

LES TECHNIQUES DE CROISEMENTS CONTROLÉS DE L'ÉPICÉA : PREMIERS ENSEIGNEMENTS DE LA CAMPAGNE 1965

PAR

M. ARBEZ

Ingénieur GREF

Station d'amélioration des arbres forestiers
C.N.R.F. - Nancy

La sélection individuelle de l'épicéa et la production en masse de graines améliorées relèvent du schéma classique suivant : (1), (2)

- sélection des arbres « plus »,
- multiplication végétative par greffe des arbres « plus »,
- installation de parcs à clones (conservatoires de plants greffés) et de vergers à graines d'arbres « plus »,
- contrôle de la valeur génétique des arbres « plus » : plantation comparative de descendance,
- installation de vergers à graines d'arbres d'élite (arbres « plus » dont la supériorité génétique a été confirmée par les résultats d'un test de descendance).

Les techniques de croisements contrôlés interviennent dans ce schéma au titre du contrôle de la valeur génétique des arbres « plus ».

On peut, en première approche, concevoir et réaliser la comparaison des aptitudes héréditaires de ces individus à partir des plants issus des graines de chacun d'eux, récoltées en forêt par escalade. Cette méthode fait intervenir des descendance exclusivement maternelles et ignore l'identité des individus pollinisateurs.

Il est possible de lever cette hypothèque par recours aux croisements contrôlés dans les parcs à clones où les vergers à graines d'arbres « plus ». On obtient alors des descendance issues de deux parents parfaitement identifiés.

Cette méthode présente en outre de nombreux autres avantages fondamentaux : elle permet, en particulier, de calculer l'hérédité

d'un caractère (c'est-à-dire, au sens large et très schématiquement, la part de variation de ce caractère imputable à l'hérédité) et par ce moyen de prévoir le gain de sélection pour ce caractère.

C'est un outil de choix pour les recherches de génétique forestière, grâce auquel sont identifiés les croisements manifestant la vigueur hybride ou hétérosis, et inversement, qui permet la détection de groupes de consanguinité au sein d'un même peuplement forestier.

Les parcs à clones et les vergers à graines d'arbres « plus » de la Station d'Amélioration du Centre National de Recherches Forestières commencent depuis peu à produire des graines. Les premières pollinisations contrôlées furent réalisées en 1963. Le programme de l'année 1965, qui bénéficiait à Nancy d'une bonne fructification de l'épicéa (en partie liée à l'été chaud et sec de 1964) répondait aux buts suivants :

- mise en œuvre des techniques de croisements contrôlés de l'épicéa, d'ailleurs couramment utilisées dans d'autres pays,
- première évaluation de l'héritabilité des caractères de sélection,
- comparaison des résultats de croisements entre individus d'une même provenance (source de graines géographiquement bien définie ayant la valeur d'une « population »), et de provenances différentes,
- détection des croisements manifestant la vigueur hybride.

Les premiers enseignements de cette campagne sont développés dans ce qui suit.

Matériel végétal

On a utilisé les plants greffés, c'est-à-dire les copies végétatives des arbres « plus » sélectionnés en France, dans les Vosges, le Jura et les Alpes, qui présentaient une floraison mâle ou femelle suffisante au printemps 1965, soit au total 60. Ces plants greffés appartenaient à deux parcs à clones et deux vergers à graines d'arbres « plus » installés à Amance, non loin de Nancy, entre le printemps 1956 et l'automne 1960.

Plans de croisements

Dès qu'il est possible de reconnaître avec sécurité les bourgeons à fleurs mâles et femelles, on procède à un inventaire de la floraison par arbre sur l'ensemble des parcs à clones et des vergers à graines. On note le nombre de fleurs femelles observables et l'abondance relative de la fructification mâle sur chaque plant greffé, ainsi que le degré de maturité de chacun des deux types d'inflorescence à la date de l'examen (début avril 1965).

Les plans de croisements sont conçus en fonction des buts recherchés et des effectifs de la floraison mâle et femelle sur les différents clones. Eu égard au faible nombre de fleurs femelles disponibles pour la pollinisation, dans certains clones il a fallu faire appel surtout à des plans de croisements incomplets, c'est-à-dire conçus pour être mathématiquement exploités bien que toutes les combinaisons femelle \times mâle n'y soient pas représentées (les autofécondations et les croisements réciproques étant ici a priori éliminés). Quelques plans diallèles complets, conçus à partir d'un petit nombre de clones (5 au plus) ont malgré tout été entrepris.

Techniques utilisées

Ensachage des inflorescences femelles.

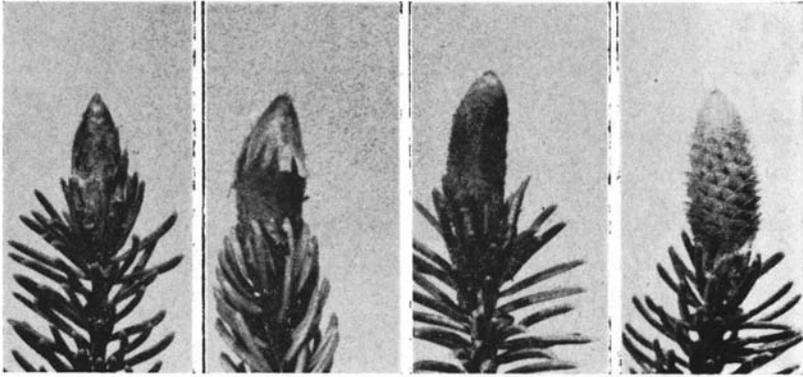
Les inflorescences femelles se situent à la partie supérieure ou moyenne des plants greffés, isolée chacune à l'extrémité d'un ramule bien éclairé.

Le développement de l'inflorescence femelle peut être schématisé de la façon suivante :

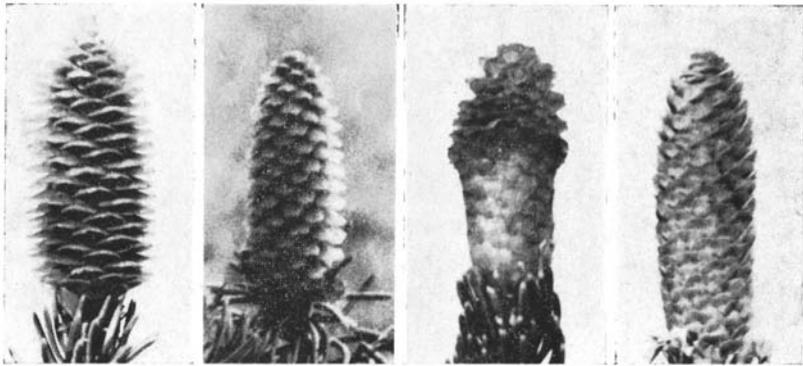
- Stade 1 — Bourgeon à fleur, fusiforme, lisse, brun roux, encore parfaitement clos.
- Stade 2 — Ecllosion du bourgeon à fleur. L'élongation et le gonflement de la jeune inflorescence femelle provoquent la déchirure et la chute des enveloppes, laissant apparaître les écailles florales (rouges ou vertes selon les clones).
- Stade 3 — L'inflorescence femelle est complètement débarrassée des enveloppes du bourgeon. Les écailles florales sont serrées les unes contre les autres, et réfléchies vers le sommet.
- Stade 4 — Les écailles florales, toujours réfléchies vers le sommet de l'inflorescence, s'entrouvrent.
- Stade 5 — Les écailles florales sont largement ouvertes, et perpendiculaires à l'axe de l'inflorescence.
- Stade 6 — Les écailles florales sont légèrement réfléchies vers la base de l'inflorescence.
- Stade 7 — En commençant par celles de la partie basale, les écailles se réfléchissent vers le sommet de l'inflorescence, et se serrent étroitement les unes contre les autres : l'inflorescence se ferme et n'est plus réceptive.

Aucune expérimentation n'a été faite dans le but exclusif de déterminer la période de réceptivité de l'inflorescence femelle. Au vu des résultats obtenus, et comme on le supposait, il semble qu'elle recouvre les stades 4, 5, 6 et soit optimale au stade 5.

Toutes les inflorescences femelles (603 au total) ont été ensachées au stade 1, soit, dans les conditions de l'expérience, entre le 12 et le 16 avril 1965. L'ensachage aux tout premiers stades de la floraison, avant toute dissémination naturelle du pollen, met le sélectionneur à l'abri des contaminations accidentelles.



Les phases du développement d'une inflorescence femelle.
De gauche à droite: stades 1 à 4.



Les phases du développement d'une inflorescence femelle.
De gauche à droite: stades 5, 6, 7 début, 7 fin.

(Photos РОНОСКИ.)

On utilise des sacs de viscose (communément appelés « boyaux à saucisse » eu égard à leur utilisation courante en charcuterie) donnant toute satisfaction par leur perméabilité à l'air, leur transparence et leur résistance mécanique à la pluie et au vent. Ils sont

ligaturés à la base du rameau florifère; un manchon de coton assure l'isolation à ce niveau*.

Le sac et l'inflorescence femelle qu'il enferme sont de préférence maintenus verticaux en haubanant le sac sur la tige principale. Si cette précaution est négligée, l'inflorescence, en prenant dès la fin du stade 1 le port érigé qui la caractérise, vient très vite buter sur le « plafond » du sac et se déforme; d'autre part, l'eau de pluie pénètre dans le sac, y séjourne et peut éventuellement être à l'origine de contaminations par des pollens étrangers.

Récolte des chatons mâles.

Les chatons mâles se rencontrent sur les parties moyenne et basse des plants greffés, groupés en nombre plus ou moins grand vers l'extrémité des ramules.

Le développement des inflorescences mâles peut être schématisé de la façon suivante :

- Stade 1 — Bourgeon à fleur, ovoïde, lisse, brun roux, encore parfaitement clos.
- Stade 2 — Ecllosion du bourgeon à fleur. L'élongation et le gonflement de la jeune inflorescence mâle provoquent la déchirure et la chute des enveloppes laissant apparaître les écailles florales jaune-verdâtre pâle.
- Stade 3 — Chaton gonflé, complètement débarrassé des enveloppes du bourgeon. La couleur passe du jaune-verdâtre au rouge violacé vif.
- Stade 4 — Chaton allongé dont la maturation se traduit par un jaunissement progressif.
- Stade 5 — Anthèse ou libération du pollen, à laquelle succède le flétrissement du chaton.

Lorsque le plant greffé est suffisamment vigoureux, on récolte au sécateur les rameaux fructifères mâles aux stades 3 et 4. Si le plant est chétif, on attend le stade 4 pour cueillir séparément à la main chaque chaton. Les rameaux fructifères ou les chatons sont ensuite transportés séparément par clone en sachets de plastique étiquetés.

Extraction du pollen.

Les rameaux florifères au stade 3 sont forcés en vase, en atmosphère saturée sous housse plastique, pour provoquer l'allongement

* L'autre extrémité du « boyau » coupé à la longueur voulue est repliée plusieurs fois et fermée par trois agrafes.

des chatons. Ils sont ensuite placés quelques jours en atmosphère sèche en case d'isolement jusqu'au début de l'anthèse. Les chatons sont ensuite cueillis et placés dans l'extracteur.

Les chatons récoltés directement par cueillette au stade 4 passent simplement en case d'isolement pour se ressuyer si la cueillette s'est faite par temps pluvieux, et sont mis en extracteur.

Les extracteurs sont de simples sacs de viscose fermés à leur partie supérieure et terminés à leur partie inférieure par un entonnoir recouvert de toile à bluter (maille 150 μ) communiquant avec un pillulier de stockage du pollen extrait. Pour accélérer l'anthèse des chatons et favoriser la conservation du pollen, on place un produit déshydratant (« Actigel ») dans le corps de l'extracteur et dans le pillulier. Les extracteurs étaient groupés en batterie suspendue, chacun portant une étiquette faisant mention du clone et de la date de remplissage.

L'extraction s'est faite en atmosphère chaude et sèche par le jeu d'un radiateur électrique soufflant, fonctionnant pendant la journée. L'« Actigel » était périodiquement renouvelé dans les extracteurs pour maintenir l'atmosphère intérieure à un degré de siccité suffisant. Chaque jour, les extracteurs étaient secoués pour faciliter l'écoulement du pollen dans les pilluliers. Dans le cas de chatons complètement mûrs lors de la mise en extracteur, le temps d'extraction est de 4 à 5 jours. Selon la taille des chatons, on obtient de 2 à 3,5 cm³ de pollen pour 100 chatons traités.

Après extraction, le pollen est stocké en pilluliers de 20 à 150 cm³ contenant de l'« Actigel ». Bien que cela n'ait pas été fait en 1965 pendant la période même de pollinisation contrôlée, il paraît souhaitable d'effectuer le stockage en chambre froide à + 2° C.

Pollinisation contrôlée.

Les techniciens chargés de la pollinisation parcourent systématiquement les parcs à clones et les vergers à graines d'arbres « plus », s'arrêtent devant les inflorescences supposées réceptives (stades 4, 5, 6), et au vu des plans de croisements, effectuent les pollinisations désirées.

Les injecteurs à pollen utilisés, d'un type très simple, se composaient d'une poire de caoutchouc ajustée sur un corps de seringue, muni d'une aiguille de fort calibre. Les aiguilles de faible diamètre intérieur s'obturent en effet trop rapidement pour être utilisées de façon continue, surtout par temps pluvieux. Il faut naturellement prévoir un injecteur par origine de pollen.

L'aiguille de l'injecteur est piquée près de l'extrémité libre du sac et le flux de pollen dirigé vers les inflorescences femelles. Le sac est ensuite secoué pour que le pollen se maintienne en suspension et se fixe au maximum entre les écailles florales entrouvertes. On indique sur une étiquette de plastique, au crayon gras, l'abrégé

viation du nom ou le numéro de code des parents: femelle \times mâle, et la date de pollinisation. Cette étiquette est fixée à la base du sac. Le croisement est également enregistré sur une feuille de pollinisation, à raison d'une feuille par parent femelle. On procède à deux pollinisations encadrant le stade 5, à quelques jours



Détail d'une opération de pollinisation contrôlée.

d'intervalle. Le trou pratiqué dans le sac de viscose par l'aiguille de l'injecteur est rebouché immédiatement après pollinisation par une touche de peinture latex.

La pollinisation d'un sac nécessite en moyenne 0,25 cm³ de pollen.

Lorsque la quantité de pollen disponible d'un parent mâle déterminé est faible, la pollinisation est effectuée au pinceau. L'opérateur est alors obligé d'ôter le sac, de saupoudrer au pinceau un peu de pollen sur chaque fleur, et de remettre en place le sac. L'opération est assez longue et minutieuse. Le pinceau doit être stérilisé à l'alcool entre deux pollinisations avec des pollens différents, puis séché avant l'emploi.

Avec une immense majorité de pollinisations à l'injecteur, deux techniciens travaillant en équipe, l'un enregistrant alors que l'autre

pollinise, ont réalisé la fécondation contrôlée de 370 sacs (correspondant à 603 inflorescences femelles) nécessitant pour la plupart deux pollinisations successives, en moins de deux semaines.

Malgré une évolution lente de la floraison, en relation avec un printemps pluvieux et assez froid, les dernières pollinisations n'ont pas pu être doublées, un réchauffement subit de la température dans les derniers jours ayant provoqué la fermeture de toutes les inflorescences femelles ensachées en une semaine.

Notons au passage que l'effet de serre provoqué par l'ensachage, d'autant plus net que le temps est plus ensoleillé, avance de plusieurs jours l'éclosion, la maturité, et la fermeture des inflorescences femelles.

Au printemps 1965, le développement des inflorescences femelles du stade 1 au stade 7 s'est échelonné sur un mois en moyenne du 12 avril au 12 mai. L'ensemble des opérations de pollinisation a occupé en permanence deux techniciens du 27 avril au 14 mai. Le 5 mai, les fleurs ensachées les plus avancées ont commencé à se refermer. Une semaine plus tard, la presque totalité des inflorescences ensachées des différents clones étaient closes.

Les sacs ont été enlevés les 18 et 19 mai, une semaine après complète fermeture de toutes les inflorescences.

Résultats

Les cônes ont été récoltés et les graines extraites et triées à l'automne 1965. Au total, sur 603 inflorescences femelles pollinisées, 205 ont donné des cônes (34 %), fournissant 7 460 graines pleines (soit en moyenne 12,4 graines pleines par inflorescence femelle pollinisée, et 36,4 par cône obtenu).

Par ailleurs, une fraction des inflorescences femelles a été ensachée mais non pollinisée, tandis qu'une autre fraction était librement soumise à la pollinisation naturelle.

On a obtenu au total dans le premier cas 66 cônes de taille normale à l'origine de 11 graines pleines seulement (moins de 1 ‰ du total des graines extraites dans ce cas). Que cette faible proportion soit imputable à un défaut accidentel de l'isolation ou à l'existence éventuelle de phénomènes de parthénocarpie*, la sécurité de la méthode apparaît comme très satisfaisante.

La pollinisation libre des inflorescences femelles non isolées a donné naissance à 132 cônes au total, à l'origine de 9 912 graines pleines (47 % du total des graines extraites dans ce cas, correspondant à 75,1 graines pleines par cône obtenu). Le dernier résultat s'avère très supérieur à celui obtenu par la pollinisation artificielle.

Ces conclusions sont vérifiées, d'une façon plus rigoureuse, par l'examen des résultats obtenus sur deux clones pris séparément :

* parthénocarpie : embryogenèse sans fécondation.

VIL 1 (arbre sélectionné en forêt de Villette (Savoie); tableau 1) et HER 1 (arbre sélectionné en forêt de La Herse (Orne), d'origine artificielle; tableau 2).

TABLEAU 1 — VIL 1

Nature de l'opération	Nombre de cônes parvenus à maturité	Pourcentage de graines pleines	Nombre de graines pleines	Poids des graines pleines (cg)	Poids unitaire moyen des graines pleines (mg)	Nombre moyen de graines pleines par cône
Pollinisation libre : inflorescences femelles non isolées	44	49,3	4 362	4 269	9,8	97,0
Isolement et absence de pollinisation	24	0,0 ₆	2	2	10,0	0,0 ₆
Isolement et pollinisation contrôlée (moyenne des croisements)	19	21,9	670	655	9,8	35,2

TABLEAU 2 — HER 1

Pollinisation libre : inflorescences femelles non isolées	8	17,3	251	291	11,6	31,4
Isolement et absence de pollinisation	13	0,2 ₆	6	7	11,7	0,4 ₆
Isolement et pollinisation contrôlée (moyenne des croisements)	69	8,9	1 156	1 331	11,5	16,8

Cette expérience a été poursuivie au printemps 1966 par un semis en serre, suivant un dispositif statistique.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) BOUVAREL (P.). — L'Amélioration des arbres forestiers en Suède et au Danemark. Rapport de Mission, juillet 1963. Annales de l'École Nationale des Eaux et Forêts et de la Station de Recherches et Expériences Forestières. Tome XIV, Fascicule 1, 1954.
- (2) BOUVAREL (P.). — Les vergers à graines: Principe - Etablissement - Entretien. Notes Techniques Forestières n° 18. Section Amélioration des arbres forestiers, 1963.
- (3) BOUVAREL (P.). — Variabilité de l'épicéa (*Picea excelsa* Link.) dans le Jura français. Répartition et caractère des divers types. Revue Forestière Française, n° 2, février 1954.

- (4) CUMMING (W.-C.) et RIGHTER (F.-I.). — Methods used to control pollination of pines in the Sierre Nevada of California. Washington D.C., U.S. Department of Agriculture. Circular 792, 18 p., 1948.
 - (5) JOHNSON (L.-P.-V.) et BRADLEY (E.-C.). — Hybridization technique for forest trees. Canad. J. Res., 24 C: 305-307, 1946.
 - (6) JOHNSON (Helge). — Skogsträdsförädlingens metoder (Amélioration des arbres forestiers). Svensk Växtförädling, 489-518, 1951.
-