

OFFICE DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE OUTRE-MER
CENTRE D'ADIOPODOUME

LABORATOIRE DE GENETIQUE

PROGRAMME D'ETUDE DE PANICUM MAXIMUM . ANNEE 1965

J.PERNES & D.COMBES

Mars 1965

- INTRODUCTION -

Les thèmes de recherche qui dictent ce programme sont les suivants:

1. variabilité génétique de l'espèce Panicum maximum
2. reproduction du Panicum maximum, stérilité partielle ou totale, origine de la stérilité
3. étude de la différenciation d'écotypes sous l'effet de la sélection naturelle.

Afin d'obtenir une connaissance convenable de la variabilité de l'espèce Panicum maximum, une collection très importante des types africains est en cours de réalisation.

Les caractéristiques de cette collection sont données dans la partie I.

La deuxième partie prépare l'étude des conditions écologiques du thème 3 et indique quelques hypothèses que l'observation des populations naturelles suggère.

La troisième partie est consacrée aux études, essentiellement qualitatives, permettant de mettre en évidence des mécanismes de reproduction sexuée. Dans cette partie l'étude des descendance doit être plus qualitative que statistique du fait de la rareté attendue des graines issues de fécondation.

La quatrième partie est le commencement de l'analyse statistique des variabilités génétiques de l'espèce Panicum maximum en Basse Côte d'Ivoire. Les résultats de ces analyses doivent donner les premières réponses au point 3. Ils permettront également d'avoir un ordre de grandeur de l'importance des reproductions sexuées à l'intérieur d'étendues géographiques différentes. Cette dernière partie est précédée d'une sorte de lexique des termes que nous emploierons afin d'éviter toute ambiguïté due à la méconnaissance des phénomènes sexuels.

Cet ensemble de travaux prépare les études ultérieures suivantes:

- . utilisation de la reproduction sexuée à des fins d'amélioration. Création de nouveaux types. Analyse génétique détaillée.
- . étude des liens phylogénétiques des diverses formes d'adaptation de l'espèce Panicum maximum.

Le programme se termine par le bilan des heures de main d'oeuvre et des surfaces nécessaires.

I - COLLECTION -

La collection s'établit à l'aide des prospections réalisées en RCI, d'une part, et grâce aux envois réalisés par diverses stations étrangères à la Côte d'Ivoire, d'autre part. (Voir en annexe la liste des stations où les demandes ont été effectuées.)

Elle comporte actuellement deux types de numéros:

Les numéros allant de I à 5I qui représentent les prospections réalisées en RCI au cours de l'année 1964

Les numéros particuliers suivants:

I63.I64.I65a.I65b.I69.I74a.I74b.267.268a et 268b (issu de graines) 280.304.309a.309b.353a.353b.354a.354b.

qui renvoient aux numéros de la collection générale des plantes introduites sur la station. Ces derniers numéros correspondent à des parcelles dont on ne sait pas exactement comment elles ont été constituées, si elles représentent un clône proprement dit (c'est à dire si tous les plants qui composent ces parcelles sont réalisés à partir d'éclats de souche issus d'un pied unique) ou si elles réunissent les descendances végétatives d'éléments issus de plusieurs pieds d'une même origine. Les indices a ou b accompagnant certains de ces numéros indiquent que ces parcelles originales qui apparaissaient visiblement hétérogènes ont été partagées par nos soins en deux numéros correspondant chacun aux éclats de souches issus d'un seul plant, chaque plant étant apparemment bien représentatif des types qui constituaient cette hétérogénéité.

Une tâche fondamentale est l'analyse, la numérotation logique, et l'augmentation considérable de cette collection, afin de faire apparaître largement la variabilité de l'espèce *Panicum maximum*.

Cette collection sera constituée de:

1° les clones bien analysés, correspondant à des types d'origine géographique bien distincte ou de caractères propres leur donnant titre de variétés. Cette collection sera une collection de référence et une source de matériel pur.

2° les clones introduits récemment à l'aide de prospections ou d'envois extérieurs, qui sont observés et analysés pour en vérifier l'intérêt ou l'originalité, avant de les introduire dans la collection de référence.

3° les clones issus des divers plants prospectés en RCI, très abondants, géographiquement peu distincts, et qui servent de matériel de base pour les études de variabilité des deux types ivoiriens.

4° des espèces du genre *Panicum*, ayant 36 chromosomes, pouvant servir de référence ou de témoin pour repérer les différents types de *Panicum maximum*.

Ce sont:

P. dregeanum

P. antidotale

P. coloratum

Chaque numéro de la collection de référence et de la collection 3° correspondra à des éclats de souche issus d'un seul pied, et sera donc réellement un clone.

Origine géographique des clones de la collection

- I - Tiassalé (bord du Bandama)
- 2 - ranch de Toumodi
- 3 - croisement rte Abengourou-rte Akoupé (sur rte Akoupé)
- 4 - bac Maraoué (rte Béoumi-Ségéla)
- 5 - bord de la Lobo (rte Man-Daloa)

- 6 - entre Daloa et Gonaté
- 7 - entre Seïzra et Dabouzra
- 8 - peu avant Bouaflé (venant de Daloa)
- 9 - peu après Yamousoukro (allant vers Abidjan)
- I0 - Peu avant Toumodi (allant vers Abidjan)
- II - prés plantation Bafecao
- I2 - peu avant N'Zi Nuaa (allant vers Abidjan)
- I3 - bord du N'Zi (côté N'Zi Nuaa)
- I4 - peu après N'Zi (allant vers Abidjan)
- I5 - Binao
- I6 - Maféré (un peu avant en venant de la Bia)
- I7 - Ono (SALCI) au Nord de la plantation
- I8 - Bongo
- I9 - Alépé, bord Comoé côté Bongo
- 20 - Akroaba
- 2I - Ebliasso (rte Ayamé-Abengourou)
- 22 - bord de la Bia (Sud Aboisso)
- 23 - Amansué (rte Aboisso-Maféré)
- 24 - avant Maféré (même endroit que le I6)
- 25 - Sud de Maféré (sur rte Frambo)
- 26 - Asouba (rte Aboisso-Bassam)
- 27 - Abrobakro (rte Aboisso-Bassam)
- 28 - Azaguié
- 29 - Bolo (rte Lakota à Sassandra)
- 30 - Bolo bis
- 3I - Lobakouya
- 32 - rte Monogaga
- 33 - rapides Gra sur le San Pedro
- 34 - plantation Drewin
- 35 - prés terrain aviation Sassandra
- 36 - Batelebré
- 37 - rte entre Drewin et Pauli-plage
- 38 - intersection rte Sassandra-Gagnoa et rte forestière (crêtes,
San pedro, Monogaga)

- 39 - ancien bac sur le Sassandra (rive gauche)
- 40 - rte du point 39 à Niani
- 41 - Niani
- 42 - pont sur le Sassandra
- 43 - Dakpadou (prés du Davo)
- 44 - Baléko (rte Sassandra-Gagnoa)
- 45 - Guéyo
- 46 - Bodouyo (rte Soubré-Guéyo)
- 47 - Gagnoa (entre aéroport et Gagnoa)
- 48 - tournant IFAC-Godoumé
- 49 - rte Néki-Akoupé pépi ière SODEPALM
- 50 - idem
- 51 - rte Dabou-Abidjan, I^{ère} descente (avant I^{er} pont) venant
rte Néki.

Note

Ces 51 numéros sont constitués de deux types:

Le type I ou Adiopodoumé (n° I2.35.48.50.51) analogue
au numéro 267

Le type II, tous les autres numéros, analogue aux numéros
I63.I64.I65.I69.I74.

Origine géographique des autres numéros

- | | | |
|-------------------------------------|---|-----------------------|
| I63 - Tiassalé | } | Côte d'Ivoire Type II |
| I64 - Sassandra | | |
| I65 - Bingerville | | |
| I69 - Agboville | | |
| I74 - Daloa | | |
| 267 - Adiopodoumé | | |
| 268 - Sotuba (Mali) | | |
| 280 - Nanyuki (Congo Léo) Gandajika | | |
| 304 - Congo Léo-Gandajika | | |
| 309 - Congo Léo Gandajika | | |
| 353 - Ganave Togo | | |
| 353 - Ganave Togo | | |

Clé de séparation des types de *Panicum maximum*

Cette clé est largement inspirée de celle de Warmke à Porto-Rico par laquelle il sépare les types: "Fine leaf", "Broad leaf", "Borinquen", "Gramalote". Faute de connaître précisément ces types, nous n'utiliserons pas ces appellations bien qu'il puisse y avoir une très nette homologie avec la classification que nous utiliserons. Cette classification n'utilise que peu de caractères, mais de nombreuses caractéristiques quantitatives et qualitatives la recouvrent.

1° Fleur supérieure de chaque épillet parfaitement formée

fleur inférieure stérile sans étamines ni pistil

(Borinquen)

. épillets non poilus

-port dressé, tige fine, couleur inflorescence vert franc,

type 304-309 type III

-port étalé, tige grosse, couleur inflorescence vert-jaune,

type 268 "Sotuba" type IV

. épillets poilus

type 280 type V

2° Fleur supérieure de chaque épillet parfaite

présence d'étamines sur la fleur inférieure

. épillets glabres

-face inférieure des feuilles pileuse,
le dessous de la nervure centrale peut
être poilu, insertion des ramifications
d'inflorescence glabre ou presque

type II "Broad leaf"

-face inférieure des feuilles glabre,
insertion des ramifications d'inflorescence poilue

-a- soies à la base des épillets

type 353-354, type VI
"Gramalote"

-b- épillets sans soie

type I "Common Guinea"

. épillets poilus

ce type, reconnu à Porto Rico, n'est pas encore
dans notre collection "Fine leaf"

Il semble que le type V (280) ne soit pas connu à Porto Rico.

Repérage des caractères intéressants

Pilosité des limbes

L'observation visuelle et le toucher vont de pair pour déterminer la pilosité des limbes, caractère qui doit être étudié sur plusieurs feuilles de chaque pied, car il varie avec l'âge du plant l'âge de la feuille, et sa position.

Pilosité des épillets



pileux



non pileux

Soies à la base des épillets



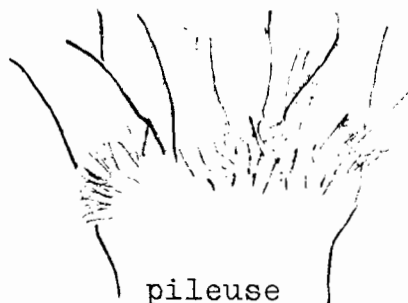
avec soie



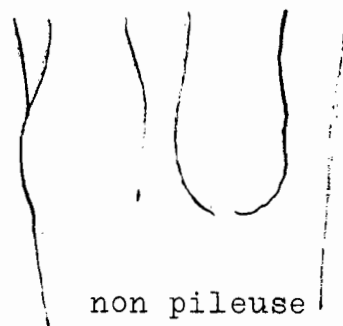
sans soie

en général (1 ou 2)

Pilosité de l'insertion des inflorescences



pileuse



non pileuse

Port



faible diamètre des
plants coupés
port dressé



large diamètre des plants
coupés
port étalé (type Pennisetum)

Réalisation pratique de la collection

Pour éviter les contaminations à partir de graines de clones voisins, l'ensemble de la collection de P. maximum étant constitué de parcelles voisines, celles-ci doivent être régulièrement fauchées avant que les inflorescences n'arrivent à maturation. Ces parcelles ont pour rôle essentiel d'être une source permanente de matériel pur d'un clone bien déterminé.

La vérification du maintien de la pureté de ces parcelles s'effectuera à l'aide d'observations complètes d'un échantillonnage de boutures mis à l'étude sur des parcelles éloignées de cette collection.

Afin de pouvoir toujours avoir une référence vivante, une collection limitée aux 6 types séparés par la clé précédente sera régulièrement entretenue, détruite et rétablie à partir d'éclats de souche des parcelles de la collection de matériel pur. Ces 6 types de référence seront également éloignés de la collection de matériel pur.

Toute nouvelle introduction sera, après les premières reprises, éclatée en deux parties:

- une partie constituant une parcelle de la collection fauchée de matériel pur,
- une partie mise en observation et étude de comportement

dans les zones où se trouvent les parcelles supportant la contamination.

Toute utilisation de clône pour la réalisation d'essais se fera en prenant quelques éclats de souche (dans les parcelles de matériel pur) que l'on mettra en multiplication ultérieure jusqu'à obtention de matériel en quantité suffisante pour l'essai.

+ L'entretien de la collection de matériel pur permettra d'établir le calendrier d'utilisation de boutures, c'est à dire les temps nécessaires pour obtenir un nombre moyen de n éclats de souche à partir des éclats de souche issus de la collection de matériel pur.

+ Il est important de ne pas faire revenir les fauches trop fréquemment, et de faucher les parcelles séparément pour éviter d'éventuels bouturages d'une parcelle à l'autre.

+ Les parcelles de la collection de matériel pur ont la dimension 2m x 4m.

+ Surface nécessaire aux diverses parcelles de la collection: 4500 m².

II-INDICATIONS SUR L'AUTOECOLOGIE DE PANICUM MAXIMUM EN COTE D'IVOIRE -

Les prospections ont révélé la présence de Panicum maximum dans la zone de Basse-Côte au Sud de la latitude de Bouaké. On trouve les types I et II, le type II plus abondamment que le type I, sans qu'il soit possible d'indiquer une région préférentielle d'un type par rapport à l'autre. Dans certains endroits, les deux types sont mélangés. Panicum maximum semble particulièrement aimer les sols légers.

L'aspect des populations de P. maximum est variable. On distingue:

. quelques rares pieds isolés sur le bord de vieilles routes ou au voisinage d'un village,

. occupation du terrain sous forme de bandes continues au bord

des routes entretenues, ouvertes de puis plus de trois ans.

(ceci dans les régions les plus méridionales de la Côte d'Ivoire)

.îlots espacés les uns des autres, situés au niveau des bas-fonds humides, au bord des routes entretenues, ouvertes depuis plus de trois ans. (dans les régions moins humides de Côte d'Ivoire)

.îlots séparés le long de petits fleuves côtiers. Un bel exemple de ces populations existe le long du San Pedro.

.colonies étendues sur deux dimensions couvrant des surfaces de l'ordre d'un ha ou plus. Plusieurs exemples intéressants de ce genre de population ont été observés dans les régions de Sassandra, N'Douci et Dabou.

Il est à noter que, contrairement à ce qui est souvent dit, P.maximum n'est pas, en Basse Côte, une plante pionnière s'installant très tôt sur défriches. Au contraire, ce serait une des dernières plantes à s'installer sur défriches entretenues.

La localisation observée de P.maximum peut s'interpréter à l'aide de ses caractéristiques:

.exigence d'un bon ensoleillement

.bonne résistance à la fauche (qui peut être en partie due à la haute teneur en sucres très énergétiques, comme le saccharose, que l'on observe dans ses racines)

.bonne résistance à des périodes de sécheresse, même un peu longue, dans les zones de pluviométrie supérieure à 1000mm. Cette bonne résistance à la sécheresse peut être due à la grande pénétration des racines de P.maximum que l'on observe dans les sols légers.

En effet, sur les routes entretenues ou les défriches, malgré sa lenteur, P.maximum finira par s'installer grâce à l'avantage sélectif que lui confère sa résistance à la fauche. Sur les vieilles

routes abandonnées, P.maximum disparaîtra puisqu'il ne sera plus favorisé par la fauche. Aux bords des marigots (qui sont souvent à sec) et des fleuves côtiers où le niveau d'eau est très variable, c'est la résistance à la sécheresse qui confère l'avantage sélectif à P.maximum.

La présence de P.maximum aux alentours des villages peut être due à l'utilisation qui en est parfois faite pour couvrir les toits des cases.

Voir en annexe la carte des récoltes de P.maximum en Basse Côte.

Formes de pénétration de Panicum maximum dans les zones défrichées

Panicum maximum possède deux modes d'expansion:

- .un mode de propagation à courte distance, très efficace: le stolonage ou marcottage ou bouturage. Multiplication sûrement clonale.
- .un mode de propagation à plus longue distance, sous forme de graines. Ces graines semblent rarement issues de fécondation, elles souffrent de l'humidité qui les empêche souvent d'arriver à maturité, par action directe ou^{en} favorisant l'action de divers agents phytopathologiques. Parmi ces graines dont un faible pourcentage est viable, il semble qu'il y en ait 3% issues de reproduction sexuée, le reste étant apomictique.

Une tâche importante de ce programme est de préciser et d'enrichir ces indications autoécologiques par l'étude d'évolution sur place de populations isolées de Panicum maximum afin de permettre l'élaboration d'un modèle du comportement évolutif de Panicum maximum.

III-ETUDES DE LA REPRODUCTION PAR "GRAINES" DE PANICUM MAXIMUM -

Problème

On cherche à déterminer si, parmi les graines que l'on peut récolter sur des inflorescences de P.maximum, certaines sont issues de reproduction sexuée.

Méthodes

On peut utiliser deux types d'analyse:

- I° étudier les graines et la descendance de ces graines, et examiner s'il apparait des individus qui ne sont pas en complète homogénéité avec les autres. Il se pourrait que ces individus soient des éléments issus de reproduction sexuée, parmi des éléments tous apomictiques.
- 2° étudier cytologiquement la formation des sacs embryonnaires afin d'observer les mécanismes apomictiques et les mécanismes pouvant conduire à une reproduction sexuée normale.

Indications d'origine bibliographique

Des études analogues ont déjà été réalisées par Warmke à Porto Rico. Celui-ci indique les trois possibilités suivantes pour l'avenir de l'ovule:

- I° survie et développement d'une mégaspore occasionnelle en un sac embryonnaire réduit,
- 2° après dégénérescence de toutes les cellules sporogènes, avortement de l'ovule et stérilité,
- 3° aposporie avec certaines cellules nucellaires non réduites qui, en grandissant, prennent le rôle de la mégaspore dans la formation du sac embryonnaire.

Il conclut que l'existence d'une reproduction sexuelle vraie est indiquée par la découverte de sacs embryonnaires réduits et l'apparition d'un petit pourcentage de plantes exceptionnelles dans les essais de descendance. Il indique également que la pollinisation a lieu et est nécessaire pour la production de semence (il vérifie ce point en effectuant des castrations par élimination des anthères et en supprimant les stigmates; il indique que ces opérations ne peuvent en elles-mêmes être cause de la stérilité, celle-ci étant due à l'absence de pollinisation). Il semble que l'oeuf soit stimulé ainsi pour se diviser parthénogénétiquement après plusieurs divisions de l'endosperme.

Selon Warmke encore, la viabilité faible des graines (4,5 à 50% de graines viables observées à Porto Rico) serait due à la dégénérescence des 4 mégaspoires réduites et à la rencontre de plus d'un sac embryonnaire dans un ovule individuel.

Les observations polliniques que nous avons réalisées montrent qu'il y a 25 à 50% de grains de pollen viables. Il n'y a pas de décallage entre l'anthèse et l'apparition des stigmates récepteurs.

Hypothèses relatives aux diverses formes de descendance issues de "graines"

Un clône peut être, soit très hétérozygote, soit très homozygote suivant l'origine de la graine dont il est issu depuis plus ou moins longtemps.

a- Supposons le clône sur lequel on récolte les graines hautement hétérozygote, et analysons la constitution génétique possible de sa descendance issue de graines.

Trois cas peuvent se produire:

1° il y a apomixie stricte, par aposporie, la graine vient d'une cellule nucellaire non réduite. On retrouve une descendance clonale identique au clône de départ.

2° il y a apomixie gamétophytique par diplosporie.
Une mégaspore réduite peut subir un doublement déclanché par une pollinisation n'ayant cependant pas conduit à fécondation. La descendance est alors hautement homozygote de génotype différent du génotype de départ.

3° il y a fécondation et reproduction sexuée normale.
-I- ou bien il y a eu autofécondation, et, en moyenne, la descendance est moitié moins hétérozygote que le clône de départ,
-II- ou bien il y a eu allopollinisation, et donc fécondation croisée, par un clône choisi très différent, et la descendance doit être une mosaïque de caractères des deux clônes et de caractères propres dus à certaines combinaisons hétérotiques.

b- Supposons le clône de départ hautement homozygote:

- 1° on retrouve toujours une descendance clônale identique au clône de départ,
- 2° le génotype de la descendance, dans ce cas, ne doit guère différer du génotype du clône de départ,
- 3° -I- l'autofécondation ne fait pas apparaître de types nouveaux,
-II- la fécondation croisée seule fera apparaître des types nouveaux.

L'énoncé de ces hypothèses et leur vérification suggère un protocole d'essai de formulation simple:

analyser la descendance issue de graines de clônes mis en condition d'autofécondation possible et la descendance issue de graines où l'allopollinisation par clône convenablement choisi a été imposée.

Analyses préparatoires à cet essai

C'est bien entendu l'étude des moyens tendant à favoriser la fécondation croisée qui est la moins aisée.

Deux points doivent être étudiés:

a- techniques de castration mâle

On essaiera:

- 1° castration par élimination des anthères, à la pince, dès le début de l'anthèse,
- 2° castration grossière par trempage de quelques minutes de la panicule dans l'eau chaude.

Dans les deux cas, on vérifiera que la technique utilisée n'empêche pas la formation de graines (apomictiques ou non); on laissera des inflorescences voisines intactes, ce qui conservera une pollinisation stimulant le dével. oppement du sac embryonnaire.

La première castration, manuelle, longue si elle est bien faite, dans des conditions d'isolement suffisantes, permettra d'obtenir, en cas de fécondation, la seule fécondation croisée désirée par ensachage de la panicule castrée porteuse des graines à analyser avec une panicule pollinisatrice du clône choisi comme mâle.

La deuxième castration, grossière, n'aurait pour but que de favoriser une fécondation croisée sans l'imposer, s'il y a fécondation, comme seule possible. Cette méthode sera accompagnée également d'un processus de pollinisation en plein champ plus grossier, les porteurs de panicules castrés à l'eau chaude étant entourés de panicules pollinisateurs du clône mâle.

b- études des précocités relatives des clônes

Ces études permettront de préparer un semis (par "graines" ou par éclats de souche) décalé qui permette la coïncidence des floraisons des clônes à croiser.

Détermination du nombre de graines à récolter

Selon Warmke, à Porto Rico, on trouve environ 3% de graines, parmi les graines viables, qui sont issues de fécondation. Compte tenu de la viabilité moyenne de 30% (après repos de plusieurs mois des graines récoltées), un peu moins de 1% des graines récoltées conduiront à une descendance issue de fécondation.

Pour avoir une probabilité de 95% d'observer au moins une graine issue de fécondation, il faut récolter environ 350 graines et les semer toutes.

Il faudra récolter environ 500 graines pour chaque type de croisement étudié. On doit pouvoir obtenir ces 500 graines à partir de 20 inflorescences.

Le triage manuel de 500 graines et leur mise en boîte de Pétri pour les traiter contre diverses moisissures représente un travail de trois jours complets pour un aide consciencieux.

S'il s'avèrait profitable, pour augmenter la viabilité des graines, de les décortiquer de leurs glumelles, il faudrait compter une semaine pour la préparation de ces 500 graines.

Protocole d'expérimentation pour les essais de descendance

Etudes préparatoires

- .1° analyse de la faculté germinative comparée des graines débarrassées de leurs glumelles, et des graines avec leurs glumelles;
analyse de la germination de 100 graines de chaque type pour les deux clones suivants: 309 et I64
- .2° faculté germinative comparée de 100 graines conservées plusieurs mois en chambre sèche, et de 100 graines mises à germer juste après la récolte. Essai sur les deux clones 309 et I64.
- .3° étude de l'effet de castration d'anthères, à la main, sur une panicule laissé à la libre pollinisation extérieure des panicules environnants.

castrer chaque jour aux heures d'anthèse, à partir de la première anthèse, 5 panicules pour deux clones, par exemple 309 et I64.

L'étude des heures d'anthèses des divers types sera faite systématiquement à partir de la collection.

Les panicules castrées seront séparées à l'aide de marques faites à la peinture.

On récoltera toutes les graines formées, et on étudiera leur faculté germinative sous leur forme déglumellisée ou sous leur forme enveloppée (le choix étant déterminé par les résultats du 1°) et après un temps de repos en chambre sèche déterminé par l'essai 2°.

.4° étude de l'action de l'eau chaude sur les panicules,

.trempage de 5 panicules dans une eau de 60°C
tous les matins, un peu avant le début de
l'anthèse, durant: 1mn

3mn

5mn

.même opération avec une eau de 80°C.

.5° relevé des dates de floraison des clones en collection.

Etude de la descendance de panicules ensachées

Pour un clone de chacun des types de la classification, par exemple:

309 .268 .280 .I64 .354 .267 .

ensachage de 20 panicules par clone. Renouvellement quotidien des sacs en papier sulfurisé jusqu'à maturation de la panicule ou apparition d'un nombre de graines suffisant.

Prévoir: $20 \times 15 \times 6 = 1800$ sacs

Terminer la maturation des panicules en chambre sèche.

Récolter les graines des panicules, pour chaque clone, les mettre en boîte de Pétri, puis les traiter avec un antifongique.

Prévoir un jeu de 150 boîtes de Pétri.

Semis en terre légère, stérilisée, sous serre d'au plus 4000 graines. Prévoir une surface de 10m^2 de la serre pour ces 4000 graines. Au stade de 2 ou 3 feuilles, ou même avant, transplanter les plantules dans des blocs de terre pressés hexagonaux, puis ultérieurement en plein champ, avec un espacement de 80cm sur des parcelles les plus homogènes possibles, de surfaces de 240m^2 . Les hétérogénéités des plants issus de graines seront confirmées sur des éclats de souche dans un essai comparatif ultérieur.

Prévoir pour cet essai une surface de terre disponible très entretenue et fumée de 2000m^2 .

Des observations régulières et fréquentes devront être réalisées. On repèrera très soigneusement les pieds qui semblent différents.

Etude de descendance pouvant être issue de fécondation croisée

Une analyse analogue sera effectuée pour des plants pouvant s'allopolliniser lorsque seront mises au point les techniques de castration et l'étude des dates de floraison.

Il semble plus économique de faire cette étude quantitative avant d'analyser les variabilités des boutures et plantules puisqu'il est possible que les éléments issus de reproduction sexuée apparaissent directement par des caractères très visibles.

Analyses cytologiques

I° Il convient essentiellement d'étudier la formation des méga-

spores et des sacs embryonnaires. Fixation des inflorescences au stade désiré (le même que pour étudier la formation des grains de pollen);

pour les stades qui précèdent l'anthèse

enlever les glumes

enlever avec de fins ciseaux le 1/3 distal des lemma et paléa des fleurs fertiles pour permettre une pénétration rapide du liquide de fixation dans l'ovaire.

pour les stades après l'anthèse, fleurs tuées comme précédemment, retirer complètement la lemma et la paléa de l'ovaire sous la loupe binoculaire.

Ces ~~structures~~ partent facilement du fait de leur induration chez P. maximum; les coupes seront plus faciles à réaliser quand elles seront éliminées.

Liquide utilisé: alcool acétique formaline (70% d'alcool)

Fleurs enrobées dans de la parafine en utilisant la méthode alcool butyl normal.

Coupes d'épaisseur 15 μ , colorées à l'hématoxyline ferrique et en vert lumière ~~sa~~franine. Le premier colorant était supérieur dans la plupart des stades et en particulier ceux qui invoquent la fécondation.

Tous les stades jusqu'au développement des sacs embryonnaires devront être observés.

2° Analyse chromosomique et étude des accidents méiotiques au cours de la formation des grains de pollen (méthode par écrasement). Conjointement, étude des caryotypes et de la forme des chromosomes sur des mitoses.

IV-ANALYSES STATISTIQUES DE LA VARIABILITE DE PANICUM MAXIMUM -

Préparation à: Etude biométrique de la différenciation d'écotypes sous l'effet de la sélection naturelle.

Définitions

Afin d'éviter toute ambiguïté dans la définition du matériel utilisé dans les essais, nous donnons ici la signification des termes employés.

Type (I,II,III,IV,V,VI)

L'expression type renvoie à la classification botanique des variétés de P.maximum donnée dans la partie "collection" de ce programme.

En Basse Côte d'Ivoire, on rencontre essentiellement les types I et II. Le type I est appelé aussi "Adiopodoumé".

Ecotype

Le terme écotype caractérisera, après analyse biométrique, les différentes formes d'un même type ayant évoluées dans des milieux différents.

Ainsi, on trouve le type II dans la région de Béoumi (latitude légèrement plus nordique que Bouaké), dans la région de Sassandra, dans la zone de savanne de Dabou. Il est possible que l'analyse biométrique fasse apparaître pour le type II les trois écotypes: Béoumi, Sassandra, Dabou; d'autres, bien entendu, sont possibles (ainsi San Pedro), cette énumération n'a ici que valeur d'exemple.

De même, le type I (Adiopodoumé) a été rencontré à Sassandra, à N'Zi Noua,; il conviendra de voir s'il s'en est développé des écotypes distincts.

Population

Nous réservons le terme de population pour caractériser la forme physique d'occupation du terrain. On a ainsi:

les populations isolées en îlots autour de points d'eau ou de villages,

les populations linéaires continues de bords de route ou de cours d'eau

les populations étendues à deux dimensions sous forme de petites savannes fermées,

Une population peut être composée d'un seul type de P. maximum ou de plusieurs types.

Parcelles de tel ou tel type ou de tel numéro

Le terme de parcelle renvoie à la numérotation de la collection de référence. Une parcelle ne correspond pas forcément à un clône, car, bien qu'elle ait été établie à partir d'éclats de souche issus d'un seul plant, il est possible que des graines issues de ses inflorescences aient donné des plants qui suivant l'apomixie ou la reproduction sexuée seront ou non du même clône.

Clône

Le terme de clône sera réservé à l'ensemble des plants obtenus par bouturage successif contrôlé d'éclats de souche originaires d'un seul plant.

Ainsi, la collection est constituée de parcelles, non de clônes.

Plantule

Le terme de plantule désigne un très jeune plant issu d'une graine.

Bouture

La bouture est le jeune plant issu d'un repiquage d'un éclat de souche.

Graine

Le terme de graine désigne l'élément de dissémination réalisé par transformation de l'ovaire. Cette graine peut être:

- 1° issue d'un mécanisme de reproduction sexuée,
- 2° issue d'une parthénogénèse résultant d'un doublement chromosomique après réduction chromatique ayant abouti à la formation d'une mégaspore,
- 3° issue de l'évolution d'une cellule somatique, sans réduction, et donc rigoureusement apomictique.

Si l'inflorescence où l'on recueille la graine a été laissée à la libre pollinisation, cette graine sera désignée L.P.; si l'inflo-

rescence a été ensachée et mise ainsi à l'abri de toute pollinisation autre que son propre pollen, cette graine sera désignée A.F.; si la graine est issue d'une inflorescence préalablement castrée ayant été pollinisée par un autre clône, on appellera cette graine F.C.

Dire d'une graine qu'elle est L.P., A.F., ou F.C. ne préjuge en rien de son caractère apomictique ou issu d'un mécanisme sexué. En général, cette graine est apomictique. Cette distinction n'est réellement utile que lorsqu'on étudie une ensemble nombreux de telles graines, car il est alors possible que parmi elles, certaines soient réellement issues d'une libre pollinisation, d'autofécondation ou de fécondation croisée.

Pied

On appellera pied l'ensemble de talles issus naturellement d'une seule bouture ou d'une seule plantule.

Nota

Ces termes ne recouvrent pas toujours les expressions usuelles des botanistes et des écologistes; faute de pouvoir encore caractériser nettement les populations observées dans la nature par leur composition génétique, nous préférons utiliser ces définitions d'usage personnel. Ainsi le terme d'écotype ne préjuge en rien des aptitudes au croisement de deux "écotypes" entre eux. Le terme de population ne renvoie pas seulement au groupe constitué par une seule espèce dans un habitat donné, mais également à sa "niche". Le terme général de parthénogénèse ou d'apomixie ne pourra être qualifié de façon précise qu'une fois obtenus les résultats des investigations cytologiques et des essais de descendance.

Position du problème

Les populations plus ou moins isolées que l'on rencontre en Basse Côte d'Ivoire diffèrent-elles par leur constitution génétique ?

Chaque population constitue-t-elle le résultat de la sélection

naturelle imposée par un milieu particulier ?

Existe-t-il une diversité génétique entre ces populations d'un même type ?

Dans le cadre des hypothèses générales émises dans la partie II on se propose donc d'établir si, en Basse Côte d'Ivoire, les types I et II sont représentés respectivement par un seul clône ayant subi une dissémination considérable ou si chacun des types est constitué de plusieurs écotypes génétiquement différents, dont chacun serait une forme de réponse adaptative à un milieu particulier.

Complémentairement on cherchera s'il existe des écotypes intermédiaires faisant le pont entre le type I et le type II. On étudiera également comment évolue une population artificielle constituée d'un mélange égal des deux types et soumise à un entretien régulier favorisant l'espèce P.maximum, mais non, à priori, un type plus que l'autre.

Principes génétiques de l'étude biométrique et statistique

Les études statistiques ont pour but d'extraire la variabilité génétique de l'ensemble de la variabilité de P.maximum en Côte d'Ivoire. Les études biométriques sont destinées à étudier la constellation des types et écotypes de P.maximum, mis dans des conditions d'environnement identique, afin d'en établir les liens phylogénétiques. Les deux problèmes ne sont pas indépendants car l'existence d'une variabilité génétique à l'intérieur de chacun des types de Côte d'Ivoire peut aider à analyser les relations phylogénétiques de ces types.

L'étude des constellations ne deviendra réellement intéressante que lorsque la collection qui est en cours de réalisation représentera bien l'ensemble des types possibles de P.maximum. C'est donc l'analyse de la variabilité génétique qui nous intéressera au premier chef.

Echantillonnage de la variabilité

I° variabilité à l'intérieur d'un clône.

Cette variabilité reflète uniquement l'effet de l'envi-

ronnement. Deux clônes soumis aux mêmes conditions d'environnement n'auront cependant pas forcément la même variabilité; le clône dont le génotype présente la plus grande homéostasie génétique aura la plus petite variance.

2° variabilité entre pieds différents originaires d'une même petite région.

Par l'introduction de pieds différents, on peut réaliser un ensemble qui ne soit plus clonal, mais doté d'une certaine variabilité génétique.

Si l'on utilise plusieurs éclats de souche à partir de chaque pied, on pourra observer, s'il y a effectivement des différences génétiques:

- une variance des moyennes par pieds supérieure à la variance des moyennes d'un même nombre de boutures constituées à partir d'un clône de la même petite région.
- des variances, entre les boutures issues d'un même pied, différentes d'un pied à l'autre. Autrement dit, une variance des variances (ou d'une fonction normalisante des variances) plus grande entre les pieds qu'entre les clônes.
- des corrélations entre caractères, stables pour les boutures d'un même pied, variables entre les pieds, stables dans le clône. Là encore, il conviendra d'utiliser une transformation normalisante des coefficients de corrélation, (Arg th par exemple).

3° variabilité entre pieds d'un même type originaires de différentes régions.

Les différences génétiques se manifesteront de la même façon qualitative mais plus intensément.

Les variables qualitatives seront des indicateurs de génotypes.

Réalisations pratiques

1° problème du choix des boutures

L'implantation d'éclats de souche appartenant à un même clône ne conduit pas au départ à un ensemble très homogène:

- 1° la préparation et la mise en terre d'un grand nombre d'éclats de souche ne peut être simultanée. Les différences d'horaire de mise en place (par suite de dessèchements...) conduisent à de grandes différences dans la vitesse et la qualité de la reprise.
- 2° les éclats de souche doivent être au départ les plus homogènes possibles et correspondre à des talles du même stade de croissance. Il semble qu'un éclat de souche issu d'une talle qui n'est pas encore arrivé à la montaison conduise tout de suite à la réalisation d'une petite inflorescence grêle alors qu'un éclat de souche issu d'une talle ayant fleuri donne d'abord beaucoup de feuilles.
- 3° le redémarrage d'un éclat de souche est variable. En particulier, il se fait soit par déroulement d'une feuille qui se dégage de la gaine conservée de l'éclat de souche, soit ~~plutôt~~ par une réelle dédifférenciation conduisant à partir du sommet de l'éclat de souche, ou de sa base, à un jeune plant très analogue à une plantule.

L'implantation de plantules pourrait conduire à un ensemble plus homogène, si l'on est capable d'éliminer directement tout plant qui ne correspond pas au clône mais est issu d'un mode de reproduction avec réduction. Les études de la partie III permettront d'apprécier ces possibilités.

2° problème de l'élimination d'un effet résiduel des éclats de souche.

Utilisation de boutures préparées en deux temps, dans des conditions les plus homogènes possibles.

3° problème des distributions suivies par les variables

Que l'analyse permette à la fois une analyse de variabilité et une étude des distributions (choix du nombre de pieds suffisant).

4° problème du nombre et du choix des variables

- difficultés et temps des mesures
- valeurs biologiques des caractères
- repérage des liaisons des caractères
- nature de la distribution des variables.

L'observation de la collection permettra progressivement de préciser le protocole expérimental sur ce point.

Plans proposés

I variabilité des pieds par rapport au clône

II variabilité d'un type

(analyse de variance à effets aléatoires sur un plan en blocs complets).

Essai I

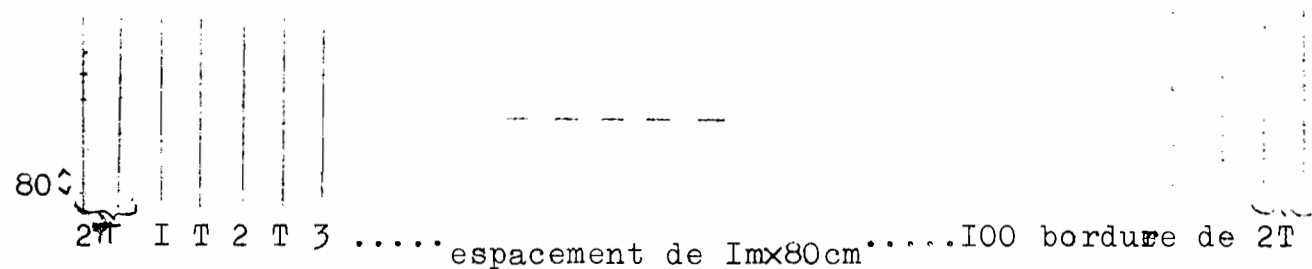
a. récolte de 100 pieds différents dans la région d'Adiopodoumé,

éclatement de chaque pied en 5 ou 6 boutures au moins,
éclatement ultérieur des plants issus de ces boutures,
afin d'obtenir pour chacun des 100 pieds originaux, 20 boutures viables.

b. préparation à partir d'un pied de la parcelle 267 à l'aide d'éclatements successifs de 2000 boutures viables.

c. mise en place sous la forme suivante:

alternance d'une ligne de 10 pieds de 267 (appelé T) et d'une ligne des 100 pieds,



longueur de 210m d'essais deux fois, soit 2000m² environ,
installer sur les blocs des caféiers en fonction des hétérogénéités,
une pancarte par numéro de pied,
tirer au hasard l'ordre des 100 numéros dans la deuxième répétition;
préparation du terrain avec un maximum d'homogénéité,
mettre en place 30 boutures et non pas 20 pour permettre un repiquage,
noter toute hétérogénéité au cours de la croissance de l'ensemble,
prévoir traitements contre tous fléaux.

d. mesure des caractères suivants:

hauteur de la plante ou du plus long talle de chaque pied
nombre de talles à la récolte ou nombre d'éclats de souche
date de floraison, heures d'anthèse
longueur des axes secondaires de la base de l'inflorescence
longueur de l'inflorescence } à partir du dernier noeud
 à partir du premier verticille
longueur des feuilles }
largeur des feuilles } pour une feuille d'un ordre déterminé
poids de matière sèche à la récolte
poids de graines par panicule
largeur de tige mesurée à une hauteur bien déterminée...

Cette liste n'est encore qu'une indication des caractères mesurables, des observations préparatoires en collection montreront les caractères à retenir et en révéleront d'autres.

Essai II

A partir de 15 pieds choisis au hasard parmi les numéros de la collection relatifs au type II, issus des divers points de Basse-Côte, une analyse de variance à effets mixtes sera réalisée afin d'obtenir une estimation de la variabilité génétique du type II en Basse-Côte et de l'héritabilité au sens large.

Les boutures issues des 15 pieds d'origine géographique différente seront analysées dans un essai bloc à huit répétitions.

Chaque parcelle devant comprendre 20 boutures viables,

chaque pied devra être préparé pour conduire à la production de 340 éclats de souche.

Chaque bloc sera établi à l'emplacement des anciennes parcelles de caféiers, terrain consacré maintenant aux essais sur *Panicum*. Les surfaces utilisées auront d'abord été très soigneusement préparées.

Chaque parcelle de bloc aura une surface de $24m^2$. Des bordures ne seront utiles qu'aux extrémités des blocs. Chaque bloc aura la forme d'un rectangle, de $8m \times 50m$, dimension des parcelles de caféier. L'essai couvrira une superficie de $3500m^2$.

Les mêmes caractères que dans l'essai I seront observés. Les distributions étudiées sur l'essai I indiqueront les variables dont les fluctuations sont effectivement normales ou peuvent s'y ramener.

NB

Les protocoles expérimentaux des divers essais seront donnés en annexe.

La réalisation d'une parcelle, hors essais, de $1500m^2$ semée en quantité égale de P.maximum de type I et de type II, mis en mélange aléatoire et assez espacés, régulièrement entretenue, permettra d'évaluer les valeurs compétitives des deux types.

Cette parcelle sera également une zone productrice de graines librement pollinisées par les deux types.

ETUDE DE POPULATIONS NATURELLES DE PANICUM MAXIMUM

Il s'agit d'une étude purement descriptive de la structure et de l'évolution de populations de *Panicum maximum* dans leurs milieux naturels.

I Localisation

- I- entre Adiopodoumé et Dabou
- 2- entre Abidjan et Bingerville
- 3- sur la route d'Anyamo

Les populations choisies ont une structure linéaire en bordure de routes. On étudiera des populations ayant une centaine de pieds.

II Plan très précis de chacune des populations à réaliser par relevé géométrique; faire conjointement un piquetage repère, chaque pied sera numéroté. On indiquera la surface couverte par chaque touffe au niveau du sol.

III

Un passage tous les huit jours sur la localité permettra de dresser une fiche d'observation pour chaque pied, comportant:

- I- la circonférence approximative du pied (voir mesure de la surface définie plus haut)
- 2- le nombre de talles
- 3- le nombre d'inflorescences, classées par stades: par exemple: A-ouverture, B-anthèse, C-inflorescence complètement déga-
gée, D-épillets tombés.

Pour chaque pied nouveau, observer sa provenance (d'une graine ou d'une tige).

Superficies nécessaires prévues

essai I	:	2000m ²	
essai II	:	3500m ²	
étude des descendance	:	2000m ²	
collections	:	4500m ²	
diverses observations	:	1500m ²	
surfaces de préparation des			
descendance	:	4000m ²	
<hr/>			
total	:	17500m ²	+ parcelle hors essais de 1500m ²

Surfaces sous serre nécessaires : 75m²

Calendrier

Fin Mars: travaux de préparation du terrain de 2ha de caféiers
temps de réalisation des boutures: 5 mois

de la bouture au premier éclatement: 2 mois I/2

de la bouture au deuxième éclatement: 2 mois I/2

Début Septembre: mise en place des essais I et II

Fin Décembre: récolte des essais I et II

Etude des descendance.

préparation des 6 clones à ensacher: mise en place début Avril
ensachage à partir de la mi-Mai

récolte des graines des panicules de Juin à Juillet éventuellement
Aout (en fonction de la sécheresse)

conservation des graines en salle climatisée pour favoriser la
germination:

une partie des graines, 2 mois

une partie des graines, 1an.

préparation des plantules des essais de descendance: Septembre-
Octobre

observation des descendance de Octobre à Décembre.