

Utilisation des rétrocroisements pour la sélection de
variétés de colza à faible teneur en glucosinolates et résistantes
à P. lingam

M. RENARD *, J. MORICE * et G. DARROZES **
avec la collaboration technique de M. DESCHAMPS et M. BREGEON

* INRA - Station d'Amélioration des Plantes
B.P. 29 - 35650 LE RHEU

** Ets RINGOT - 59930 LA CHAPELLE D'ARMENTIERES

L'abaissement de la teneur en glucosinolates du tourteau est un objectif prioritaire de la sélection du Colza (*B. napus. L.*). Il doit se réaliser avec un maintien des caractéristiques agronomiques au niveau de celles des meilleures variétés actuelles notamment au plan de la productivité et de la résistance au Phoma lingam. Différents schémas de rétrocroisements ont été utilisés pour transférer les gènes "gi" contrôlant la basse teneur en glucosinolates d'un géniteur de départ dans des lignées récurrentes de colza d'hiver.

I - MATERIEL VEGETAL ET METHODES D'ANALYSE

Le géniteur (donneur) est une lignée à très faible teneur en glucosinolates sélectionnée dans la variété polonaise Bronowski. Les lignées récurrentes choisies ont été tout d'abord Primor qui a été abandonnée par la suite à cause de sa sensibilité trop forte au Phoma lingam puis différentes lignées dont la variété sans acide érucique (o+) Jet neuf, la plus cultivée en France depuis 1978.

La teneur en acide érucique est estimée par l'analyse des esters méthyliques des acides gras en chromatographie en phase gazeuse sur colonne FFAP. Ce dosage est rendu nécessaire par la présence d'acide érucique chez Bronowski et chez les lignées utilisées dans les premières générations de rétrocroisements (par exemple, R9 forme initiale avec acide érucique de Jet neuf).

Les glucosinolates sont estimés sur graines par le test glucose après broyage d'un échantillon de 100 graines dans 1 ml d'eau. Un dosage plus précis est effectué en chromatographie en phase gazeuse par l'analyse des TMS-Glucosinolates (THIES, 1976 et 1979).

La méthode de YOUNGS et WETTER (1967) a été adaptée au dosage des isothiocyanates dans les boutons floraux :

- prélèvement de 2 à 3 inflorescences par plante.
- séchage pendant 3 jours à 40-45° C dans une étuve bien ventilée.

.../...

- broyage dans l'éther de pétrole puis pesée de 200 mg après filtration sous vide et addition de 2 ml de solution tampon pH = 7 contenant 1 g/l de myrosinase, et de 1 ml de CH₂CL₂ avec l'étalon interne (40 mg/l de butylisothiocyanate).

- agitation pendant 1 h 30 et centrifugation à 5000 tr/mn pendant 2 mn.

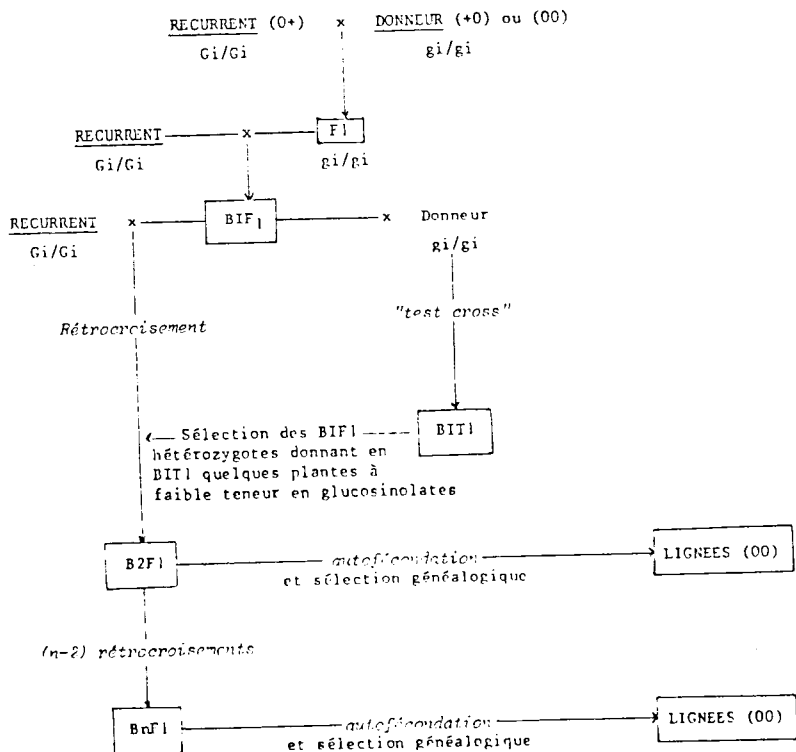
- analyse de la phase inférieure en CPG sur colonne 1/8" et 2 m de long remplie avec du chromosorb W.A.W.H.P 100-120 mesh à 5 % de FFAP ; gaz vecteur : azote ; température du four : 130° C ; durée de l'analyse : 3 minutes.

2 - SCHEMAS DE RETROCROISEMENTS UTILISES

Deux schémas ont été successivement mis en oeuvre à partir d'un croisement entre une lignée de colza d'hiver à convertir et le donneur à faible teneur en glucosinolates.

2-1 : Rétrocroisements avec sélection au niveau hétérozygote (Figure 1)

FIGURE 1 : SCHEMA DE RETROCROISEMENTS AVEC TEST CROSS



.../...

Les plantes B3F1 issues du premier rétrocroisement sont directement re-croisées par le parent récurrent (B2F1). Elles subissent en même temps un "test cross" B1F1 par le donneur à faible teneur. Dans la descendance de ce "test cross", les familles présentant quelques plantes à très faible teneur en glucosinolates sont présumées provenir de plantes hétérozygotes pour l'ensemble des gènes gi et Gi. Les mêmes opérations seront appliquées sur la descendance B2F1 des plantes reconnues hétérozygotes par ce "test cross". Chaque cycle comprend donc une sélection des individus BnF1 hétérozygotes gi/Gi par l'analyse de la descendance en croisement avec le donneur utilisé comme testeur, le rétrocroisement suivant étant réalisé sur l'ensemble des individus BnF1. Sur colza d'hiver un cycle est effectué en 2 ans dans la mesure où la sélection sur "test cross" est conduite au champ en semis direct, et où la production du rétrocroisement et de son "test cross" nécessite une année supplémentaire. On peut envisager de boucler le cycle en 1 an si le test cross BnF1 est fait avec un colza de printemps qui donnera en rétrocroisement des plantes beaucoup plus précoces et, d'autre part, si le Bn+1F1 est cultivé en serre de façon à ce qu'il fleurisse après connaissance des résultats du "test cross". Sur colza de printemps, ce schéma est plus facilement réalisable en 1 an avec une génération au champ pour la sélection sur "test cross" et une génération d'hiver en serre pour la production du rétrocroisement et de son "test cross".

Ce schéma s'est révélé efficace puisqu'il a abouti à l'obtention à partir du B3F1 de lignées à faible teneur en glucosinolates (JN 332 et JN 404), mais il est apparu lourd dans son application en 1 an à cause des effectifs très importants à traiter (15 000 plantes et 900 croisements). Le nombre de descendance en BnF1 peut cependant être réduit par une sélection sur Bn-1F1 des plantes à plus faible teneur en glucosinolates donc plus proches de la structure hétérozygote recherchée. D'autre part, il existe un risque de perte de gènes contrôlant les faibles teneurs en glucosinolates.

2-2 : Rétrocroisements avec sélection au niveau homozygote (Figure 2)

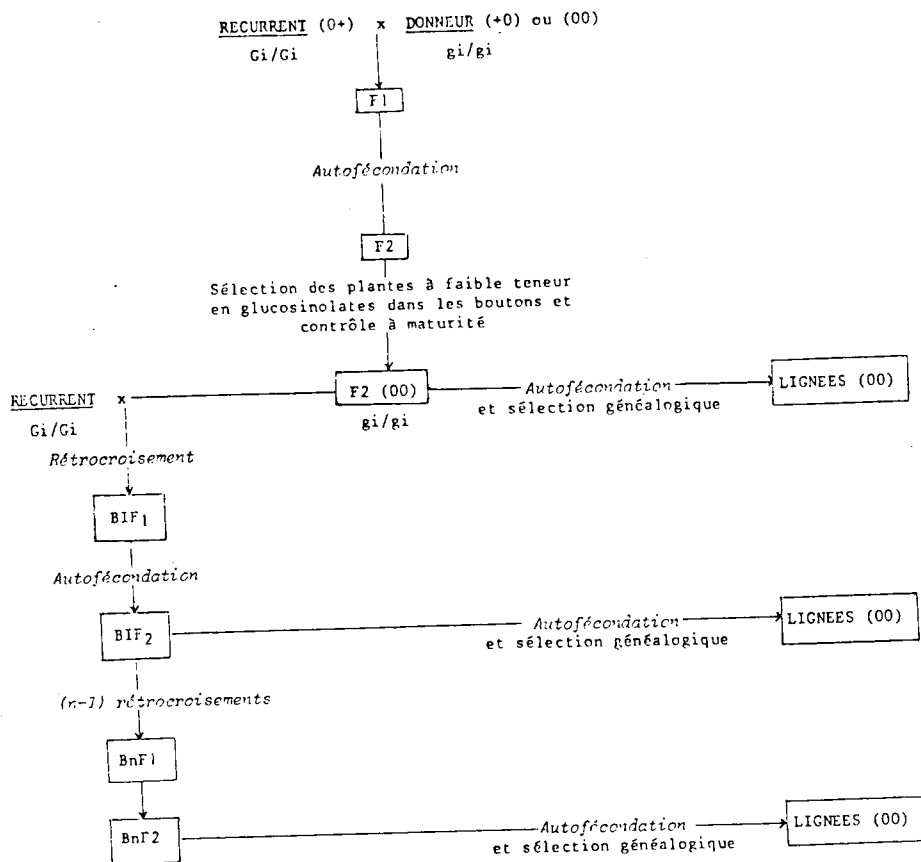
Dans ce schéma, après chaque rétrocroisement BnF1, les génotypes hétérozygotes gi/Gi sont autofécondés (BnF2). Les plantes à faible teneur en glucosinolates sont sélectionnées en début de floraison par une analyse sur boutons. Elles sont ensuite autofécondées et croisées avec la lignée récurrente. Les graines de ces mêmes plantes provenant de fécondations libres sont récoltées à maturité pour un contrôle de la teneur en glucosinolates. Les graines du rétrocroisement Bn+1F1 sont récoltées et semées en serre pour la production accélérée de la génération Bn+1F2 qui sera repiquée au champ au printemps après vernalisation à 4° C pendant 8 semaines.

Chaque cycle nécessite 1 an sur colza d'hiver et de printemps si une génération peut être réalisée en serre à contre saison. Ce schéma présente des avantages sur le précédent :

- les effectifs sont moins importants (1500 plantes et 300 croisements).
- à chaque cycle, il est facile de sélectionner par sélection généalogique des lignées (OO) à partir des plantes (OO) du BnF2.
- il est possible de réaliser le rétrocroisement sur BnF3 ou BnF4 pour retenir des familles à très faible teneur en glucosinolates.

.../...

FIGURE 2 : SCHEMA DE RETROCROISEMENTS AVEC AUTOFECONDATION



3 - RESULTATS

La conversion de Jet neuf en lignée (00) a été effectuée par la première méthode. Le donneur était une lignée de Bronowski et la lignée récurrente R9 (++) jusqu'en BIF₁ puis Jet neuf au 2^{ème} et 3^{ème} rétrocroisements. Le matériel obtenu a été autofécondé et sélectionné par sélection généalogique jusqu'à l'obtention de différentes lignées fixées dont JN.332 (55765) et JN 404 (55766). Ces lignées ont été expérimentées dès 1980. Légèrement plus tardives que Jet neuf, leur productivité est au moins équivalente dans les zones Ncd et Centre de la France. La teneur en huile est supérieure d'un point à celle de Jet neuf (Tableau 1). Du point de vue des caractères morphologiques, elles sont très proches du parent récurrent (forme des feuilles au stade rosette, hauteur à la floraison...). Elles paraissent plus résistantes à *P. lingam*. (Tableau 2). La teneur en glucosinolates de ces deux variétés varie entre 25 et 55 micromoles/g de tourteau sec déshuilé suivant les régions de culture. Les teneurs les plus faibles sont souvent observées dans la zone sud.

.../...

TABLEAU 1 : RESULTATS ESSAIS 1981 - 1982

	NORD (6 essais)	CENTRE (13 essais)	SUD (5 essais)
<u>RENDEMENTS</u> : JET NEUF (qx/ha) JN 332 = 55765 JN 404 = 55766	100 (28.3) 103.8 99.1	100 (28.6) 103.5 103.5	100 (26.9) 84.5 86.7
<u>TENEURS EN HUILE</u> : JET NEUF JN 332 = 55765 JN 404 = 55766	43.8 46.0 45.1	44.2 44.9 45.0	41.6 44.0 43.6

TABLEAU 2 : POURCENTAGE DE PIEDS ATTEINTS PAR PHOMA LINGAM

VARIETES	1980	1981	1982
	RENNES	RENNES	ST PATHUS
JET NEUF	14.3 ab	20.0 a	47.8 a
RAFAL	18.9 b	/	42.6 ab
PRIMOR	41.9 c	46.4 b	/
JN 332 = 55765	8.3 ab	12.4 a	33.0 b
JN 404 = 55766	4.6 a	16.3 a	15.7 c

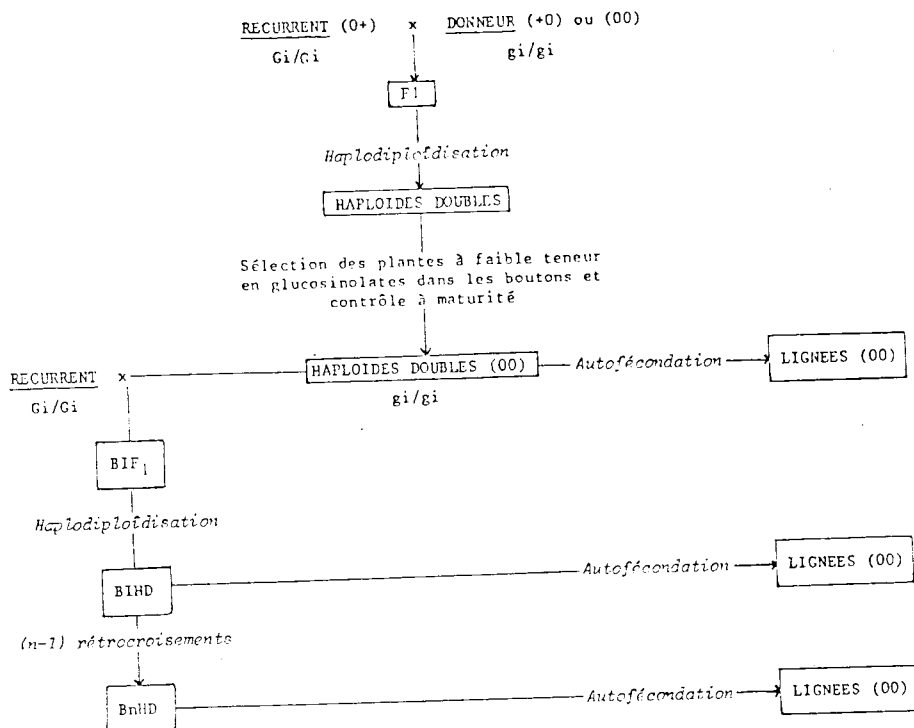
4 - PERSPECTIVES

D'autres lignées (++) ou (0+), comme la variété Bienvenu, améliorées sur le plan de la productivité et de la régularité du rendement ou ayant une bonne aptitude à la combinaison dans le programme de sélection de colzas hybrides, sont en cours de conversion en type (00) suivant le second schéma de sélection. Le processus de fixation des lignées (00) peut être accéléré par un cycle d'haplodiploïdisation (haploïdes produits par cultures d'anthères). Cette technique est également utilisée systématiquement dans un nouveau schéma de sélection (Figure 3) : à chaque génération de rétrocroisements des plantes homozygotes sont obtenues par haploïdie. Elles subissent une sélection pour leur teneur. Cette sélection peut être effectuée dès le stade haploïde par une analyse sur boutons où sur haploïde doublé et sa descendance en autofécondation. L'avantage de cette méthode réside, d'une part, dans l'apparition des génotypes (00) avec une fréquence plus élevée qu'après une génération d'autofécondation, d'autre part, dans l'obtention directe de lignées (00) fixées.

.../...

A court terme, des lignées plus précoces que JN 332 et JN 404 seront sélectionnées à partir des programmes de conversion de Jet neuf et de Bienvenu. L'accent sera mis aussi sur l'obtention de lignées à très faible teneur en glucosinolates. Le sélectionneur devra cependant trouver un compromis entre l'amélioration qualitative du produit et la recherche du meilleur gain génétique sur les caractères de productivité, lequel dépendra à l'avenir de l'élargissement de la base génétique du matériel à faible teneur en glucosinolates.

FIGURE 3 : SCHEMA DE RETROCROISEMENTS AVEC HAPLODIPLOIDISATION



BIBLIOGRAPHIE

- MORICE J., (1974). Sélection d'une variété de colza sans acide éricique et sans glucosinolates. Giessen. 4-8 Juin 1974. 31-48.
- MORICE J. et RENARD M., (1976). La sélection pour des caractéristiques biochimiques chez les crucifères, colza et choux, et les pavots à alcaloïdes. Le sélectionneur français. 22, 15-31.
- THIES W., (1976). Quantitative gas liquid chromatography of glucosinolates on a microliter scale. Fette seifen. Anstrichmittel. 6, 231-234.
- THIES W., (1979). Detection and utilization of a glucosinolate sulfohydrolase in the edible snail, *Helix pomatia*. Naturwissenschaften. 66, 364.
- YOUNGS C.G. et WETTER L.R. (1967). Microdetermination of the major individual Iso-thiocyanates and oxazolidinethione in rapeseed. J. Amer. oil. chem. Soc. 44, 551-554.