

Compte-Rendu de la Réunion du Groupe  
AMELIORATION DES PLANTES  
à Montpellier le 15 Mars 1989  
sous la présidence de Monsieur DEMARLY et Madame DATTEE

---

*Thème : Amélioration Génétique de l'Hevea*



*Institut de Recherches sur le Caoutchouc*

*Département du Centre de Coopération Internationale  
en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD)  
42, rue Scheffer 75116 Paris (France) - Tél. : (1) 47.04.32.15*

*Télex : 620871 INFRANCA PARIS*

Compte-Rendu de la Réunion du Groupe  
AMELIORATION DES PLANTES  
à Montpellier le 15 Mars 1989  
sous la présidence de Monsieur DEMARLY et Madame DATTEE

---

*Thème : Amélioration Génétique de l' Hevea*

INTERVENTIONS :

- ° Monsieur D. NICOLAS (IRCA-CIRAD)  
"L' amélioration de l' Hevea brasiliensis"
- ° Madame M.-H. CHEVALLIER (IRCA-CIRAD)  
"L' électrophorèse au service de la sélection"
- ° Monsieur M.-P. CARRON (IRCA-CIRAD)  
"Les interventions possibles des cultures in vitro  
dans l'amélioration de l' Hevea"
- ° Monsieur J.-L. JACOB (IRCA-CIRAD)  
"La physiologie de la production".

L'AMELIORATION DE L'HEVEA BRASILIENSIS (D. NICOLAS)

**1. HEVEA - HEVEACULTURE - GENERALITES**

L'hévéa ne prospère qu'en climat équatorial ou tropical humide : température moyenne annuelle de l'ordre de 25°C avec des minima supérieures à 10°C, pluviosité moyenne annuelle minimum de 1 500 mm, s'il y a répartition régulière et sol à bonne capacité de rétention. Dans des conditions d'exploitation optimales - plantations industrielles privées ou gouvernementales, plantations villageoises bénéficiant d'une assistance technique - la production annuelle dépasse 2 000 Kg par an et par ha, soit 5 Kg de caoutchoucs sec par arbre pour 400 arbres ; entre période immature, 5 ans, et d'exploitation, 20 à 25 ans, le nombre d'arbres plantés par ha variera entre 550 et 350 en moyenne, compte tenu des pertes par maladie et casse au vent. Les surfaces plantées sont de 7,5 M ha.

L'hévéa produit un latex, émulsion de caoutchouc dans un sérum aqueux, dont la teneur moyenne en caoutchouc sec est de 33 %, ce latex, instable, doit être traité rapidement après la saignée si l'on veut éviter sa coagulation spontanée.

La répartition de la production mondiale du caoutchouc naturel est donnée dans le tableau ci-dessous. Ce tableau fait ressortir le poids considérable des pays d'Asie du Sud Est, près de 90 % du total, et parmi ceux-ci, de la Malaisie, de l'Indonésie et de la Thaïlande qui, à eux trois, produisent près de 80 % du caoutchouc mondial.

*C/C NATUREL PRODUCTION MONDIALE 4 700 000 t*

<u>ASIE</u>	(x 1000 t)		1987
MALAISIE	1 600	}	3 650
INDONESIE	1 000		
THAÏLANDE	850		
Autres	650	650	13 %
<u>AFRIQUE</u>			
LIBÉRIA	90	}	230
NIGÉRIA	60		
CÔTE D'IVOIRE	55		
CAMEROUN	25		
<u>AMÉRIQUE LATINE</u>			
BRESIL	23	}	28
MEXIQUE	5		
			0,5 %

**REPARTITION DE LA PRODUCTION MONDIALE DE CAOUTCHOUC NATUREL**

Les figures 1 et 2 indiquent de manière schématique comment se répartit la consommation du caoutchouc naturel par applications, d'une part pour le caoutchouc sec, d'autre part pour les produits fabriqués à partir de latex concentré.

La figure 1 fait ressortir le poids considérable du pneumatique, plus des deux tiers mais, d'après les experts de l'IRSG (International Rubber Study Group), la part du caoutchouc naturel dans les applications non pneumatiques est appelée à remonter du fait de son développement dans les utilisations techniques non pneumatiques "engineering" et de l'accroissement de l'industrie de transformation dans les pays producteurs.

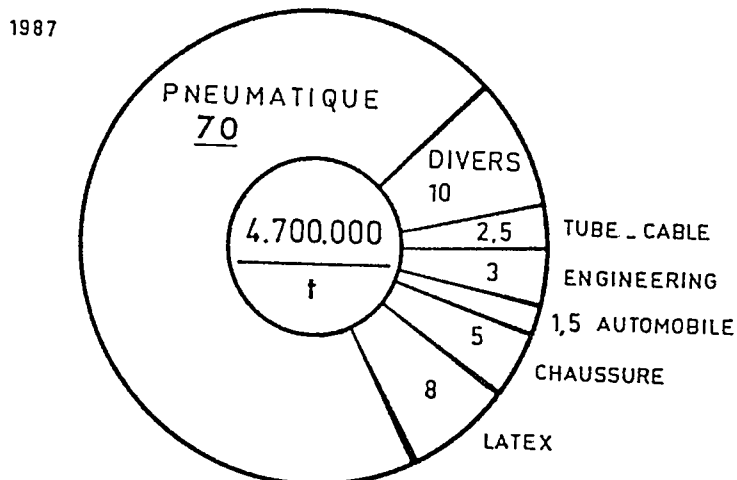


Figure 1 : CONSOMMATION MONDIALE DE C/C NATUREL (%) PAR APPLICATION

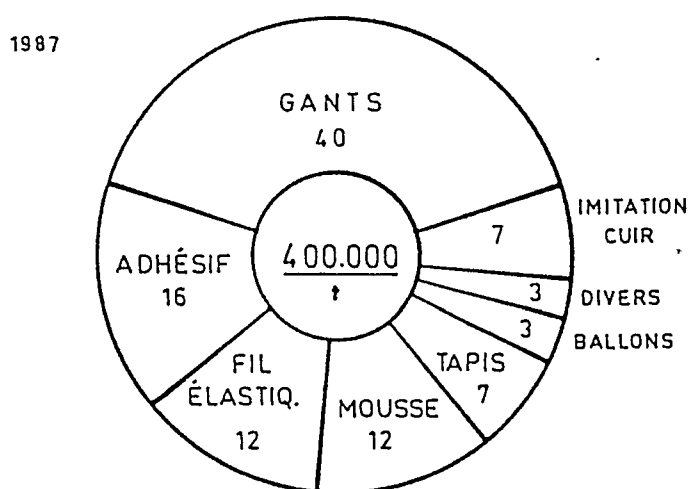


Figure 2 : CONSOMMATION MONDIALE DU C/C NATUREL (%) SOUS FORME DE LATEX ET PAR APPLICATION

La figure 3 représente l'évolution de la production au cours de ce siècle

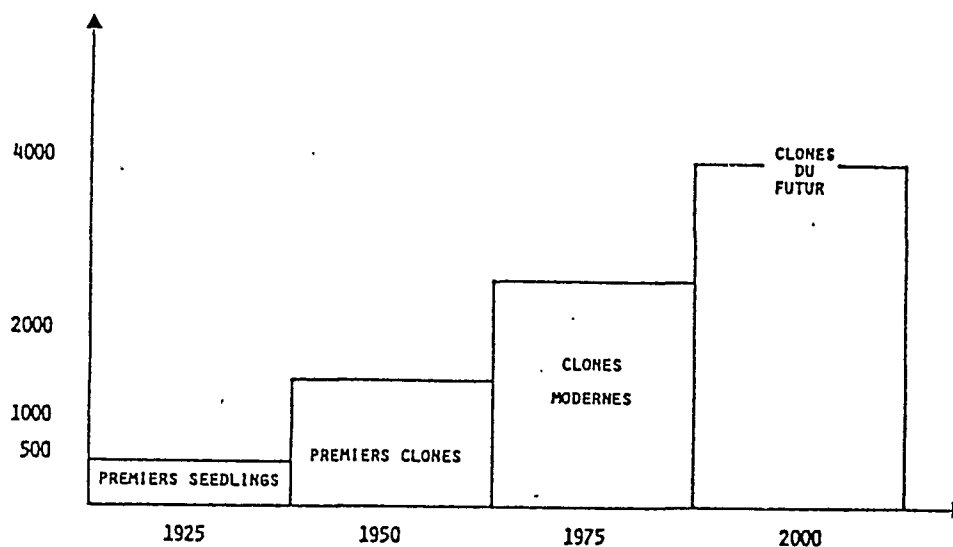


Figure 3 : AMELIORATION DE LA PRODUCTION AU COURS DU 20<sup>ème</sup> SIECLE  
(Kg/ha/an)

Les niveaux de performance de l'hévéa ont été multipliés par 5 depuis les premières plantations réalisées au début du siècle. Si ce bond prodigieux n'avait pas été fait, l'hévéaculture ne connaîtrait pas son développement actuel.

## 2. SELECTION

### 2.1. Les ressources génétiques

Sur 9 espèces d'hévéa, seule l'espèce *brasiliensis* est utilisée. Seulement 22 arbres sont à l'origine de la plupart des plantations établies depuis le début de l'hévéaculture. En effet, ces arbres sont issus d'une collecte de graines réalisée par WICKHAM en 1886 sur les rives du Tapajos, en Amazonie brésilienne. Les graines furent mises à germer dans les serres de Kew Garden et 1920 jeunes semenceaux furent expédiés en Extrême-Orient. Seuls 22 d'entre eux survécurent dont 9 dans le jardin botanique de SINGAPOUR qui est considéré comme à l'origine de la plus grande des hévéas cultivés.

Après 75 ans d'utilisation intense de cette base génétique réduite, le sélectionneur se trouve confronté au problème suivant : comment poursuivre le progrès génétique ?

La réponse réside dans le retour aux sources ; les populations cultivées ne sont pas suffisantes ; il convient de retourner aux populations sauvages. La forêt amazonienne, dont l'hévéa est natif, est immense, elle doit recéler un trésor de variabilité : au chercheur d'aller le rechercher.

C'est ce qui fut fait à plusieurs reprises. Se rendre sur place, localiser des arbres, récolter du matériel végétal et l'expédier en lieux sûrs, telles ont été les tâches de plusieurs missions de prospections dont la plus importante a été mise sur pied par l'IRRDB\*, en 1981.

### 2.2. L'utilisation des nouvelles ressources génétiques

Les premières observations agronomiques de ce nouveau matériel végétal montrent qu'il est très typé par rapport au matériel domestiqué. Une utilisation directe semble très hypothétique et son exploitation passe par l'amélioration génétique qui sera envisagée sous deux aspects :

- \* Une option à moyen terme qui consistera à déceler le plus rapidement possible les meilleurs génotypes pour leur valeur propre et en recombinaison, les croiser par pollinisations contrôlées avec du matériel déjà sélectionné, ceci sur plusieurs générations, avec comme objectif prioritaire la sortie variétale.

\* IRRDB : International Rubber Development Board, organisme regroupant tous les Instituts de Recherche sur le Caoutchouc. -

- \* Une option à plus long terme consistera à créer des jardins de pollinisations ouvertes, constitués chacun d'individus représentant un groupe génétiquement distinct déterminé par électrophorèse (4 origines ont été répertoriées jusqu'à présent) et repérer par une étude des familles illégitimes obtenues sur chacun d'eux les meilleurs géniteurs. Ceux-ci seront réunis dans un jardin grainier. Les descendants qui en seront issus seront sélectionnés ; les meilleurs seront réintroduits dans un nouveau cycle de sélection récurrente, ainsi que dans le programme de croisements contrôlés pour une sortie variétale.

### 2.3. La sélection

La sélection de l'hévéa est originale :

- ° il s'agit d'une plante pérenne à cycle long ;
- ° sa production est issue de tissus spécialisés de l'écorce ;
- ° son exploitation se fait en continue et est étalée sur de nombreuses années.

Les contraintes qui en découlent pour le sélectionneur sont :

- ° l'espace expérimental,
- ° le temps de sélection,
- ° la nécessité de comprendre les mécanismes de production.

De plus, la génétique de l'hevea est mal connue : il s'agirait d'une plante à allogamie préférentielle, mais présentant un certain taux d'autogamie, sans doute d'origine allotétraploïde, bien que se comportant le plus souvent comme un diploïde, et dont les caractères qui intéressent le sélectionneur sont de type quantitatif.

Face à ces contraintes spécifiques, le sélectionneur adapte les méthodes de la génétique moderne pour résoudre les problèmes posés par l'amélioration de cette plante. Cependant, l'intuition du sélectionneur reste un important facteur de réussite.

### 2.4. Les critères de sélection

Ils concernent :

- ° la vigueur, pour la précocité à l'ouverture et la croissance en cours d'exploitation.
- ° la production, dépendant de son niveau mais aussi de la vitesse d'arrivée à ce niveau et de sa stabilité.
- ° la réponse à la stimulation hormonale.
- ° la longévité des plantations dépendant de la résistance à la casse due au vent, aux maladies et au maintien en bon état du panneau de saignée.

## 2.5. Le schéma de sélection

Il est très long : entre 18 et 20 ans, et ceci malgré l'utilisation de critères de sélection précoce, dont l'utilisation a nécessité un long travail de mise au point. Le schéma retenu peut être décrit de la façon suivante :

Après le choix des parents, le croisement des deux géniteurs retenus est réalisé par la méthode de pollinisation artificielle. Rappelons que le taux de réussite de la pollinisation artificielle est faible, de l'ordre de 3 à 5 % selon les clones et les années.

### \* Sélection en pépinière ou Champs d'Evaluation Seedling (CES)

Les seedlings, peu après la germination des graines, sont plantés à densité élevée (1,5 m x 1,5 m). L'effectif se situe aux environs de 2000 individus représentant au mieux une cinquantaine de familles de pleins frères. La sélection s'effectuant à l'âge de 2 ans, les critères retenus portent sur des caractères qui s'expriment très rapidement et que l'on présume retrouver sur l'arbre adulte : maladies de feuilles, croissance, morphologie, potentiel de production. A partir de toutes ces données, la sélection de l'élite de la population est limitée à moins de 100 individus. Ceux-ci sont alors clonés par greffage et plantés en champ de clones à petite échelle.

### \* Sélection en Champ de Clones à Petite Echelle (CCPE)

Dans ce dispositif, les clones, issus de la première sélection en pépinière, sont comparés à 2 témoins. Chaque clone est représenté par 20 individus (disposés en 2 blocs de 10 individus) plantés à densité normale (7 m x 2,8 m).

A 3 ans, ne sont retenus pour être mis en saignée précoce que les clones qui présentent de bonnes caractéristiques morphologiques. Durant cette période, le rendement en caoutchouc est mesuré ainsi qu'un certain nombre de paramètres physiologiques du latex et histologiques. Tous ces paramètres permettent d'appréhender la capacité intrinsèque de production des clones. A la fin de ce deuxième niveau de sélection, 5 à 8 clones sont retenus pour être plantés en champs de clones à grande échelle.

### \* Sélection en Champs Comparatifs de Clones à Grande Echelle (CCGE)

Dans ce type d'expérimentation agronomique, chaque clone est planté sur 1 ha environ et mis dans les conditions normales d'exploitation. Les témoins sont les clones dont la valeur agronomique est universellement reconnue.



Dans la mesure du possible, les essais sont délocalisés afin de tester l'adaptabilité du matériel végétal à différentes conditions d'environnement.

Ces essais sont suivis pendant 15 ans environ pour que soit bien connu le comportement des clones vis-à-vis des adversités locales, et que soient bien situés les divers aspects de leur rendement par rapport aux clones déjà diffusés.

\* Les blocs monoclonaux

Installés sur des plantations industrielles ou villageoises, ils permettront d'approfondir la connaissance de chaque nouveau type pour mieux définir les conditions particulières de sa culture (densité, interaction avec le porte-greffe, système d'exploitation ...).

---

Les grandes orientations de ces prochaines années.

- ° L'utilisation des nouvelles ressources génétiques restera un morceau choisi de l'IRCA pour le futur. L'acquisition permanente de nouvelles connaissances rend encore fluctuante l'adoption de la meilleure stratégie d'Amélioration génétique de cette plante, mais les techniques les plus modernes de biométrie et d'électrophorèse ont largement contribué aux bons choix. On tentera d'aller encore plus loin avec des techniques plus précises (électrophorèse bi-dimensionnelle, RFLP).
- ° Les caractères agronomiquement intéressants sont tous de type quantitatif, ce qui rend le travail du sélectionneur difficile et laborieux compte tenu des autres contraintes rencontrées. La biologie moléculaire représente-t-elle un nouvel outil pour le sélectionneur ? Compte tenu de la somme des connaissances acquises concernant les mécanismes fins de la biosynthèse du caoutchouc, on est en droit de l'espérer. La transformation génétique reste encore un objectif plus lointain, mais non dépourvue d'intérêts et d'espoirs.
- ° Le programme actuel est basé en Côte d'Ivoire. Il devrait trouver son application sur l'ensemble du continent africain par la création d'un vaste réseau de champs de sélection permettant de faire des recommandations de matériel végétal pour chacun des pays hévéicoles de ce continent. Ce réseau est en cours de montage.

- ° Le type de matériel végétal quasiment le seul utilisé est le clone de greffe : le système racinaire est issu de graine, la partie aérienne est clonale. Un vaste champ d'investigation s'ouvre avec la possibilité offerte par la culture *in vitro* de réaliser des arbres entiers clonaux.
- ° Le *Microcyclus ulei*, champignon responsable d'une maladie de feuilles redoutable (elle a considérablement freiné cette culture en Amérique du Sud), représente un risque permanent pour l'hévéaculture mondiale. La lutte génétique est actuellement la seule envisageable. Malgré les difficultés de conception et de réalisation d'un tel programme, l'IRCA se doit de s'y impliquer.
- ° La lutte contre le *Fomes*, champignon responsable d'une maladie de racines très grave, n'a jamais été envisagée sous l'aspect génétique, et pourtant cela paraît être la solution la plus économique dans le long terme. Une recherche de base portant sur les variabilités de l'hôte et du parasite devrait permettre de définir une action dans ce sens.
- ° La modélisation de l'architecture, outil d'avenir pour le sélectionneur ?

Compte tenu des premières tentatives très fructueuses réalisées avec le programme AMAP, on est en droit de le penser. Les voies d'investigation sont nombreuses : résistance à la casse due au vent, étude des densités, du couvert des interlignes, appréciation de la surface foliaire, représentation clonale ...

-----

## L'ELECTROPHORESE AU SERVICE DE LA SELECTION (M.-H. CHEVALLIER)

Dans le cadre de l'amélioration de l'hévéa, les isoenzymes révélées par électrophorèse sont apparues particulièrement intéressantes comme marqueurs génétiques pour :

- L'identification des clones, et ainsi la détection des erreurs de greffage en jardins à bois ou plantations
- Le contrôle de légitimité des fécondations artificielles, et la détection des illégitimes
- Une meilleure connaissance du régime de reproduction dans les jardins grainiers, et la détection des contaminations par du pollen étranger
- Une estimation de la variabilité génétique des populations naturelles et diverses collections d'hévéa, et la détermination de groupes homogènes permettant leur intégration dans un schéma de sélection
- L'identification des différentes espèces d'hévéa et la détection des hybrides interspécifiques dans le matériel issu des prospections

Le contrôle génétique des 13 enzymes étudiées, à partir de feuilles lyophilisées d'hévéa, a révélé, toutes prospections prises en compte, 15 gènes et 67 allèles.

### 1. CONTROLE DE LEGITIMITE DES FECONDATIONS ARTIFICIELLES

Trois types d'erreurs ont été observées :

- Détection d'un allèle absent chez les clones parentaux ; ce cas rare est probablement dû à des erreurs de manipulations lors de transferts de pépinières en champs ou lors de la collecte des feuilles et ne remet pas en cause la validité du croisement dans son ensemble
- Détection d'un déséquilibre de ségrégation ; ce cas correspond à une contamination parasite avec un pollen qui porte des allèles fréquents. Il est alors impossible d'identifier le parent mâle et de repérer les descendants illégitimes.
- Détection d'un allèle étranger apparaissant à l'état hétérozygote avec l'allèle du parent femelle ; c'est le cas d'une contamination par un pollen d'un clone dont on peut retrouver l'identité. Il faut alors connaître les génotypes des clones situés à proximité du parent femelle. Les descendants illégitimes sont facilement éliminés.

7 croisements des campagnes de pollinisation artificielle de 1986 et 1987 ont été contrôlés par les marqueurs isoenzymatiques. Tous les croisements de la campagne de pollinisation de 1986 étudiés ont montré des erreurs allant de 8,3 % à 27,1 %, contre un seul pour la campagne de 1987. La plupart des erreurs concernent des pollinisations parasites. Le cas le plus représentatif est illustré par le croisement PB-5/51 x GU-969 où le pollen étranger a pu être identifié grâce à la présence, dans les descendants d'allèles spécifiques *benthamiana*, des ADH, des PGI, des LAP et

des MDHB, caractéristiques du clone RO-38. Or, les pollinisations de ce croisement ont été effectuées à proximité du champ de pollinisation précoce dans lequel se trouve RO-38. La plupart des erreurs détectées sont confirmées par plusieurs gènes simultanément. Toutefois, du fait que les allèles marqueurs sont presque toujours à l'état hétérozygote avec un allèle commun aux deux parents, le pourcentage d'erreurs est sous estimé.

## 2. ETUDE DE LA POLLINISATION LIBRE

Jusqu'à présent, la sélection était basée sur la pollinisation contrôlée. Cette méthode ne peut être envisagée avec les 3000 génotypes récoltés au cours des diverses prospections sans réduire considérablement la variabilité. Il est plutôt envisagé de travailler en pollinisation libre dans des jardins grainiers. Dans ce cas, une étude préalable sur le mode de reproduction de l'hévéa, en pollinisation libre et dans les conditions écologiques de la Côte d'Ivoire, était indispensable. C'est pourquoi nous avons étudié un jardin grainier a priori isolé entre deux clones PB-5/51 et PR-107. L'allèle 2 des PGD pouvait servir de marqueur d'autofécondation, puisque PB-5/51 est homozygote 22 et PR-107 hétérozygote 13. Tous les descendants PGD-22 devaient provenir d'une autofécondation de PB-5/51. Les résultats ont montré effectivement près de 60 % d'homozygotes PGD-22, un excès en homozygotes 11 pour le locus PA mais aussi l'apparition d'allèles non portés par les deux parents indiquant une contamination pollinique parasite. Il était alors impossible de différencier des autofécondations d'une pollinisation parasite.

## 3. VARIABILITE DES COLLECTIONS ET PROSPECTIONS D'HEVEA

La collection de clones cultivés (Wickham) a été étudiée par comparaison aux clones issus des diverses prospections réalisées dans le centre d'origine de l'espèce :

- Prospection "Schultes" en Colombie (1940)
- Prospection franco-brésilienne (1974) dans l'Acre, le Rondonia et le Pérou
- Prospection IRRDB (1981) dans l'Acre, le Rondonia et le Mato Grosso

Les clones Wickham ont montré une forte variabilité génétique. 15 gènes présentent 34 allèles avec seulement 5 gènes monomorphes. Aucun allèle n'est spécifique des clones cultivés. Les 66 clones étudiés sont identifiés par un génotype particulier. Ce résultat a permis de repérer des erreurs au cours des greffages successifs effectués en serre pour le rajeunissement du clone PB-235.

Les clones issus des prospections ont montré une variabilité encore plus importante puisque tous les gènes révélés sont polymorphes. Les clones prospectés possèdent 67 allèles pour 15 gènes, soit 33 allèles nouveaux par rapport aux clones cultivés. La richesse allélique est due aux allèles rares caractéristiques d'autres espèces, aux allèles nouveaux non spécifiques mais surtout à des associations alléliques différentes pour les allèles communs.

La variabilité totale a été structurée en 4 groupes : le premier est constitué en majorité par les clones "Wickham", le deuxième par les clones du Mato Grosso, le troisième par les clones de l'Acre et du Rondonia, enfin le dernier par les clones "Schultes". En outre, les clones Wickham sont caractérisés par une hétérozygotie individuelle élevée mais pour un nombre réduit de locus, au contraire des clones prospectés.

L'apparition de caractères spécifiques de l'espèce *benthamiana* dans les prospections ont permis de confirmer l'origine interspécifique de certains clones tels que RO-38 et MDF-180.

#### 4. PERSPECTIVES

Nos résultats ont montré l'intérêt d'utiliser les isoenzymes comme marqueurs génétiques dans un programme d'amélioration. Il est nécessaire de les compléter par :

- L'étude systématique de toutes les espèces d'hévéa
- Le contrôle génétique et le linkage des locus
- Le suivi des fécondations libres ou contrôlées
- Le contrôle de la conformité du microbouturage *in vitro*
- La possibilité de situer tout nouveau matériel dans un des groupes déterminés

LES INTERVENTIONS POSSIBLES DES CULTURES *IN VITRO* DANS L'AMELIORATION DE L'*HEVEA*  
(M.-P. CARRON)

INTRODUCTION

L'hévéaculture est une culture très récente

- \* Pas de domestication progressive avec sélection des meilleurs caractères
- \* Peu de générations successives
- \* Des programmes d'amélioration récents

On peut en déduire :

- Soit qu'il faut mettre en oeuvre les techniques les plus sophistiquées pour rattraper le retard,
- Soit qu'il n'est pas utile de s'engager dans des voies nouvelles, mal connues, alors que les voies classiques bien maîtrisées sont encore très incomplètement exploitées.

Les réponses sont très diverses et dépendent des sensibilités et des contraintes du sélectionneur ou de l'organisme de recherche.

Les différentes voies envisageables d'utilisation de la culture *in vitro* sont représentées dans la figure 1 (la production de caoutchouc *in vitro* est volontairement écartée car peu réaliste aujourd'hui !)

EN AMONT DE LA SELECTION

1. CULTURE D'EMBRYONS IMMATURES

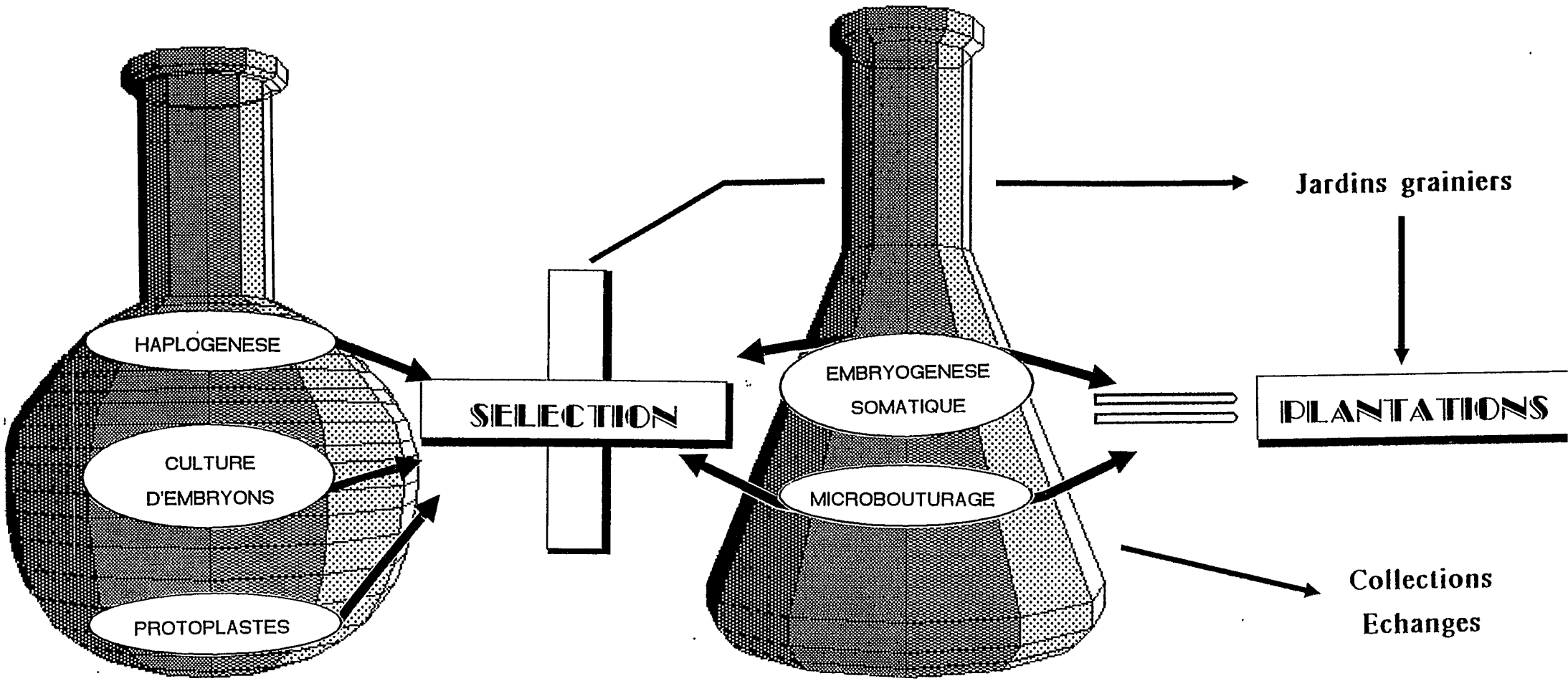
On s'interroge sur :

- Le faible taux de réussite des hybridations artificielles (cf thèse de A. Leconte)
- L'impossibilité de réaliser certains croisements (clone maternel)

Des travaux ont été réalisés par :

- Muzik, 1956
- RRIM, 1975 : sur la culture d'embryons matures,
- IRCA, 1981 : sur la culture d'embryons immatures durant 6 à 8 semaines avant la maturité complète. Elle permettrait d'obtenir directement 10 à 20 % de fruits au lieu de < 5 %.

Pendant les 6 à 8 semaines de début de développement du fruit, on constate un blocage de l'évolution de l'embryon puis un développement rapide en l'espace d'un mois (2,5 à 3,5 mois) puis une maturation du fruit jusqu'à 5,5 mois environ.



**La Culture in vitro dans l'Amélioration de l'Hévéaculture**

---

Figure 1

Pour parvenir à une augmentation significative du taux de réussite ou à réaliser certains croisements (clone maternel), on a besoin d'une culture de proembryons, voire, d'une fécondation d'ovules *in vitro*. Il y aurait là une certaine convergence avec les études sur le développement des embryons somatiques.

## 2. HAPLOGENESE

On a deux utilisations possibles de l'haplogénèse :

- La création de parents homozygotes donnant une descendance homogène et de haute qualité, en vue d'établir des jardins grainiers.

La mise en place de jardins grainiers se heurte à une faible connaissance de la biologie florale de l'hévéa et au fait qu'il faut environ 1 ha pour 20 000 graines et 400 000 graines pour 100 ha de plantation. Cette stratégie ne peut donc se concevoir que si les parents sont aussi de bons producteurs de caoutchouc.

- Une large expression de la variabilité génétique de l'*Hevea brasiliensis*, notamment des caractères récessifs.

Il semble donc que c'est la deuxième voie qui soit envisagée par les équipes chinoises qui sont, à notre connaissance, les seules à travailler sur ce sujet avec 4 laboratoires dont un sur la culture d'ovule (Institut de génétique de Pékin - Baoting Institute, Hainan-Zandjiang et Fujian).

On a obtenu, depuis dix ans environ, quelques dizaines d'individus dihaploïdes par an. En fonction de l'objectif, il faudrait en tester plusieurs milliers par an. Aucune information sur l'éventuelle recombinaison de parents homozygotes.

## 3. PROTOPLASTES OU CULTURES CELLULAIRES

Cette orientation peut, de prime abord, apparaître quelque peu futuriste pour l'hévéaculture, cependant :

- Depuis 50 ans, la fécondation artificielle constitue quasiment le seul moyen d'intervention de l'améliorateur ; la formation de cybrides par fusion de protoplastes permettrait de mieux exploiter la variabilité du matériel végétal par la recombinaison des cytoplasmes parentaux.
- L'hévéa est victime de certaines maladies foliaires d'origine fongiques, plus ou moins graves selon les pays (SALB en Amérique Latine). Il y aurait un intérêt potentiel à récupérer des caractères de résistance présents chez certaines espèces voisines (*H. Benthamia*, *H. Pauciflora*).
- Avec le développement de la biologie moléculaire, de nouvelles potentialités apparaissent, telles l'incorporation de gènes amplifiés codant pour une étape clé de synthèse du caoutchouc. Des recherches de ce genre ont été initiées par l'IRCA, en collaboration avec : l'Université de Birmingham et l'ORSTOM/IRSDA ; Good Year, à Akron Ohio et, l'Institut de Biologie moléculaire de Singapour.



Quoiqu'il en soit, l'utilisation de haute manipulation sur les cellules ou les protoplastes passe par une étape de régénération et il semble que, dans bien des cas, la maîtrise de la culture *in vitro* constitue le point d'étranglement.

C'est dans cet esprit que des travaux ont été entrepris dans plusieurs laboratoires tels :

- RRIM en Malaisie
- Good Year aux Etats Unis
- USTL en France, sur financement Michelin

Les travaux, récemment entrepris par E. Cazaux dans le laboratoire du Professeur d'Auzac, ont conduit à l'obtention de protoplastes avec un rendement plutôt satisfaisant : environ  $100 \cdot 10^6$  protoplastes/g MF, et une forte viabilité de 90 %, à l'issue de la macération.

Les travaux se poursuivent pour définir les conditions de culture, de multiplication et de régénération, en collaboration avec notre équipe de l'IRCA-CIRAD.

#### EN AVAL DE LA SELECTION : LA MICROPROPAGATION

Une vingtaine d'arbres, expédiés au jardin botanique de Singapour en 1877, furent à l'origine des quelques 700 000 ha d'hévéas plantés en Extrême Orient, entre 1880 et 1910.

Dès la première décennie de ce siècle, les planteurs se rendirent compte de l'importante hétérogénéité des arbres en plantation : moins de 30 % des arbres assurent 70 % de la production.

Il fut fait un inventaire pour répertorier plusieurs milliers d'arbres haut-producteurs, notamment par les planteurs hollandais d'Indonésie.

Dans le même temps, des recherches furent faites pour mettre au point une technique de multiplication végétative.

C'est un hollandais, Van Helten, qui mit au point la méthode de greffage qui alla rapidement se généraliser et qui est encore universellement utilisée aujourd'hui. Parmi les arbres haut-producteurs répertoriés, environ 1/5000 fut retenu en tant que bon clone de greffe. Ce sont les clones primaires dont certains sont encore largement plantés aujourd'hui.

Les recherches sur le bouturage, entamées en 1880, n'aboutirent que dans les années 1950 ; ce qui donne une idée de la difficulté du phénomène. Le bouturage d'arbres sélectionnés, donc matures, se heurte à une faible capacité rhizogène conduisant à un enracinement superficiel préjudiciable à l'alimentation hydrique et surtout à la stabilité des arbres.

Si le greffage permet d'homogénéiser génétiquement la partie aérienne des arbres, il reste que l'hétérogénéité des porte-greffe, issus de graines tout venant, est un handicap alourdissant les schémas de sélection par des dispositifs statistiques complexes et surtout minimisant grandement les améliorations obtenues.

L'hétérogénéité intra clone de greffe affecte lourdement le rendement global des plantations ; le potentiel théorique de production de l'hévéa se situe 2 à 3 fois au dessus du niveau actuel des meilleures plantations. Il affecte tout particulièrement le prix de revient de la saignée qui constitue un paramètre dont l'importance se développe parallèlement à l'élévation du niveau de vie dans les pays producteurs.

Le résultat attendu de la micropropagation *in vitro* est donc, d'une part, d'améliorer l'homogénéité des plantations et, d'autre part, d'augmenter la qualité individuelle des arbres.

La micropropagation des clones actuels devrait permettre d'atteindre d'emblée le premier objectif.

La sélection de nouveaux clones "sur leurs propres racines" devra conduire ultérieurement à l'optimisation du deuxième objectif.

En micropropagation, deux voies sont en cours d'étude :

- le microbouturage
- l'embryogenèse somatique

En ce qui concerne le microbouturage, le RRII en Inde, Good Year aux Etats Unis et nous-mêmes avons réussi la production de microboutures et leur mise en champs.

En ce qui nous concerne, nous travaillons actuellement sur l'amélioration des différentes phases de la technique pour la rendre compatible avec la production industrielle de vitroplants : cela concerne notamment la stabilisation de la phase de micropropagation proprement dite et l'adaptation de la technique au matériel sélectionné/clonal.

Par ailleurs, nous avons commencé la mise en place de champs de comportement pour étudier le développement aérien et racinaire de ce nouveau type de matériel végétal et être en mesure, dans quelques années, d'apprécier exactement la plus value obtenue par rapport au matériel greffé classique.

L'embryogenèse somatique est une technique plus complexe. Bien que les premiers plants aient été obtenus par l'équipe de la SCATC à Hainan en 1978, puis, à quelques années d'intervalle, par le RRII et nous-mêmes, la maîtrise de la production d'embryons somatiques reste limitée à quelques clones et leur germination très difficile à obtenir.

C'est dans ce contexte que nous avons initié, il y a quatre ans environ, des recherches de base pour mieux comprendre le processus d'embryogenèse lui-même et l'action des différents paramètres physico-chimiques de l'environnement sur l'évolution des tissus en culture : elles font appel à l'histologie, à des analyses minérales et organiques du milieu de culture et des tissus végétaux, l'analyse de l'atmosphère gazeuse et de l'état hydrique des cultures et, tout récemment, à la mesure des teneurs endogènes en hormones et sont donc menées en relation avec divers laboratoires spécialisés dans ces domaines, au CIRAD Montpellier et avec plusieurs universités.

Il est important de noter que certaines de ces recherches sont réalisées en parallèle par les différentes équipes du CIRAD sur le palmier à huile, le bananier, le caféier et bientôt le cacaoyer, ce qui entraîne une synergie des efforts entrepris pour une meilleure compréhension de l'embryogenèse somatique.

### CONCLUSIONS

Il y a donc bien, pour la culture *in vitro*, différentes façons de "servir" l'amélioration de l'hévéaculture et toutes les orientations dégagées ont été travaillées de façon plus ou moins approfondies par quelques unes des dix équipes qui travaillent sur la culture *in vitro* de l'hévéa dans le monde. Elles l'ont été avec des succès variables et quelques fois des échecs.

Cependant, les travaux en androgenèse, embryogenèse somatique et microbouturage ont atteint un niveau qui les rend crédibles et ne laisse aucun doute sur leurs chances de succès au cours des dix prochaines années, si tant est que l'effort de recherche se maintient

En ce qui nous concerne, l'IRCA et les planteurs d'hévéa, avec lesquels nous sommes en relation, fondent beaucoup d'espoir sur l'utilisation prochaine des techniques de micropropagation et du microbouturage en premier lieu.

Dans l'idéal, la micropropagation devrait simultanément être intégrée aux deux niveaux suivants :

- Un premier niveau consiste à micropropager les clones actuels qui ont été sélectionnés et multipliés jusqu'à aujourd'hui par greffage, après avoir contrôlé la "plus value" par des champs comparatifs.
- Le deuxième niveau concerne l'intégration de ce système de multiplication dans les schémas de sélection ; l'IRCA s'y prépare et entamera, dès l'an prochain, des essais dans ce sens avec pour moyens :
  - \* clonage des légittimes en CES pour améliorer l'appréciation individuelle et l'héritabilité des caractères
  - \* clonage en CCPE pour confirmer la sélection effectuée en CES sur individus en tiers mais à un seul exemplaire

Les objectifs étant bien sûr :

- \* sélection d'individus élites sur leurs propres racines
- \* sélection de porte-greffe vis à vis des critères suivants :
  - . tolérance aux maladies de racines
  - . production
  - . résistance à la sécheresse
  - . vigueur

La sélection va, enfin, porter directement sur le système racinaire et des recherches sur l'architecture, et le fonctionnement de cette partie méconnue de l'hévéa devrait être initiées d'ici peu.

## LA PHYSIOLOGIE DE LA PRODUCTION (J.-L. JACOB)

L'étude du fonctionnement du tissu laticifère chez l'hévéa nous a permis de montrer qu'il différait selon les clones tant en ce qui concerne certaines caractéristiques biologiques qu'en ce qui concerne les particularités des mécanismes impliqués dans la production du latex lors de la saignée.

Nous avons, dans ce sens, été conduits à modéliser, en quelque sorte, une certaine typologie de fonctionnement du système productif en fonction des clones.

Pour illustrer cette démarche, je rappellerai très brièvement ce que représente le système laticifère.

Les laticifères sont constitués de films monocellulaires concentriques produits rythmiquement par le cambium, zone de croissance en épaisseur de la plante. Les cellules de chacune de ces couches monocellulaires s'anastomosent entre elles, pour former un véritable système para-circulatoire.

Lors de la saignée, lorsque l'on sectionne ces systèmes laticifères en entamant l'écorce, la pression de turgescence tend à en expulser le contenu, c'est-à-dire le latex. Le latex est donc un véritable cytoplasme et, en conséquence, l'analyse de certains de ses paramètres biologiques vont permettre à l'image d'analyses sanguines, par exemple, de dresser un diagnostic de l'état cellulaire du système au moment du prélèvement et d'en déduire sa capacité à produire.

Schématiquement la production est soumise à deux facteurs limitants : l'un est l'écoulement, plus il sera long et aisé, plus la récolte sera abondante (cf fig. 1) ; l'autre est la régénération du matériel cellulaire entre deux saignées afin de compenser le mieux possible la perte en latex avant la saignée suivante. Il est aisé de concevoir qu'une régénération insuffisante implique une baisse de production. Si l'on considère une fréquence de saignée décroissante (cf fig. 2), on peut observer que la production par arbre et par saignée augmente dans un premier temps, lorsque l'intervalle entre deux saignées passe de 1 jour à 4 jours chez des arbres du clone GT1 non stimulés. Autrement dit, la régénération intralaticifère est insuffisante lorsque les saignées sont trop fréquentes. La régénération est directement liée au métabolisme : un métabolisme actif sera un atout pour le potentiel de production d'un arbre ou d'un clone.

Il est apparu que l'écoulement dépendait aussi, en grande partie, de l'activité biochimique intracellulaire par l'intermédiaire de l'énergie cellulaire disponible au sein des laticifères.

En effet, si la pression de turgescence a un rôle moteur majeur, l'écoulement implique un transfert d'eau et des solutés des tissus voisins et des systèmes circulatoires de la plante vers les manteaux laticifères (les solutés et sucres, notamment, maintiennent la pression osmotique qui

intervient directement dans l'appel hydrique lors de la saignée). Sans ce phénomène, il n'y aurait pratiquement pas d'écoulement. Or, ces transferts de solutés sont sous la dépendance de phénomènes complexes impliquant une dépense d'énergie qui est dépendante de l'activité métabolique de la cellule laticifère elle-même.

Dans une récente publication (Jacob et al. 1988), nous avons démontré clairement la liaison écoulement-activité métabolique ; et une conclusion de première importance peut être dégagée : un bon écoulement nécessite de l'énergie biochimique disponible, autrement dit, un métabolisme actif au sein de la cellule laticifère.

Si l'on attend trop longtemps entre deux saignées, la régénération sera terminée, l'activité métabolique se ralentira au sein des laticifères. En conséquence, l'écoulement sera plus difficile et la production diminuera d'une manière critique (cf fig. 2).

La solution, pour activer le métabolisme, a été trouvée depuis longtemps bien que la compréhension des phénomènes mis en jeu soit loin d'être éclaircie. C'est l'utilisation des produits dits stimulants et notamment les générateurs d'éthylène, l'éthylène étant le vecteur commun de tous les produits testés actifs.

La "stimulation" accélère effectivement le métabolisme cellulaire. Or, chez les arbres stimulés, la chute de production observée précédemment chez les hévéas non traités à l'ethrel disparaît lorsque les intervalles de fréquence de saignées augmentent dans les mêmes proportions. Autrement dit, l'accélération de l'activité biochimique évite que le facteur écoulement soit limitant. Ainsi, le potentiel de production d'un hévéa ne saurait être atteint si l'on ne lui applique pas un compromis satisfaisant entre période de régénération et utilisation de la stimulation qui non seulement va agir sur l'écoulement mais aussi par l'intermédiaire du métabolisme sur l'efficacité de la régénération intralaticifère.

C'est dans ce sens que des expériences, consistant à étudier le potentiel de production de certains clones, ont été tentées, en prenant en considération, pour déterminer les seuils ou les limites au-delà desquelles l'exploitation devenait de la sur-exploitation, certains critères biologiques du latex. Parmi eux, 4 ont été choisis :

L'extrait sec (ES), reflet de la régénération cellulaire ; la teneur en sucre, molécule initiatrice de la synthèse isoprénique dont la concentration donne une idée soit de sa disponibilité, soit de la rapidité de son utilisation ; le phosphore inorganique (Pi), lié directement à l'activité cellulaire et la teneur en RSH, molécule protectrice des phénomènes de stress et de sénescence indicatrice de l'état de "résistance" du système laticifère.

Ces quelques paramètres permettent d'ailleurs de caractériser la typologie de fonctionnement évoquée précédemment. Considérons aussi des arbres de clones différents normalement exploités sur une même surface polyclonale (cf Tableau 1).

Le PB 235 est caractérisé par :

- Un extrait sec élevé ; il traduit un métabolisme actif et une régénération forte,
- Une teneur en sucre faible ; ce résultat est un corollaire du précédent. Le sucre est métabolisé activement et confirme la forte activité biochimique au sein des laticifères,
- Une teneur en RSH relativement faible ; le fonctionnement métabolique rapide implique aussi des réactions peroxydatives intenses,
- Une teneur en Pi relativement forte ; autre preuve du métabolisme actif de ce clone. Qui dit métabolisme actif dit, comme nous l'avons déjà vu, bonne régénération et bon écoulement.

Cette remarque est confirmée puisque le PB 235, arbre à croissance rapide, est effectivement un excellent producteur, possédant un écoulement facile caractérisé par un faible indice de plugging.

Par contre, ces caractéristiques comportent aussi des aspects négatifs. En effet, le système laticifère étant déjà très actif, son accélération par la stimulation sera relativement peu efficace. En outre, il y a un risque de "surchauffe" métabolique eu égard au manque de réserves glucidiques que laisse présager le faible taux de sucre et dont un des effets peut conduire à l'encoche sèche. A cet égard, l'observation montre à l'évidence la sensibilité de ce clone à cette maladie.

Le PB 217 a des caractéristiques opposées :

- Son extrait sec plus faible que celui du PB 235 indique une régénération moins active,
- Son taux de sucre extrêmement élevé implique une utilisation plus mesurée du saccharose et un métabolisme plus lent,
- Son taux de RSH élevé reflète une activité péroxydative peu intense,
- Sa teneur en Pi plus faible aussi que celui du PB 235 confirme un métabolisme plus lent.

Or, ce clone est effectivement, dans les conditions analogues d'exploitation, moins producteur que le PB 235 et son écoulement est d'ailleurs moins bon, ce qui traduit un indice de plugging plus fort.

Mais, en contrepartie, la stimulation de ce clone à métabolisme lent doit être beaucoup plus efficace que celle du PB 235.

Cette remarque est confirmée expérimentalement. Ce clone, à forte réserve glucidique, peut supporter de fortes stimulations et exprime un fort potentiel de production. Contrairement au PB 235, et pour des raisons inverses, il est également moins sensible à l'encoche sèche.

L'examen des paramètres biologiques et des caractéristiques de production des autres clones examinés : RRIM 600 et GT1 permet de les situer entre ces deux pôles. Une analyse statistique en composante principale, utilisant ces paramètres, permet de les différencier et de les décrire très distinctement (cf fig. 3).

Il est clair que, selon ces caractères, le potentiel de production des clones (information majeure à connaître au plan agronomique) doit être atteint en utilisant une intensité d'exploitation différente.

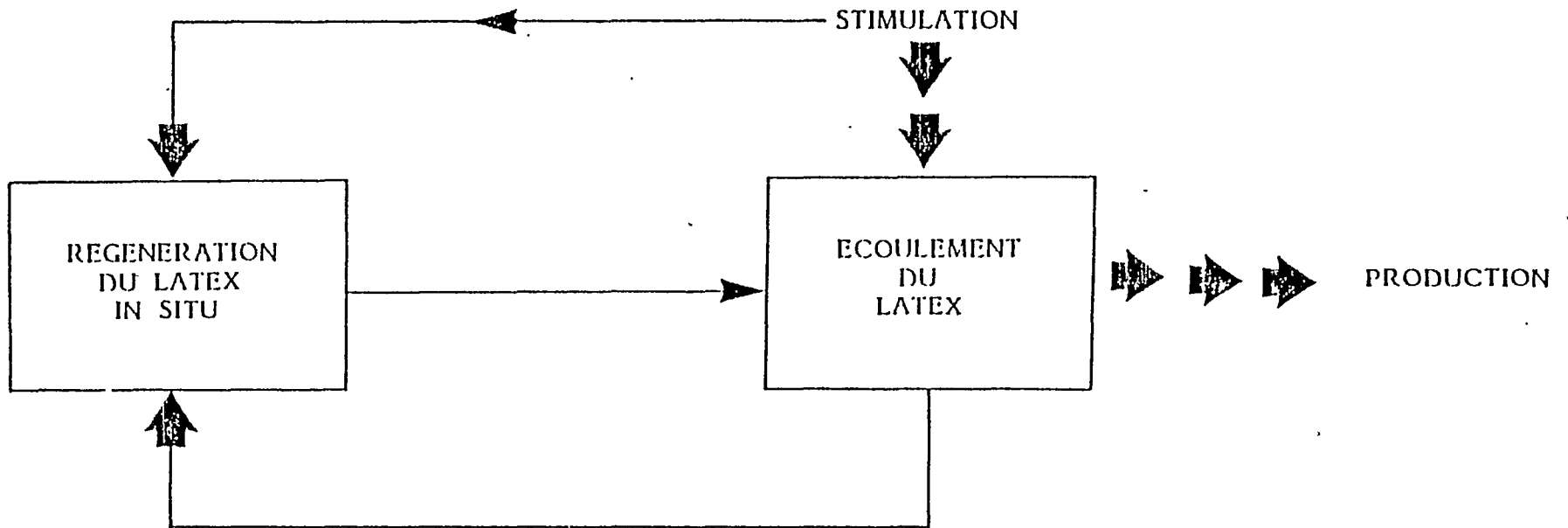
Il apparaît aussi que ces informations pourront être très utiles pour le sélectionneur dans sa politique de choix et/ou de création de matériel végétal nouveau. Des études à ce sujet ont d'ailleurs été initiées. Elles donnent des résultats prometteurs dans la mesure où les paramètres proposés sont susceptibles d'être employés dans un schéma de sélection précoce.

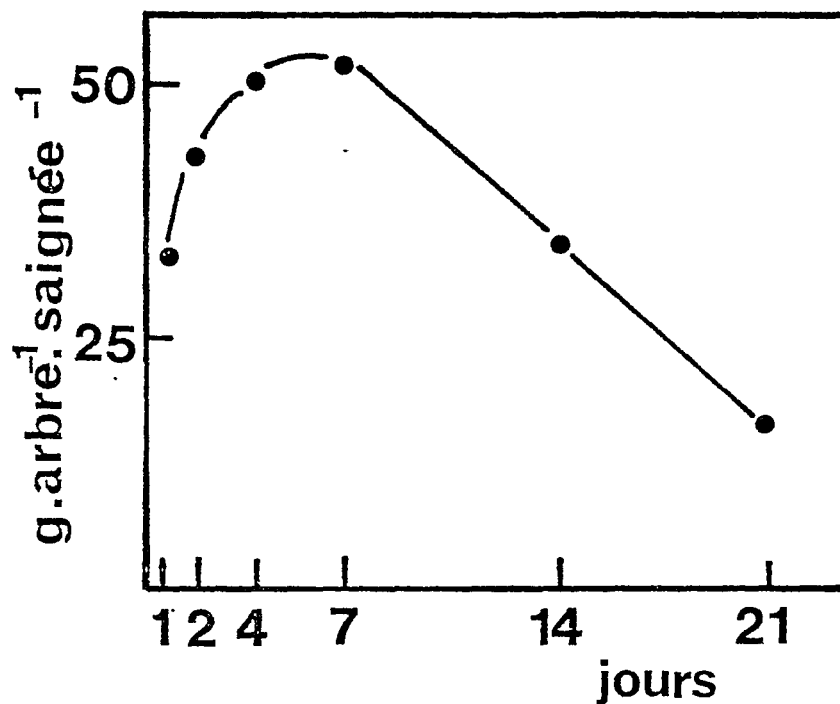


Tableau 1. *Quelques paramètres physiologiques du latex  
mesurés de 4 clones plantés et exploités dans des conditions  
comparables.*

	Sucre mM	Pi mM	RSH mM	Ext.Sec %
PB 235	4,9 ± 1,4	19,4 ± 3,2	0,39 ± 0,11	37,6 ± 4,0
GT1	10,7 ± 2,1	18,3 ± 2,3	0,44 ± 0,09	36,1 ± 3,4
RRIM 600	10,8 ± 3,0	10,4 ± 1,9	0,46 ± 0,10	38,0 ± 2,2
PB 217	29,3 ± 4,8	14,6 ± 2,3	0,87 ± 0,10	32,1 ± 1,1

Figure 1      FACTEURS LIMITANT LA PRODUCTION  
DU LATEX CHEZ L'IEVEA





**Intervalle entre 2 saignées**  
**Arbres GT1 non stimulés**

FIGURE 2 Chez des Hevea non stimulés : influence de l'intervalle entre deux saignées sur la production exprimée en gramme de caoutchouc par arbre et par saignée.

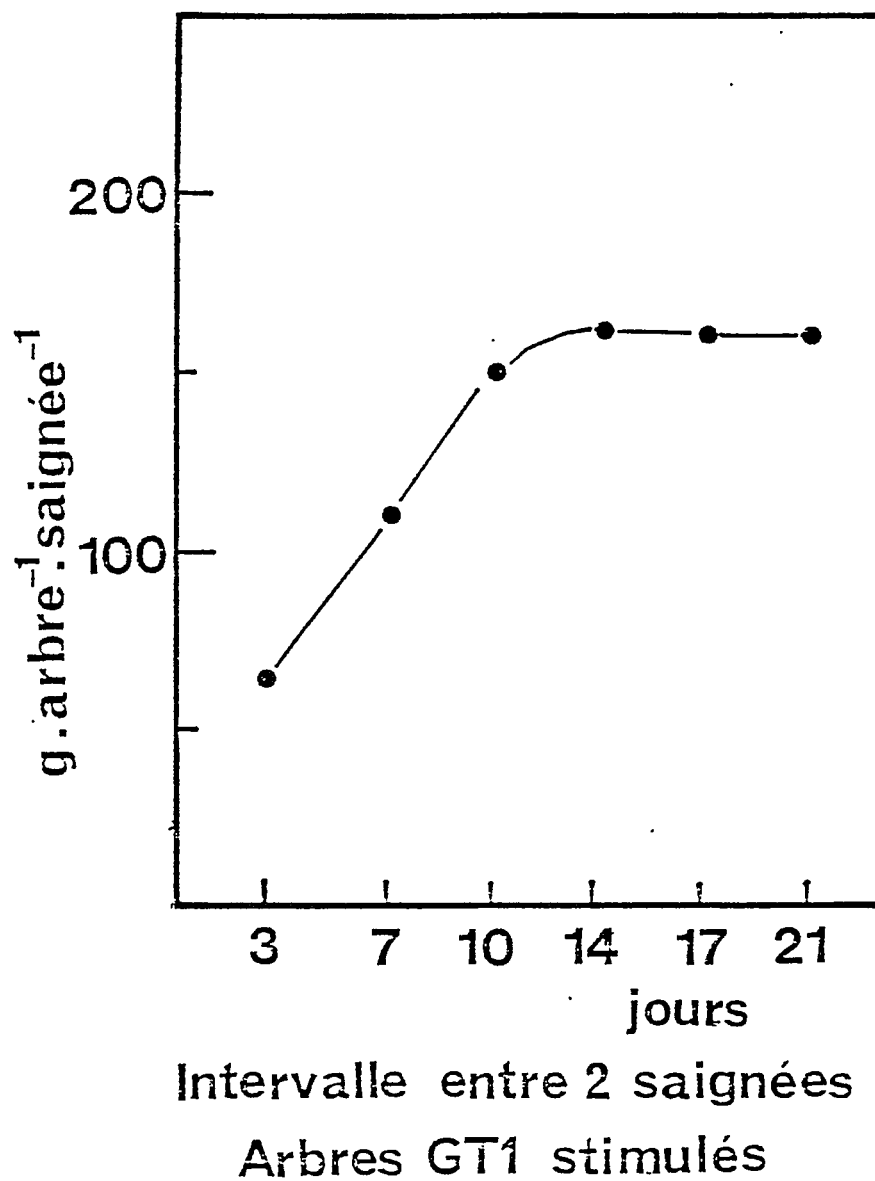
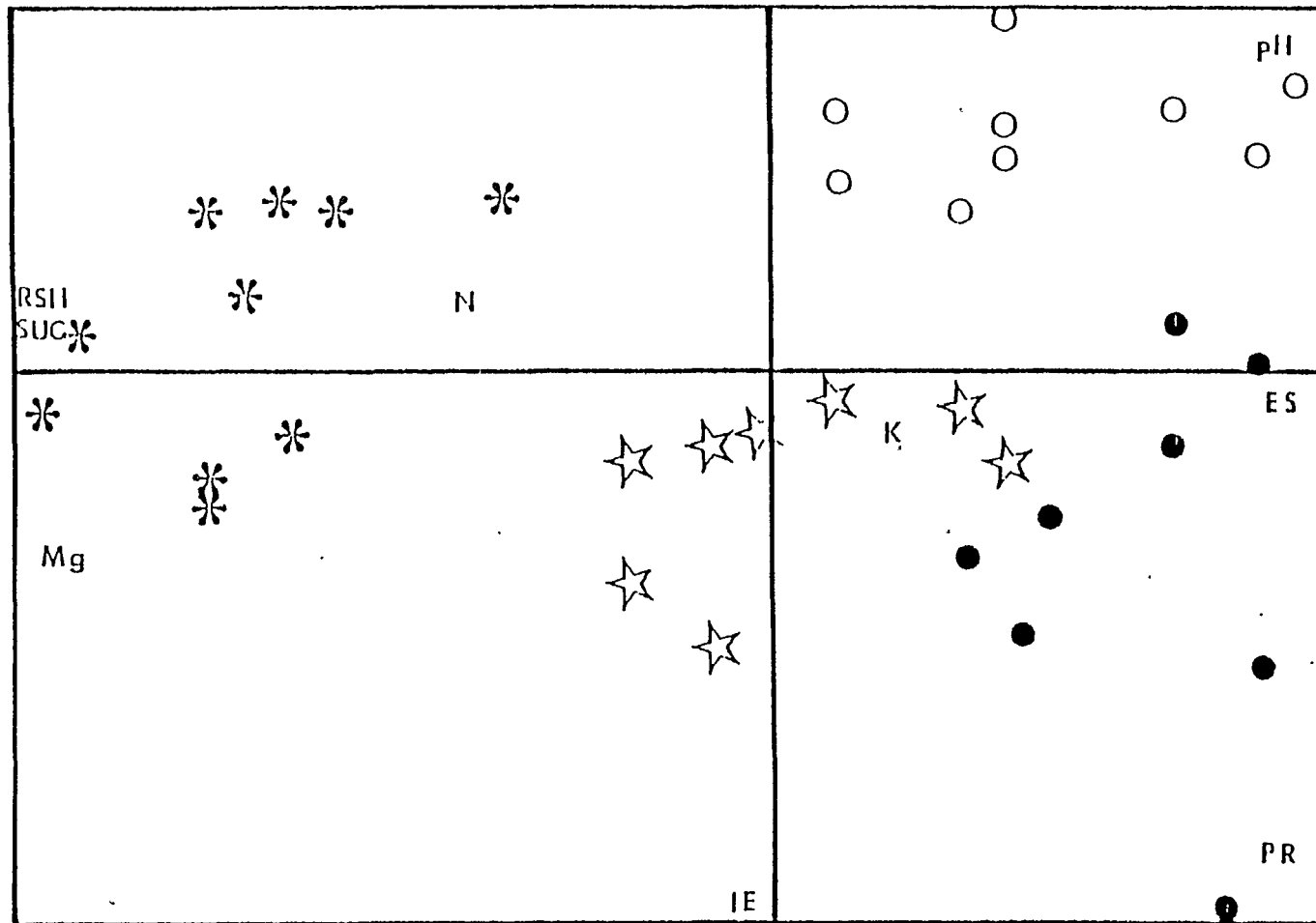


FIGURE 3 Chez des Hevea stimulés : influence de l'intervalle entre deux saignées sur la production exprimée en gramme de caoutchouc par arbre et par saignée.

Figure 4

Analyse en composantes principales des paramètres physiologiques du latex provenant de 4 clones d'*Hevea brasiliensis*



\* PB217    ○ GT1    ● PB235    ☆ RRIM 600

## QUESTIONS

C. LANAUD :

- Existe-t-il une stérilité mâle ?
- Non pas vraiment. Il existe un clone mâle stérile (GT1), les graines de pollen ne mûrissent pas, cependant, ce clone fournit des graines.

MAUBOUSSIN :

- Y a-t-il une multiplication des plants en champs d'évaluation Seedling (C.E.S.) ?
- Non, donc on estime les performances agronomiques d'un individu par génotype.  
Ce n'est qu'en champs de comportement à petite échelle (CCPE) que les individus sélectionnés en CES sont réévalués en tant que clones de greffes (30 greffés/génotype).

DEMARLY :

- Y-a-t-il eu des études pour comprendre le blocage du développement des embryons ?
- Non, d'une part parce qu'au départ ce n'était pas un objectif prioritaire et d'autre part parce qu'il n'y avait pas de laboratoire sur place.  
Cependant, des essais de germination *in vitro* d'embryons immatures ont été réalisés.

MAUBOUSSIN :

- A-t-on déjà réalisé des croisements interspécifiques ?
- Non. On connaît certains arbres amazoniens qui sont des hybrides interspécifiques mais ils ne présentent aucun intérêt d'un point de vue production. Pour la résistance aux maladies, aucune application n'a été prévue.

ESSAD :

- Avez-vous tenté la triploïdie ?
- Non car nous n'avons pas créer de parents tétraploïdes.