



HAL
open science

La maîtrise de la reproduction sexuée

Marc Bonnet-Masimbert, Marc Villar

► **To cite this version:**

Marc Bonnet-Masimbert, Marc Villar. La maîtrise de la reproduction sexuée. *Revue forestière française*, 1986, 38 (Spécial), pp.48-58. 10.4267/2042/25747 . hal-03424852

HAL Id: hal-03424852

<https://hal.science/hal-03424852>

Submitted on 10 Nov 2021

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.

LA MAÎTRISE DE LA REPRODUCTION SEXUÉE

NÉCESSITÉ D'UNE TELLE MAÎTRISE

Les stratégies d'amélioration d'une espèce végétale, notamment forestière, impliquent souvent l'utilisation de la reproduction sexuée. Cette dernière est en effet seule à même de permettre la création d'un matériel nouveau présentant, par rapport au matériel disponible, une supériorité qualitative ou quantitative. C'est en effet en réalisant des **croisements** entre individus que l'on va pouvoir, par le biais de la **recombinaison des gènes** portés par les deux parents, introduire dans leur descendance tel ou tel caractère d'adaptation (résistance à la sécheresse, au froid, à certains pathogènes...) ou améliorer la quantité ou la qualité technologique du bois élaboré.

L'améliorateur doit donc maîtriser la reproduction sexuée des végétaux sur lesquels il travaille. Cette nécessité se fait sentir à deux niveaux :

— Détermination de l'**héritabilité** des caractères ayant fait l'objet de la sélection, et ceci avant de l'effectuer en vraie grandeur. En simplifiant, il s'agit d'estimer la part de ces caractères que l'individu sélectionné est à même de transmettre à sa descendance (**aptitude générale** à la combinaison : **effet additif** des gènes). C'est en effet sur sa descendance que l'on peut qualifier un géniteur.

— Détection de combinaisons particulièrement performantes entre certains individus (**aptitude spécifique** à la combinaison : **vigueur hybride**) conférant à leur descendance une supériorité par rapport à la moyenne des deux parents.

A cela, il convient d'ajouter la nécessité d'un approvisionnement régulier en graines améliorées et donc le suivi et la maîtrise de la floraison au niveau des **vergers à graines**.

PARTICULARITÉS DES ESPÈCES FORESTIÈRES

Au moins deux caractéristiques dans la floraison des espèces forestières ont une incidence particulière pour l'améliorateur : l'existence d'une **phase juvénile**, pendant laquelle le végétal est inapte à fleurir, et l'**irrégularité des fructifications**. La durée de la phase juvénile est variable d'une espèce à l'autre, et même entre individus d'une même espèce : moins de 5 ans pour le Bouleau et *Pinus contorta*, espèces pionnières, 15 à 30 ans pour le Douglas et l'Épicéa, souvent plus de 40 ans pour les Chênes, Hêtres et nombreux Sapins. Concrètement, si de bonnes corrélations jeune-adulte permettent parfois une sélection d'individus très jeunes, la durée de la phase juvénile limite la portée de leur testage précoce. C'est la raison d'être de travaux entrepris notamment à l'I.N.R.A. d'Orléans pour provoquer une **induction florale précoce** sur les jeunes sujets sélectionnés. Signalons que l'aptitude à fleurir jeune serait un caractère transmissible, d'origine maternelle (travaux canadiens de Holst sur Pin sylvestre), mais qui n'est pas utilisé par les améliorateurs, lesquels sélectionnent au profit de la production de bois et non de celle de graines. Par ailleurs, même quand la phase juvénile est terminée, la fructification n'intervient qu'épisodiquement, pour partie en raison d'une irrégularité de floraison, mais aussi du fait de l'intervention de facteurs biotiques et abiotiques lors de la pollinisation, puis au cours du développement de la fleur en fruit. Ceci se traduit par exemple par des écarts de 7 à 8 ans entre bonnes faînées ou glandées dans l'Est de la France. Cette irrégularité doit être maîtrisée en particulier dans les vergers à graines.

INDUCTION DE LA FLORAISON : APERÇUS THÉORIQUES ET PRATIQUES

A l'origine de chaque organe reproducteur se trouve un **massif méristématique** ou primordium (amas de petites cellules à gros noyaux) au départ indifférencié, situé à l'aisselle d'une feuille. Celui-ci va pouvoir évoluer dans cinq directions : avortement précoce ; maintien à l'état de bourgeon latent ; formation d'un bourgeon, ou d'une partie de bourgeon, soit végétatif, soit mâle, soit femelle. D'une année à l'autre, plus qu'à des variations dans le nombre de ces méristèmes, on assiste à des variations dans leur répartition entre ces différentes voies. Nos techniques doivent donc viser à orienter un nombre suffisant de massifs méristématiques vers la voie sexuée. L'essentiel des travaux sur ce thème concerne les conifères (Sweet [7], Bonnet-Masimbert [1] et [10]⁽¹⁾).

Enfin, lorsque l'on observe une floraison l'année n , c'est le plus souvent l'année $n - 1$ qu'ont été initiées les ébauches florales. Ce sont donc les facteurs présents cette année qu'il faudra étudier. Par contre, s'il y a eu floraison, la fructification dépendra surtout des conditions de l'année n (voire des années n et $n + 1$ pour les cycles s'étalant sur deux ans, comme le Cèdre, le Pin sylvestre, les Chênes rouges...).

Influence de facteurs externes

Il s'agit d'abord de la **température** : printemps et été chauds sont souvent favorables. La **lumière** joue aussi un rôle, surtout par le biais de son intensité⁽²⁾ : plus elle est forte, meilleure est la floraison. Ceci explique largement les fructifications plus abondantes en bordure de peuplements qu'en leur centre. De ce fait, dans les vergers à graines, les arbres devront être bien espacés et leurs cimes éventuellement taillées pour permettre un bon éclairage sur un maximum de branches. La photopériode (durée du jour) semble moins importante. Elle interviendrait cependant dans la détermination du sexe chez les Pins et certaines Cupressacées, ce qui peut être utile si l'on souhaite artificiellement privilégier la fonction mâle ou la fonction femelle. Enfin, bien entendu, la **nutrition minérale** joue un rôle, de même que l'**alimentation en eau** (les sécheresses modérées sont favorables à la floraison). Tous ces éléments doivent être pris en compte lors du choix des sites d'installation des vergers à graines, ce qui constitue le moyen le plus efficace d'optimiser leur production. A cela, il convient d'ajouter l'effet de certains **traumatismes** effectués sur l'arbre, qui facilitent l'orientation plus précoce ou plus abondante des méristèmes vers la voie sexuée : section d'une partie des racines (cernage), élimination d'un anneau d'écorce (annélation), ce qui empêche le retour de la sève élaborée vers les racines, tailles diverses appliquées dans la cime et arcure de certains rameaux. Des résultats positifs ont été obtenus par cernage en vergers à graines de Douglas notamment. Une autre solution très favorable consiste à travailler sur plants élevés en serre (Bouleau, Épicéa de Sitka...).

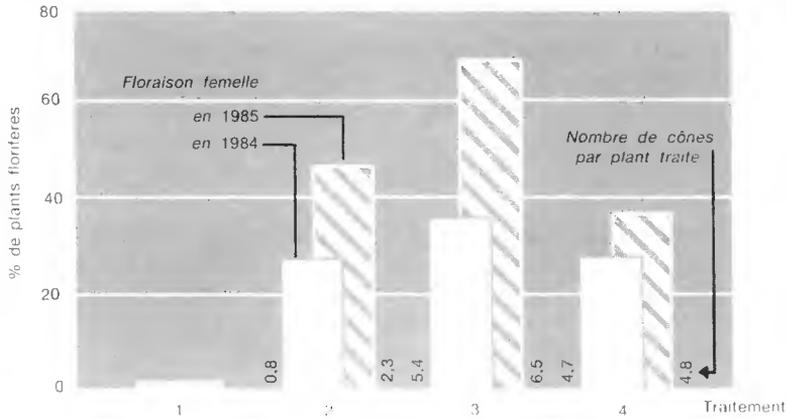
Influence de facteurs internes

En plus de l'âge de la plante (juvénilité), il n'y a, au cours du cycle annuel de développement, que des périodes très délimitées dans le temps pendant lesquelles les massifs méristématiques indifférenciés, évoqués plus haut, sont présents et réceptifs aux facteurs, tant internes qu'externes susceptibles de favoriser la floraison (cf. Bonnet-Masimbert [10]). Ce que recouvre cette réceptivité est très mal connu et relève encore très largement d'hypothèses. On pense au rôle de la dimension de la plante, de l'éloignement entre le système racinaire et ces méristèmes, du rythme des divisions cellulaires dans le méristème (index mitotique), du rapport entre les différents types d'acides nucléiques (A.R.N. et A.D.N.), et enfin, de certaines « **hormones végétales** ».

(1) Les numéros entre crochets renvoient à la bibliographie en fin d'article.

(2) Voir les travaux de l'équipe du Professeur Giertych, en Pologne, sur Épicéa et Pin sylvestre.

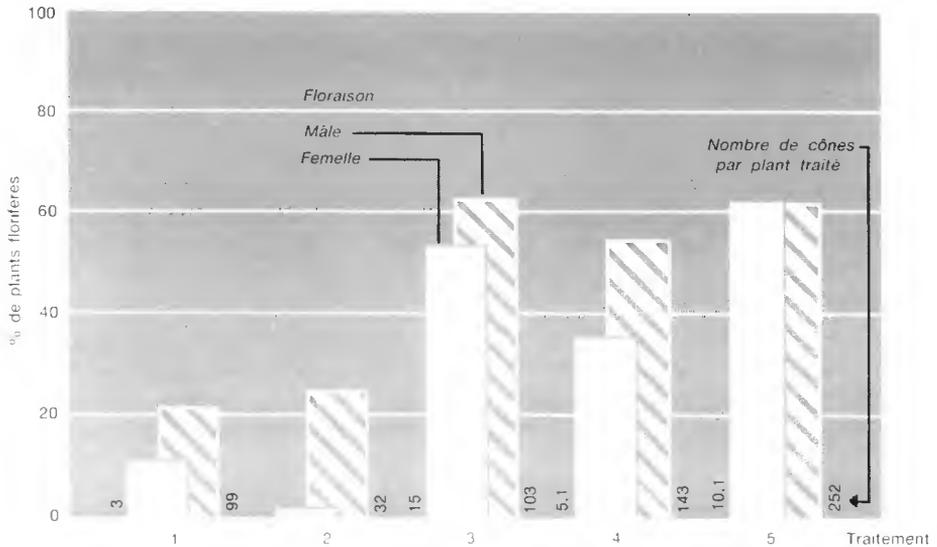
Figure 1 ESSAI D'INDUCTION DE LA FLORAISON SUR ÉPICÉAS COMMUNS ÂGÉS DE 9 ANS, ÉLEVÉS EN CONTENEURS. LES TRAITEMENTS ONT ÉTÉ EFFECTUÉS EN JUIN 1983 LES PLANTS ÉTANT ALORS TRANS-FÉRÉS EN SERRE. LA FLORAISON A ÉTÉ NOTÉE 2 ANNÉES CONSÉCUTIVES (1984 ET 1985)



Traitements - 1 : plants ayant reçu une annélation d'écorce ; 2 : annélation d'écorce + 60 mg gibbéréllines 4 et 7 (GA 4/7) à forte concentration en GA 7 ; 3 : annélation d'écorce + 60 mg de GA 4/7 à faible concentration en GA 7 ; 4 : annélation d'écorce + 90 mg de GA 4/7 à faible concentration en GA 7.

(Bonnet-Masimbert, Symposium I.U.F.R.O., Kornik, 1985).

Figure 2 ESSAI D'INDUCTION DE LA FLORAISON SUR DOUGLAS GREFFÉS (4 ANS APRÈS GREFFAGE). EFFET COMPARÉ DES GIBBÉRELLINES ET DE TRAITEMENTS CULTURAUX. EXPERIENCE RÉALISÉE EN SERRE



Traitements - 1 : témoin ; 2 : sécheresse ; 3 : sécheresse + perfusion de gibbéréllines 4 et 7 (GA 4/7) ; 4 : trempage alterné du système racinaire pendant 3 semaines après le débournement ; 5 : trempage + perfusion de GA 4/7.

(Bonnet-Masimbert, *Silvae Genetica*, 1982).

D'un point de vue pratique, c'est l'application externe de certains de ces régulateurs qui a donné le plus de résultats. En effet, l'un des groupes, celui des **Gibbérellines**, a permis, d'abord sur Cupressacées (Kato, chercheur japonais, 1958), puis sur Pinacées, seulement à partir de 1976 [4], de provoquer la floraison sur des sujets très jeunes (*Cupressus* de 88 jours, Douglas de 4 ou 5 ans, *Tsuga* de 2 ans, *Épicéa* de 9 ans). Actuellement, plus de 40 espèces de conifères sont concernées appartenant notamment aux genres *Chamaecyparis*, *Cryptomeria*, *Cupressus*, *Larix*, *Picea*, *Pinus*, *Pseudotsuga*, *Thuja*, *Tsuga*.

Les résultats dépendent d'une stricte synchronisation des traitements par rapport au développement de chaque plant, à des stades qui varient d'une espèce à l'autre, qui sont encore loin d'être bien identifiés et n'ont pas d'une année à l'autre la fixité des dates de calendrier. Ceci explique l'irrégularité des résultats et le fait que, sauf exception (*Cryptomeria*), ces traitements ne soient pas encore utilisables en vergers à graines. Ils commencent par contre à l'être pour la réalisation de croisements pour l'amélioration. Leur optimisation dépend aussi d'une application simultanée de ces régulateurs et d'autres traitements comme le cernage racinaire, une annélation d'écorce, la sécheresse, une fertilisation spécifique ou l'élevage des plants en serre (figures 1 et 2).

REPRODUCTION SEXUÉE CHEZ LES ARBRES FORESTIERS

Notons tout d'abord que les connaissances précises sur la biologie florale des espèces forestières sont malheureusement peu abondantes. La reproduction sexuée met en jeu deux partenaires :

- le partenaire mâle : le grain de pollen, organisme pluricellulé renfermant les gamètes mâles,
- le partenaire femelle : l'ovule, siège de la fécondation qui renferme les cellules reproductrices femelles.

Chez les Gymnospermes (conifères), ces ovules sont portés par des écailles ovulifères, l'ensemble de ces écailles formant le cône femelle (figure 3d). Chez les Angiospermes (feuillus), ces ovules sont enfermés dans un ovaire, surmonté d'un style. L'ensemble de ces organes dénommé pistil, forme les parties reproductrices de la fleur femelle.

Des différences fondamentales singularisent les feuillus des conifères. Les Angiospermes (figures 3a, b, c) (feuillus) sont caractérisées par la présence du pistil qui assure la réception (par l'intermédiaire du stigmate à son sommet) et le contrôle du pollen (Dumas [3], [10]). Par contre chez les Gymnospermes, l'ovule est nu et assure lui-même ces rôles. Ne possédant pas de stigmate, les téguments de l'ovule ont élaboré des dispositifs (appareil collecteur aidé, chez certaines espèces, par une goutte micropylaire) qui permettent de recueillir les grains de pollen disséminés par le vent [2]. Pour cela, il faut au préalable, que les écailles ovulifères du cône soient largement ouvertes et déployées afin de permettre le passage aisé des grains de pollen jusqu'à l'ovule (figure 3f).

Un des facteurs particulièrement limitant en pollinisation artificielle (surtout chez les conifères) réside dans le fait que ces appareils collecteurs présentent une période de réceptivité optimale. En effet, plusieurs auteurs et plus particulièrement l'équipe du Professeur Owens au Canada ont montré que la période de réceptivité était très courte en conditions naturelles, de l'ordre de 2 à 4 jours chez l'*Épicéa* de Sitka, *Pinus contorta*, Douglas et *Larix occidentalis*. Il devient donc primordial de connaître parfaitement ces périodes optimales de pollinisation, en vue d'appliquer artificiellement ces pollens au moment précis. Des études visant à corrélérer la période de réceptivité à des critères morphologiques du cône sont réalisées actuellement sur le Mélèze dans le laboratoire du Professeur Dumas en France (Lyon).

De plus, il importe avant toute pollinisation de se préoccuper de la qualité du pollen [3]. Si les périodes de floraison entre les deux espèces concernées ne coïncident pas (ce qui est le cas par exemple entre le Mélèze d'Europe et le Mélèze du Japon), une étape de récolte et de conservation du pollen sera nécessaire. Ce pollen devra être stocké d'une manière telle qu'il ne perde en aucun cas sa qualité, c'est-à-dire son aptitude à féconder.

Ces deux verrous simples (viabilité mâle et réceptivité femelle) étant maîtrisés, certains croisements artificiels se heurtent à des barrières d'incompatibilité qui se traduisent soit par le rejet du grain de pollen avant la fécondation, soit par la non-viabilité de l'embryon hybride.

HYBRIDATIONS INTERSPÉCIFIQUES ET INCOMPATIBILITÉ DE CROISEMENT

L'hybridation interspécifique, c'est-à-dire le croisement sexué entre deux espèces différentes, constitue un outil précieux maintenant intégré dans de nombreux programmes d'amélioration des arbres forestiers. Mais les résultats de tels croisements sont très différents suivant les espèces concernées. En effet, certaines hybridations peuvent se réaliser naturellement, par exemple entre espèces à aires de répartition voisines ou communes. C'est le cas du Peuplier grisard européen dans les zones de contact des espèces parentes *Populus tremula* et *Populus alba*.

Dans d'autres cas, l'homme peut avoir favorisé l'hybridation naturelle en introduisant des espèces d'autres continents, qui se sont croisées avec l'espèce locale (l'isolement géographique de ces espèces constitue en fait une barrière spatiale à l'hybridation). Tel est le cas du clone de Peuplier I-214 qui résulte d'une hybridation naturelle entre le Peuplier nord-américain *Populus deltoides* introduit en Europe et le Peuplier européen *Populus nigra*.

Mais un certain nombre d'autres croisements sont contrariés par l'existence fréquente de barrières d'incompatibilité interspécifique, rendant le croisement impossible. D'où les recherches, conduites notamment à Lyon (équipe du Professeur Dumas), pour mieux comprendre les phénomènes physiologiques en jeu dans le but de lever expérimentalement ces barrières de croisement.

Incompatibilité de croisement chez les feuillus

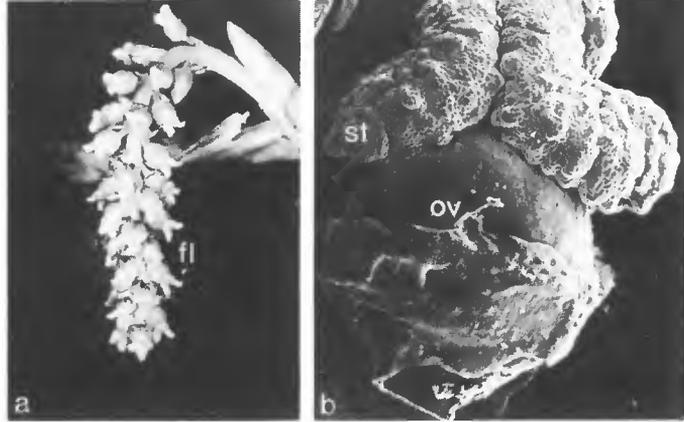
- *Mécanisme de l'incompatibilité*

Les barrières d'incompatibilité interspécifique existent chez les Angiospermes et des cas de rejet, avant ou après fécondation, sont connus chez de nombreuses espèces telles le Peuplier, l'Aune, l'Orme, l'Eucalyptus ou le Merisier.

Pour comprendre les mécanismes de rejet, il faut savoir qu'après son adhésion à la surface du stigmate, le grain de pollen subit un « examen de passage ». En cas d'acceptation (le pollen est dit compatible), le pollen s'hydrate puis élabore un tube pollinique qui pénètre dans le style jusqu'à l'ovule. En cas de rejet (le pollen est dit incompatible), la croissance sera arrêtée soit à la surface du stigmate avant qu'il ne perce, soit à l'intérieur du style à différents niveaux de profondeur de pénétration en direction de l'ovule. Le rejet pourra même se produire après fécondation engendrant un avortement rapide de l'embryon.

Les bases cellulaires et moléculaires de ces interactions commencent à être élucidées chez les Angiospermes [3]. Il semble que l'acceptation ou le rejet du grain de pollen par le pistil dépendent de molécules présentes d'une part à la surface du grain de pollen ou du tube pollinique, d'autre part dans le style. L'acceptation du pollen résulterait d'une lecture conforme de ces molécules-sigaux polliniques par des molécules-récepteurs styliques.

Figure 3



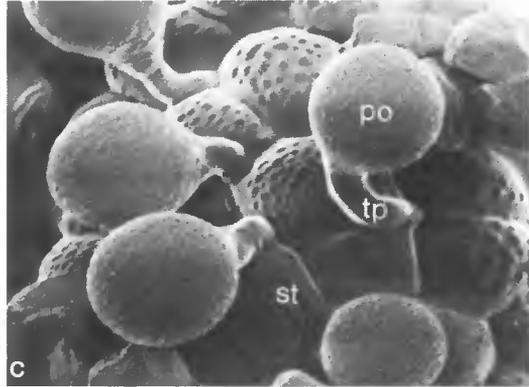
PEUPLIER NOIR

a : châton florifère femelle comprenant environ 40 fleurs.

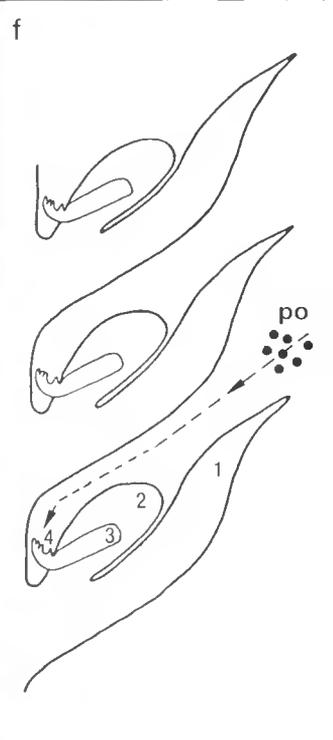
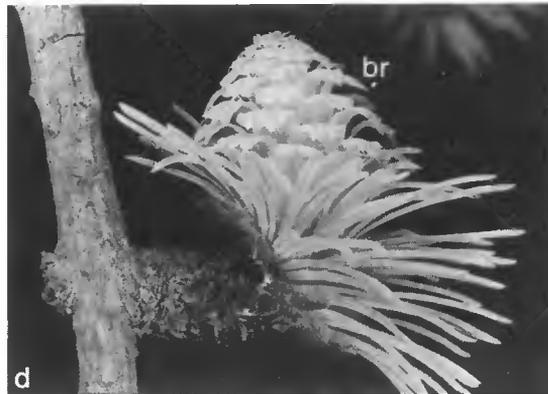
b : détail d'une fleur [microscope électronique à balayage (MEB)],

c : germination de pollens compatibles à la surface stigmatique de *Populus nigra* (MEB).

Fl : fleur, st : stigmate, ov : ovaire, po : pollen, tp : tube pollinique.



Clichés M. Villar.



MÉLÈZE DU JAPON

d : cône femelle réceptif.

e : appareil collecteur des grains de pollen au stade de réceptivité (MEB).

f : schéma interprétatif d'un cône femelle, et trajet du grain de pollen (po).

1 : bractée (br), 2 : écaille ovulifère, 3 : ovule (ov), 4 : appareil collecteur (ac).



Chaque espèce semble posséder son propre système de rejet, qui peut être différent d'un croisement à l'autre. Prenons le cas du Peuplier : nous avons vu que *Populus deltoïdes* (Peuplier nord-américain) est facilement hybridable avec *Populus nigra* européen. Par contre, le croisement inverse en utilisant *Populus nigra* comme mère est strictement incompatible, le rejet s'effectuant après la fusion des deux noyaux reproducteurs. Dans d'autres cas, le rejet du tube incompatible peut s'effectuer dans le style, par exemple dans le cas de croisement *Populus nigra* femelle × *Populus alba* mâle. Il est évident que suivant le site de rejet (traduisant des mécanismes d'incompatibilité différents), la technique de levée d'incompatibilité sera différente. Il convient donc, avant toute tentative, de connaître le site exact de ces barrières.

- *Levée d'incompatibilité interspécifique*

Depuis 1968, date des premiers travaux par le groupe américain de Stettler, diverses techniques ont été utilisées chez *Populus* et ont permis la réussite d'un certain nombre de croisements considérés comme strictement incompatibles. L'une des techniques, appelée effet Mentor [6], consiste à déposer sur le stigmate, un mélange de pollens compatibles et incompatibles (les noyaux reproducteurs des pollens compatibles auront au préalable été inactivés pour éviter toute fécondation). Après germination, le tube compatible fournit au tube incompatible le stimulus nécessaire pour sa croissance jusqu'à l'ovule. En collaboration avec des chercheurs de l'I.N.R.A. de la station d'Amélioration des Arbres forestiers (Orléans) et avec le groupe australien de R.B. Knox, l'équipe de Lyon poursuit des travaux en vue de standardiser et d'étudier les modifications induites par la mentorisation (Gaget et Teissier du Cros dans [9]). L'objectif est de réaliser le croisement de deux espèces de Peuplier, *Populus nigra* et *Populus alba*.

De plus, divers traitements au niveau de la surface stigmatique peuvent lever ces barrières. Ainsi deux chercheurs australiens, Willing et Pryor, en 1976, ont traité les surfaces stigmatiques avec des solvants organiques pour supprimer l'incompatibilité entre *Populus deltoïdes* et *Populus alba*, modifiant ainsi les récepteurs de surface.

Les informations concernant d'autres espèces sont plus fragmentaires et bon nombre de tentatives dans le passé ont buté sur une méconnaissance des bases physiologiques de leurs reproductions sexuées.

Citons les tentatives récentes de levée d'incompatibilité par effet Mentor sur l'Aune réalisé à l'I.N.R.A. d'Orléans (recherche d'hybrides vigoureux pour la production de biomasse). L'hybridation chez le Noyer entre *Juglans nigra* et *Juglans regia* est possible, mais le nombre de graines hybrides obtenues reste très faible. Une étude fine de la biologie florale chez le Noyer est entreprise à l'I.N.R.A. de Bordeaux. L'hybridation chez l'Eucalyptus est actuellement entreprise par l'A.FO.CEL. Les barrières de croisement dans ce genre sont fréquentes, mais, dès 1974, des techniques dérivées de celles des Peupliers se sont avérées efficaces (techniques mises au point par la même équipe australienne, Pryor et Willing).

Incompatibilité de croisement chez les conifères

En ce qui concerne les Gymnospermes, et malgré des recherches récentes sur la biologie florale de certains résineux (Villar et al. [8], [9]), les connaissances sont loin d'être aussi avancées.

Les barrières d'incompatibilité chez les conifères ne semblent pas strictes. En effet, certains croisements interspécifiques sont réalisables, mais le nombre de graines hybrides viables obtenues est très faible. L'existence de mécanismes génétiques contrôlant l'incompatibilité interspécifique chez les Gymnospermes n'a jamais été démontrée. Dans quelques rares cas, l'arrêt de développement du tube pollinique dans les tissus femelles a été observé, notamment chez certains croisements de Pins. Les différents sites de dialogue pollen/ovule chez les conifères ne sont qu'à l'état d'hypothèses (Zandonella et al. [9]), et une étude précise de ces possibles niveaux d'interaction chez le Mélèze est en cours à l'université de Lyon (groupe de C. Dumas).

De nombreux efforts ont été réalisés en France par l'I.N.R.A. d'Orléans sur l'hybridation chez le Mélèze (genre *Larix*). La supériorité du Mélèze hybride (*Larix × eurolepis*) issu du croisement entre le Mélèze d'Europe et le Mélèze du Japon a été démontrée, mais trop peu de semences sont actuellement commercialisées. La plantation d'un verger à graines d'hybrides, dans le Lot, devrait permettre de résoudre ce problème, mais la floraison de ces deux espèces étant décalée dans le temps, une pollinisation artificielle sera nécessaire. De plus, il faudra peut-être utiliser des techniques type effet Mentor, comme cela a été réalisé sur l'Épicéa par l'équipe allemande de Hoffmann et Kleinschmit en 1979. Cette technique leur a permis d'obtenir 3,4 fois plus de graines hybrides par rapport aux croisements interspécifiques classiques. Vidakovic, en 1977, avait déjà obtenu par cette technique des hybrides entre *Pinus nigra* et *Pinus sylvestris*.

D'autres espèces font ou feront l'objet de tels croisements, par exemple Cyprés, Épicéas, Pins et Sapins. L'étude de ces problèmes d'hybridations interspécifiques débute chez les conifères et il paraît vraisemblable qu'une partie de ces problèmes sera résolue par la connaissance parfaite de la biologie florale de ces espèces.

LA MAÎTRISE DU POLLEN

L'existence de décalages de dates de floraison entre individus, et l'éventuelle insuffisance de la pollinisation naturelle dans les vergers à graines rendent nécessaire la conservation du pollen pendant quelques semaines, voire sur plus d'une année.

Technologie du pollen

Ce problème fait l'objet d'assez nombreuses études [5]. Une première difficulté concerne la récolte du pollen. Chez les Pins, le pollen est très abondant et la déhiscence peut être obtenue par forçage de rameaux coupés, placés dans une enceinte à température et hygrométrie contrôlées. Il en va de même chez les Peupliers. Pour d'autres espèces comme les Mélèzes ou les Noyers, le forçage est difficile et la récolte d'une grande quantité de pollen pose de sérieux problèmes. Actuellement, le C.E.M.A.G.R.E.F. met au point un dispositif d'aspiration susceptible d'emprisonner totalement des plants de Mélèze pour en extraire le pollen parvenu à maturité.

Le pollen est alors filtré, puis ramené à une teneur en eau voisine de 10 %. Si le stockage doit être prolongé, il est préférable de descendre plus bas. Il est ensuite placé au froid en récipients étanches, éventuellement scellés sous vide partiel. Les pollens peu fragiles (Pins, Épicéas...) s'accoutument d'une température de + 4°C, mais pour de nombreuses autres espèces, cette température ne permet le maintien de la viabilité que pendant quelques semaines. Pour des conservations longues, il est préférable de les placer à - 20°C. Enfin, expérimentalement d'excellents résultats ont été obtenus par conservation dans l'azote liquide (- 196°C). Les conditions de congélation et de décongélation sont déterminantes pour le succès d'une telle technique. Dans certains cas, la lyophilisation a été proposée avec succès.

La qualité de ce pollen peut être estimée par des tests de germination *in vitro*, selon les espèces, soit sur milieu simple (eau éventuellement sucrée), soit sur milieu comportant des sels minéraux (par exemple la solution de Brewbacker et Kwak). Pour des pollens à germination lente, il est parfois indispensable d'ajouter des antibiotiques pour prévenir le développement de bactéries et champignons. Enfin, hygrométrie et température doivent être contrôlées. Cependant on est loin de connaître pour toutes les espèces les conditions optimales de germination et l'on préfère parfois utiliser d'autres types de tests par ailleurs souvent plus rapides. Le principe de plusieurs d'entre eux repose sur une estimation de l'état d'intégrité des membranes et du fonctionnement enzymatique du grain : test fluorochromatique (Heslop-Harrison), test tétrazolium, mesure de la conductivité d'un éluat de pollen (Ching et Ching)... De même, des mesures

directes de l'activité respiratoire du pollen semblent donner de bonnes corrélations avec les rendements en graines (divers travaux canadiens de Binder et de Webber).

Pollinisation de masse dans les vergers à graines

L'entrée en production, parfois délicate, des premiers vergers à graines conduit dans certains cas à envisager de compléter la pollinisation naturelle, voire même de la remplacer (pollinisation contrôlée) par une pollinisation en masse. Les motivations sont les suivantes :

— Réduire l'effet des décalages de floraison entre individus, en permettant à un maximum de génotypes de prendre part à la pollinisation.

— Dans le cas de vergers installés dans une zone où se trouve l'espèce concernée (par exemple Douglas sur la Côte Ouest des U.S.A. et du Canada, Épicéa ou Pin sylvestre en Suède...), réduire l'apport de pollen étranger au verger. Ceci peut être complété par une aspersion du verger pour ralentir l'ouverture des fleurs, ce qui évite aussi la contamination.

— Réduire les risques d'autofécondation.

— Produire en masse des hybrides interspécifiques.

— D'une façon générale, diminuer l'avortement des jeunes fleurs ou cônes et réduire le nombre de graines vides par cône.

— Eventuellement anticiper sur la mise en production d'un verger. En effet, chez les conifères, la floraison mâle n'intervient souvent que quelques années après le début de la floraison femelle.

— Enfin, certains envisagent de n'utiliser pour ce type de pollinisation que du pollen provenant des clones dont la valeur génétique est la plus élevée (forte aptitude générale à la combinaison). Dans ce cas, on peut être contraint de faire de la pollinisation contrôlée (avec isolement des mères).

Quant aux modalités de cette pollinisation en masse, on procède le plus souvent soit par poudrage, soit à l'aide d'un pulvérisateur porté à dos, à partir d'une nacelle (permet de bien diriger le pollen, donc de l'économiser) ou à partir du sol. On a même proposé l'usage de modèles réduits d'hélicoptères radio-commandés. Il est important d'intervenir tôt pour que le maximum d'ovules soient atteints dès le début de leur réceptivité. Il a en effet été démontré à plusieurs reprises que le premier pollen déposé intervenait dans la fécondation très majoritairement par rapport au pollen parvenu plus tardivement. Il est préférable d'effectuer plusieurs passages plutôt qu'une seule pulvérisation massive. Enfin, compte tenu de la quantité de pollen nécessaire, on peut généralement diluer celui-ci à 50 % dans du talc. Ajoutons que l'usage de marqueurs génétiques biochimiques (isoenzymes ou terpènes) facilite grandement les calculs d'efficacité de ces pollinisations de masse.

LES PROBLÈMES DE SEMENCES

C'est un aspect qui concerne très directement les améliorateurs. En effet, la plupart des graines forestières sont récoltées sur peuplements et proviennent toujours d'un grand nombre d'arbres. De même dans les vergers à graines, le nombre des génotypes parents est élevé. Cette hétérogénéité génétique est indispensable, mais elle s'accompagne d'une grande hétérogénéité physiologique, notamment au niveau des phénomènes de dormance. Pour préserver la première hétérogénéité, il faut être capable de maîtriser la seconde, faute de quoi des génotypes seront perdus.

Par ailleurs, l'irrégularité des fructifications rend nécessaire la conservation des semences sur une ou plusieurs années pour approvisionner régulièrement les pépiniéristes.

Les caractéristiques de quelques espèces forestières sont données dans l'encart de Claudine Muller, page 59. Nous ne rappellerons ici que quelques principes généraux concernant les problèmes de conservation et de levée de dormance.

Conservation des semences

Avant même de conserver les graines, il convient de faire attention à leur état de maturité. En effet, il arrive que des graines incomplètement mûres germent, mais dans la plupart des cas, elles sont impropres à la conservation. Or la maturation n'étant pas synchrone pour tous les génotypes, ceci peut introduire une hétérogénéité non souhaitée. Après récolte, les graines sont transportées, en évitant soigneusement tout échauffement, jusqu'à la sécherie où elles vont être traitées, puis conservées.

Selon l'aptitude biologique des semences de différentes espèces à la déshydratation, on distingue classiquement deux grandes catégories d'espèces : les semences « orthodoxes » que l'on peut déshydrater en dessous de 10 % (c'est le cas de la plupart des espèces, heureusement) et les semences « récalcitrantes » qu'il faut conserver à l'état humide (c'est notamment le cas des glands : teneur en eau 45 %).

Les conditions de la déshydratation peuvent être déterminantes. C'est ainsi que les faînes doivent être séchées par passage d'air sec à 18-20°C au maximum. La nature récalcitrante ou orthodoxe des semences a ensuite une répercussion sur la température de conservation puisque seules les premières pourront être placées aux températures fortement négatives, les plus favorables à une conservation prolongée. De même ceci intervient sur le caractère étanche ou non des récipients à utiliser (limite la respiration).

Ajoutons que, dans certains cas, un traitement phytosanitaire est nécessaire. C'est le cas pour les glands pour lesquels le laboratoire de Pathologie forestière de l'I.N.R.A. a mis au point un procédé de thermothérapie (trempage 3 heures dans de l'eau maintenue très précisément à 41°C) qui élimine *Ciboria batschiana*, agent de la pourriture noire qui, en l'espace d'un mois à 4°C, est susceptible de détruire totalement une récolte de glands.

Dormance des semences

On ne sait pas assez que les graines de près de 60 % de nos espèces sont inaptes à une germination complète si elles ne sont pas au préalable soumises à un prétraitement qui satisfait les besoins physiologiques d'élimination de la dormance. Ceci peut nécessiter de 1 à 6 mois. Le plus souvent, il s'agit d'un besoin de froid humide (stratification), mais celui-ci peut nécessiter des interruptions par des phases chaudes (cas des merises). Enfin, pour germer, certaines graines ont des besoins de lumière. La plus grosse difficulté tient là encore à l'hétérogénéité du matériel, entre lot d'une part, mais aussi à l'intérieur d'un lot. Un traitement incomplet conduit inévitablement à éliminer des génotypes.

Le système habituel de stratification au froid dans un milieu humide, pour les espèces susceptibles de germer à basse température, fait que la germination s'enclenche dès la fin de la levée de dormance. Le pépiniériste, qui note ce début de germination, va donc interrompre le prétraitement, alors que, dans le lot, seules les graines les moins dormantes seront réellement prêtes à germer. C'est la raison pour laquelle le laboratoire de Graines de l'I.N.R.A. de Nancy développe le système dit de « prétraitement sans milieu ». En effet, par une maîtrise de l'état d'hydratation des graines, on peut maintenant éliminer complètement la dormance en évitant tout risque de début intempestif de germination. Ces résultats ont même permis, notamment sur faînes, d'éliminer la dormance avant la mise en conservation, ce qui doit permettre de livrer aux pépiniéristes des graines ne nécessitant aucun prétraitement.

De tels progrès doivent permettre de limiter quantitativement le gaspillage de semences forestières auquel on assiste trop souvent. Mais plus encore, c'est qualitativement que se pose le problème. Un traitement bien adapté des semences évite que ne soit perdu l'effort des améliorateurs pour maintenir un niveau suffisant de variabilité génétique.

M. BONNET-MASIMBERT

Station d'Amélioration des Arbres forestiers
CENTRE DE RECHERCHES FORESTIÈRES (I.N.R.A.)
ARDON
45160 OLIVET

M. VILLAR

Station d'Amélioration des Arbres forestiers
CENTRE DE RECHERCHES FORESTIÈRES (I.N.R.A.)
ARDON
45160 OLIVET
Laboratoire de Reconnaissance cellulaire
et Amélioration des Plantes
U.C.B. LYON I

BIBLIOGRAPHIE

- [1] BONNET-MASIMBERT (M.). — Les substances de croissance : croissance et développement des espèces forestières. Action sur le développement de l'appareil reproducteur. Les substances de croissance et leur utilisation en agriculture/Faivre Dupaigre Ed. — Paris : Publications du COLUMA, 1983. — pp. 117-134, 821-828.
- [2] DUHOIX (E.). — La pollinisation des conifères : le temps des nouveautés. — *La Recherche*, n° 147, 1983, pp. 1140-1142.
- [3] DUMAS (C.), CLARKE (A.E.), KNOX (R.B.). — La fécondation des fleurs. — *La Recherche*, n° 161, 1984, pp. 1518-1526.
- [4] PHARIS (R.P.), KUO (C.G.). — Physiology of gibberellins in conifers. — *Canadian Journal of Forest Research*, vol. 7, 1977, pp. 299-325.
- [5] STANLEY (R.C.), LINSKENS (H.F.). — Pollen - biology, biochemistry, management. — Heidelberg-New-York : Springer Verlag, 1974. — 307 p.
- [6] SETTLER (R.F.), AGER (A.A.). — Mentor effects in pollen interactions. — *Encyclop. Plant Physiology*, new series, vol. 14, 1983.
- [7] SWEET (G.B.). — Flowering and seed production, in : *Seed Orchards/R.* Faulkner Ed. — *Forestry Commission Bulletin*, n° 54, 1975, pp. 72-82.
- [8] VILLAR (M.), KNOX (R.B.), DUMAS (C.). — Effective pollination period and nature of pollen-collecting apparatus in the gymnosperm *Larix leptolepis*. — *Ann. Bot.*, n° 53, 1984, pp. 279-284.
- [9] INCOMPATIBILITÉ pollinique et amélioration des plantes/Y. Hervé et C. Dumas - Colloque E.N.S.A., Rennes. — Paris : Institut national de la Recherche agronomique, 1984. — 215 p.
- [10] POLLINISATION et productions végétales/ouvrage collectif dirigé par P. Pesson et J. Louveaux. — Paris : Institut national de la Recherche agronomique, 1984. — 663 p.