

A. F. BILQUEZ

Professeur de génétique à l'Institut d'enseignement et de recherches tropicales de Bondy (France), chef du service de radiobiologie de l'ORSTOM



Emploi des rayonnements ionisants pour la production de nouvelles variétés de plantes

Résumé

On sait aujourd'hui que les radiations ionisantes sont capables d'induire des variations héréditaires chez les organismes soumis à leur action. D'où l'idée de les utiliser de façon pratique en agronomie, à côté d'autres méthodes traditionnelles de travail, pour la création de variations héréditaires utiles chez les plantes cultivées.

L'auteur étudie dans cet article les différentes méthodes de travail susceptibles d'être utilisées, compte tenu de la nature du matériel à irradier, des moyens dont on dispose et du but à atteindre, en insistant sur l'importance que certains facteurs du milieu (humidité, température) peuvent avoir sur la sensibilité manifestée par les plantes vis-à-vis des radiations.

Après avoir donné quelques exemples concrets de résultats obtenus dans son service, l'auteur termine en indiquant quel est le sens dans lequel doivent s'orienter les travaux des radiogénéticiens si l'on veut que l'irradiation devienne une technique de travail rentable et d'usage courant en agronomie.

A. F. Bilquez est ingénieur agricole, licencié ès sciences, professeur de génétique à l'Institut d'enseignement et de recherches tropicales de Bondy (France), chef du service de radiobiologie de l'Office

de la recherche scientifique et technique outre-mer (ORSTOM).

Il poursuit depuis 1953 des études d'intérêt à la fois théorique et pratique sur l'emploi des rayonnements ionisants pour la production de variations héréditaires utiles chez les plantes.

L'amélioration de la production agricole peut être réalisée de diverses manières. L'une d'elles consiste dans la recherche d'espèces ou de variétés qui ont, en regard de leurs caractères utilisables par l'homme, des possibilités héréditaires supérieures à celles des espèces ou des variétés existant déjà en culture.

Il y a, pour le généticien, différents moyens d'atteindre le but qui lui a été fixé.

Le premier moyen, apparemment le plus simple, consiste à introduire dans le milieu local des variétés déjà cultivées dans d'autres régions, et à tester comment elles se comportent par rapport aux variétés qui existent déjà en culture dans ce milieu local.

Le second moyen d'atteindre le but fixé consiste à rechercher, parmi les populations naturelles locales existantes, des individus capables de donner naissance à une descendance ayant une valeur moyenne supérieure à celle de la population d'origine, et à les exploiter de

Tiré à part de la revue INDUSTRIES ATOMIQUES - n° 11/12, 1961

O. R. S. T. O. M.
O. R. S. T. O. M., Genève (Suisse)

Collection de Référence

31 MAI 1965

n° 15064 ex 1

Brio et
Amel

façon telle que cette caractéristique puisse se maintenir de génération en génération.

Le troisième moyen consiste à introduire dans le patrimoine héréditaire d'une espèce ou d'une variété donnée les facteurs génétiques responsables de certains caractères utiles, possédés par d'autres espèces ou d'autres variétés.

Il existe enfin un quatrième et dernier moyen: c'est d'essayer de produire expérimentalement le ou les caractères désirés, en ayant recours aux différentes techniques de production expérimentale de variations héréditaires. C'est un moyen de travail relativement récent et encore peu utilisé en agronomie, bien qu'il y ait maintenant déjà plus de trente ans que Müller et Stadler aient montré pour la première fois qu'il était possible de produire expérimentalement des variations héréditaires par emploi des rayons X.

On sait aujourd'hui que les radiations ionisantes, quelles que soient leurs caractéristiques physiques ou la nature de la source qui les émet, sont capables d'induire des variations héréditaires, généralement identiques à celles qui se produisent dans la nature, mais avec une fréquence infiniment supérieure (10 à 100 fois plus, et même davantage).

L'amélioration des plantes, quelle que soit la méthode utilisée, est basée essentiellement sur une exploitation raisonnée des variations héréditaires qui se produisent au sein des espèces. La possibilité de produire expérimentalement des variations héréditaires constitue donc un fait d'une grande importance: la mutagenèse artificielle apporte en effet, théoriquement du moins, l'espoir de s'affranchir complètement de la nature pour l'obtention des variants génétiques nécessaires pour améliorer les plantes cultivées et les adapter aux conditions toujours plus strictes posées par les exigences de l'homme.

Méthode générale de travail

Le matériel à irradier peut se présenter sous divers aspects. Il peut s'agir de graines, de boutures, de rameaux, de bulbes ou de tubercules, d'inflorescences ou même simplement de pollen.

Le choix de la forme sous laquelle on irradie le matériel dépend, dans une grande mesure, du type biologique auquel appartient l'espèce végétale avec laquelle on travaille: si l'on a affaire à des espèces annuelles, se reproduisant par voie sexuée, on irradiera de préférence des graines, des inflorescences parvenues au stade de formation des gamètes, ou des grains de pollen. Si, par contre, on a affaire à des espèces qui se

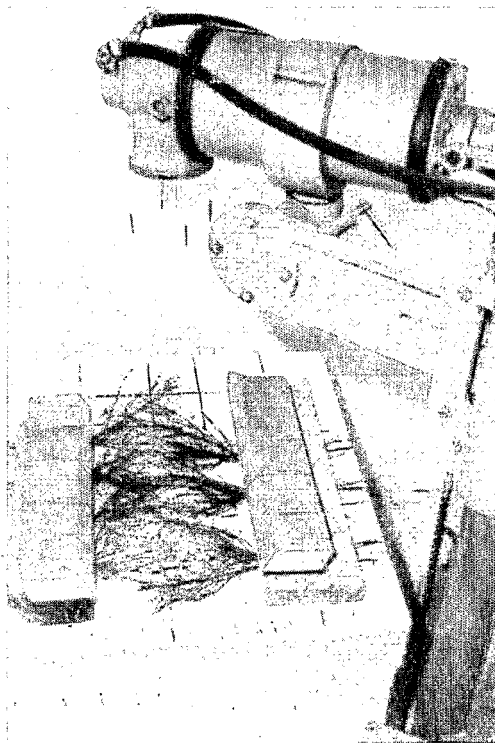


Fig. 1. — Traitement par les rayons X de jeunes plants de rosier encore au stade de repos. Les briques de plomb placées sur le collet des plantes délimitent le champ d'irradiation. Le système racinaire est placé en dehors du champ.

multiplie préférentiellement par voie végétative, on irradiera les organes végétatifs qui servent de point de départ à cette multiplication végétative: des greffons, des boutures, des bulbes ou des tubercules, selon l'espèce considérée.

Les rayons X et les neutrons sont les agents de choix pour l'irradiation des semences et celle des organes végétatifs encore au stade de repos (fig. 1).

Les sources émettrices de rayons gamma, comme le cobalt-60 ou le césium-137, sont surtout commodes pour irradier en plein champ des plantes en cours de croissance.

On a aussi utilisé parfois, comme source productrice de rayonnement ionisant, des solutions de ^{32}P , de ^{35}S ou de quelques autres radioéléments sous forme d'injections dans des rameaux ou des bourgeons. Cette technique n'a connu, en réalité, que peu de succès, car il est extrêmement difficile d'assurer le contrôle de la distribution de la source ionisante à l'intérieur des

tissus, et par conséquent le contrôle de la dose de rayonnement reçue par chacun des différents ensembles cellulaires.

L'un des premiers problèmes qui se posent au radiogénéticien est de déterminer quelle est la dose de radiation qu'il convient d'appliquer aux plantes, pour avoir le maximum de chances de faire apparaître des variations héréditaires utiles dans la descendance du matériel irradié.

Cette détermination est basée sur la mesure du degré de sensibilité manifestée par les plantes vis-à-vis du rayonnement utilisé. On peut apprécier cette sensibilité de différentes manières: soit par une mesure directe de l'effet produit par le rayonnement sur les structures génétiques (pourcentage de cellules ayant des anomalies chromosomiques de caractère létal: fragments acentriques ou ponts), soit en se basant sur des caractères dont l'expression est mathématiquement liée à cet effet, comme le taux de survie des plantes, leur taux de fertilité ou le degré de croissance végétative atteint par les plantes à une époque donnée.

Il faut prendre garde, lorsqu'on travaille avec des rayons X ou des rayons gamma, que la sensibilité d'un matériel donné varie considérablement selon l'état physiologique dans lequel il se trouve au moment de son irradiation.

On sait, en particulier, que la teneur en eau des tissus est un facteur important de variation de la sensibilité des plantes vis-à-vis des rayons X ou des rayons gamma [1, 2, 3].

Il faut en tenir compte, aussi bien lorsqu'on irradie des graines que lorsqu'on irradie des rameaux, et prendre soin en conséquence de conditionner au préalable le matériel à irradier, si l'on veut tenter de rendre l'expérience reproductible.

Il semble tout à fait inutile de prendre les mêmes précautions lorsque l'on utilise des neutrons [4, 5].

La température du milieu dans lequel s'effectue la croissance du matériel irradié influe également de façon considérable sur la sensibilité des plantes vis-à-vis des radiations [1, 5].

On a constaté qu'il pouvait exister aussi de grandes différences de sensibilité vis-à-vis des rayons X et des rayons gamma entre diverses variétés d'une même espèce, bien que l'on ait pris soin de conditionner le matériel d'une façon équivalente avant de l'irradier [5, 7].

Les neutrons sembleraient se comporter là encore d'une façon différente des rayons X ou des rayons gamma.

Quelle est, compte tenu de la courbe de sensibilité obtenue, la dose optimale de radiation qu'il faut utiliser ?

Il n'est pas facile de répondre à cette question d'une façon précise, dans l'état actuel de nos connaissances.

La difficulté provient de ce qu'il est extrêmement difficile d'évaluer quel est le taux réel de mutation qui a pu être induit dans un matériel donné par une irradiation, et par conséquent d'établir un lien mathématique précis entre les différents critères d'appréciation de la sensibilité des plantes vis-à-vis des radiations, et le taux réel de mutation qui a pu être engendré par l'irradiation.

La plupart des études sur ce sujet ont été faites en utilisant des céréales, en particulier de l'orge, dont les graines avaient été irradiées [8, 9, 10]. Il apparaît, au cours de la deuxième génération après irradiation, divers mutants, entre autres des mutants chlorophylliens dont la détection peut être faite dès le stade plantule. Ce sont eux qui ont été utilisés comme test de l'activité mutagénique des agents inducteurs mis en œuvre.

Le taux de mutation X2 peut être calculé de trois façons différentes:

1. Taux de plantules X2 homozygotes pour des mutations chlorophylliennes;
2. Taux d'épis X1 présentant des mutations chlorophylliennes dans leurs descendance X2; c'est la méthode généralement employée par les chercheurs suédois et allemands [8, 9];
3. Taux de plantes X1 présentant des mutations chlorophylliennes dans leurs descendance X2.

Les taux de mutation obtenus sont extrêmement différents suivant la méthode de calcul adoptée: ils sont les plus faibles dans le premier cas, intermédiaires dans le second, et les plus élevés dans le troisième cas. On constate, sur la base des calculs effectués par les méthodes 2 et 3, que les taux de mutation diminuent aux doses sublétales, du fait de la réduction de fertilité de plus en plus prononcée produite concurremment à l'action mutagène par l'irradiation. On constate, par contre, que le taux de plantes X2 mutantes montre un accroissement constant avec l'augmentation de la dose.

On aurait donc intérêt, selon ces résultats, à appliquer les doses de radiation les plus élevées possible, compatibles avec la vie des organismes et leur aptitude à se reproduire, sans souci du degré de réduction de fertilité induit par l'irradiation, lorsqu'on a comme but l'obtention du nombre maximum de mutants [10].

Quelles que soient la façon et la forme sous lesquelles le matériel ait pu être irradié, il reste au radiogénéticien à résoudre un deuxième problème: celui d'isoler les variations héréditaires

qui ont pu être produites sous l'effet des radiations. Encore faut-il pouvoir les mettre en évidence. On doit distinguer deux cas: celui où l'on a affaire à des variétés qui se reproduisent par voie sexuée, et celui où l'on a affaire à des plantes qui se multiplient par voie végétative.

La détection des mutations chez les espèces qui se reproduisent par graines s'opère généralement parmi les plantes qui constituent la population de deuxième génération, c'est-à-dire celle créée à partir des graines récoltées sur les plantes irradiées, ou provenant directement de graines irradiées. On ne trie en fait, à ce stade, que les grosses variations héréditaires: celles qui s'expriment visiblement de façon nettement distincte par rapport au type d'origine. Il est bon de suivre le matériel jusqu'à la troisième et même quatrième ou cinquième génération de descendance, si l'on souhaite isoler des variants quantitatifs dont l'expression est contrôlée génétiquement par un système polygénique.

On recommande, dans le cas des céréales telles que l'orge, le blé ou l'avoine, de récolter séparément les graines de chaque inflorescence sur les plantes de première génération pour les semer isolément en deuxième génération. Cette recommandation est basée sur le fait que chacune des inflorescences tirerait son origine d'une seule cellule embryonnaire. C'est ce qui justifie le deuxième mode de calcul du taux de mutation auquel nous avons fait allusion précédemment.

On ne saurait généraliser cette notion aux autres plantes. On constate, au contraire, dans un grand nombre de cas, que plusieurs cellules embryonnaires différentes peuvent contribuer à la formation d'une même inflorescence, parfois même d'une même fleur. C'est pourquoi il est tout à fait inutile, dans la plupart des cas, de procéder à des semis pédigrés dès la deuxième génération.

La détection et l'isolement des mutations produites par l'irradiation chez les plantes à multiplication végétative sont des opérations beaucoup plus délicates à réaliser que dans le cas des plantes qui se reproduisent par graines. La part du hasard y apparaît encore beaucoup plus grande, dans l'état actuel de nos connaissances, que dans le cas de ces dernières. Pour qu'une mutation induite expérimentalement chez une plante à multiplication végétative puisse être exploitée, il est indispensable que les conditions suivantes puissent être satisfaites:

Il faut, premièrement, que la mutation produite soit d'emblée perceptible. Ceci ne se fera que si la cellule dans laquelle s'est produite la mutation participe effectivement à l'élaboration du tissu dans lequel cette mutation peut s'expri-

mer de façon visible, par exemple les pétales d'une fleur s'il s'agit d'une variation de coloration de la fleur. Si la cellule dans laquelle s'est produite une variation susceptible d'intéresser la coloration des pétales ne participe pas à l'élaboration de ce tissu, mais à celle d'un autre tissu (par exemple le tissu germinale), la mutation sera perdue.

Il faut, deuxièmement, que la cellule dans laquelle s'est produite la mutation contribue pour une part importante à la réalisation du tissu ou de l'organe dans lequel cette mutation peut s'exprimer, si l'on veut avoir des chances de l'individualiser par la suite. On aura d'autant plus de chances de réaliser avec succès cette opération que la cellule « touchée » fera partie d'un ensemble organogénétiquement plus jeune, l'idéal étant qu'elle se confonde avec la cellule primordiale du tissu ou de l'organe considéré. D'où certaines techniques de conditionnement du matériel avant l'irradiation, de façon à induire le développement de certaines cellules dormantes, néoformées, au détriment d'ensembles cellulaires déjà trop développés.

Il faut, troisièmement, que l'organe ou le tissu qui sert de support matériel à la mutation puisse être isolé de la plante mère, et reproduit par l'un des procédés classiques utilisés en multiplication végétative (greffe, bouture ou marcotte).

Résultats obtenus

On ne saurait passer en revue ici, d'une façon détaillée, les résultats déjà obtenus par l'emploi des rayonnements ionisants dans le domaine agronomique. Ces résultats intéressent un grand nombre de plantes appartenant à des familles et à des types biologiques fort différents: arachide, avoine, blé, chrysanthème, haricot, lin, lupin, mil, moutarde, muflier, oeillet, orge, pêcher, pois, pommier, riz, soja, tomate, etc. Les mutations produites correspondent à des caractéristiques très diverses, telles que la durée du cycle végétatif et la précocité de la récolte, la résistance aux parasites et aux facteurs édaphiques, la coloration des fleurs et des fruits, la taille des plantes, le rendement ou les qualités technologiques [11].

Nous avons obtenu, par exemple, à la suite d'irradiation de graines au moyen de rayons X chez une variété d'arachide du type « volète », caractérisée par un poids moyen compris entre 95 et 110 g pour 100 gousses à 2 graines, un type mutant à grosses graines (poids moyen de 170 g pour 100 gousses à 2 graines), ayant

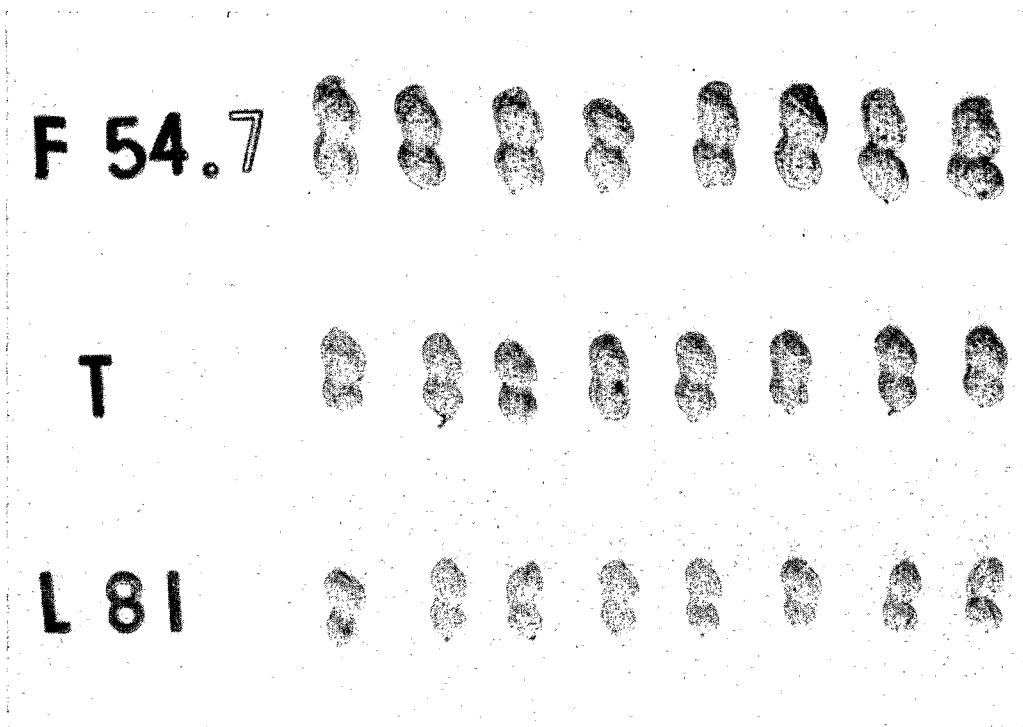


Fig. 2. — Variation héréditaire produite chez l'arachide par emploi de rayons X : modification de la taille des gousses. Au centre, la lignée témoin; à la partie supérieure, un mutant à grosse graine ; à la partie inférieure, un mutant à petite graine.

conservé les caractéristiques végétatives et les qualités organoleptiques du type d'origine (fig. 2). Du fait de la grosseur de ses graines, ce mutant peut être classé comme arachide de bouche, ce qui représente, du point de vue commercial, une plus-value importante pour le cultivateur, par rapport aux arachides appartenant à la catégorie d'huilerie dans laquelle se trouvait classé le type d'origine.

Nous avons obtenu, à partir d'une autre variété d'arachide, un mutant à port très érigé, dont toutes les gousses se trouvent rassemblées en une touffe compacte à la base des tiges, et qui devrait offrir de ce fait un grand intérêt pour la culture mécanique (fig. 3).

D'autres variations, portant sur la grosseur et la texture du feuillage, l'épaisseur des coques, le rendement et la richesse en huile, ont également été obtenues à partir de ce même matériel, et font actuellement l'objet d'essais comparatifs.

L'irradiation de graines de mils pénicillaires nous a d'autre part permis d'obtenir, à partir

d'une variété de mil tardive, aristée (date moyenne d'épiaison: 82 jours), une variété précoce (date moyenne d'épiaison: 59 jours), ayant conservé les caractéristiques d'aristation du type d'origine, ce que l'on souhaite vivement, car l'aristation constitue, dans l'état actuel de nos connaissances, la seule barrière vraiment efficace qu'on puisse opposer aux dégâts des oiseaux mange-mil. Il n'existait pas, jusqu'à présent, de variétés de mils précoces aristées au Sénégal, ce qui explique, dans une large mesure, les dégâts importants que font courir chaque année à cette culture les oiseaux qui existent par bandes de plusieurs centaines de milliers d'individus, dans la vallée du fleuve Sénégal, et qui constituent un véritable fléau national.

Les travaux sur arachide et sur mil auxquels nous venons de faire allusion sont poursuivis au Centre des recherches agronomiques de Bambey (Sénégal), avec la collaboration des sélectionneurs de ce Centre. Mais nous poursuivons aussi en France, avec la collaboration du Centre

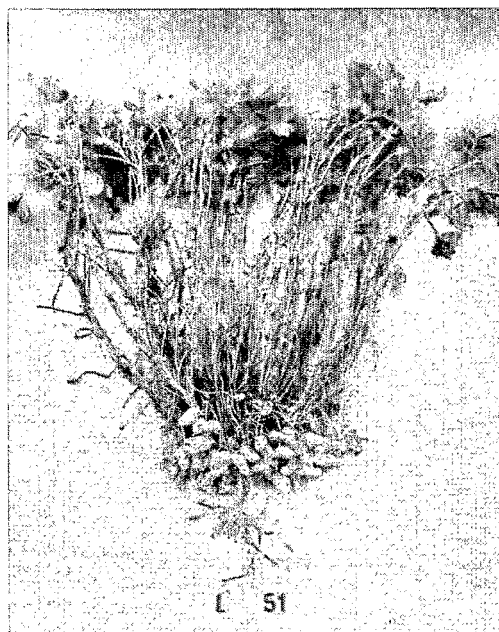
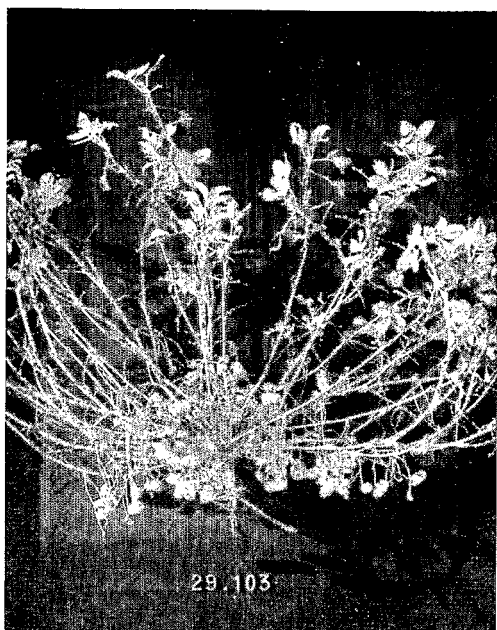


Fig. 3. — Variation héréditaire produite chez l'arachide par emploi de rayons X : à gauche, le témoin ; à droite type mutant à gousses groupées et port très érigé.

technique de la Fédération nationale de l'horticulture et des pépinières, un programme de radiogénétique sur diverses espèces de plantes florales et ornementales.

Des résultats intéressants, concernant des modifications de la coloration de la fleur, ont déjà pu être obtenus aussi bien sur œillets que sur rosiers ou sur chrysanthèmes. C'est ainsi que l'on a pu obtenir, par exemple, des mutants à fleurs blanches, jaunes et roses, à partir de la variété d'œillet américain à fleurs rouges « Improved Sim », à la suite d'irradiation de boutures par les rayons X.

Signalons, chez le chrysanthème, entre autres obtentions: un mutant à fleur de teinte jaune Dresde, obtenu à partir de la variété à fleur de teinte jaune mimosa ombré terre de Sienne, Madame Chopin; un mutant à fleur rouge bordeaux, obtenu à partir de la variété à fleur de teinte rhodamine pourpre, revers rose pourpré, Pascalou; un mutant à fleur de teinte rouge brique, obtenu à partir de la variété à fleur de teinte violette, Prélude; un mutant à fleur blanche, obtenu à partir de la variété à fleur de teinte rose violacé, Gérard rose; enfin, un mutant à fleur de teinte jaune, obtenu à partir de la variété à fleur blanche, Cléro.

Ces différents mutants ont tous été obtenus à la suite d'irradiation de boutures par les rayons X.

A vrai dire, certaines de ces mutations, obtenues expérimentalement, existent déjà dans la nature. C'est le cas, par exemple, du mutant rouge de Pascalou, qui existe au commerce sous le nom de Dynamic, et celui du mutant jaune de Cléro.

Cela ne saurait nous surprendre: les radiations ionisantes ne sont pas capables de faire apparaître chez les espèces des caractères véritablement nouveaux. Elles ne font qu'augmenter la fréquence d'apparition des variations naturelles. C'est pourquoi les travaux d'irradiation entrepris aujourd'hui dans un but pratique sont surtout orientés vers la recherche d'une augmentation de la variabilité génétique caractéristique d'un type variétal donné, et non plus d'une espèce, comme on tendait à vouloir le faire, dans les premières années qui suivirent la découverte de l'action mutagène des radiations ionisantes.

Le problème, lorsque nous irradiions des œillets, n'est pas tant de faire apparaître des coloris absolument nouveaux pour l'espèce *Dianthus caryophyllus*. Cela, bien sûr, a son

intérêt, et nous serions très heureux qu'un tel résultat se produisît. Le véritable problème est de tenter de faire apparaître, dans une variété ou dans un clone appréciés pour leurs qualités végétaives (rusticité, résistance aux parasites, grosseur de fleur, tenue en vase...), d'autres coloris que celui qui les caractérise, mais sans perdre aucune des qualités qui font qu'on apprécie la variété d'origine.

Les radiogénéticiens se sont surtout intéressés, jusqu'à présent, aux grosses variations nettement visibles, comme celles qui concernent la coloration ou la taille des plantes, et qui correspondent à ce que l'on a coutume d'appeler des variations qualitatives, même si le caractère considéré s'exprime au moyen de chiffres.

L'accent est mis cependant de plus en plus aujourd'hui sur l'étude des variations quantitatives.

On sait que beaucoup de caractères agronomiques importants, comme le rendement ou la précocité par exemple, sont régis génétiquement par des systèmes polygéniques, c'est-à-dire par des gènes nombreux, ayant chacun une action identique, et dont les effets, petits par rapport aux variations susceptibles d'être produites par le milieu sur le caractère considéré, s'additionnent les uns aux autres d'une façon mathématique plus ou moins complexe selon les cas.

Beaucoup considèrent que cette nouvelle orientation de travail est en fait la véritable voie dans laquelle doivent s'engager les travaux de radiogénétique, si l'on veut que l'irradiation devienne une technique de travail rentable et d'usage courant en agronomie.

Dans quelle mesure l'irradiation est-elle capable d'induire, dans une lignée arrivée au plafond de ses possibilités agronomiques, une variabilité génétique nouvelle, suffisante pour permettre au sélectionneur de réaliser de nouveaux progrès à partir de ce matériel? Dans quelle mesure l'irradiation est-elle capable

d'induire, dans une population, une variabilité génétique supérieure à celle qui existe naturellement dans cette population?

Telles sont les deux questions auxquelles il convient de répondre, pour savoir quelle sera réellement, dans l'avenir, l'utilité de l'emploi des rayonnements pour la production de nouvelles variétés de plantes.

Le problème n'est pas facile à résoudre, car il est lié lui-même aux progrès que l'on doit d'abord accomplir dans l'étude de la génétique quantitative.

A. Bilquez.

Bibliographie

- [1] A. F. BILQUEZ: C.R. Ac. Sc. Paris, T. 241 — 900-902 (1955).
- [2] R. S. CALDECOTT: Science, 120, 809-810 (1954).
- [3] L. EHRENBERG et N. NYBOM: Acta Agric. Scand. 4, 396 (1954).
- [4] R. S. CALDECOTT: Actes Conf. Int. Genève, XII, 45-50 (1955).
- [5] O. GELIN, L. EHRENBERG et S. BLIXT: Agri. Hort. Genet. 16, 78-102 (1958).
- [6] H. GAUL: Z. Pflz. 38, 397-429 (1957).
- [7] A.-F. BILQUEZ et J.-P. MARTIN: Rev. Bot. Appl. Agr. Trop. (sous presse).
- [8] A. GUSTAFSSON: Lunds Univ. Arskv. N.F. Avd 2, Bd 36, n° II, 1-40 (1940).
- [9] R. FREISLEBEN et A. LEIN: Z. f. Pflz. 235-243, 255-283 (1943).
- [10] A. MOËS: Bull. Inst. Agr. St. Rech. Gembloux, XXVI, 4, 335-361 (1959).
- [11] ELLIOTT: Plant Breeding & Cytogenetics, Mc Graw Hill, 118-119 (1958).

Tiré à part de la revue INDUSTRIES ATOMIQUES - n° 11/12, 1961
33, quai Wilson, Genève (Suisse)