

P. Geun.

Conservation, Multiplication et
Caractérisation du Germplasm Amazonien d' HEVEA.

Programme R et D "Sciences et
Technique au service du Développement"

(Contrat No. TSD-A-182)

Rapport final 1987



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

SOMMAIRE

	<u>Page</u> :
INTRODUCTION.	1
1. CREATION D'UNE COLLECTION HEVEA EN COTE D'IVOIRE.	4
2. ETUDE DE LA VARIABILITE GENETIQUE DU GERMLASM HEVEA.	7
2.1. Biométrie de la Variabilité Foliaire	7
2.1.1. Matériel.	
2.1.2. Méthodes.	
2.1.3. Etude de la Prospection 1974.	
2.1.4. Etude de la Prospection 1981.	
2.1.5. Discussion.	
2.2. L' Electrophorèse.	16
2.2.1. Méthodologie.	
2.2.2. Déterminisme génétique.	
2.2.3. Identification de clones.	
2.2.4. Variabilité du Germplasm.	
2.2.5. Variabilité des clones Wickham.	
2.2.6. Discussion.	
3. EVALUATION AGRONOMIQUE DES NOUVELLES INTRODUCTIONS.	32
3.1. Valeur agronomique des clones issus d'arbres exceptionnels.	32
3.2. Expérimentations agronomiques sur le matériel végétal issu de graines.	34
3.2.1. Champ d'arbres mères.	
3.2.2. Champs d'observation des clones issus des géotypes amazoniens provenant de graines.	
3.2.3. Champs de clones à échelle réduite des géotypes "élites" du Germplasm.	

	Page :
3.3. Utilisation de géniteurs amazoniens en croisements contrôlés.	38
3.3.1. Observations en champs d'évaluation de seedlings.	
3.3.2. Clones W x A en champ de clones à petite échelle.	
3.4. Conclusions sur l'Evaluation Agronomique.	41
3.5. Caractérisation du Germplasm sur le critère "Résistance au Microcyclus" (première approche)	43
4. FORMATION.	47
5. SYNTHÈSE et PERSPECTIVES.	48

INTRODUCTION

Il n'est pas rare, lorsqu'on fait l'étude historique d'une culture, de s'apercevoir que les premières introductions dans les pays d'accueil ne comportent qu'un nombre restreint de plants et qu'il s'avère rapidement indispensable d'agrandir le pool génétique de départ pour mener à bien un programme d'Amélioration de l'espèce.

L' HEVEA ne fait pas exception à cette situation : la majorité des arbres d' Extrême-Orient et d' Afrique sont la progéniture de quelques plants issus de collectes effectuées à la fin du siècle dernier par H. Wickham sur les rives du fleuve Tapajos, au Brésil.

En comparaison de ces premières introductions, les réserves de cette espèce dans la forêt amazonienne sont gigantesques. Aussi, une série de prospections futures effectuée sur plusieurs localisations du Bassin Amazonien. Après avoir pris toutes les précautions d'usage (relais phytosanitaires, réception en zone non hévéicole), le matériel végétal a été placé en collection "à perpétuité" sur la station de recherches sur l' HEVEA en Côte d'Ivoire, pour constituer ainsi une réserve génétique pérenne, source de variabilité au service des sélectionneurs responsables des programmes d' Amélioration de cette plante.

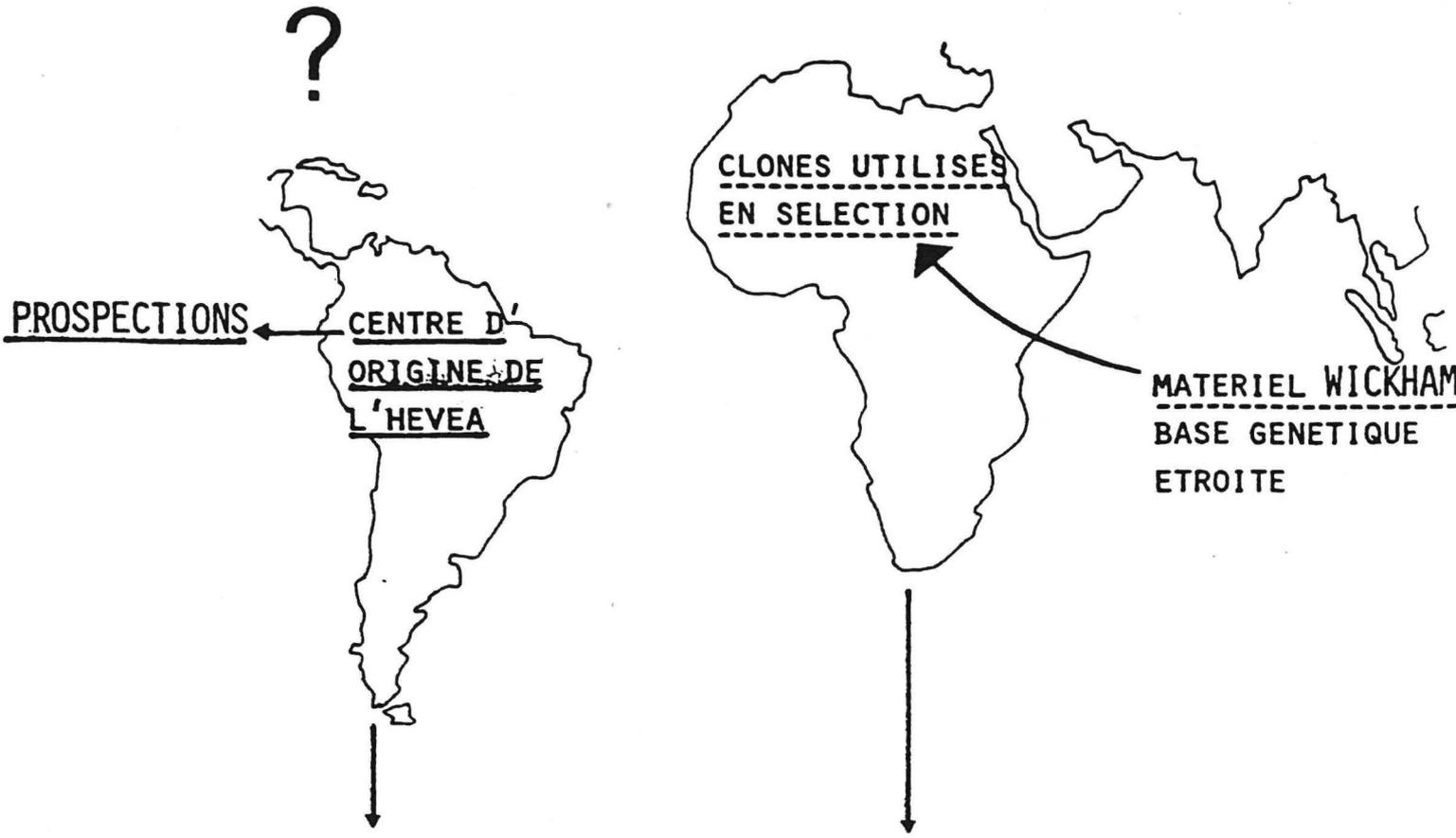
Comment utiliser de la façon la plus rationnelle et la plus profitable ces nouvelles ressources génétiques ?

Il convient tout d'abord d'en évaluer la valeur agronomique. Les résultats sont très longs à obtenir pour ce type de plante pérenne ; une série d'expériences en champ a été entreprise, qui a d'ores et déjà fourni de précieux renseignements concernant la valeur potentielle de ce matériel. Les individus issus de prospection ne seraient pas utilisables directement par multiplication végétative, mais devraient entrer dans un schéma de sélection permettant d'exploiter leur potentialité génétique par le biais de croisements appropriés. Pour ce faire, il est nécessaire d'approfondir les connaissances sur la valeur génétique de l'ensemble de ce matériel pour permettre au sélectionneur d'opérer un tri préalable absolument indispensable et ne retenir que les génotypes susceptibles d'apporter un progrès génétique sensible en tant que parents.

Dans ce but, différentes méthodes sont actuellement utilisées pour tenter de structurer ces populations, d'en apprécier les distances génétiques et d'en tirer les meilleurs individus pour leur valeur en croisement.

C'est dans le cadre de ce projet de recherche qu'une participation financière a été obtenue de la part de la Commission des Communautés Européennes (STD 1).

Ce rapport fera état des axes de recherche poursuivis, des résultats déjà obtenus -même s'ils n'ont qu'un caractère préliminaire- et des actions qui doivent être menées plus en avant pour aboutir à l'établissement d'une stratégie globale d'utilisation de ces nouvelles ressources génétiques de l' HEVEA, pour son Amélioration par la voie de la sélection.



RECENSEMENT DES CARACTERISTIQUES
MORPHOLOGIQUES
PHYSIOLOGIQUES
AGRONOMIQUES

RECENSEMENT DES CARACTERISTIQUES
MORPHOLOGIQUE
PHYSIOLOGIQUE
AGRONOMIQUES

COMPARAISON

EVALUATION DE L'ENRICHISSEMENT APORTE
 PAR LES PROSPECTIONS

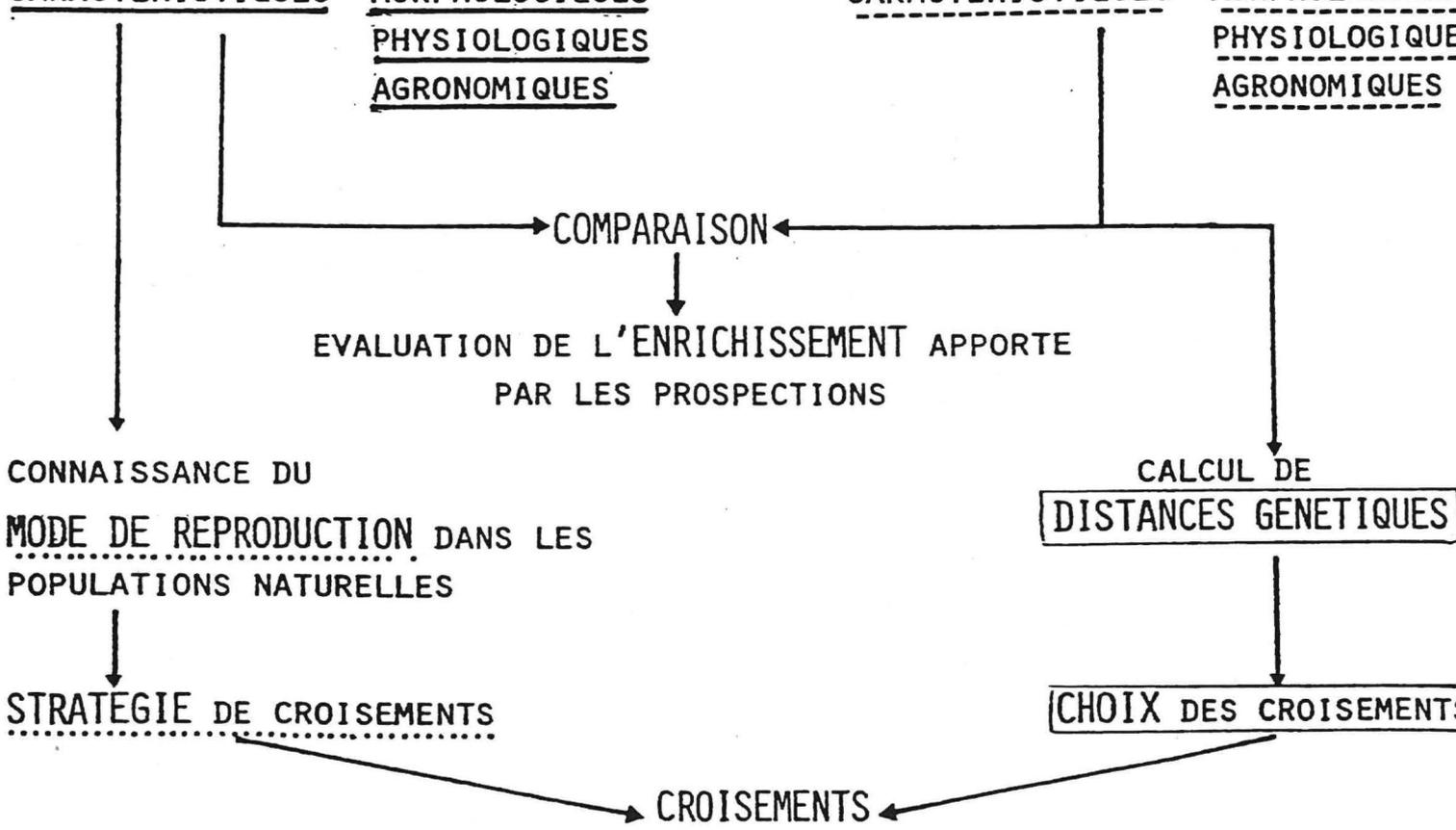
CONNAISSANCE DU
MODE DE REPRODUCTION DANS LES
 POPULATIONS NATURELLES

CALCUL DE
 DISTANCES GENETIQUES

STRATEGIE DE CROISEMENTS

CHOIX DES CROISEMENTS

CROISEMENTS



1. CREATION D'UNE COLLECTION HEVEA EN COTE D'IVOIRE.

Le premier objectif du programme AMELIORATION GENETIQUE DE L' HEVEA était de constituer une collection de matériel végétal représentant, autant que possible, un échantillonnage de la variabilité géographique de la plante. Dans ce but, des transferts de collections ont été effectués et des opérations de collecte dans la forêt amazonienne ont été couronnées de succès.

L' Institut a participé ces dernières années à deux opérations de collecte dans la forêt amazonienne (prospection franco-brésilienne de 1974 ; prospection internationale de 1981), réalisées au Brésil dans les Etats de l' ACRE, du RONDONIA et du MATO GROSSO, et a effectué des échanges internationaux de matériel végétal avec différents pays des 3 continents concernés par l'hévéaculture.

Il doit être souligné que l'aide financière de la C.E.E. a particulièrement contribué à réaliser les deux opérations suivantes :

* L'introduction d'origines provenant de l'Etat de l' AMAZONAS, grâce à un échange bilatéral avec le Brésil : cette collection est constituée de 30 clones présentant un très bon développement dans les conditions pourtant particulièrement difficiles de MANAUS. Ces clones ont été greffés dans les jardins à bois de collection de GUADELOUPE, créés à cet effet sur la station de l' IRFA de NAUFCHATEAU, et transférés en Côte d'Ivoire.

* L'introduction de matériel végétal provenant de la collection "SCHULTES" en COLOMBIE. Réalisée vers les années 1947-1950, cette collection était au départ localisée à 7 endroits différents ; 5 d'entre eux ont disparu et il y avait donc urgence à sauvegarder ce matériel végétal représentant un grand intérêt pour notre étude. L'une des collections se trouve à CALIMA, perdue dans la forêt, l'autre à PALMIRA, sur une station de recherche agronomique. Du bois de greffe et des graines ont été récoltés. Pour des raisons de disponibilité en porte-greffe et de facilité de communications aériennes, l'ensemble de ce matériel a été expédié en Martinique, sur la station de l' IRFA de Rivière Lezarde, mais sous le contrôle de l'agent IRCA de Guadeloupe, responsable des collections.

Le matériel végétal décrit ci-dessus fait partie des ressources génétiques constituant le Germplasm HEVEA et, à ce titre, a été transféré le plus rapidement possible en Côte d'Ivoire.

La Guadeloupe et la Martinique ont été judicieusement utilisées pour la réalisation de stations relais phytosanitaires, pour éviter toute introduction accidentelle en Afrique de maladies de l'HEVEA spécifiques du continent sud-américain (ces îles se situent entre les deux continents et sont indemnes de ces maladies spécifiques puisque l'HEVEA n'y est pas cultivé).

Le Germplasm de Côte d'Ivoire ainsi constitué comporte maintenant une diversité de provenance assez large. Cette collection se compose de la façon suivante :

* <u>Clones issus de sélection :</u>			
. d' Extrême-Orient	:	168	génotypes
. d' Amérique latine	:	47	"
* <u>Clones issus de prospection:</u> (choix d'arbres exceptionnels de la forêt)			
. du Pérou	:	18	"
. de Colombie	:	24	"
. du Brésil :			
- Acre	:	40	"
- Rondonia	:	65	"
- Mato Grosso	:	100	"
- Amazonas	:	24	"
* <u>Génotypes issus de prospection :</u> (matériel issu de graines tout-venant)			
. de Colombie	:	200	"
. du Brésil :			
- Acre	:	1 004	"
- Rondonia	:	835	"
- Mato Grosso	:	533	"

Certaines de ces prospections ont été réalisées dans le cadre de l'IRRDB (International Rubber Research and Development Board).

Pour conclure sur cette activité d'enrichissement en ressources génétiques, les opérations mises en oeuvre ont été menées à terme, ceci malgré toutes les difficultés d'organisation de collecte, de transport de matériel végétal et de relations entre équipes éloignées géographiquement.

Il reste à mener à bien, en 1988-89, une opération de transfert dans les deux sens entre la Côte-d'Ivoire et la Malaisie, pays détenteurs des collections internationales IRRDB pour leur continent réciproque.

Il convient cependant de garder à l'esprit que la forêt amazonienne est un immense territoire et que ce réservoir génétique est sans doute très loin d'avoir livré toutes ses richesses, et que les sélectionneurs devront rester attentifs à toute opportunité de nouveaux enrichissements.

Nous verrons par la suite que les études de base portant sur la variabilité génétique des collections ainsi constituées, permettent d'avoir une première idée sur la structure des populations d'HEVEA dans leur aire d'origine. Si d'autres missions de prospection de matériel végétal étaient organisées dans le futur, ces nouvelles connaissances seraient fort utiles à leur conception et leur réalisation sur le terrain.

Les diverses prospections réalisées dans le centre d'origine de l'HEVEA ont permis d'augmenter la base génétique pour l'amélioration de l'espèce de plusieurs milliers de génotypes. En vue d'une prochaine utilisation en sélection, une évaluation de ce nouveau matériel était particulièrement indispensable pour :

1. attester de l'enrichissement génétique apporté par les prospections ;
2. comparer les différents niveaux de variabilité dans les aires de collecte ;
3. constituer quelques groupes homogènes les plus distants entre eux.

Différentes approches méthodologiques ont été retenues :

- * L'étude biométrique de la morphologie foliaire.
- * L'électrophorèse.
- * Les observations agronomiques.

Le paragraphe suivant fait le point sur les travaux concernant la morphologie foliaire.

2. ETUDE DE LA VARIABILITE GENETIQUE DU
GERMPLASM HEVEA.

2.1. Biométrie de la Variabilité Foliaire.

Le sélectionneur peut constater de visu qu'il existe une grande variabilité morphologique entre les clones issus des nouvelles prospections. Mais il s'agit de traduire cette variabilité par des mesures quantitatives pour en faire un véritable outil, ce qui implique, compte tenu du grand nombre d'observations réalisées, d'utiliser les méthodes modernes de l'Analyse des Données.

Pour dire un mot de ces méthodes de biométrie, il est bon de rappeler que la théorie en a été établie à la fin du siècle dernier, mais que les mathématiciens de l'époque n'avaient que leurs mains et leur cerveau pour travailler. La complexité des calculs faisait que ces théories ne pouvaient être mises en oeuvre faute de moyens technologiques. L'ordinateur a fait sauter le verrou et on assiste à l'heure actuelle à une utilisation de plus en plus courante de cet outil.

Une mise au point est nécessaire à ce niveau. En effet, des auteurs prétendent que l'on peut appréhender la qualité d'un clone en mesurant certains paramètres simples comme l'angle d'insertion des nervures, le nombre de glandes sur la feuille ou la quantité de latex exudée du pétiole. Pour notre part, nous ne chercherons pas à prédire la qualité du matériel par cette étude. Ces critères ne présument pas du tout de leur qualité agronomique. Cette étude se veut uniquement descriptive.

2.1.1. Matériel.

738 génotypes ont été étudiés à partir de clones cultivés (clones Wickham), des clones issus des deux prospections effectuées en 1974 et 1981 dans le Bassin Amazonien et des hybrides Wickham - prospection 1974 (Tableau No. 1). Trois plantes par génotype et une feuille par plante ont été analysées.

Le matériel récolté au cours des prospections correspond soit à du bois de greffe pour la première, soit à des graines pour la seconde. Les graines ont été ramassées dans 57 localités dépendant de 17 districts et 3 états (Tableau No. 2).

Tableau No. 1 :

Origine du Matériel étudié.

Matériel	Origine	Clones
Wickham	Tapajos	24
Prospection 1974	Brésil : Rondonia	6
	Acre	6
	Pérou	12
Wickham x Prospection	Guatémala	12
Prospection 81	Brésil : Rondonia	155
	Mato Grosso	196
	Acre	315

Tableau No. 2 :

Distribution géographique de la prospection 81.

Etats	Districts	Localités
Acre	6	21
Rondonia	7	12
Mato Grosso	4	24

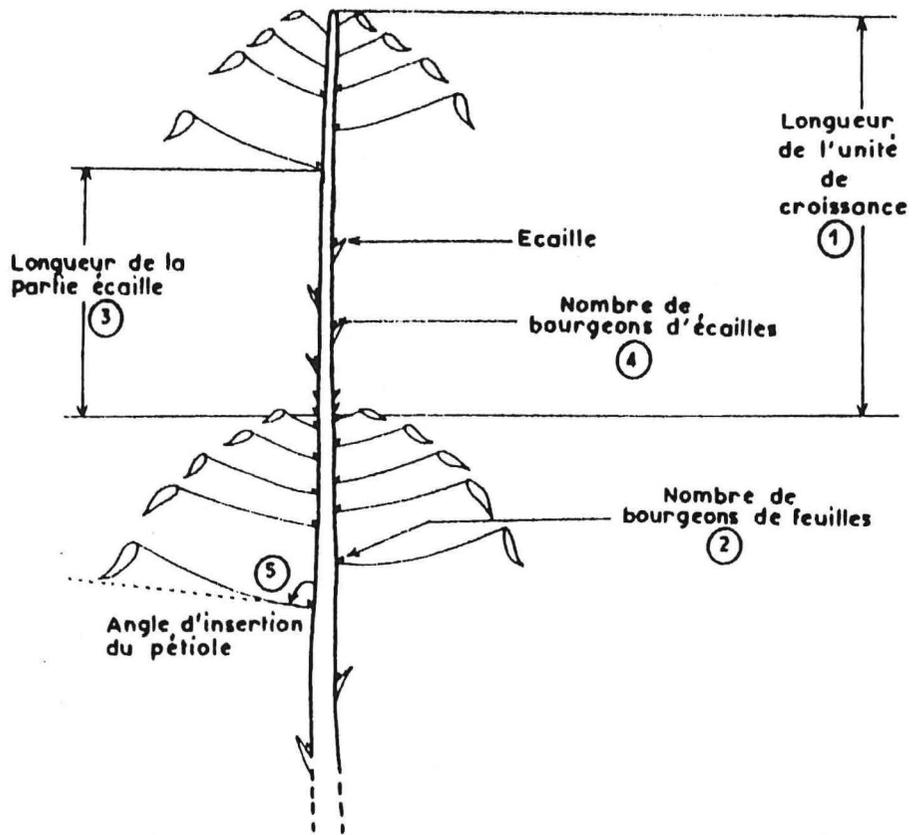


Fig. 1 - Mesures caractéristiques de la tige

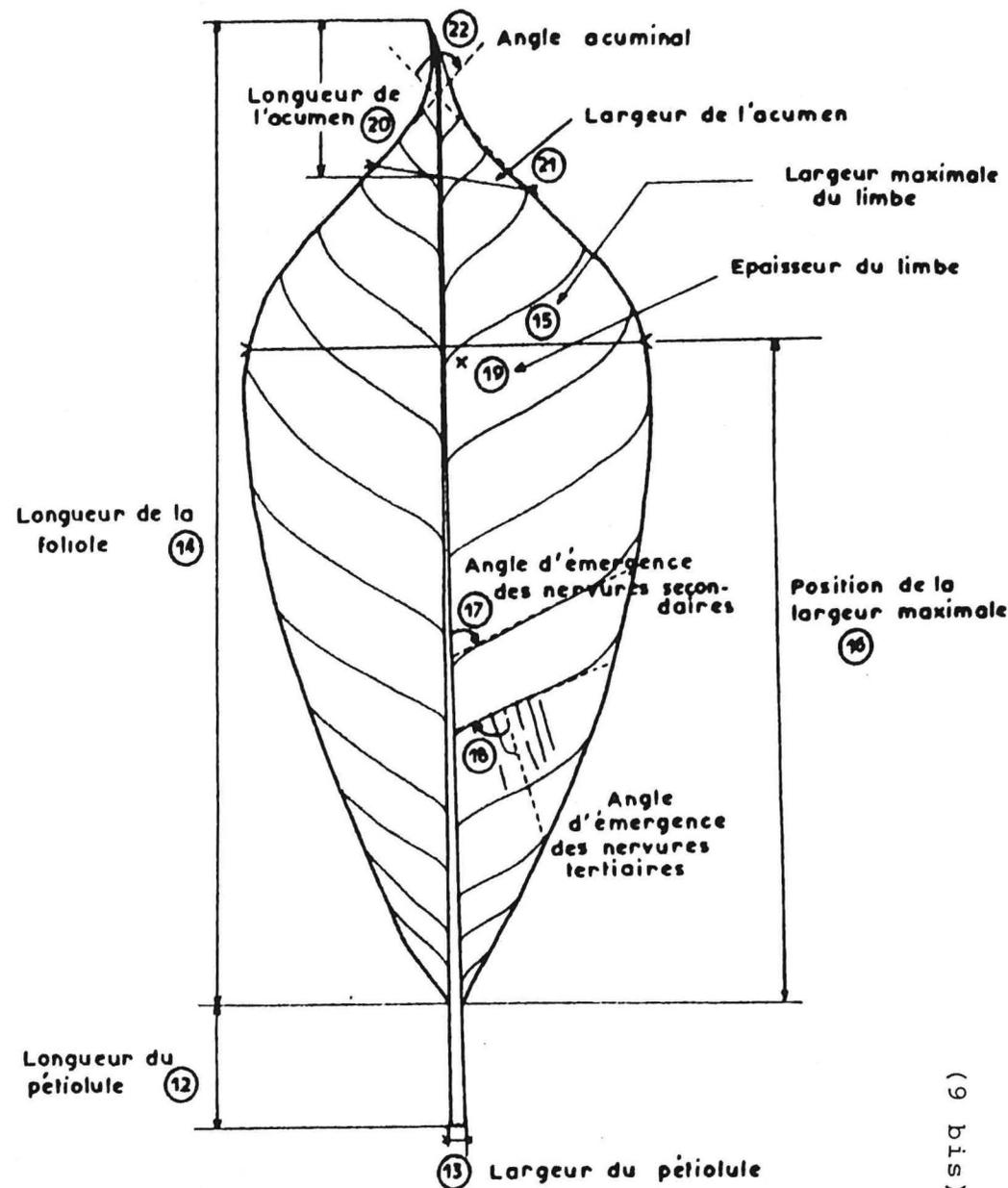
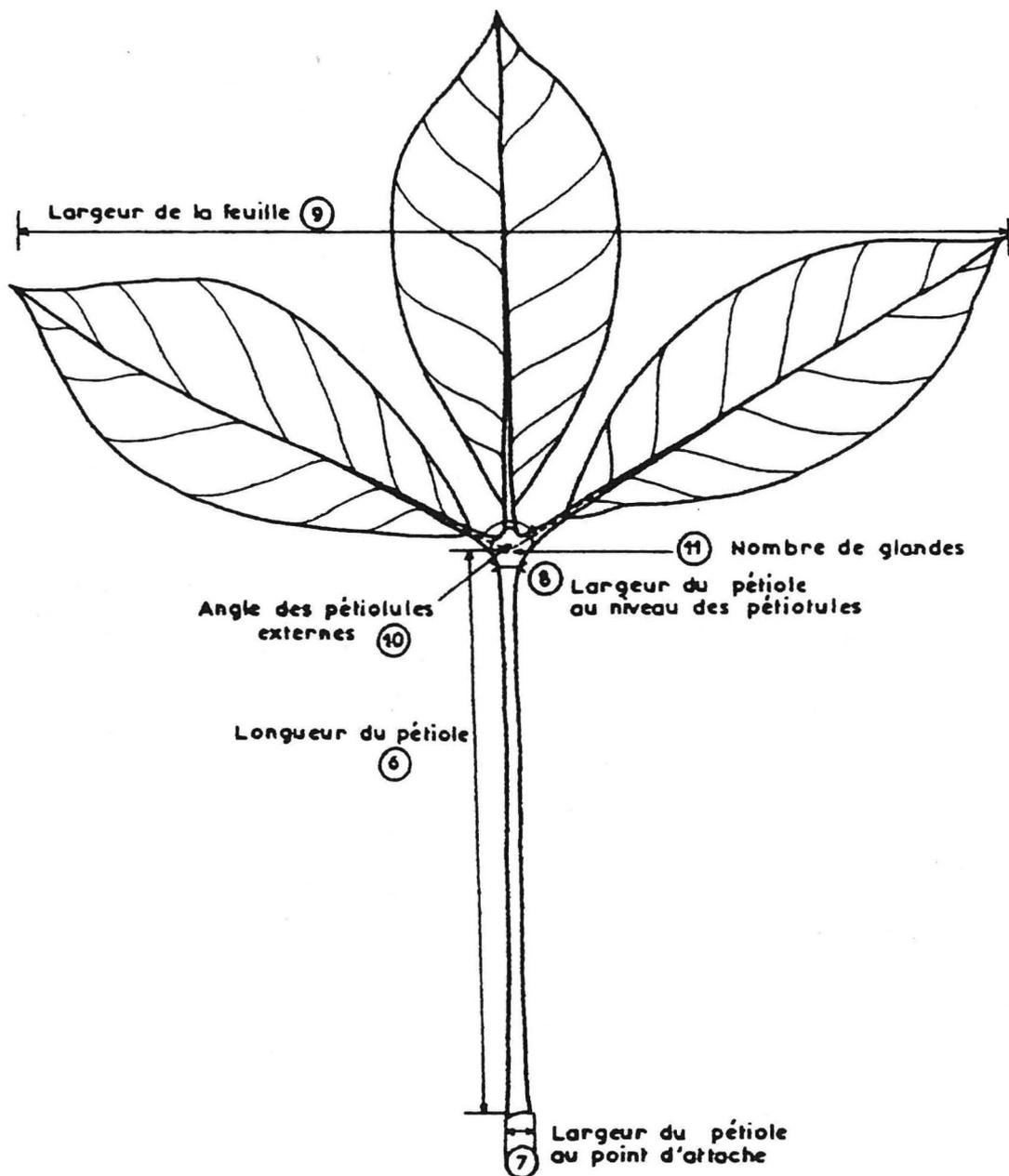


Fig. 2 - Mesures caractéristiques de la foliole



- MESURES CARACTERISTIQUES DE LA FEUILLE .

Figure 3

2.1.2. Méthodes.

Deux types d'analyses ont été utilisées :

- * Des analyses de variance hiérarchisée pour chaque variable; qui permettent d'apprécier la part de chaque niveau dans la variabilité totale du descripteur (variabilité due à l'état, le district, la localité ou le clone).
- * Des analyses discriminantes multivariées qui recherchent les combinaisons de variables qui discriminent le mieux des groupes définis a priori.

2.1.3. Etude de la Prospection 1974.

Les "analyses discriminantes pas à pas" ont déterminé les variables les plus discriminantes ; il s'agit surtout des mesures de longueur de l'unité de croissance (LPF, LPE), du pétiole (LOP) et de largeur du pétiole (LPP), du limbe (LAM), mais aussi du nombre de glandes (GLA). Les clones Wickham présentent des unités de croissance (surtout la partie portant les feuilles) plus longues et un plus grand nombre de glandes, des feuilles plus minces et plus courtes que les clones prospectés. Les hybrides Wickham*Prospection ont des caractéristiques intermédiaires.

La position centrale des hybrides se vérifie par les distances de Mahalanobis et le premier plan de l'analyse discriminante (Figure No. 4).

* Distances de Mahalanobis.

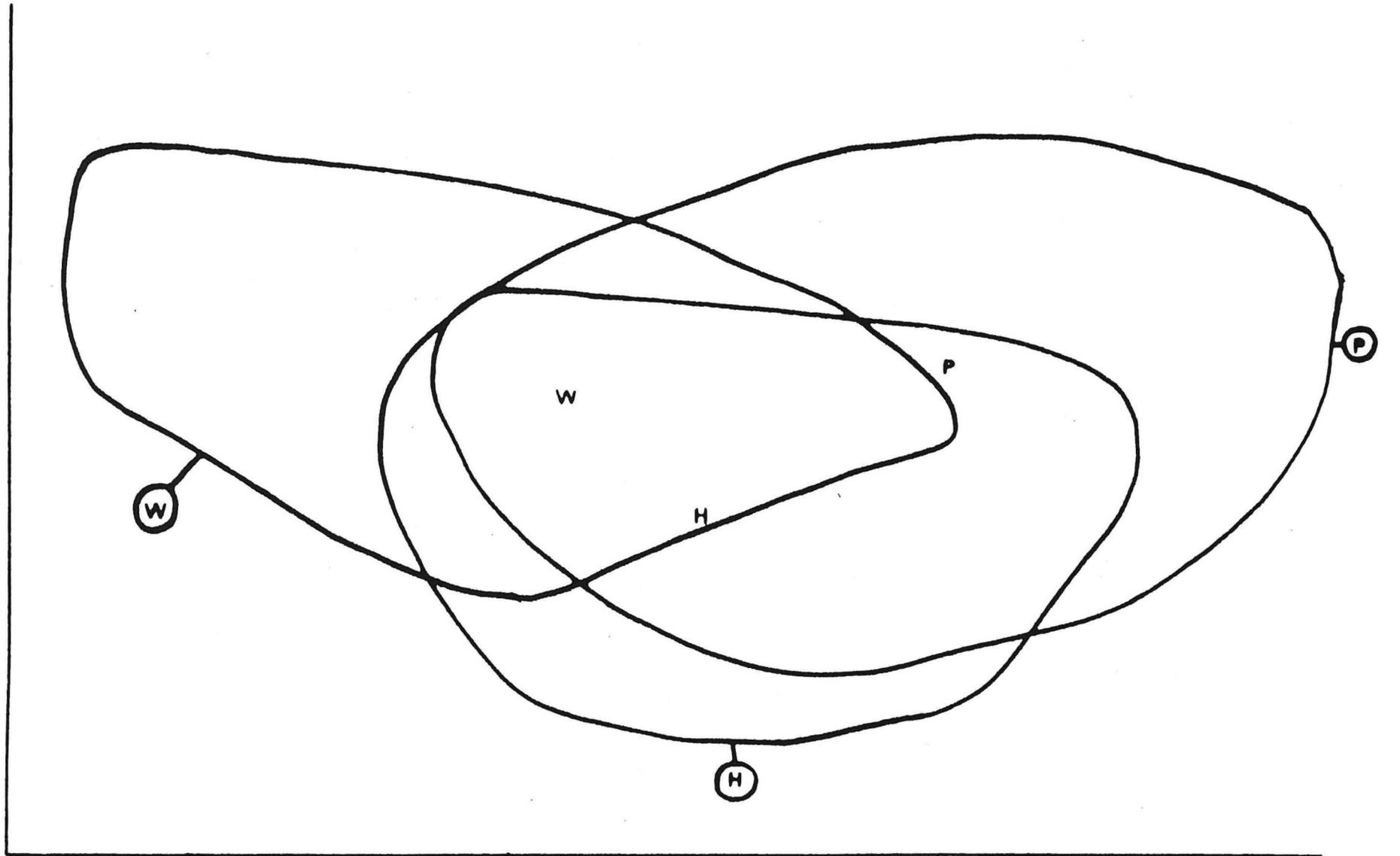
	<u>Prospection</u>	<u>Hybrides</u>	<u>Wickham</u>
. Prospection		1,77	2,20
. Hybrides			1,71

Il est aussi possible de tester le pourcentage de clones bien classés dans son groupe d'origine : Wickham, Hybrides ou Prospection.

* Pourcentages d'individus bien classés.

	<u>Prospection</u>	<u>Hybrides</u>	<u>Wickham</u>
. Prospection	72 %	16,1 %	11,9 %
. Hybrides	19,3 %	62,3 %	18,4 %
. Wickham	12,4 %	21 %	66,6 %

facteur 2



facteur 1

Figure 4 : Analyse discriminante sur les Prospections de 1974 (P), les clones Wickham (W) et leurs Hybrides (H).

2.1.4. Etude de la Prospection 1981.

Trois échantillonnages ont été effectués, les deux premiers permettent d'obtenir des effectifs équivalents dans chaque district et de tester la validité de regroupement des clones selon leur origine géographique ; le troisième sert de groupe test.

L'analyse de variance hiérarchisée pour chaque variable estime les effets de l'état, du district à l'intérieur de chaque état, de la localité intra-district et du clone intra-localité. Les effets ne sont en général pas significatifs. De 0 % à 13,4 % de la variabilité totale peuvent être attribués à l'effet état, alors que 50 % en moyenne sont dus aux clones.

Les coefficients de variation des caractères mesurés varient de 9 à 33 % avec une moyenne voisine de 17 % ; seul le nombre de glandes (GLA) présente un coefficient supérieur à 30 %, limite générale admise chez les plantes pérennes. Ceci est un moyen de contrôler l'hétérogénéité intra-clone.

Aucun descripteur n'apparaissant très discriminant selon l'origine géographique, des analyses discriminantes ont été utilisées dans le but de trouver des combinaisons de variables plus efficaces dans la différenciation.

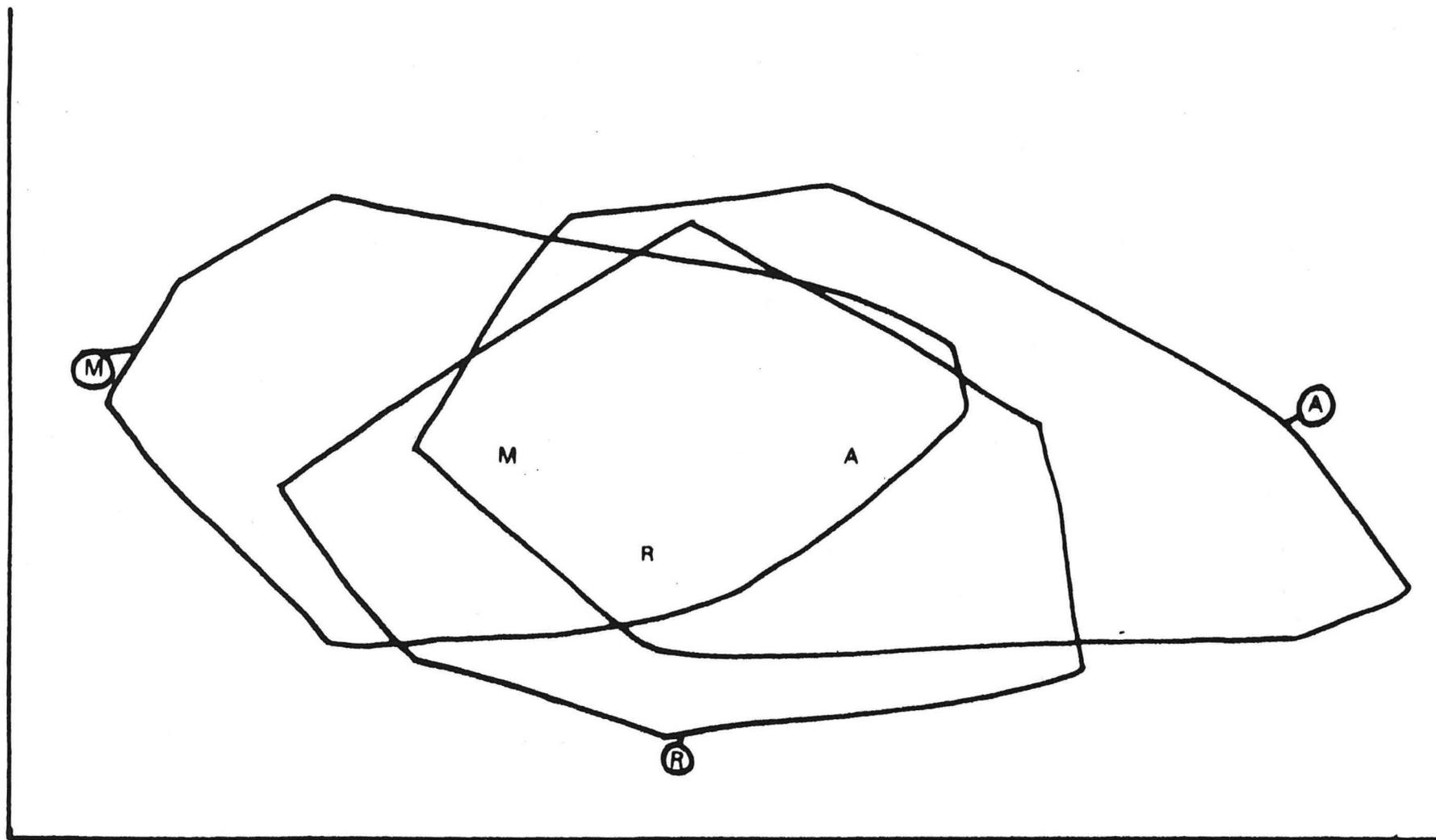
Dans le cas de la prospection de 1981, les variables les plus discriminantes concernent toujours les longueurs de l'unité de croissance portant les feuilles, du pétiole (LPF, LOP) et le nombre de glandes (GLA), mais aussi les nombres de bourgeons, d'écaillés et de feuilles (NBE, NBF). Les distances de Mahalanobis, quant à elles, séparent nettement l'ACRE du MATO GROSSO avec le RONDONIA se situant entre les deux.

* Distances de Mahalanobis.

	<u>Acre</u>	<u>Rondonia</u>	<u>Mato Grosso</u>
. Acre		1,38	2,17
. Rondonia			1,39

Les distances, bien que significatives, ne sont en fait pas très représentatives de la dispersion des clones sur le plan de l'analyse discriminante (Figure No. 5). Une très grande variabilité apparaît, mais il semble, malgré quelques tendances, assez difficile de la structurer. L'ACRE se différencie, sur le premier facteur canonique, par des plus fortes valeurs pour les caractères discriminants, alors que le RONDONIA se distingue légèrement sur le deuxième facteur.

facteur 2



facteur 1

Figure 5 : Analyse discriminante sur les Prospections de 1981
Acre (A) Rondonia (R) Mato Grosso (M).

* Position du troisième échantillon.

L'analyse discriminante permet de positionner des individus tests dans des groupes déterminés a priori. Ainsi, les premiers échantillons ont servi à former trois groupes correspondant aux états prospectés. Le troisième échantillon a été testé par rapport aux groupes.

* Affectation du troisième échantillon dans leur groupe.

. Groupes de base (1er et 2ème échantillons)

	<u>Acre</u>	<u>Mato Grosso</u>	<u>Rondonia</u>
- Acre	70,5 %	8,7 %	8,7 %
- Mato Grosso	9,3 %	68,3 %	22,4 %
- Rondonia	27,5 %	23,5 %	49,0 %

. Groupes tests

	<u>Acre</u>	<u>Mato Grosso</u>	<u>Rondonia</u>
- Acre	59,5 %	11,2 %	29,3 %
- Mato Grosso	17,8 %	64,0 %	18,2 %
- Rondonia	31,1 %	23,5 %	45,4 %

En moyenne, 63,6 % des clones sont situés dans leur groupe d'origine, avec cependant le RONDONIA qui paraît particulièrement hétérogène. Mais seulement 56,3 % des clones tests sont bien classés dans leur état. Il est pratiquement impossible de regrouper des clones selon leur origine géographique dans la prospection de 1981. En revanche, des différences indiscutables existent entre cette prospection et celle de 1974 ainsi que les clones Wickham et les Hybrides (Figure No. 6).

. Groupes de base

	<u>Acre</u>	<u>Mato Grosso</u>	<u>Rondonia</u>	<u>Wickham</u>
- Acre	76,65 %	6,58 %	16,77 %	0,0 %
- Mato Grosso	7,25 %	83,19 %	9,56 %	0,0 %
- Rondonia	16,27 %	16,80 %	66,93 %	0,0 %
- Wickham	0,0 %	0,90 %	0,0 %	99,1 %

Dans le précédent tableau, le groupe Wickham correspond à la fois aux clones cultivés, à la prospection de 1974 et à leurs Hybrides. Ce groupe particulièrement homogène se distingue par des fortes valeurs de largeur de pétioles et de longueur du limbe.

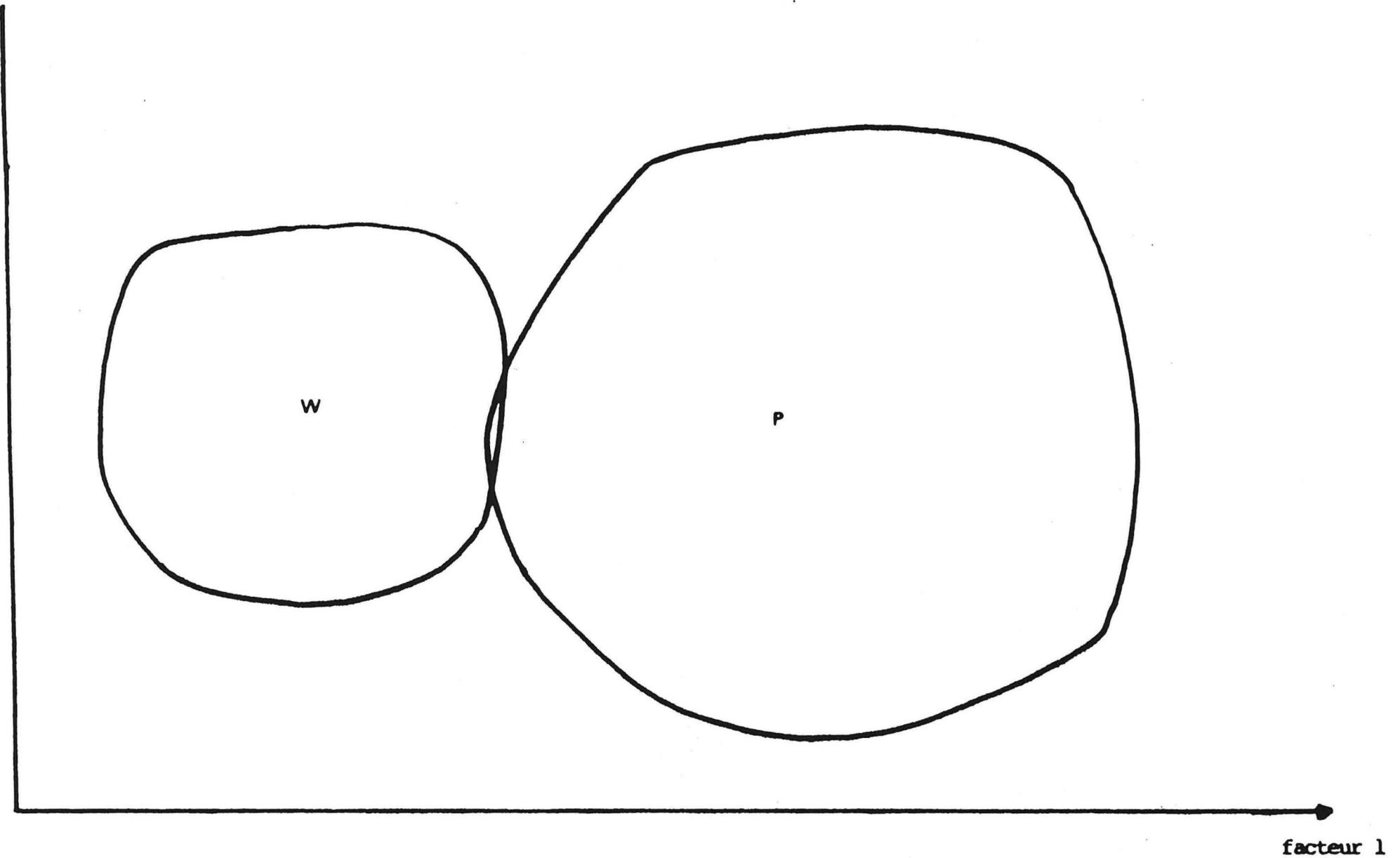


Figure 6 : Analyse discriminante sur les prospections de 1981 P
et l'ancien matériel (Wickham, Prospections de 1974 et les Hybrides) W

Ces variables, connues pour être dépendantes du nombre de recépages, ont été enlevées des analyses. Dans ce cas, ce sont les nombres de glandes et de bourgeons qui créent la différence. Les distances de Mahalanobis résument bien ces résultats.

* Distances de Mahalanobis.

	<u>Acre</u>	<u>Rondonia</u>	<u>Mato Grosso</u>	<u>Wickham</u>
- Acre		1,20	1,89	5,11
- Rondonia			1,22	5,04
- Mato Grosso				4,73

2.1.5. Discussions.

Une très forte variabilité apparaît dans les diverses prospections. Celle-ci est assez difficile à structurer selon les origines géographiques. Toutefois, quelques résultats intéressants ont été mis en évidence :

* Une nette différenciation existe entre les clones cultivés et la prospection de 1974, les hybrides se situant entre les deux origines. Ceci reste valable lorsque l'on compare la prospection de 1981 avec les clones cultivés. En revanche, le contraste entre les deux prospections est plus suspect. L'hypothèse d'un âge physiologique plus avancé pour la prospection de 1974 (qui a été récolté sous forme de bois de greffe et non de graines) a déjà été envisagée et peut être vérifiée par l'étude des clones récoltés en bois de greffe lors de la prospection de 1981. Mais il pourrait s'agir aussi d'une adaptation à la Côte d'Ivoire qui atténuerait les différences morphologiques, sans toutefois les estomper complètement.

* L'ACRE et le MATO GROSSO montrent une homogénéité intra-état plus importante que celle du RONDONIA. Cependant, il n'est pas envisageable de regrouper systématiquement les clones en fonction de leur état d'origine. Les clones ne sont bien classés que dans environ 50 % des cas, ce qui, bien entendu, est tout à fait insuffisant. En revanche, un troisième type d'analyse peut être envisagé. Il s'agirait de regrouper les clones, non plus en tenant compte de leur appartenance à un état, mais simplement en fonction de leur ressemblance morphologique. Des méthodes de classification ascendante, de proximité ou des nuées dynamiques sont appropriées à ce type de recherche.

* Jusqu'à 50 % de la variabilité totale s'exprime au niveau clone intra-localité, quel que soit l'état considéré. Il semble donc inutile de prospecter de nombreuses localités à l'intérieur d'un état, mais plutôt peu de localités, mais dans plusieurs régions très distantes les unes des autres.

2.2. L' Electrophorèse.

2.2.1. Méthodologie.

JUSTIFICATION DE L' ELECTROPHORESE

Technique rapide :

- . caractérisant un grand nombre d'individus,
- . applicable à des individus très jeunes,
- . définissant des caractères stables, indépendants du milieu,

par opposition aux techniques lentes :

utilisant les paramètres morphologiques, physiologiques, agronomiques.

Pour répondre à ces différents besoins que sont l'évaluation de l'enrichissement et la réalisation de croisements, on a recherché une méthode rapide :

- . permettant de caractériser un grand nombre d'individus en un minimum de temps et d'espace,
- . applicable à un stade précoce du développement de la plante,
- . qui mesure des caractères stables, indépendants du milieu.

Les techniques utilisant les caractères morphologiques, physiologiques ou agronomiques sont longues, malgré l'utilisation de critères de sélection précoce.

En revanche, l'électrophorèse est une méthode qui a toutes les qualités que nous venons de décrire : elle est rapide, permet d'analyser beaucoup d'individus à la fois, peut s'appliquer sur tous les organes de la plante et à tous les stades de développement. Elle mesure des caractères stables. C'est une technique qui peut répondre à tous nos besoins.

C'est une technique de séparation et d'identification de molécules chargées électriquement, des enzymes, sous l'influence d'un champ électrique, dans un support donné ; sur un diagramme apparaissent des bandes ou caractères électrophorétiques qui sont des formes multiples d'un même enzyme ayant la même fonction catalytique, mais chargées différemment. Ces formes sont des caractéristiques génétiques de l'individu.

Ce diagramme peut être schématisé de la façon suivante : les individus sont notés 1, 2, 3 ... en abscisses, et les caractères en bandes notés a, b, c, d en ordonnées. Chaque caractère est défini par la présence d'une bande a chez l'individu 1 noté 1 ou l'absence de la bande a chez l'individu 2 noté 0. Cette codification absence-présence de bande, permet de décrire tous les individus et de les comparer. Ceci peut être fait pour une enzyme 1 donnée, puis pour de nombreuses enzymes.

Cette méthode nous permettra de :

- . comparer des individus entre eux,
des populations,
des clones,
- . décrire et faire une utilisation rationnelle des collections, de faire une tentative d'identification clonale,
- . contrôler les croisements ; en étudiant la descendance, on peut vérifier si les parents présumés sont effectivement les parents,
- . rechercher une liaison entre les caractères électrophorétiques et les caractères agronomiques intéressants pour le calcul des distances génétiques entre des parents ; on peut essayer de prédire la valeur hétérotique de la descendance.

Ces différentes utilisations ont déjà été appliquées avec succès sur diverses plantes.

Cette technique qui semble simple à la description, a nécessité de longues manipulations de mise au point, que ce soit pour :

- . l'échantillonnage,
- . le conditionnement du matériel végétal,
- . la mise en évidence et la révélation des enzymes.

Une trentaine d'enzymes ont été essayées ; 11 peuvent être mises en évidence avec succès. Chaque enzyme est représentée par 1 à 10 bandes ou caractères. 20 individus peuvent être étudiés par jour pour 10 enzymes, ce qui représente 10 à 100 caractères par individu.

L'électrophorèse est un programme à long terme, c'est un outil permanent de la sélection. Il doit pouvoir nous aider à déterminer l'échantillonnage adéquat pour les futures prospections. A l'heure actuelle, les résultats sont encourageants et prometteurs. Une description des principaux clones utilisés en sélection et de quelques clones issus de la prospection de 1974 a été réalisée.

--

Les résultats les plus marquants obtenus au cours de cette étude vont maintenant être présentés :

- * Les enzymes étant directement liées à l'ADN, nous pouvons en étudier le déterminisme génétique et donc caractériser les clones par leur génotype. Une identification clonale peut alors être tentée.
- * La variabilité des clones Wickham sera évaluée et comparée à celle du Germplasm.
- * Enfin, l'étude de la structure génétique des populations naturelles donnera des indications sur la manière dont s'effectuent les croisements dans l'habitat naturel de l'Hévée.

Ces quelques points seront une aide dans la définition d'un schéma de sélection.

2.2.2. Déterminisme génétique.

A partir de l'étude de 80 descendants et de 4 croisements contrôlés, nous allons déterminer le mode d'hérédité de 11 enzymes. Pour cela, nous devons obligatoirement tenir compte de l'incertitude qui subsiste sur le degré de ploïdie de l'HEVEA dans nos hypothèses de déterminisme.

Nous ne savons toujours pas si l'Hévéea est un diploïde, un auto-tétraploïde (duplication du même génome) ou un allo-tétraploïde (présence de 2 génomes différents).

Les résultats montrent que le contrôle génétique de 9 systèmes enzymatiques a été élucidé. Des problèmes d'interprétation subsistent pour 2 des enzymes étudiées. Les ségrégations montrent que l'HEVEA n'est certainement pas un auto-tétraploïde, mais soit un diploïde, soit un allo-tétraploïde se rapprochant du comportement d'un diploïde.

L'étude du déterminisme génétique est actuellement complétée par l'analyse de nouveaux croisements en choisissant les familles comportant un clone issu de la prospection 1981 comme parent mâle. Ceci nous permettra d'élucider le déterminisme génétique de nouvelles enzymes, et ainsi d'étudier le mode de reproduction dans les jardins grainiers.

Par ailleurs, afin d'obtenir une meilleure approche du niveau de ploïdie de l'HEVEA, il serait souhaitable de comparer l'expression des enzymes au niveau génétique sur différentes espèces d'HEVEA, mais aussi sur divers genres de la famille des Euphorbiacées, dont certains sont déjà certifiés allo-tétraploïdes.

Les figures No. 7 et 8 donnent quelques exemples de zymogrammes et leur interprétation.

ESTERASE

LOCUS	ALLELES	PATTERNS			STRUCTURE MONOMER
		PB260 RRIM703	PB235 MDX17 GT1 RO61	RO56	
A	} 3	—			
		} 2			—
			1	—	—
	GENOTYPES	ALA3	ALA1	ALA2	

ACID PHOSPHATASE

LOCUS	ALLELES	PATTERNS		STRUCTURE DIMERE
		MDX17 RO56 RO61	PB235 PB260 RRIM703 GT1	
A	} 2		—	← HETERODIMERE INTRA-LOCUS
		1	—	
	GENOTYPES	ALA2	ALA1	

**ELECTROPHORETIC PATTERNS OF
HEVEA brasiliensis AND
GENETIC INTERPRETATION**

Figure No. 7

GLUTAMATE OXALOACETATE TRANSAMINASE

LOCUS	ALLELES	PATTERNS				STRUCTURE DIMERE
		PB260	RO56	PB235 MDX17	RO61	
A	2	—	—	—	—	← HETERODIMERE
			—		—	
			—		—	
B	3			—		← HETERODIMERE
				—		
				—		
B	2	—	—	—	—	← HETERODIMERE
					—	
C	1	—	—	—	—	
					—	
GENOTYPES		A2A2	A1A2	A2A2	A1A2	
		B2B2	B2B2	B2B3	B1B2	
		C1C1	C1C1	C1C1	C1C1	

ALCOHOL DEHYDROGENASE

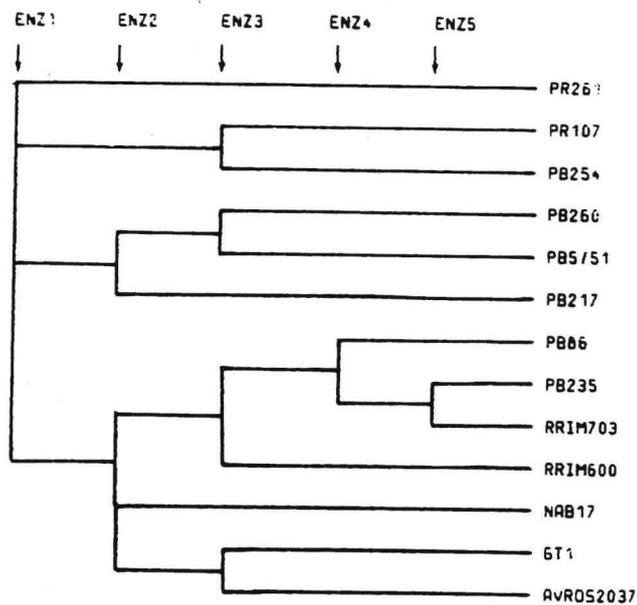
LOCUS	ALLELES	PATTERNS			STRUCTURE DIMERE
		PB260 PB235 RRIM703	RO61 RO56	MDX17	
A	2		—	—	← HETERODIMERE
			—	—	
	1	—	—		
GENOTYPES		A1A1	A1A2	A2A2	

ELECTROPHORETIC PATTERNS OF**HEVEA brasiliensis AND****GENETIC INTERPRETATION**

2.2.3. Identification de Clones.

Une fois le déterminisme génétique des enzymes bien connu, il est possible de caractériser les clones Wickham par leur génotype. On dispose là d'un outil intéressant pour détecter les erreurs de greffage dans les jardins à bois et on espère prochainement pouvoir certifier de l'origine d'un clone.

Il suffit pour cela de prendre en jardin à bois une feuille de chaque clone, de la passer en électrophorèse. Après révélation spécifique de chaque enzyme, le génotype du clone est déterminé. Appliquée aux clones les plus utilisés dans le monde, cette technique a permis de différencier, à partir de 5 enzymes, codées par 5 gènes, les 13 clones étudiés (Figure No. 9) :



IDENTIFICATION DE 13 CLONES WICKHAM

Figure No. 9

2.2.4. Variabilité du Germplasm.

L'étude du germplasm a porté sur la prospection réalisée en 1981 dans le centre d'origine de l'espèce : 3 états, 13 districts correspondant à 56 localités et environ 5 individus par localité.

Les estimations de la variabilité totale ont montré des différences entre les 3 états. Le MATO GROSSO apparaît comme le plus polymorphe, mais tous ses districts se ressemblent. En revanche, le RONDONIA présente une variabilité moindre, mais des différences entre districts importantes. De plus, la proportion d'allèles à fréquence très faible augmente du MATO GROSSO vers l' ACRE (Tableau 4).

Cette variabilité génétique a été résumée à l'aide d'un dendrogramme réalisé à partir des distances génétiques de Cavalli-Sforza. Une différenciation entre l' ACRE et le MATO GROSSO est clairement démontrée (Figure No.10). Le RONDONIA apparaît plus hétérogène, avec certains de ses districts proches de l' ACRE et d'autres du MATO GROSSO.

	ACRE	RONDONIA	MATO GROSSO
TOTAL VARIABILITY	0.290	0.311	0.451
WITHIN DISTRICT VARIABILITY	94%	73%	93%
BETWEEN DISTRICTS VARIABILITY	6%	27%	7%
RARE ALLELES	41%	34%	23%

Tableau No. 4

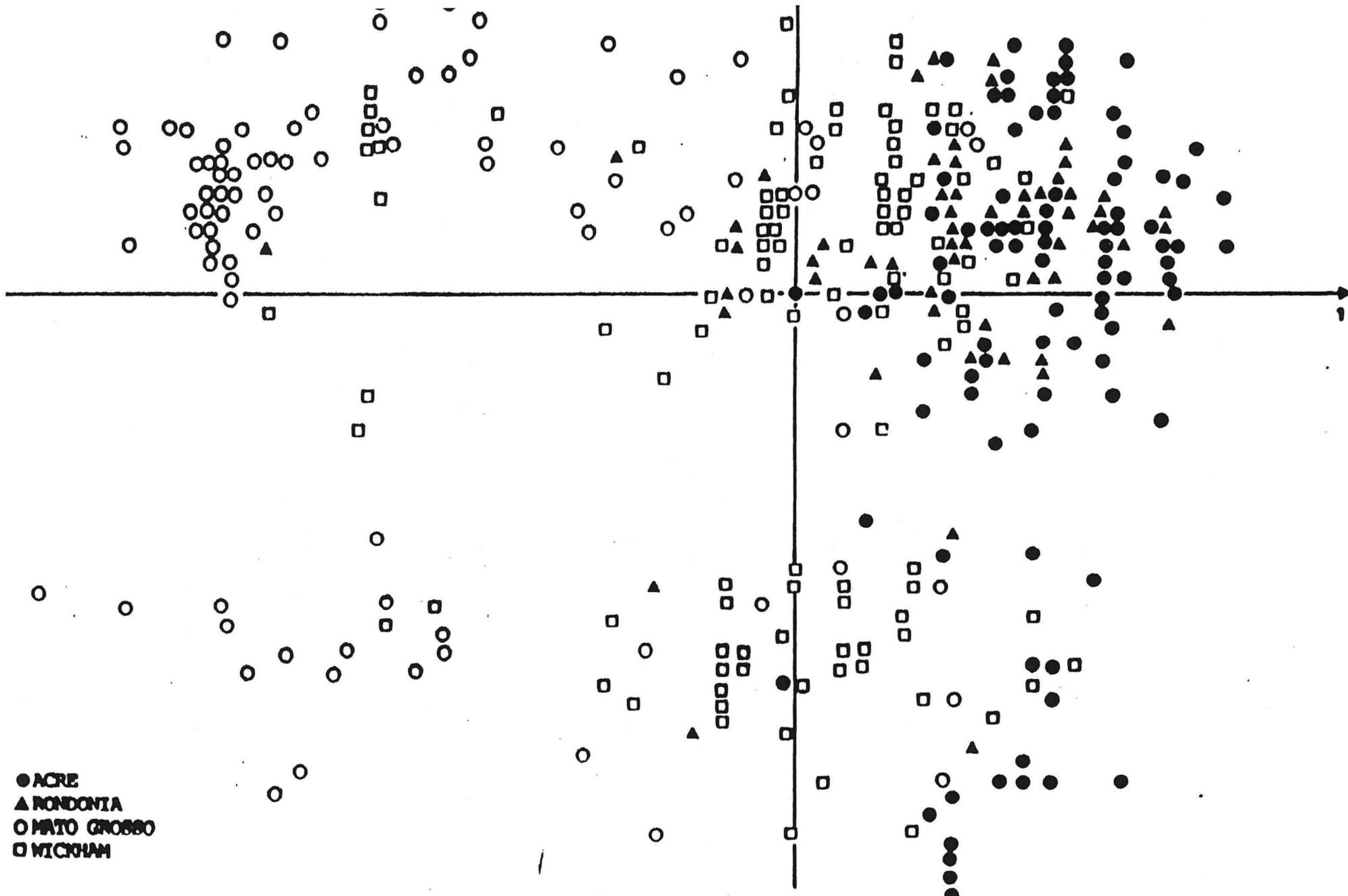
La projection d'individus issus de différentes localisations géographiques sur les axes d'une ACP montre bien que les distinctions selon les origines (entre Etats : Figures No. 11 ; entre Districts : Figures No. 12, 13, 14) n'est pas très forte.

Deux conclusions s'imposent à ce niveau :

- * La tentation était forte pour le sélectionneur de constituer des groupes de par leur origine géographique. Nous avons pu montrer que les populations issues d'Etats différents ne présentaient pas les mêmes caractéristiques, mais il semblerait qu'aucune barrière de migration n'existe entre ces populations et que si le sélectionneur veut constituer des groupes pour répondre à des impératifs de stratégie d'Amélioration, il conviendra de les constituer sur les bases de la connaissance de la variabilité génétique issue de méthodes fines d'analyse (électrophorèse, de protéines, séquençage d'ADN ...).

En ce qui concerne la collection issue des prospections 1981, deux groupes se dégagent bien : 1 et 2 ; les groupes 3 et 4 sont déjà moins significatifs (Figure No. 15).

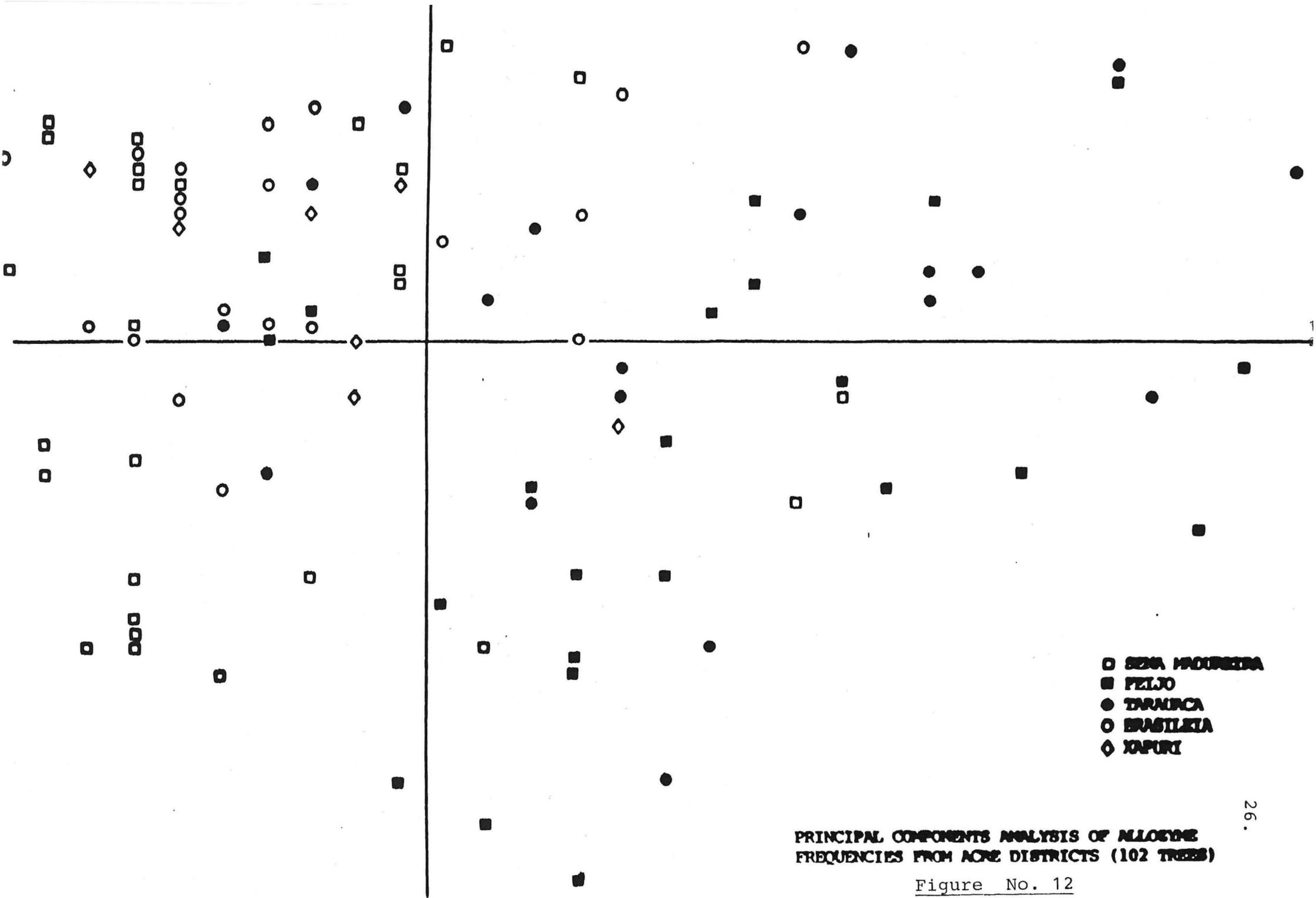
- * La plus grande part de la variabilité se situe à l'intérieur des Districts. Ceci rejoint parfaitement ce qui a été constaté par l'étude du polymorphisme foliaire et les incidences sur l'éventuelle organisation de nouvelles prospections en sont les mêmes : à l'intérieur d'un Etat, il n'apparaît pas nécessaire de se déplacer fréquemment pour explorer des Districts différents ; il semblerait préférable d'exploiter à fond la variabilité disponible sur un nombre réduit de localisations.



● ACRE
 ▲ RONDONIA
 ○ MATO GROSSO
 □ WICHHAM

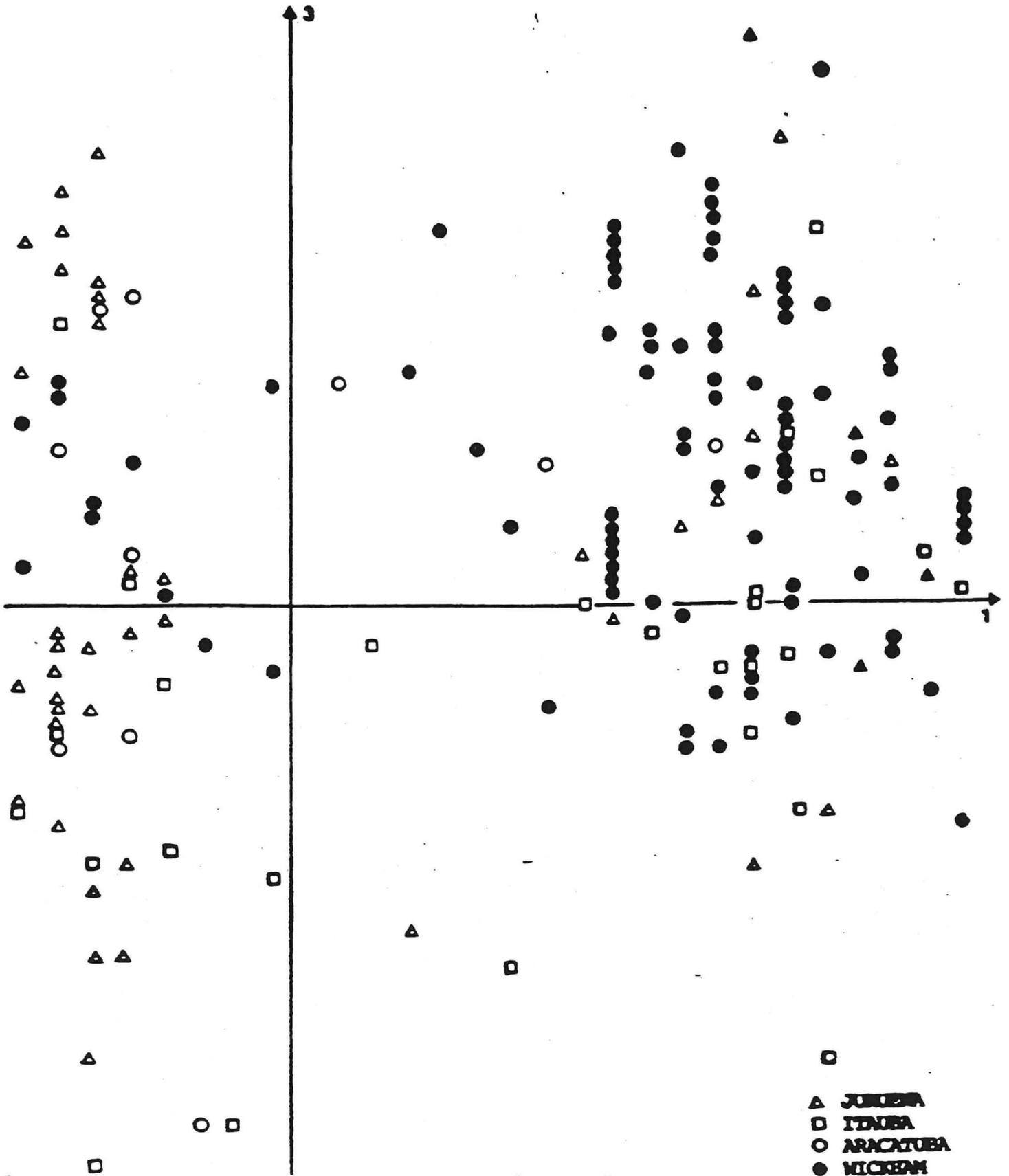
PRINCIPAL COMPONENTS ANALYSIS OF ALLOZYME FREQUENCIES
 FROM GERMPASM AND WICHHAM COLLECTION

Figure No. 11



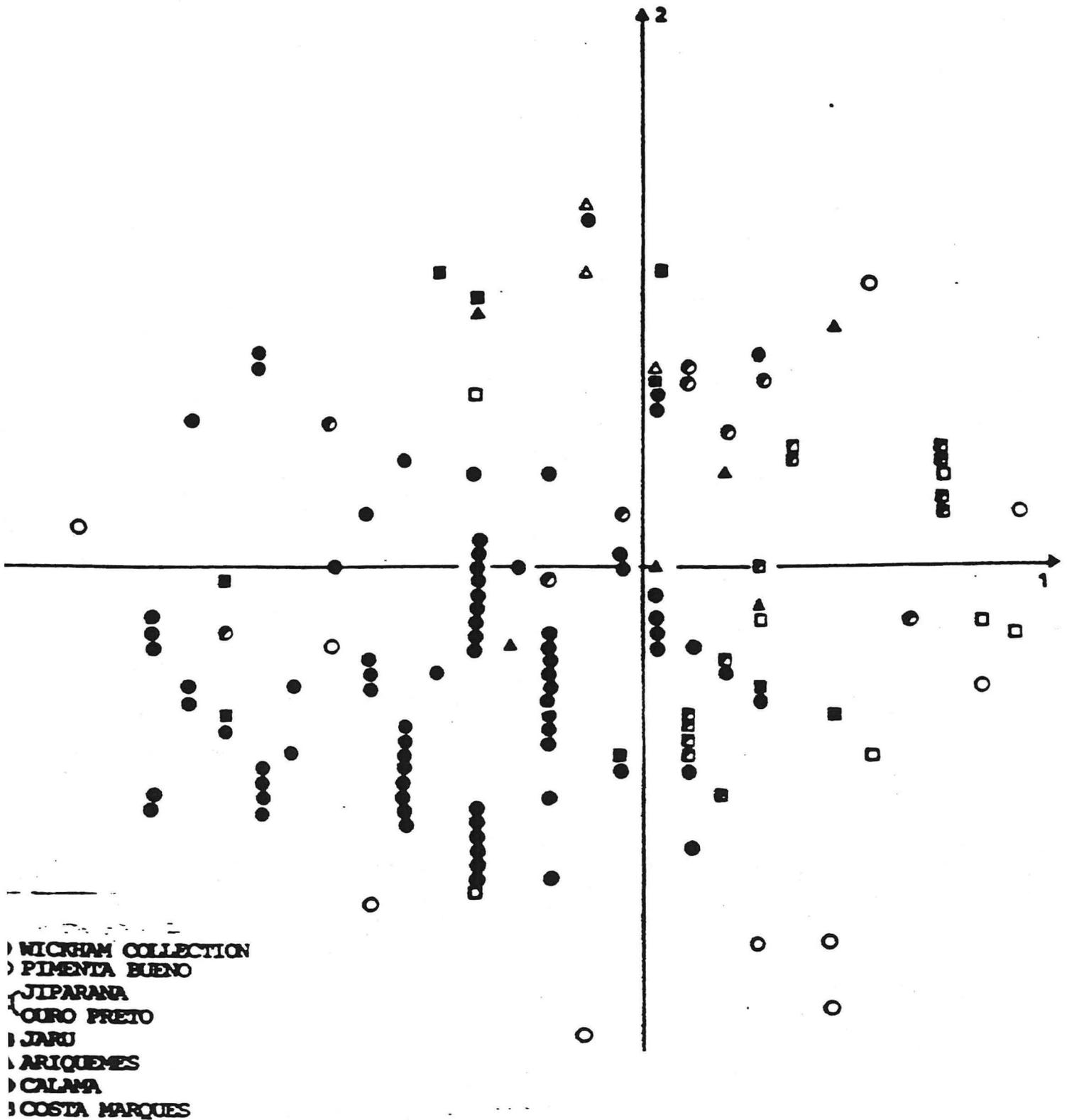
PRINCIPAL COMPONENTS ANALYSIS OF ALLOZYME FREQUENCIES FROM ACRE DISTRICTS (102 TREES)

Figure No. 12



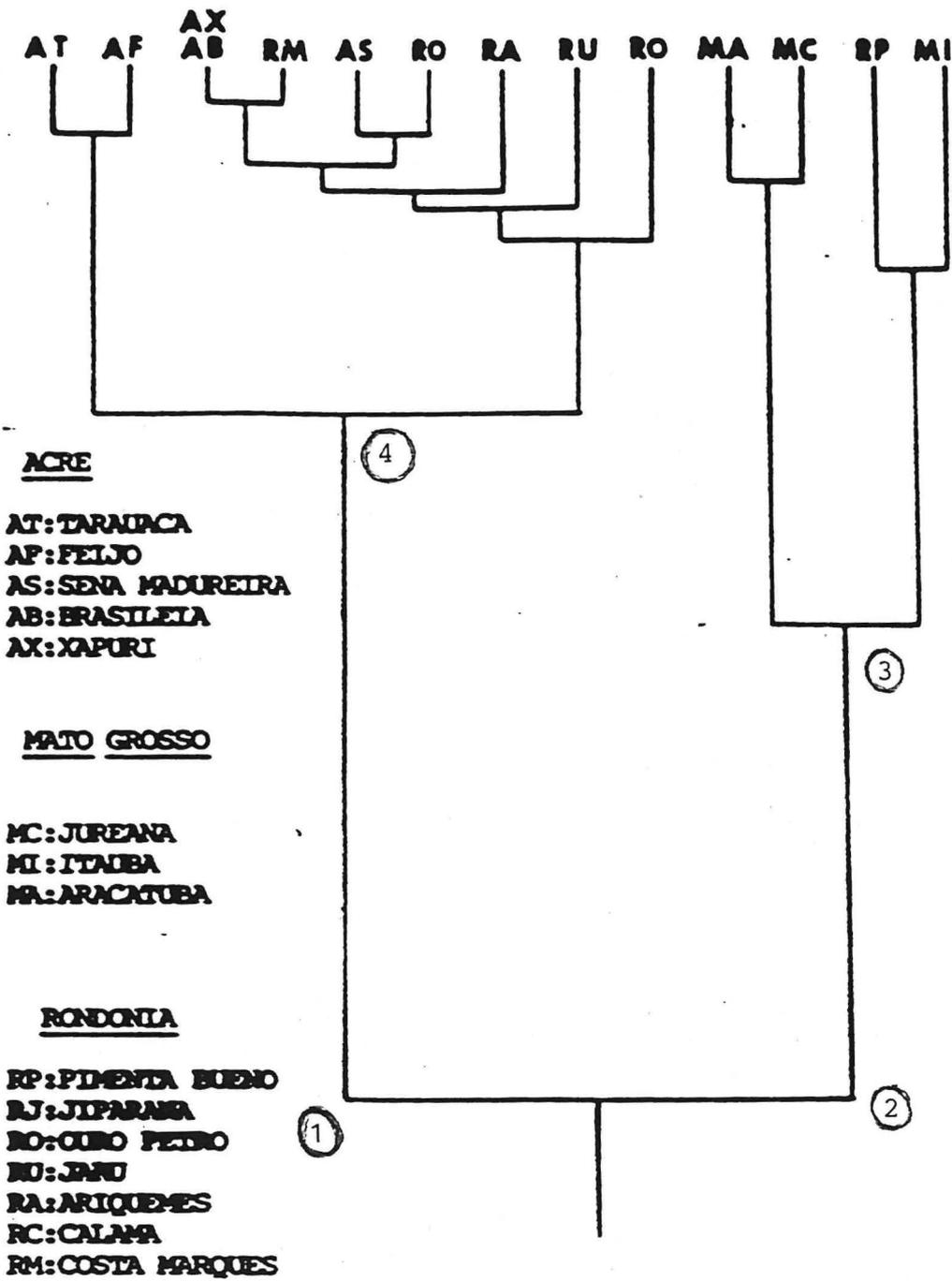
PRINCIPAL COMPONENTS ANALYSIS OF ALLOZYME FREQUENCIES
 FROM MATO GROSSO DISTRICTS (99 TREES) AND WICKHAM COLLECTION (84 CLONES)

Figure No. 13



PRINCIPAL COMPONENTS ANALYSIS OF ALLOZYME FREQUENCIES
 FROM RONDONIA DISTRICTS (63 TREES) AND WICKHAM COLLECTION (84 CLONES)

Figure No. 14



GENETIC DISTANCES (NEI) BETWEEN DISTRICTS

Figure No. 15

2.2.5. Variabilité des clones Wickham.

La variabilité de la collection Wickham, appréciée à partir de 84 clones, est inférieure à celle du Germplasm (analyse des correspondances). De plus, aucun allèle n'est caractéristique des clones Wickham. Cependant, la base de ce matériel est malgré tout assez importante par rapport à ce que l'on pouvait en attendre, compte tenu du pool génétique de départ très restreint et du mode de multiplication végétative par clonage pratiqué.

Il est en effet possible de distinguer 72 groupes, certes peu distincts les uns des autres, parmi les 84 clones analysés. Il convient donc de considérer que les clones Wickham ne doivent pas être laissés de côté dans les programmes d'Amélioration génétique de l'espèce ; ils représentent un type de matériel en état avancé de domestication, présentant une variabilité génétique importante qui n'a pas dû être totalement exploitée.

Tableau No. 5

**ENZYMATIC POLYMORPHISM IN
GERMPLASM AND WICKHAM COLLECTION**

	GERMPLASM		WICKHAM COLLECTION	
	STUDIED	POTENTIAL	STUDIED	POTENTIAL
NUMBER OF LOCI	10	20	9	20
NUMBER OF POLYMORPHIC LOCI	10	19	9	15
NUMBER OF ALLELES	31	59	23	36
NUMBER OF ALLELES PER POLYMORPHIC LOCUS	3.10	3.11	2.55	2.40
EXPECTED HETEROZYGOSITY	0.418		0.362	

2.2.6. Discussion.

Cette technique, dont la mise au point s'est avérée être très délicate, montre maintenant qu'elle permet d'accéder à des résultats très originaux et très importants.

Les perspectives prochaines de ce travail sont d'augmenter le nombre de systèmes enzymatiques, afin d'affiner l'identification clonale et de trouver des marqueurs rares, indispensables à l'étude très novatrice du mode de reproduction en pollinisation libre (d'une très grande importance pour la conception de jardins grainiers), mais aussi d'élargir l'échantillonnage des nouvelles ressources génétiques pour estimer la variabilité au niveau des localités prospectées et initier un schéma de sélection après avoir défini des groupes homogènes distants génétiquement.

3. EVALUATION AGRONOMIQUE DES NOUVELLES INTRODUCTIONS.

Rappelons que le matériel végétal récolté lors des missions de prospection est de 2 types :

- * des clones issus de graines,
- * des clones issus de bois de greffe recueilli dans la cime d'arbres exceptionnels.

3.1. Valeur agronomique des clones issus d'arbres exceptionnels.

Il s'agit, ci-après, de tenter de porter un jugement sur ce type de matériel.

Ces arbres mères en forêt sont exceptionnels par la taille : certains peuvent atteindre des circonférences de plus de 4 mètres et, également, par leur production. A titre d'exemple, un arbre donnait 4 litres de latex par saignée pour une circonférence de 2,40 mètres ; deux autres donnaient 8 et 9 litres de latex pour une circonférence aux alentours de .3 mètres.

En fait, mises à part les données brutes, on connaît peu de choses de ces arbres (Tableau No. 6). Malgré tout, il était indispensable d'en tester la valeur en tant que nouveaux clones pour une éventuelle utilisation directe en plantation.

Tableau No. 6 :

Arbres exceptionnels	
*	Age ?
*	Historique ?
*	Evolution de leur environnement ?
*	Saignée ?
*	Etat de vieillissement des organes prélevés ?

Soixante clones ont ainsi été créés. Des observations en jardin à bois ont montré que certains présentaient un développement intéressant, mais que la plupart d'entre eux avait un aspect vraiment peu encourageant. Ainsi, 42 clones ont été éliminés à ce stade.

Les 20 clones restants ont été testés à petite échelle, en comparaison avec les clones témoins GT 1 et PB 235. Parmi eux :

- . 7 clones, trop peu vigoureux, n'ont pas été mis en saignée précoce et ont été retirés des contrôles.
- . 10 clones présentaient, après 3 mois d'exploitation, des productions quasi-nulles ; leur exploitation a été interrompue.

Seuls, 3 clones : RO 38, AC 58 et PFB 5 ont pu être testés en sélection précoce à 3 ans et demi.

Les 3 clones se ressemblent sur le plan physiologique. Dans la classification linéaire : PB 235, GT 1, PB 217, PR 261, ils sont intermédiaires entre PB 217 et GT 1, PFB 5 et RO 38 étant plus proches de PB 217.

A terme, et selon un régime d'exploitation stimulée, la production de ces clones devrait donc pouvoir être augmentée. La faiblesse du taux de RSH - thiols peut néanmoins constituer un facteur limitant en production stimulée.

En production, le PFB 5 apparaît comme nettement inférieur aux témoins.

Ces clones ont été décrits pour leur morphologie :

- * AC 58 a été fortement plié par des coups de vent de violence moyenne au cours du mois de Juin 1986, manifestant ainsi une sensibilité extrême.
- * RO 38 est un excellent grainier, ce qui peut justifier son utilisation comme parent femelle dans des croisements de type "amazonien x amazonien" ou "amazonien x Wickham". RO 38 présente une tendance à l'inclinaison du tronc depuis Juin 1986.

Signalons enfin que RO 38 a été analysé par électrophorèse et qu'on montre que 3 allèles révélés chez ce clone sont spécifiques de l'espèce *H. Benthamiana*. Il s'agirait d'un génotype hybride interspécifique spontané.

Malgré tout, une conclusion s'impose : les chances de trouver un clone d'avenir par cette procédure sont très faibles. Les conditions écologiques de la forêt sont trop différentes de celles d'une plantation artificielle, les renseignements sur les arbres de la forêt sont trop imprécis pour utiliser cette forêt comme terrain de sélection. En fait, ce n'est que la confirmation de ce que l'on pouvait supposer.

Fort heureusement, les possibilités d'utilisation de ce matériel ne s'arrêtent pas là. Mais avant de présenter des résultats beaucoup plus encourageants, pour ne pas dire spectaculaires, nous allons considérer la valeur du matériel issu de graines, en utilisation directe, sans croisement, comme nous venons de le faire ci-dessus pour certains greffés obtenus à partir d'arbres remarquables.

3.2. Expérimentations agronomiques sur le matériel végétal issu de graines.

Les essais de type agronomique permettant d'apprécier la valeur agronomique de ce type de matériel végétal mis en place ces dernières années, sont les suivants :

- * Un champ d'arbres mères constitué des seedlings directement issus des graines, plantés à DIVO en Côte d'Ivoire, arrachés à 2 ans et transplantés à la station de l'IRCA de BIMBRESSO.
- * Un champ d'observation des mêmes génotypes que ci-dessus, mais clonés.
- * Un champ de clones à échelle réduite constitué des clones issus des génotypes ci-dessus, repérés en jardin à bois pour leur vigueur.

Compte tenu du caractère "plante pérenne" de l'HEVEA, les renseignements fournis par ces essais ne sont que préliminaires. Ils demandent à être confirmés par des observations portant sur plusieurs années pour être valablement exploitées par les sélectionneurs.

3.2.1. Champ d'arbres mères.

Les plants seedlings, issus des graines provenant du Brésil, ont été observés sur la station de DIVO, dans le centre de la Côte d'Ivoire. Cette station avait été retenue parce que marginale pour l'hévéaculture, afin d'éviter tout contact avec les hévéas de plantation en regard des risques d'introduction de la maladie sud-américaine des feuilles.

Après 2 ans, ces génotypes ont été tous greffés en jardin à bois avec 99 % de succès, puis ont été arrachés et transplantés sur la station expérimentale de l'IRCA, sous forme de high-stumps, à une densité de 4,5 x 4,5 m sur 7 ha environ.

Compte tenu de la difficulté de cette opération, on a observé une mortalité importante à la transplantation : 704 arbres mères ont survécu, soit un pourcentage de réussite de 47 %. Ces difficultés ont été également observées en Malaisie. La reprise des survivants a été médiocre. Cependant, ce champ d'arbres mères sera conservé comme "arboretum", mais il ne faut pas espérer en tirer des conclusions primordiales. Fort heureusement, tous les génotypes avaient été au préalable greffés en jardin de collection et, de ce fait, utilisables pour la réalisation d'autres essais que nous allons décrire maintenant.

3.2.2. Champs d'observation des clones issus des génotypes amazoniens provenant de graines.

La réalisation de cette expérience, plantée sur 6,25 ha, a été couronnée de succès. Environ 2300 génotypes y sont présents et suivis au niveau de la croissance et de leur phénologie.

Le diamètre à 1 an montre que l'ensemble des génotypes est peu vigoureux. Il est évident que cette mesure ne peut présumer de la vigueur ultérieure de ce matériel, mais c'est un indice de sa croissance peu exceptionnelle. L'essai présenté dans le paragraphe suivant confirmera cette constatation.

Des observations phénologiques ont été également réalisées.

L'étude de la biométrie foliaire fait apparaître une particularité caractéristique de ce matériel : les feuilles des nouveaux génotypes sont très nettement plus grandes que celles des clones Wickham. Mis à part le côté spectaculaire de ce phénomène, cela a certainement une incidence sur le comportement de ce matériel végétal. De plus, les observations sur le branchement font également apparaître un comportement nouveau : les arbres ont tendance à filer en hauteur, les branches sont rares et dressées, en général très longues et disposées en verticilles.

Essayons d'interpréter cette différence de comportement :

Les arbres en forêt sont en associations pluri-spécifiques. Les graines germent sous couvert forestier, les semenceaux végètent parfois plusieurs années, attendant un accident naturel (chutes d'arbres morts ou de grosses branches, par exemple) pour recevoir suffisamment de lumière. Il s'agit alors, pour eux, de croître en hauteur le plus rapidement possible pour atteindre la voûte de la forêt et s'installer définitivement.

Les arbres des plantations connaissent une jeunesse très différente : ils sont plantés sur des surfaces entièrement déboisées, sans aucune compétition durant leurs premières années d'existence, sinon celle de leurs voisins au même stade végétatif qu'eux-mêmes, et reçoivent alors un maximum de lumière.

Que donnent ces génotypes que nous qualifierons de "sauvages" en plantation artificielle ?

Recevant un maximum d'énergie dès le jeune âge, ils présentent un développement végétatif très particulier : leurs feuilles sont énormes et leur croissance en hauteur très rapide. A la première saison sèche, leur seul moyen de résister au stress hydrique (la forêt est un milieu beaucoup plus tamponné) est de défolier précocément ; c'est bien ce que l'on observe en champ. N'étant pas "programmés" pour émettre des ramifications nombreuses pour explorer le maximum de surface disponible, ils garderont un aspect filiforme relativement longtemps, visiblement peu soucieux d'accroître le diamètre de leur tronc.

3.2.3. Champs de clones à échelle réduite des géotypes "élites" du Germplasm.

L'expérimentation décrite ci-dessus comporte l'ensemble des géotypes du germplasm. Il est évident que pour des considérations de coût et de surface, il n'était pas envisageable de faire des répétitions. C'est ce qui a pu être fait dans l'expérience décrite maintenant, pour laquelle 64 géotypes ont été choisis en jardin à bois et disposés dans un champ comparatif de clones à échelle réduite.

Alors qu'il s'agit là du matériel végétal a priori le plus vigoureux, seulement 26 d'entre eux sont supérieurs au témoin GT 1 à croissance moyenne, et 2 au témoin PB 235 à croissance rapide.

Les observations morphologiques et phénologiques font apparaître le même comportement que celui décrit dans l'expérience précédente.

Ces résultats confirment donc que le matériel végétal introduit sous forme de graines présente une vigueur moyenne et des caractéristiques particulières. Aucune donnée n'est actuellement disponible en ce qui concerne la production, mais il semble de nouveau peu probable d'espérer trouver directement des clones très intéressants.

Nous allons maintenant voir qu'il en est autrement lorsqu'on considère non plus ce matériel comme agent des potentialités phénotypiques, mais qu'on envisage de l'utiliser comme géniteur et d'explorer ses potentialités génotypiques.

3.3. Utilisation de géniteurs amazoniens en croisements contrôlés.

Rappelons ici que le principal objectif des prospections était un enrichissement des ressources génétiques que l'on pouvait introduire dans un système de croisements. Ceci a pu être rapidement effectué, grâce à la pratique de la mise à fleur précoce par décortication annulaire mise au point quelques années auparavant.

3.3.1. Observations en champs d'évaluation de seedlings.

De 1980 à 1985, 38 % des légitimes obtenus par pollinisation artificielle sont issus de croisements de type :

Wickham	X	Amazonien	(W x A)
(origine ancienne)		(origines nouvelles)	

Les descendancees présentées ont un effectif minimum de 80 individus. Les familles W x W et W x A comparées sont de demi-frères (même géniteur femelle Wickham), sauf la famille PB 235 x MDF 362 qui est comparée à 3 familles illégitimes de GT 1 (recueillies dans 3 parcelles différentes).

On constate que les familles W x A ont presque toujours une taille moyenne supérieure à celle des familles W x W correspondantes (27 cas sur 32) : dans le cas extrême, PB 5/51 x RO 51 a une circonférence supérieure de 27 % à celle de PB 5/51 x RRIM 701 (année 1981). Il convient de noter que tous les géniteurs amazoniens utilisés ont eux-mêmes une vigueur faible (Figure No. 16).

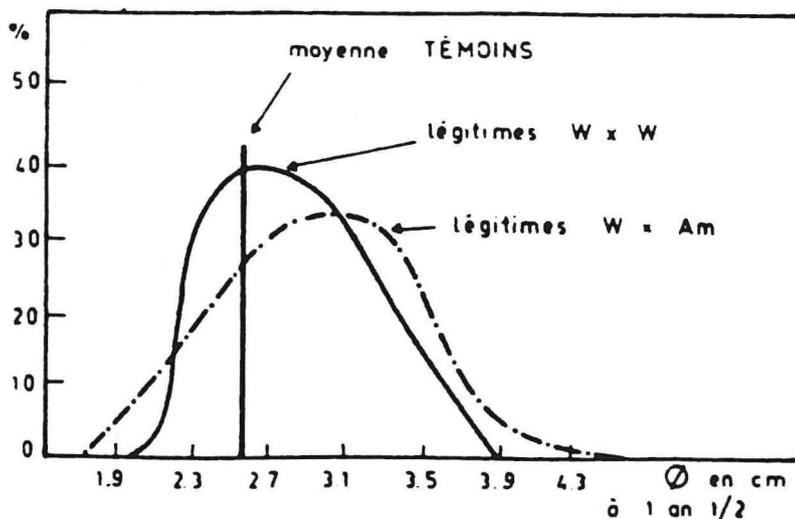


Figure No. 16

En 1985, trois très petites familles A x A ont été obtenues et plantées en pépinière. Alors que la famille PFB 5 x AC 54 (6 individus) est normalement vigoureuse, par comparaison aux familles W x W et W x A, PFB 5 x AC 68 (14 individus) présente une vigueur homogène et faible ; AC 100 x RO 58 (10 individus) présente une vigueur homogène et très faible.

On peut interpréter les résultats de la façon suivante :

Un effet d'hétérosis s'exprimerait dans les descendance W x A concernant la croissance, les géniteurs amazoniens ayant eux-mêmes des vigueurs faibles.

La production des descendance W x A est relativement faible, dans un ordre de grandeur comparable à celui des productions de descendance W x W, elle se situe aux environs de la moitié (alors que la production de la plupart des clones amazoniens à 3 ans 1/2 était nulle). Il faut remarquer que la famille PB 5/51 x RO 51 obtient un niveau de production supérieur à celui des deux familles W x W auxquelles on a pu les comparer. La faible production des familles W x A peut être attribuée à la non-sélection des géniteurs amazoniens (Tableau No. 7).

Tableau No. 7

PRODUCTION LEGITIMES 1981	
W x W	53.7
W x Am	26.3
\bar{m}	42.5
<hr/>	
PB 5/51 x RO 51	60.3

(production cumulée sur 5 microsaignées,
en grammes)

3.3.2. Clones W x A en champ de clones à petite échelle.

* Pollinisations de 1979 : cas de IRCA 427 :

Sur 847 seedlings légitimes obtenus en 1979, 10 seulement appartiennent à des familles W x A (5 pour PB 5/51 x MDF 296 et 5 pour PB 5/51 x MDF 38). Un de ces génotypes (IRCA 427 de la famille PB 5/51 x MDF 296) s'est avéré compétitif en CCPE à 3 ans 1/2 pour l'ensemble de ses caractéristiques et a été retenu pour expérimentation à grande échelle.

Avec un métabolisme actif, une coagulation lente et de bonnes réserves en saccharose, IRCA 427 présente un profil physiologique favorable et devrait bien répondre à la stimulation.

IRCA 427 présente un tronc correct, une couronne développée, avec un branchement abondant et assez équilibré.

Les caractéristiques de IRCA 427 sont encourageantes pour la sélection dans les familles W x A : il semble donc déjà possible de tirer des clones acceptables pour le planteur dans cette catégorie au stade actuel qui n'est, rappelons-le, que le tout début, sinon les premières tentatives de cette vaste opération.

* Pollinisations de 1980 et 1981
(série IRCA 500 et 600)

Les premiers relevés de circonférence montrent que la croissance de ces clones est remarquable puisque, par comparaison avec PB 235, la gamme varie de 70 à 130 %. 25 clones sur 51 apparaissent aussi ou plus vigoureux que PB 235 qui est actuellement le clone à croissance juvénile la plus forte avec une ouverture à 4 ans 1/2 (5 ans 1/2 pour le clone GT 1).

Le clone IRCA 652 sera, quant à lui, ouvrable à 3 ans 1/2 ! Peu d'espèces forestières, même parmi les plus rapides en croissance, peuvent arriver à ce niveau de 200 arbres ayant 50 cm de circonférence à 1 m à l'hectare à cet âge.

Les descriptions morphologiques font apparaître des caractéristiques déjà rencontrées chez les clones amazoniens. Néanmoins, la gamme de situations apparaît beaucoup plus variée. Le type "flèche" et la ramification verticillée s'atténuent chez certains clones et laissent place à un branchement plus ou moins abondant.

Le clone IRCA 515 présente des caractéristiques de production très intéressantes et est sélectionné pour testage à grande échelle.

Dans l'étude d'un matériel nouveau, il est recommandé de ne pas juger trop rapidement les nouveaux types avant qu'ils ne soient entièrement exprimés.

3.4. Conclusions sur l'Evaluation Agronomique.

Le niveau moyen des clones amazoniens, évalué en CCPE sur un échantillon de 20 clones, est très bas. On peut néanmoins trouver des clones ayant une croissance et une production convenables. Il paraît plus difficile de trouver des clones ayant une architecture favorable pour la résistance à la casse due au vent. La probabilité de trouver directement, par expérimentation agronomique, un génotype amazonien réunissant les 3 caractères -croissance/production/morphologie- à un niveau satisfaisant, paraît donc extrêmement faible.

L'utilisation de géniteurs amazoniens dans des croisements contrôlés du type W x A, produit des familles manifestant un niveau de vigueur amélioré (effet d'hétérosis ?), mais une production moyenne plus faible que celle des familles W x W (exception faite de PB 5/51 x RO 51).

La variabilité interne des familles W x A ne semble pas supérieure à celle des familles W x W ; la probabilité d'en tirer des élites, du point de vue production, reste donc liée au niveau moyen des familles ; or, compte tenu de la richesse en effectif des prospections, un très gros travail d'évaluation familiale reste à faire.

Retenons que le RO 51, repéré comme bon géniteur, est tiré d'une population d'environ 30 clones Am ayant servi de géniteurs. Si l'on considère les 2300 actuellement disponibles, tous les espoirs sont permis.

L'observation des meilleurs clones W x A en CCPE fournit des résultats très intéressants concernant la croissance (supériorité par rapport aux clones Wickham).

A ce stade de nos connaissances, nous pouvons provisoirement formuler une liste de clones amazoniens ou W x A intéressants :

- * RO 38 :
meilleur clone amazonien connu à 5 ans,
bon grainier.
- * RO 51 :
géniteur amazonien susceptible de fournir
des descendance W x A à bon niveau de
production.
- * IRCA 427 - 515 :
meilleurs clones W x A connus à 4 ans.

Ayant réalisé ces observations de la qualité du matériel amazonien avant toute opération véritable de sélection, nous sommes amenés aux réflexions suivantes :

* Il semble illusoire d'introduire les génotypes amazoniens dans des protocoles expérimentaux visant à identifier des clones de greffe "plantables" (les clones amazoniens de la prospection 1974 sont issus de bois de greffe prélevé sur des arbres exceptionnels, tout comme les "ortets" de la prospection 1981). *Dans la situation future de clones de vitro-culture, notamment de microbouture (affranchis des problèmes de vieillissement), cette conclusion sera néanmoins à reconsidérer.*

* Il paraît nécessaire de disposer, en croisements contrôlés, des géniteurs amazoniens ayant une meilleure valeur propre, du point de vue de la production, et mieux adaptés morphologiquement aux conditions écologiques particulières d'une plantation (l'effet du type de branchement "amazonien" sur la résistance à la casse due au vent est néanmoins à examiner dans les années à venir). Une expérimentation selon un protocole simplifié (6 arbres par clone, par exemple) devrait permettre de tirer les meilleurs individus du matériel issu des prospections avant d'aborder de façon systématique l'étude de leur valeur en combinaison (40 hectares permettraient de tester les 2500 origines disponibles). A ce stade, toutefois, la variabilité génétique de la collection n'aura pas véritablement été exploitée.

* A plus long terme, pour élever le niveau moyen du matériel amazonien tout en préservant la variabilité génétique existante et pour faire s'exprimer cette variabilité, il convient de mettre au point un plan structuré de recombinaisons nombreuses et diversifiées dans une collection qu'on aura pris soin de cloisonner, suivies de sélections à l'intérieur des groupes pris en compte.

Alors que les croisements contrôlés, restrictifs en nombre de recombinaisons, permettent d'identifier des familles et des géniteurs particuliers, on s'attachera plutôt, en faisant appel à la pollinisation libre, à identifier des groupes aptes à la recombinaison, dont nous pourrions tirer les meilleures valeurs propres et les nouveaux géniteurs à étudier en croisements contrôlés.

3.5. Caractérisation du Germplasm sur le critère "Résistance au Microcyclus" (première approche)

L'un des buts poursuivis par l'enrichissement génétique des collections d'hévéas, consiste à rechercher des facteurs de résistance aux maladies.

La plus grave de celles-ci est, sans aucun doute, l'attaque des feuilles par le Microcyclus ulei, champignon actuellement uniquement présent sur le continent américain où il provoque des dégâts considérables dans cette partie du monde. Fort heureusement, ce parasite est absent en Asie et en Afrique ; il constitue cependant une "épée de Damoclès" car, s'il y est introduit accidentellement, il risque de provoquer des pertes inappréciables, les clones utilisés dans ces pays étant dans leur ensemble très sensibles. Ceci peut d'ailleurs s'expliquer par le fait qu'en l'absence de toute pression de sélection due au parasite, les programmes d'amélioration génétique menés en Asie ont abouti à un appauvrissement en caractères de résistance, ceci étant d'autant plus rapide que la base de départ était génétiquement réduite.

Le retour aux sources, c'est-à-dire la forêt amazonienne, berceau de l'Hévéa, a permis d'enrichir les collections d'une façon importante. On peut se demander s'il n'y a pas maintenant un réservoir génétique dans lequel on pourrait puiser pour créer du matériel résistant, ou au moins tolérant au Microcyclus.

En d'autres termes, peut-on caractériser le nouveau germplasm Hévéa sur cette base de résistance ?

Nous n'entrerons pas dans cet exposé dans les détails des travaux déjà entrepris sur le sujet. Nous résumerons d'une façon très synthétique les résultats déjà acquis de la façon suivante :

Certaines espèces d' HEVEA sont entièrement résistantes au Microcyclus. Malheureusement, il s'agit d'espèces peu ou très peu productives de caoutchouc. Des croisements inter-spécifiques réalisés avec l'espèce brasiliensis, seule cultivée actuellement, font apparaître des clones résistants, mais à très faible niveau de production. Des back-cross, réalisés en retour sur brasiliensis ne permettent pas de retrouver un niveau de production suffisant. Chez brasiliensis, la résistance est de type horizontale. Il n'y a pas de clones entièrement résistants, mais des clones plus ou moins tolérants. Enfin le screening des individus ne peut se faire que dans une localité où le Microcyclus est présent. Il est hors de question d'introduire des souches de parasite, soit en Afrique, soit en Asie.

Pour toutes ces considérations, il a été décidé d'envoyer en Guyane des graines dites "légitimes" obtenues par pollinisations contrôlées effectuées en Côte d'Ivoire. Cette opération n'était pas prévue dans le projet présenté pour financement à la C.E.E. Son intérêt scientifique est cependant indéniable.

Des légitimes issus de croisements, constitués des deux types suivants : W x W et W x Am ont été expédiés en Septembre 1987, pour être mis en champ d'évaluation sur la station IRCA/CIRAD de COMBI, en Guyane.

Une évaluation du degré d'infection a été effectuée en Mai, Juin et Juillet 1987, pendant la saison des pluies. On voit très nettement que les familles les plus sensibles sont issues de croisements effectués entre parents sélectionnés en Asie, là où la pression du parasite n'existe pas (Tableau No. 7).

Les familles les plus tolérantes sont issues de croisements effectués avec un parent mâle issu de prospection (PB 260 x AC 58, RO 38 et RO/I/98). Les familles PB 5/51 x GU 486 et GU 969 sont intermédiaires ; elles possèdent dans l'ascendance d'un des parents, un génotype issu de prospection.

Ces résultats quantitatifs ne sont que l'expression d'un phénomène visuel assez spectaculaire en champ.

Ils doivent évidemment être confirmés et élargis. Quoiqu'il en soit, cette étude préliminaire montre que des familles de légitimes se comportent d'une façon différente face à l'agression du *Microcyclus* et que les familles les plus tolérantes proviennent de croisements réalisés à partir de parents issus de la forêt, là où la pression de sélection sur ce caractère est constante.

Relevé de maladies de feuilles
sensibilité 0 à 4, valeurs moyennes

Tableau No. 7

Famille		11/05/87	15/06/87	13/07/87
PB 5/51	X PR 107	1,6	2,2	3,6
	X GU 486	0,85	1,2	2,4
	X GU 969	0,95	1,05	2,3
PB 235	X RRIM 605	1,95	2,45	3,7
	X TJ 1	1,6	2,65	3,7
	X IRCA 416	1,85	3,0	3,6*
PB 260	X RRIC 101	1	1,7	3,3
	X RRIC 102	0,9	2,1	3,4
	X <u>AC 58</u>	0,5	1,1	1,4
	X <u>RO 38</u>	0,35	1,0	1,6
	X <u>RO/I/98</u>	0,3	0,4	1,3
GT1	X PB 217	1,6	2,6	3,6

* Quelques plants présentent des symptômes de "dieback".

Les clones soulignés sont des génotypes issus de prospection.

Les clones GU sont des croisements de type W x Am.

Les autres clones sont tous de type W x W.

(W : clones d'origine ancienne, issus des prospections Wickham ;

Am : clones "Amazoniens" issus de prospections récentes).

4. FORMATION.

Les chercheurs impliqués dans cette opération de recherche ont largement contribué à la formation de stagiaires nationaux, tant dans le cadre du laboratoire de MONTPELLIER que de la station expérimentale de COTE-D'IVOIRE.

Deux chercheurs vietnamiens, un Malais et un Ivoirien, tous deux impliqués dans un programme de recherche en hévéaculture, ont bénéficié d'un stage d'initiation à la technique d'électrophorèse et gardent des contacts étroits avec le laboratoire pour se tenir au courant de l'évolution méthodologique et des progrès de la connaissance. Un étudiant français, maintenant en activité outre-mer, a suivi un stage de fin d'études dans ce laboratoire.

Il serait trop long d'énumérer les stagiaires et visiteurs de tous pays qui se sont succédés en Côte-d'Ivoire. Manifestement, les activités menées sur les nouvelles ressources génétiques sur ce Centre ont soulevé un grand intérêt de la part de la communauté scientifique concernée par l' Amélioration Génétique des arbres, plus particulièrement de l' HEVEA. De plus, un jeune chercheur ivoirien est maintenant intégré à l'équipe. Son sujet de thèse est fortement impliqué dans le programme présenté pour financement à la Communauté Européenne (STD 2).

5. SYNTHESE et PERSPECTIVES.

Nous avons d'ores et déjà acquis une certitude sur les nouvelles origines d' HEVEA issues de prospection : leur introduction dans les collections anciennes représente un réel enrichissement génétique. Les sélectionneurs vont disposer d'une variabilité beaucoup plus importante pour mener à bien leurs programmes d' Amélioration.

Ce nouveau matériel présente cependant un type différent de ce que l'on connaissait jusqu'à présent. On pourrait le qualifier de "sauvage" par rapport au type "domestiqué" du matériel végétal ayant déjà subi une pression de sélection. Ce développement très typé réduit très fortement la probabilité de trouver directement, par expérimentation agronomique, un génotype amazonien réunissant les 3 caractères croissance/production/morphologie à un niveau satisfaisant. L'utilisation de ces génotypes comme parents apparaît être la bonne approche méthodologique. Ceci n'est pas sans poser de nombreux problèmes car, ne l'oublions pas, l' HEVEA est une plante pérenne et les recherches entreprises présentent toujours des délais d'obtention de résultats assez longs.

La stratégie sera d'affiner les recherches de base (électrophorèse - marqueurs ADN) pour apporter aux sélectionneurs sur le terrain les connaissances indispensables pour la réalisation de plans de croisements rationnels et pour la conception de voies d'approche originales (pollinisations libres, schéma de sélection récurrente ...).

Sur le terrain, les sélectionneurs devront affiner leurs connaissances du nouveau matériel pour retenir les géniteurs présentant la meilleure valeur propre, évaluer les valeurs en recombinaison de la plus grande part possible de ces nouvelles introductions et sélectionner un matériel végétal novateur, capable de faire évoluer l'hévéaculture vers de nouvelles possibilités.

Il s'agit là d'un travail de longue haleine, mais dont les retombées se situent aussi bien au niveau de ce que peut apporter un enrichissement génétique par prospection pour l'amélioration d'une espèce pérenne, qu'au niveau du développement de l'hévéaculture par la création de clones aptes à participer à l'édification des futures plantations.

