/25 \quad 1 : 1 \text{ NS} \\ (40 \times 29) \quad 26/17 \quad 1 : 1 \text{ NS} \end{array} \right.$		
B - 2 ^e cycle de récurrence											
([ms] × 247)	Fertile	7	15/7	3 : 1 NS							
		13	22/6	3 : 1 NS							
		32	23/10	3 : 1 NS	→	18 AA	14/7	3 : 1 NS	→	$\left[\begin{array}{l} 6 \text{ AA} \quad 12/7 \quad 3 : 1 \text{ NS} \\ 8 \times 6 \quad 4/6 \quad 1 : 1 \text{ NS} \end{array} \right.$	
		28	19/10	3 : 1 NS		(28 × 18)	23/17	1 : 1 NS			
		37	20/13	3 : 1 NS		(3 × 19)	26/16	1 : 1 NS			
		9 plantes	124/54	χ^2 homo NS	(41 × 29)	14/11	1 : 1 NS				
([ms] × 248)	Fertile	2	14/5	3 : 1 NS							
		5	24/4	3 : 1 NS	→	8 AA	22/5	3 : 1 NS			
		3	16/2	3 : 1 NS		13 AA	10/2	3 : 1 NS			
		3 plantes	54/11	χ^2 homo NS		3 × 11	14/7	1 : 1 NS			
([ms] × 341)	Fertile	4	8/2	3 : 1 NS							
		5	10/4	3 : 1 NS	→	4 AA	12/2				
		6	12/5	3 : 1 NS		15 AA	16/10	3 : 1 NS	→	$\left[\begin{array}{l} 5 \text{ AA} \quad 7/4 \quad 3 : 1 \text{ NS} \\ (4 \times 5) \quad 6/5 \quad 1 : 1 \text{ NS} \end{array} \right.$	
		3	9/2	3 : 1 NS		(10 × 4)	3/1				
		7 plantes	53/17	χ^2 homo NS	(21 × 15)	3/4					
		F ₁	F ₂		F ₃	F ₄					

une gamme plus étendue de génotypes, nous avons cherché à créer une série de lignées améliorées dans les divers coloris, en réalisant un 2^e cycle de sélection faisant intervenir 9 cultivars 247, 248, ..., 341. En F₄, nous disposons d'une gamme de lignées maintenues par croisements F × S (disjonctions 1 : 1) dans différents coloris et formes de fleurs. Le tableau 3B fait état du maintien mendélien de cette stérilité pendant 3 générations successives. On peut remarquer que l'introgession facile du gène dans les cultivars et la fertilité normale des lignées porteuses du gène ms font que cette stérilité est parfaitement utilisable dans un programme d'obtention de semences F₁.

C. Structure de la tige

Les tiges florales chez les cultivars ornementaux peuvent avoir plus de 1,50 m de hauteur et 2 cm de diamètre à la base en 2^e année de floraison. La structure de ces tiges creuses (planche III, 1b) sur toute leur longueur entraîne, après la coupe, une déshydratation de la grappe et, de ce

fait, un mauvais comportement au transport et souvent une tenue en vase très médiocre. De plus, les tiges sont très cassantes au moment de la floraison et versent fréquemment.

Nous avons constaté que la structure des tiges de 1^{re} année est comparable à celle des tiges des années ultérieures. Les tiges creuses s'écrasent facilement sous la pression du pouce à la floraison et c'est par ce test simple que nous avons sélectionné des tiges plus robustes. Ces différences de résistance à la verse constatées dans la collection pour certains lots se sont constamment maintenues, ce qui traduit une indépendance relative du caractère par rapport au milieu. Les tiges robustes ne sont pas complètement pleines, mais ont des tissus qui sont plus lignifiés (planche III, 1a). La sélection faite dans un premier temps à la floraison était ensuite confirmée à la récolte de la semence par la section de la tige à 25 cm du sol.

Les géniteurs ont été recherchés principalement dans les descendance de traitement mutagène : soit sur les cultivars « Pacific » traités chez lesquels nous n'avons détecté que peu de variations, soit dans les descendance de mélange

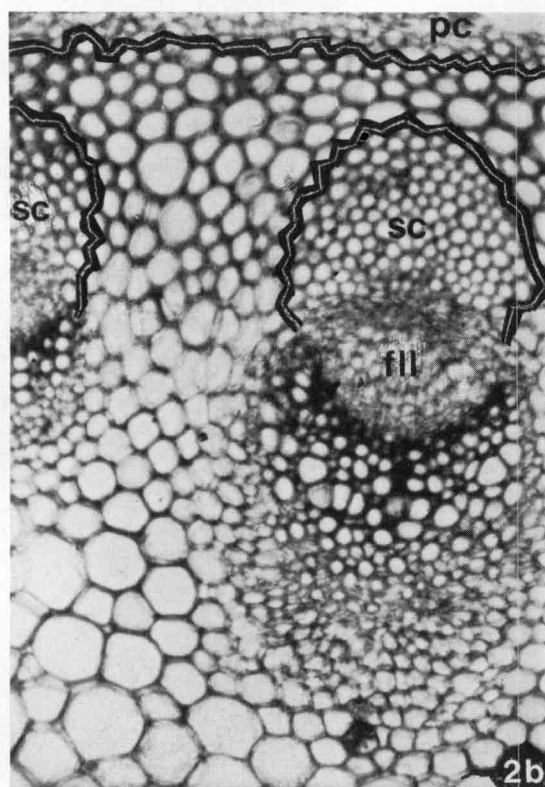
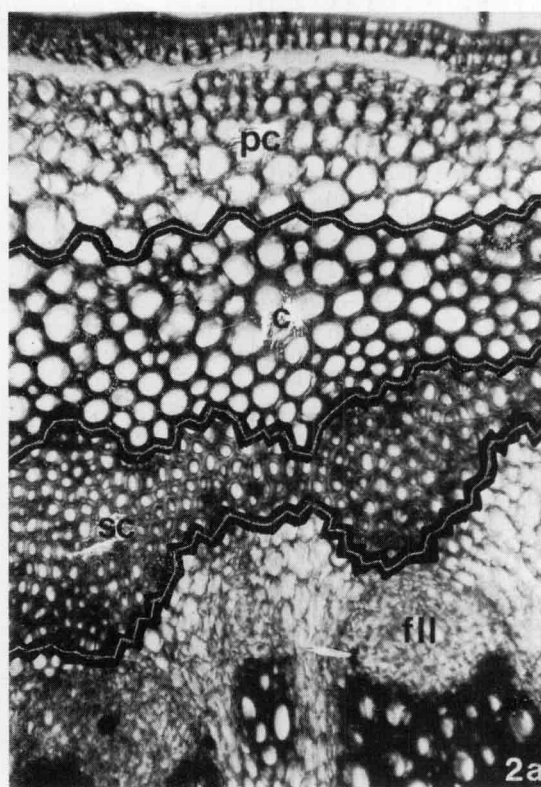
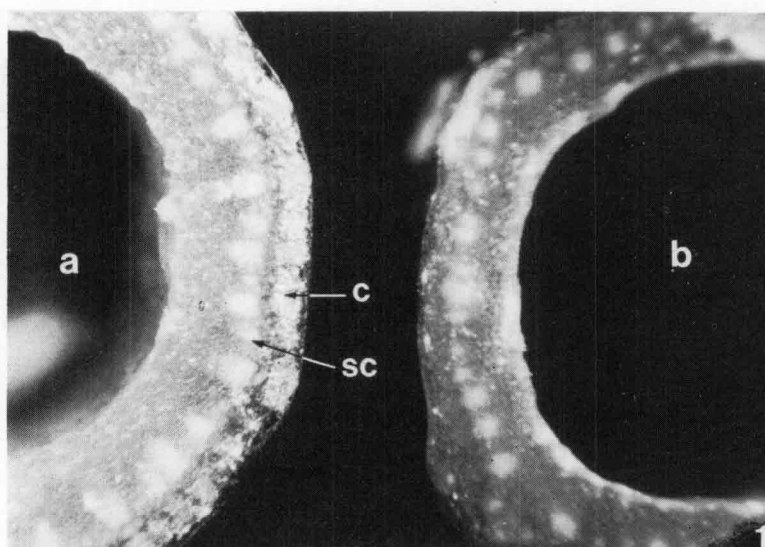


PLANCHE III

Structure de la tige

1 - Section transversale de tige (\varnothing 12-14 mm) ; a, tige améliorée [31-14...] ; b, tige creuse « cv. Pacific ».

2 - Coupes anatomiques colorées au carmino-vert

a, tige améliorée ; b, tige creuse ; pc, parenchyme cortical ; c, collenchyme ; sc, sclérenchyme ; f.l.l., faisceau libéro-ligneux

Stem structure

1 - transverse section (\varnothing stem 12-14 mm) ; a, improved stem [31-14...] ; b, hollow stem (Pacific).

2 - Anatomical sections stained with carmine green

a, improved stem ; b, hollow stem ; pc, cortical parenchyma ; c, collenchyma ; sc, sclerenchyma ; f.l.l., vascular bundles.

PLATE III

panmictique traité. La collection présente quelques formes à entre-nœuds courts et à tige robuste, mais les types d'inflorescences sont trop différents de ceux des formes hybrides améliorées. Un géniteur possible *D. pylzowi* M. a été suivi pendant plusieurs générations d'autofécondation et présente une bonne résistance.

Sur plusieurs centaines de plantes M_0 traitées, nous avons sélectionné en M_3 , 13 familles présentant des caractères de

résistance plus ou moins marqués avec quelques qualités ornementales. Les plantes M_4 observées uniquement la 1^{re} année de culture, sont en général plus petites que celles des cultivars de *D. hybridum*, à entre-nœuds plus courts avec des fleurs plus petites, légèrement doubles, de couleurs bleu pâle, mauve rosé ou blanc. Les 2 meilleures familles sont l'une issue de traitement mutagène (31-14...) l'autre issue de *D. pylzowi* en fécondation libre (183-1 FL) ; elles

TABLEAU 4

Introduction du caractère « stérilité mâle » et de caractères ornementaux dans les lignées « tige résistante » ; sélection du pourcentage de plantes à tiges résistantes dans les généalogies.

Introduction of male sterility and ornamental characters into lines with 'lay resistance' : selection of % plants with lay resistant in progenies.

	F ₁	F ₂	F ₃	F ₄	F ₅
[♂ st] × [31-14...19]	→ 50 % 6 AA	→ 70 % 6-4 AA	→ 90 % 6-4-4 AA	→ 90 %	
		→ 6-(7 × 8)	→ 30 %		
		→ 6-(7 × 5)	→ [6-(7 × 5)] 5 AA	→ 50 %	
		→ 6-21 AA	→ 80 %	[]-10 AA	→ 90 %
			6-21[23 × (ms 341...)]	→ 45 %	
				X AA	→ 90 %
			6-21(23 × 8)	→ 78 %	
				[]7 × (ms 250...)	→ 90 %
[31-14...29] géniteur type résistant (80 p. 100)	Ornamental and male sterile gene introduction in 'resistant stem' Strains 'resistant stem' sélection. Different levels of 'resistant stems' 31-14...29 : 80 p. 100 ; ♂ st : 0 p. 100 ; ms 341... ms 250... : 0 p. 100				
[♂ st] géniteur stérilité mâle (0 p. 100)					
{ms 341...} géniteurs $\frac{ms}{ms}$ de divers coloris (0 p. 100)					
{ms 250...} géniteurs $\frac{ms}{ms}$ de divers coloris (0 p. 100)					

donnent au moins 70 p. 100 de plantes à tiges résistantes dans leur descendance. Cette dernière famille possédant moins de caractères ornementaux que la première n'a pas été utilisée comme géniteur, dans un premier temps.

Nous avons examiné des coupes de tiges faites au microtome à main et colorées au carmino-vert de Mirande. Les photos de la planche III donnent une comparaison de tige « améliorée » (2a) avec une tige dite « creuse » (2b). Les observations sont faites sur des coupes réalisées dans des tiges de même diamètre et au même niveau. Les tiges creuses des « Pacific » ont une épaisseur de parenchyme cortical peu importante et seuls quelques îlots de sclérenchyme coiffent les faisceaux libéro-ligneux. Les tiges résistantes ont un parenchyme beaucoup plus épais et le collenchyme y est très important ; il se présente en une large zone presque continue constituant un anneau de soutien ; les zones de sclérenchyme sont aussi très larges ; elles coiffent les faisceaux du bois et du liber donnant leur aspect cannelé aux tiges. Les entre-nœuds plus courts se caractérisent par des petits faisceaux libéro-ligneux intercalaires qui contribuent de même à cette résistance plus grande de la tige. Ces lignées sélectionnées ont une bonne résistance à la verse sur le terrain. Le comportement en vase des fleurs coupées est bon mais il n'a pas encore fait l'objet d'essais systématiques.

Le caractère de tige est difficile à mesurer et se présente sous forme d'une variation continue à travers les différents génotypes ; il peut être plus ou moins net suivant le diamètre et la tige, cependant le tableau 4 où intervient un géniteur mâle stérile à tige creuse dans un croisement avec un géniteur à tige résistante montre, dans les générations d'autofécondation ou de croisements frères × sœurs, les possibilités de maintien ou d'accroissement par sélection du pourcentage de tiges résistantes.

L'introgession du caractère tige résistante dans le géniteur mâle stérile à nombreux caractères ornementaux est en cours de réalisation et il n'apparaît pas actuellement de linkage très étroit entre tige résistante et caractères non ornementaux. Nous avons, dans une 1^{re} phase, choisi un

mâle stérile issu du cycle de récurrence génotype à tige creuse qui a été pollinisé par les M₄. En 3 générations d'autofécondations, nous avons obtenu plusieurs lignées à fleurs doubles et à tiges résistantes possédant la stérilité mâle, mais leur taille est plus réduite que celle d'un cultivar classique (1 m maximum). Les lignées ont des tiges à entrenœuds plus courts, un port plus buissonnant, des grappes denses d'une quinzaine de fleurs blanches ou roses, doubles, homogènes, sans œil. Elles pourraient être directement utilisées comme plantes à massif dans la décoration de jardins. Dans une 2^e phase, nous avons introduit par la même méthode ce caractère de tige dans d'autres lignées (ms 341, ..., ms 250, ...) aux coloris de fleurs plus variés et à grandes fleurs. Le tableau 4 résume les 2 phases de cette sélection et la fixation du pourcentage de tiges améliorées à un niveau élevé, 90 p. 100, ainsi que le maintien des gènes de stérilité par croisements frères × sœurs.

IV. CONCLUSION

Les deux problèmes abordés débouchent sur la création d'un matériel nouveau :

— d'une part, des géniteurs possédant la stérilité mâle monogénique récessive fournis par des lignées maintenues

1
en croisement frères × sœurs (disjonction diploïde, $\frac{1}{2}$ fertile, $\frac{1}{2}$ stérile) et qui possèdent, en outre, de nombreux caractères ornementaux intéressants.

— d'autre part, quelques géniteurs aux tiges robustes, assez élevées, dans plusieurs coloris, qui doivent permettre de produire des fleurs coupées de qualité avec une meilleure régularité et, pour certains, être utilisés directement comme plantes à massif.

Ce matériel a, dès à présent, été mis à la disposition des membres de la Section Fleurs de l'Association de Créateurs de Variétés Potagères et Florales (A.C.V.P.F.) (Association française loi 1901)

Reçu le 21 décembre 1981.

Accepté le 28 mai 1982.

REMERCIEMENTS

Pour la constitution de notre collection nous remercions vivement M. KERGUELEN (Laboratoire I.N.R.A. de Botanique et d'Ecologie) et les Laboratoires Fleurs de l'A.C.V.P.F.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Cachon H.**, 1980. La stérilité mâle, sa recherche, son utilisation en vue de la production de fleurs coupées chez *Antirrhinum*, *Delphinium*, *Helianthus*, *Zinnia*. *EUCARPIA Meet. on flower plants with sexual reproduction*. Versailles, April 80, 61-71.
- Gage M. A.**, 1953. The cytology, morphology and systematic relationships of *Delphinium* × *belladonna*. Hort. ex. Bergen. *Ann. Missouri Bot. Gaz.*, **27** (2), 113-166.
- Kneiss L. P.**, 1979. Forcing and low energy production of herbaceous perennials for cut flowers. *Dtsch. Gartenbau*, **33** (26) 1100-1102 (De) 4 pl.
- Laudanski F., Mitteau M.**, 1973. *Création de variétés florales pour une production de jours courts*. Compte rendu de fin de contrat D.G.R.S.T., février 73.
- Lawrence W. J.**, 1936. The origin of new forms in *Delphinium*. *Genetica*, **18**, 109-115.
- Legro R. A. H.**, 1961. Species hybrids in *Delphinium*. *Euphytica* **10**, 1-23.
- Legro R. A. H.**, 1962. Species hybrids and *Delphinium* breeding. *16^e Int. Hort. Cong.* Brussels, **4**, 50-53.
- Legro R. A. H.**, 1963. The breeding of red, orange and yellow *Delphinium*. *J. Roy. hort. Soc.* **88**, 13-19.
- Legro R. A. H.**, 1964. *Delphinium* breeding, in *Genetics today*. Proc. *11 int. Congr. Genet.* Pergamon press., li-lv.
- Legro R. A. H.**, 1976. Observations on red flowering *Delphinium* university hybrids. *1rst Int. Symp. Floriculture Plant Breeding Genetics* East Lansing. Mich. U.S.A. *Acta Hort.*, **63**, 91-97.
- Lewis H.**, 1946. Formation of a diploid species of *Delphinium* by hybridization, *Delphinium recurvatum*. *Am. J. Bot.*, **33**, p. 235.
- Lewis H., Epling C. Mehlquist G. A. L., Wyckoff C. G.**, 1951. Chromosome numbers of Californian *Delphiniums*. *Ann. Missouri Bot. Garden.*, **38**, 101-117.
- Malyutin N. J.**, 1965. Biological role of the inflorescence in the evolution of certain plants. *Bot. Zh. Moscow*, **50**, 685-89.
- Malyutin N. J.**, 1973. The phylogeny and the taxonomy of the *Delphinium* genus. *Bot. Zh. Moscow*, **58**, (12), 1710-1722.
- Melquist G. A. L., Gage M. A.**, 1962. The origin of *Delphinium* × *belladonna*. Hort. Proc. *16th Int. Hort. Cong.* Brussels, (1), 298-299.
- Merchat L.**, 1971. *La stérilité mâle chez quelques espèces herbacées ornementales : problèmes posés pour la fabrication d'hybrides commerciaux*. D.E.A. Amél. Plantes. Université Paris XI.
- Penningsfeld F., Kurzmann P., Kalthoff F.**, 1980. Cut flower perennials under plastic sheeting I, II. *Dtsch. Gartenbau*, **34**, 714-720, 774-778.
- Plömacherh H.**, 1980. Plants grown under plastic for cutting: preliminary results with cultivars of *Delphinium*. *Zierpflanzenbau*, **20**, (1), 15-16.