

P. ROUSSELLE, M. RENARD et J. MORICE

avec la collaboration technique de F. EBER et M. BREGEON
I.N.R.A. - Station d'Amélioration des Plantes -
Domaine de la Motte au Vicomte - BP : 29 - 35650 LE RHEU

La valorisation de l'effet d'hétérosis important chez le colza (*Brassica napus* L.) nécessite une transformation de la biologie florale : il faut rendre allo-game une espèce où l'autogamie prédomine. Pour réaliser ce contrôle de la pollinisation, le généticien a plusieurs possibilités.

Trois systèmes sont difficilement utilisables actuellement à cause de contraintes techniques et/ou économiques :

- la stérilité mâle génique car il n'existe pas de moyen pratique pour assurer une descendance entièrement stérile et il est souvent difficile de trouver un marqueur précoce,
- l'autoincompatibilité car le problème de la multiplication des lignées incompatibles n'est pas résolu,
- la castration chimique car les gamétocides ont une rémanence insuffisante pour agir sur une plante dont la floraison dure plusieurs semaines.

Par contre, la stérilité mâle génocyttoplasmique (SMC), lorsqu'elle est disponible dans une espèce, présente par rapport aux systèmes précédents des avantages certains liés à la nature même de sa constitution génétique. L'association génôme-cytoplasme permet d'obtenir trois géniteurs qui, une fois constitués, permettent de gérer efficacement la production de semences hybrides.

Ces trois géniteurs doivent satisfaire à des conditions strictes :

- Le géniteur "mâle-stérile" ne doit pas produire de pollen fécondant afin que la totalité de ses graines récoltées soient dues à la pollinisation croisée. Par contre il doit avoir une bonne fécondité car il est le support de production de l'hybride.
- Le mainteneur, dont le rôle essentiel est l'entretien de la lignée stérile ne doit pas provoquer de retour vers la fertilité de cette dernière.
- Le restaurateur qui est le deuxième constituant de l'hybride F1 doit présenter l'hétérosis maximum en combinaison avec le mâle-stérile. Les gènes de restauration doivent être suffisamment dominants pour que l'hybride F1 soit fertile.

Les recherches actuelles chez le colza visent à obtenir un système de SMC qui répondra à toutes ces contraintes.

1 - LE SYSTEME "BRONOWSKI-THOMPSON"

THOMPSON (1972) a mis en évidence la faculté que possède le géniteur "Bronowski" d'induire des plantes androstériles. Celles-ci ne sont obtenues que lorsque cette variété est utilisée comme mâle. Ayant étudié 7 cultivars par rapport à "Bronowski", THOMPSON (1972) a montré que ces cultivars étaient de type (S)RR. Cette prédominance

du cytoplasme (S) dans l'espèce colza confirmée par SHIGA (1976), puis par ROUSSELLE et RENARD (1982), est une particularité génétique. Cette situation est rarement rencontrée dans les SMC intraspécifiques. Deux avantages en découlent. En premier lieu, il est peu probable que le cytoplasme S présente des inconvénients pour les plantes qui le portent. En second lieu, la sélection pour les restaurateurs n'est pas à envisager puisque les cultivars sont dans leur grande majorité (S)RR.

Les plantes androstériles obtenues par THOMPSON (1972) puis par ROUSSELLE et RENARD (1982) au cours d'un premier cycle de sélection présentaient un défaut majeur : la présence de pollen fertile.

L'élargissement de la base génétique et le grand nombre de plantes analysées par famille ont permis de trouver des plantes dont la SMC est plus profonde dans plusieurs croisements mais avec une fréquence réduite. L'observation des plantes au champ a été confirmée par l'analyse histologique en coupes minces. Les anthères de ces plantes ont une sporogénèse qui aboutit à un ensemble différencié. Du point de vue génétique, il nous apparaît certain que le déterminisme génétique d'une telle SMC est plus complexe qu'il était apparu au départ. C'est pourquoi, parallèlement à une sélection classique (autofécondation et croisement), nous avons mis en place l'haplo-diploïdisation par culture d'anthères *in vitro* qui permettra de révéler les génotypes stériles avec une fréquence accrue.

2 - LE SYSTEME "RADIS-OGURA"

Chez le radis (*Raphanus sativus* L.), OGURA (1968) a découvert un système de SMC qui a été transféré au colza par rétrocroisements. Deux défauts caractérisent les plantes mâle-stériles obtenues : une forte déficience chlorophyllienne et l'absence de restaurateurs chez le colza.

L'intérêt de cette SMC réside dans sa grande stabilité et dans l'absence totale de production de pollen. L'analyse histologique montre en effet un blocage total de l'androgénèse.

La sélection dans l'espèce colza vis-à-vis de la déficience chlorophyllienne et de la restauration a montré le manque de variabilité (ROUSSELLE, 1982). Chez le radis, la fréquence du gène de restauration étant assez importante (BONNET, 1975), un programme de croisements interspécifiques a été réalisé pour l'introduction de ce gène dans le colza. Les premières générations de croisement *Brassica napus* mâle-stérile x *Raphano-Brassica* montrent une fertilité importante, indice d'une bonne restauration potentielle. Les 4 premières générations ont été réalisées par intercroisement libre au sein de la population obtenue à partir du croisement de départ. Cette méthode a paru préférable en début de sélection car elle favorise les recombinaisons et conserve plus longtemps une partie du génotype du radis. La présence à partir de la 2ème génération de plantes à nombre chromosomique élevé provenant de gamètes non réduits ou d'une diploïdisation spontanée conduit à réaliser des rétrocroisements systématiques par le colza à partir de la 4ème génération. Cette voie ne permettra pas, vraisemblablement de résoudre le problème de la déficience chlorophyllienne. Cet inconvénient doit trouver sa solution grâce aux fusions de protoplastes (PELLETIER et Coll., 1983) qui permettent de recombinaison des caractères à déterminisme cytoplasmique et d'obtenir des plantes à la fois mâle-stériles et à teneur normale en chlorophylles.

3 - AUTRES SYSTEMES

SHIGA (1976) a obtenu des plantes androstériles à partir d'un croisement entre deux lignées de colza. La sélection opérée depuis 1977 dans ce matériel d'origine japonaise a permis d'éliminer un caractère défavorable : la fasciation, et d'obtenir des types plus adaptés à nos conditions climatiques. La génétique de ce système est très proche de celle du système "Bronowski" et la qualité de la SMC, incomplète au départ, a pu être améliorée grâce aux mêmes méthodes. Le résultat est cependant différent au plan de la manifestation de la stérilité : les anthères sont atrophiées mais la sporogénèse conduit à la formation de pollen vide.

PEARSON (1972) a obtenu une SMC stable et qui se comporte bien chez le chou à partir d'un croisement entre *Brassica nigra* et *Brassica oleracea*. HINATA (1979) a également obtenu une SMC à partir du croisement *Diplotaxis muralis* et *Brassica campestris*. Des études sont en cours pour le transfert du noyau colza dans ces deux systèmes et examiner le comportement du matériel obtenu (maintien de la SMC et restauration de la fertilité).

4 - RECHERCHES DE NOUVELLES SOURCES DE SMC PAR CROISEMENTS INTERSPECIFIQUES

L'expérience acquise chez les autres espèces montre le danger que représente l'utilisation d'un nombre restreint de cytoplasmes assurant la SMC. Afin de disposer d'une gamme plus importante de cytoplasmes, de nombreux croisements interspécifiques ont été effectués dans le but d'obtenir des lignées alloplasmiques de colza possédant le cytoplasme de *B. juncea*, *B. carinata* ou *B. nigra* (ROUSSELLE et EBER, 1983). Le rétrocroisement systématique par le colza à partir de la 3ème génération issue de ces croisements a permis de trier des plantes présentant une forte stérilité pollinique. A partir des mêmes croisements initiaux, la démarche suivie pour la sélection du restaurateur est différente. Afin de favoriser au maximum les recombinaisons tout en fixant lentement le matériel, les générations de rétrocroisement par le colza ont été alternées avec des générations d'intercroisement entre les plantes les plus fertiles au sein de chaque famille. Le processus se trouve actuellement en 5ème génération.

CONCLUSION

En l'état actuel des recherches sur la SMC chez le colza, on peut faire un bilan des avantages et inconvénients de chacun des systèmes étudiés.

Les plantes entièrement stériles obtenues dans les programmes "Bronowski" et "Shiga" ouvrent des perspectives intéressantes. Elles ne présentent aucun défaut agronomique majeur et sont déjà en 3ème ou 4ème rétrocroisement par des variétés présentant de bonnes potentialités de rendement. Il en est de même du mainteneur. Il reste cependant à contrôler le comportement de SMC chez les lignées sans acide érucique et à faible teneur en glucosinolates employées dans les rétrocroisements récents. La restauration ne pose pas de problèmes.

En ce qui concerne le programme "SMC-Radis", il semble que la déficience chlorophyllienne soit sur le point d'être résolue rapidement. La restauration sera d'échéance plus tardive à cause des problèmes chromosomiques posés par les croisements avec les *Raphano-Brassica*.

Les autres programmes en cours sont à échéance plus lointaine. Cependant, ils doivent être poursuivis à cause des avantages qu'ils présentent.

BIBLIOGRAPHIE

- BONNET A., 1975. Introduction et utilisation d'une stérilité mâle cytoplasmique dans les variétés précoces européennes de radis Ann. Amélior. Pl., 25, 381 - 397.
- HINATA K., 1979. Studies on a male sterile strain having the *Brassica campestris* nucleus and the *Diplotaxis muralis* cytoplasm. Japan. J. Breed., 29, 305 - 311.
- OGURA H., 1968. Studies on the new male sterility in Japanese radish, with special reference to the utilization of this sterility towards the practical raising of hybrid seeds. Mem. Fac. Agric. Kagoshima Univer., 6, 39 - 78.
- PEARSON O.M., 1972. Cytoplasmic Inherited Male Sterility characters and Flavor Components from the Species Cross *Brassica nigra* Koch x *Brassica oleracea* L. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 97, 397 - 402.

PELLETIER G., PRIMARD C., VEDEL F., CHETRIT P., REMY R., ROUSSELLE P. et RENARD M., 1983. Intergeneric cytoplasmic hybridization in *Cruciferae* by protoplast fusion. Mol. Gen. Gen. (sous presse).

ROUSSELLE P., 1982. Premiers résultats d'un programme d'introduction de l'androstérilité "Ogura" du radis chez le colza. Agronomie, 2, 859-864.

ROUSSELLE P. et RENARD M., 1982. Intérêt du cultivar "Bronowski" pour l'obtention de plantes mâle-stériles cytoplasmiques chez le colza (*Brassica napus* L.) Agronomie, 2, 951-956.

ROUSSELLE P. et EBER F., 1983. Croisements interspécifiques entre quelques *Brassicaceae* et *Brassica napus* L. Analyse génomique des hybrides et perspectives d'obtention de systèmes d'androstérilité chez le colza. Agronomie, 3, 153-159.

SHIGA T., 1979. Fertility restoration of european rapeseed cultivars to cytoplasmic male sterility. Natl. Inst. Agric. Sci. Div. Annu. Rep. 33-34.

THOMPSON K.F., 1972. Cytoplasmic male sterility in oil-seed rape. Heredity, 29, 253-257.

Table-1 : Chisquare test for goodness of fit to monogenic recessive inheritance and test for homogeneity in MS-1.

Population		Segregation		Monogenic		Homogeneity		
Cross	Generation	Fertile	Sterile	Chisqu- are	Probability	Chisqu- are	d.f.	Probability
MS-1xEJ32	F ₂ , F ₃	219	78	0.24	0.60-0.70	0.67	3	0.70-0.80
MS-1xRLM198	F ₂ , F ₃	365	109	1.05	0.30-0.40	2.58	2	0.20-0.30
MS-1xBS119	F ₂ , F ₃	736	235	0.32	0.50-0.60	3.77	5	0.60-0.70
O.P.	F ₂	168	79	6.42	0.01-0.02	—	—	—
Total		1468	551	5.65	0.02-0.03	2.38	3	0.40-0.50

Table 2 : Progeny analysis of fertile F₂ plants.

Population	F ₃ families		Chisquare monogenic	Probability
	Segregating	Non-segregating		
MS-1xEJ32	42	24	0.18	0.60-0.70
MS-1xRLM198	72	33	0.17	0.60-0.70
MS-1xBS119	68	29	0.51	0.40-0.50

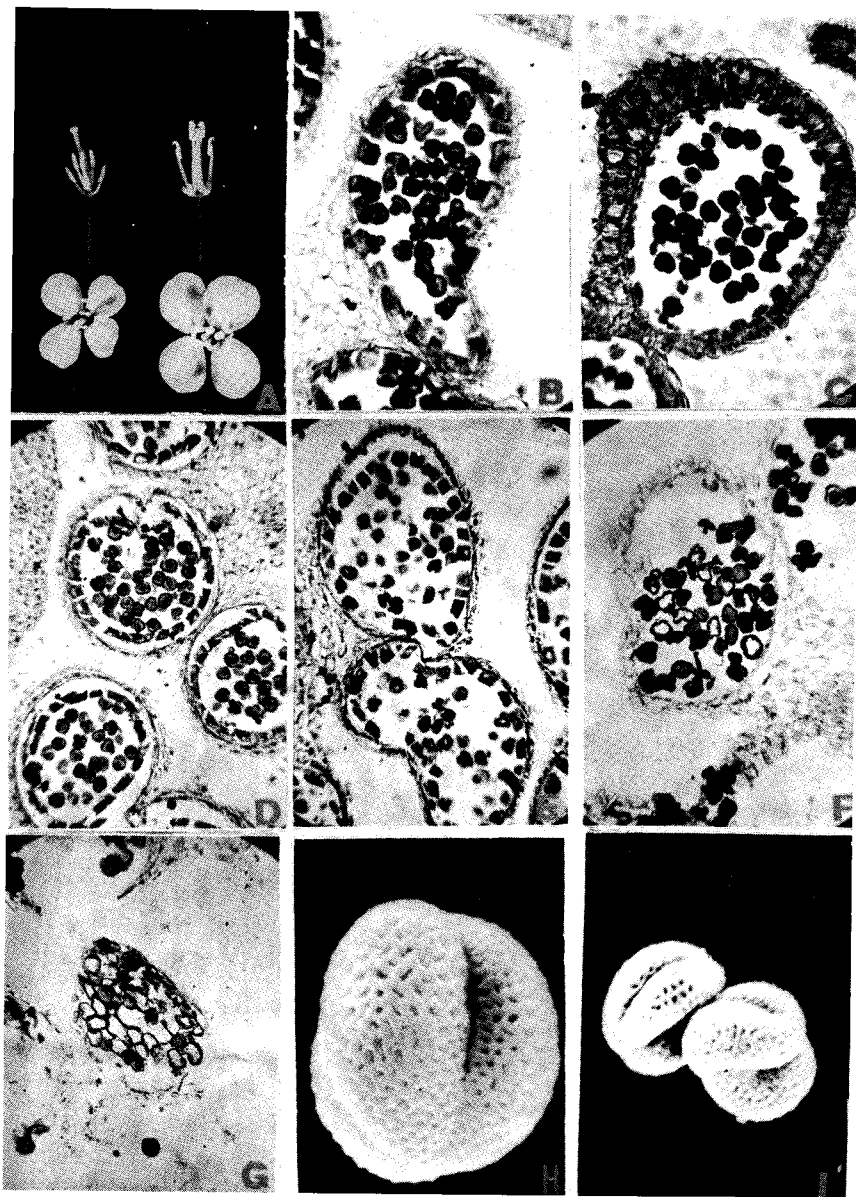


FIG. 1: FLORAL MORPHOLOGY AND CYTOLOGY OF MS-1 AND ITS FERTILE SIB - A. Male sterile and fertile floral parts. B-C. Mononucleate microspore and pollen maturation stage of fertile flower. D-G. MS-1. D. Mononucleate microspore stage. E-F. Chromatic condensation and microspore vacuolation. G. Microspore degeneration H-1. SEM photographs of fertile and sterile pollen.