



DOCUMENTATION RIZ  
IRAT/DAP  
GL/85-6

Institut de Recherches Agronomiques Tropicales  
et des cultures vivrières

Mission IRAT Guadeloupe

HAPLOMETHODE SUR LE RIZ PAR  
CULTURE D'ANTHERES IN VITRO  
EN GUADELOUPE





Institut de Recherches Agronomiques Tropicales  
et des cultures vivrières

GL/85-6  
DOCUMENTATION RIZ  
IRAT/DAF

Mission IRAT Guadeloupe

HAPLOMETHODE SUR LE RIZ PAR  
CULTURE D'ANTHERES IN VITRO  
EN GUADELOUPE

E. GUIDERDONI

Décembre 1985

Ce manuel rédigé par E. GUIDERDONI, a bénéficié de l'expérience accumulée dans le domaine de la culture d'anthères et de la conduite des plantes haploïdes de riz à l'IRAT par M. ASSELIN, de BEAUVILLE, P. FELDMANN et R. DECHANET .

Un tel ouvrage est nécessairement évolutif en fonction de l'amélioration des techniques employées et des recherches plus fondamentales menées dans ce domaine .

	page
<u>PLAN</u> :	
I SEMIS DES GRAINES HYBRIDES	3
II STADE DE PRELEVEMENT	4
III PRETRAITEMENT AU FROID	6
IV DESINFECTION	6
V MISE EN CULTURE DES ANTHERES	7
VI REPIQUAGE DES CALS	7
VII REPIQUAGE ET ECLATEMENT DES PLANTES	8
VIII SEVRAGE DES PLANTES	9
IX TRI DES HAPLOIDES ET DES HDS	10
X TRAITEMENT COLCHICINE	11
XI BILAN DE CAMPAGNE	12
XII SCHEMA GENERAL	14

<u>ANNEXES</u> :	FICHES HAPLOMETHODE
	PREPARATION DES SOLUTIONS MERE
	PREPARATION DE L'ENGRAIS "RIZ"
	CYTOLOGIE
	PLANCHES PHOTO
	RESULTATS

## I SEMIS DES GRAINES HYBRIDES

### 1.1 Semis

Les graines hybrides traitées à l'ACTELLIC sont stockées au réfrigérateur .

- \* Effectuer le semis en JIFFY 9 contenus dans des barquettes aluminium percées sur les bords un peu au dessus du fond .
- \* Effectuer un semis simultané des différents géniteurs pour dépister d'éventuelles autofécondations

La levée des plantes est obtenue en 8/10 jours sous abri grillagé dans le tunnel.

- \* Il peut être nécessaire de pulvériser de l'engrais foliaire HORTAL 3g/l tous les 2/3 jours et de traiter au DECIS en cas d'attaque de chenilles .

Il faut compter environ 5 talles exploitables par graine semée . Un semis de 30 graines tous les 10 jours assure une fourniture suffisante de matériel .

### 1.2 Repiquage

- \* Effectuer au préalable une préparation du sol des bacs au MOCAP 10 (à raison de 10g/m<sup>2</sup> incorporé au sol humide) 10 jours avant le repiquage
- \* Lors du repiquage, effectuer un apport localisé à la ligne de CURATER (10-12 Kg/ha: une pincée par trou) et d'engrais riz (voir ANNEXE).

### 1.3 Suivi des plantes

- \* Effectuer un apport en couverture d'Urée tous les 15 jours pour permettre un tallage vigoureux . Enfouir légèrement; éviter les projections sur les feuilles humides (brûlures) .
- \* En cas de dégâts survenant sur de jeunes repiquages (tige coupée au niveau du sol) faire un traitement généralisé en couverture de BASUDINE 10 G (10 g/m<sup>2</sup>) .
- \* En cas d'attaque de punaises (Pantatomides), appliquer le traitement phytosanitaire EKADRINE (contact) + NUVACRON (systémique) à respectivement 20 et 25 ml pour 10 litres

#### 1.4 Floraison

L'exsertion des gaines paniculaires se produit après un nombre de jours variable, en général 60/70 jours après le semis. Le stade de prélèvement étant très fugace, (en quelques jours tous les talles d'une plante peuvent l'avoir dépassé) un suivi attentif à ce niveau est nécessaire.

## II STADE DE PRELEVEMENT

### 2.1 Critères externes

Le critère externe de prélèvement est la longueur de l'exsertion de la gaine paniculaire à la ligule de la dernière feuille engainante. Celle-ci doit atteindre entre 0,5 et 5 cm. Cette taille optimale peut varier suivant les croisements exploités et en fonction de l'état physiologique et phytosanitaire de la plante : Ainsi des attaques parasitaires au niveau de la tige peuvent provoquer un arrêt d'élongation de la gaine paniculaire; celle-ci tend ensuite à gonfler et à s'ouvrir tout en ne permettant qu'une très mauvaise exsertion latérale de la panicule.

De même des stress hydriques peuvent bloquer cette élongation tandis que la "maturation" de la panicule se poursuit; ainsi la panicule peut présenter des épillets totalement verts alors que l'exsertion n'est que de 2 ou 3 cm pour la gaine paniculaire.

L'effet génotype est également très important; certains croisements devront être prélevés alors que l'exsertion est à peine initiée (0 à 1,5 cm) (ex : IAC 47 x Mutant Makouta).

- \* Pour des plantes dans de bonnes conditions de croissance sauf effet génotype marqué, un prélèvement des tiges présentant une exsertion de la gaine paniculaire comprise entre 1 et 4 cm s'avère dans le cas général satisfaisant et fiable.

### 2.2 Critères internes

Différents critères ont été avancés. Ils sont globalement vérifiés mais un effet génotype marqué est toujours possible.

- \* La panicule doit occuper les 3/4 de la longueur de la gaine paniculaire.
- \* Les anthères ne doivent pas dépasser le tiers de la longueur de l'épillet.

- \* Les épillets doivent présenter une teinte blanche et les Anthères une couleur blanc/crème à jaune pâle : les anthères jaunes ou oranges contenues dans les épillets verts sont à rejeter.

### 2.3 Critères Cytologiques

Il existe un gradient global de maturité le long de l'inflorescence, les stades les plus avancés de la gametogénèse se rencontrant au sommet de la panicule et aux extrémités des racèmes. L'idéal est d'effectuer un prélèvement à 3 niveaux de la panicule. Pratiquement, ce n'est pas toujours réalisable lorsqu'on travaille sur un grand volume de matériel.

- \* Fixer les épillets en pilulier à l'alcool acétique (ethanol absolu acide acétique pur : 3/1 V/V) pendant 24 h minimum puis colorer au carmin acétique (voir ANNEXE). Une coloration rapide mais moins complète peut être obtenue sans fixation préalable.
- \* Sous la loupe binoculaire extraire les anthères et les couper en deux transversalement avant le dépôt d'une goutte de carmin. Les presser ensuite légèrement avec une fine spatule pour achever la sortie des microspores des loges de l'anthère.

La coloration du cytoplasme et du noyau, du stade cellule mère à microspore uninucléée est aisée. Par contre au stade binucléé l'épaississement de l'exine rend la coloration des deux noyaux moins évidente.

- \* Chauffer légèrement la lame sur une lampe à alcool en permet souvent une meilleure vision.

Il a été démontré que le stade favorable au déclenchement androgénétique est le stade uninucléé proche de la mitose pollinique (noyau central actif). Le stade optimum est donc celui où la panicule possède le plus grand nombre d'épillets dont les anthères contiennent des microspores uninucléées.

- \* Au prélèvement noter sur la FICHE 1 la taille de l'exsertion de la gaine paniculaire, la date de prélèvement, et éventuellement le stade cytologique. Chaque panicule est numérotée dans l'ordre de prélèvement.

Une étude précise de la variation des stades cytologiques observés sur la panicule en fonction de la longueur d'émergence de la gaine paniculaire doit être impérativement effectuée lorsqu'un nouveau matériel est travaillé.

### III PRETRAITEMENT AU FROID

- \* Extraire les inflorescences prélevées des gaines paniculaires et les placer en boîte de Pétri ( $\emptyset$  90mm) scellées à 8/10°C pendant 7/10 jours à l'obscurité. Noter le numéro de la panicule et le croisement sur la boîte. Déposer une goutte d'eau dans la boîte pour éviter le dessèchement de la panicule, sur le papier filtre.

Lorsque la durée de stockage au froid dépasse 14 jours les épillets tendent à brunir .

### IV DESINFECTION ET STERILISATION

#### 4.1 Désinfection des Panicules

- \* Transférer les panicules après prétraitement dans des bechers passés à l'alcool sur lesquels on reporte les indications des boîtes .
- \* Désinfecter les panicules sous la hotte avec une solution d'Hypochlorite de calcium à 4% (40g/l plus quelques gouttes d'agent mouillant TWENN 80) .

Il faut préparer environ un litre de solution pour 10 panicules à désinfecter .

- \* Chapeauter les récipients de papier aluminium passé à l'alcool puis ôter la solution d'hypochlorite après 5 minutes de désinfection. Rincer ensuite les panicules deux fois à l'eau stérile puis les conserver dans les récipients avec un peu d'eau pour en éviter le dessèchement .

Eviter de désinfecter simultanément un trop grand nombre de panicules; cela ne permet pas un temps de désinfection constant pour toutes les panicules et un séjour trop long peut provoquer le brunissement rapide des anthères dans les jours qui suivent la mise en culture .

cela oblige à maintenir les panicules sous la hotte pendant des temps très longs avant la mise en culture et augmente donc les risques d'infection .

on peut réaliser deux désinfections dans la journée de travail si le nombre de panicules à mettre en culture est supérieur à 20 unités ,

#### 4.2 Sterilisation des instruments

- \* Flamber à l'alcool puis chauffer au rouge à la flamme les instruments fins (pinces fines, scalpels) qui supportent mal un passage quotidien au four pasteur .

- \* Les grandes pinces utilisées pour le repiquage des plantes supportent par contre le passage régulier au four pasteur (4h à 150°C).

#### V MISE EN CULTURE DES ANTHÈRES

- \* Couper les épillets transversalement au niveau du filet des anthères. Les extraire à l'aide de pinces fines, si possible en les saisissant par le filet, en prenant soin de ne pas léser les parois de l'anthère.
- \* Déposer les anthères couchées en petite boîte de Pétri (Ø 55mm) à la surface du milieu gélosé N6 (voir ANNEXE). Seuls les épillets de la panicule présentant des anthères au bon stade sont disséqués.

Le nombre d'anthères prélevées sur une panicule est en moyenne de 60 à 120. Une ou deux boîtes de milieu sont donc nécessaires par panicule.

Suivant la qualité et l'importance des panicules 4 à 6 peuvent être mises en culture en une heure par une personne.

- \* Indiquer sur la boîte au marqueur indélébile noir ;

- x Le croisement
- x Le numéro de panicule
- x Le numéro de boîte (éventuellement)
- x La date de mise en culture

- \* Placer les boîtes à 24°C sous une photopériode 12/12 et un éclaircissement de  $80 \mu E \times m^{-2} \times s^{-1}$
- \* A la fin de la journée de mise en culture, compléter la FICHE 1 (nombre de jours de prétraitement, date de mise en culture, nombre de boîtes).

#### VI REPIQUAGE DES CALS

- \* A partir de la troisième semaine de culture, effectuer un contrôle hebdomadaire au niveau des boîtes d'anthères.

Les cals apparaissent en effet à partir de la 3 ou 4ème semaine après la mise en culture. La sortie des cals se poursuit ensuite jusqu'à 8 à 10 semaines de culture.

- \* Repiquer les cals lorsqu'ils ont la grosseur d'une tête d'épingle (1mm) soit environ une semaine après leur apparition.

Il est très important de ne pas conserver trop longtemps le cal en croissance sur le milieu N6 . A partir d'une certaine taille, une dégradation de sa structure doit se produire le rendant inapte à la néoformation .

Un suivi attentif et régulier des cultures est donc primordial .

- \* Noter l'existence d'une anthère callogène par un point au marqueur sur le fond de la boîte à son niveau .

Une anthère peut produire un grand nombre de cals issus du développement indépendant des microspores, le nombre d'anthères callogènes sera à comptabiliser par boîte lorsque la sortie sera achevée FICHE I.

- \* Isoler les cals et les repiquer sur le milieu de néoformation M7 (voir ANNEXE) à raison de 6 à 8 par petite boîte de Pétri ( $\emptyset$  55mm) ou 12 à 14 par grande boîte ( $\emptyset$  90mm).

- \* Attribuer à chaque cal un numéro d'ordre en notant sur la boîte ;  
le croisement  
numéro du 1er et dernier cal repiqués dans la boîte  
la date de transfert

- \* Remplir la FICHE II

- \* Placer ensuite les boîtes sous un fort éclairage ( $225 \mu\text{E} \times \text{m}^{-2} \times \text{s}^{-1}$ ) à une température de 24°C en photopériode 12/12.

Une forte intensité d'éclairage combinée avec une température adéquate pour parvenir à la néoformation des jeunes plantes . Celle ci survient entre 2 et 5 semaines après le transfert en conditions adaptées et après apparition de points verts à la surface du cal .

- \* Lorsque les jeunes plantes commencent à développer leurs feuilles transférer les boîtes sous un éclairage plus faible ( $175 \mu\text{E} \times \text{m}^{-2} \times \text{s}^{-1}$ ) .

Attendre qu'elles aient atteint un développement suffisant pour les repiquer en tube .

## VI REPIQUAGE ET ECLATEMENT DES JEUNES PLANTES

On attribue aux plantes chlorophylliennes néoformées à partir d'un même cal le numéro d'ordre de ce dernier . Plusieurs plantes peuvent indépendamment être néoformées

à partir de territoires différents d'un même cal .

- \* Séparer lors du repiquage ces plantes différentes en leur attribuant une lettre arbitraire; a, b, c, d ... (ex : 1898 a)

Il est pris bien soin lors de cet éclatement de vérifier que ces plantes ne sont pas issues du microtallage d'une plante unique .

- \* Repiquer les jeunes plantes ou touffes de plantes à l'aide de grandes pinces dans des tubes pyrex 250mm sur le milieu P (voir ANNEXE).
- \* Noter sur le tube croisement, numéro et lettre d'ordre et la date de la séparation du cal .
- \* Remplir la FICHE III

•Le nombre de calcs ayant néoformé des plantes albinos est comptabilisé par croisement et sera reporté sur la FICHE BILAN V . Les plantes ne sont pas repiquées en tube .

•Après 4 semaines, les plantes ont vigoureusement tallé et enraciné .

- \* Les éclater alors en 5/6 exemplaires et repiquer chaque éclat sur milieu P
- \* Compléter la FICHE III
- \* 3 à 4 semaines après cet éclatement, conserver un exemplaire de chaque plante in vitro et opérer le sevrage des autres exemplaires .
- \* Lorsque toutes les néoformations ont été obtenues remplir les fiches BILAN in vitro IV et V

#### VIII SEVRAGE DES PLANTES

- \* Sortir les plantes des tubes, les habiller (coupe des feuilles et des racines) et bien nettoyer les racines des restes de Gelose . Repiquer les plantes en JIFFY-7 ~~1898~~, sous abri plastique . Maintenir à ce niveau une bonne humidité .
- \* Effectuer tous les 2/3 jours des pulvérisations d'engrais foliaire HORTAL (3g/l) .

Si le suivi des plantes est attentif la survie avoisine les 90% à 100% des plantes sevrées .

- \* 10 jours après, transférer les jeunes plantes sous tunnel à arrosage automatique où elles séjournent encore 10/15j.
- \* Lorsque les plantes ont atteint un développement suffisant, les repiquer en bac avec la préparation indiquée au I .

Le séjour en tunnel ne doit pas être trop long, les plantes devant être repiquées au stade tallage .  
Si ce transfert est trop tardif, elles peuvent fleurir précocement en produisant des panicules rachitiques . Le suivi des plantes est identique à celui décrit au I. Sauf attaques parasitaires, la survie au repiquage est de 100% .

- \* Dresser le plan du repiquage
- \* Achever de compléter la FICHE III

#### IX TRI DES HAPLOIDES ET DES HDS .

Pour effectuer ce tri, un comptage chromosomique peut avoir lieu in vitro lors de l'éclatement des plantes en 5 exemplaires ou sur les jeunes sevrages en tunnel (voir ANNEXE) . De même, l'observation des stomates des jeunes talles peut permettre de trancher .

Si ces contrôles ne peuvent être effectués, les plantes stériles à la floraison sont considérées haploïdes . Elles présentent en général une taille petite à moyenne, possèdent des tiges grêles et tallent abondamment . Les panicules dès l'émergence présentent un aspect caractéristique . Les plantes fertiles sont considérées diploïdes spontanées (H.D.S) .

- \* Récolter leurs grains environ 30 jours après la pleine floraison . Après un léger séchage les stocker au réfrigérateur en sachets kraft (FICHE VI)
- \* Remplir la FICHE IX à chaque récolte .
- \* Lorsque toutes les plantes de la campagne ont fleuri, remplir la FICHE BILAN Ploïdie VIII .

En ce qui concerne le niveau de ploïdie des plantes issues de culture d'anthères, différents cas de figure sont possibles : (FICHE VI)

- . des plantes différentes issues d'un même cal peuvent avoir parfois des niveaux de ploïdie différents .

- . des plantes HDS peuvent présenter une fertilité partielle . En ce cas le noter et évaluer le % de fleurs fertiles . La fertilité partielle peut devenir totale sur des talles plus tardifs.
- . pour une même lettre d'ordre, les différents exemplaires d'une même plante peuvent avoir des niveaux de ploïdie différents . En général il s'agit d'un exemplaire HDS parmi des exemplaires demeurés haploïdes . L'exemplaire HDS peut présenter l'ensemble ou seulement une partie de ses talles doublés. En ce cas le noter et faire subir le traitement colchicine aux plantes haploïdes .

#### X TRAITEMENT DE DOUBLEMENT CHROMOSOMIQUE

Le traitement est effectué au stade tallage si une évaluation du stock chromosomique a pu être réalisée .

Sinon on opérera le traitement 30 jours environ après la pleine floraison des haploïdes .

- \* Sectionner les touffes 8 cm au dessus du plateau de tallage. Opérer un apport azoté et des arrosages fréquents afin de permettre une bonne reprise du tallage .
- \* Huit jours après, arracher les touffes et nettoyer les racines au jet Eclater alors les touffes en fragments de 5-6 talles dont les racines sont sectionnées. Débarrasser les talles des restes séchés des gaines foliaires afin de permettre une meilleure efficacité du traitement . 4 à 12 éclats sont ainsi obtenus par plante: (si l'importance de la plante le permet, conserver 2 ou 4 éclats "TEMOINS" que l'on traitera à l'eau).
- \* Tremper les éclats "TRAITEMENT" dans une solution de colchicine à 0,1% (+ 2% de Dimethyl Sulfoxide) pendant 24 heures puis les rincer soigneusement avant de les repiquer en bac .

La solution de Colchicine peut être récupérée après filtration et conservée au réfrigérateur dans un délai de 8/15 jours en vue d'un nouveau traitement . La propreté des talles est donc très importante .

- \* Faire le plan du repiquage et commencer à remplir la FICHE VIII
- \* Réaliser des arrosages très fréquents afin de permettre la reprise des éclats celle ci est en général bonne ( $\pm$  90%).

2 mois environ après le traitement les jeunes talles haploïdes doublés (HDC) apparaissent et sont récoltés pour une analyse ultérieure en descendance.

- \* Achever de remplir la FICHE VIII pour évaluer l'efficacité du traitement et remplir la FICHE IX au fur et à mesure des récoltes.

#### XI BILANS DE CAMPAGNE

4 FICHES BILANS sont remplies en cours et en fin de campagne :  
 . Les fiches IV et V "bilan de l'activité in vitro"

FICHE IV comportant d'une évaluation du % d'infections  
 par croisement

le calcul;

$$\% \frac{\text{nb d'anthères infectées}}{\text{nb d'anthères total}}$$

. du % d'anthères callogènes

$$\% \frac{\text{nb d'anthères callogènes}}{\text{nb d'anthères non infectées}}$$

. du rendement en cal par anthère  
mise en culture

$$\% \frac{\text{nb de cals apparus}}{\text{nb d'anthères non infectées}}$$

. du nombre moyen de cals par anthère  
callogène

$$\% \frac{\text{nb de cals apparus}}{\text{nb d'anthères callogènes}}$$

. du rendement en plantes chlorophyl-  
liennes par cal repiqué (= fréquence de  
 néoformation des cals)

$$\% \frac{\text{cals ayant néoformé des plantes vertes}}{\text{cals repiqués}}$$

. du rendement en plantes chlorophyllien-  
nes par anthère mise en culture

$$\% \frac{\text{cals ayant néoformés des plantes vertes}}{\text{nb d'anthères non infectées}}$$

FICHE V comportant  
par croisement le  
calcul

- du rendement en plantes albinos par cal repiqué

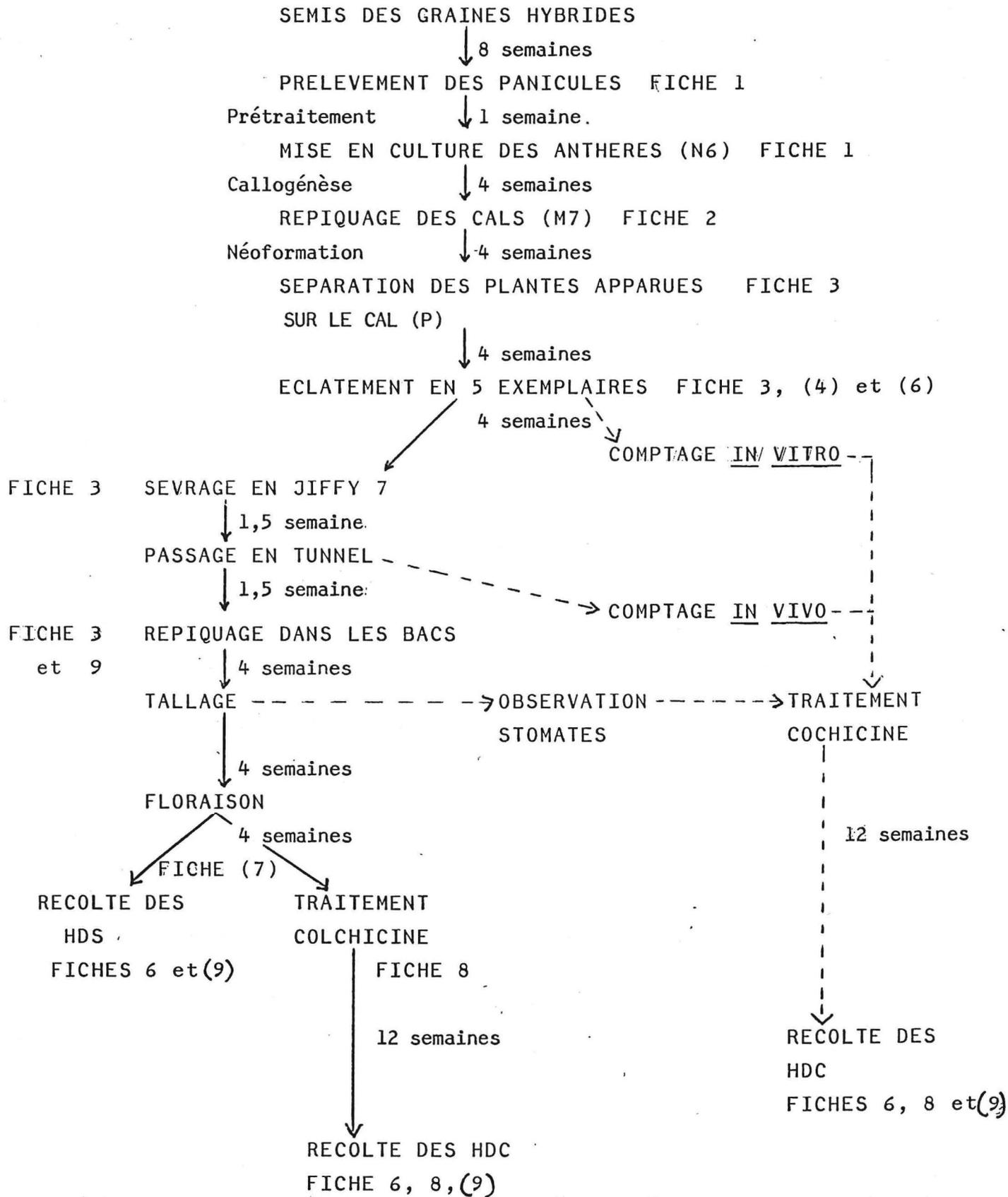
$$\frac{\% \text{ cals repiqués ayant néoformé des plantes albinos}}{\text{cals repiqués}}$$

- de la fréquence de néoformation des plantes albinos

$$\frac{\% \text{ nb de cals repiqués ayant néoformé des plantes albinos}}{\text{nb de cals repiqués ayant néoformé des plantes chlorophylliennes ou albinos}}$$

- LA FICHE VII "Bilan Ploïdie"
- LA FICHE IX qui représente le "Bilan semences"

XII SCHEMA GENERAL



D'où un total général de 40 semaines pour la récolte des premières plantes HDS

44 semaines pour la récolte des premières plantes HDC si une évaluation du stock chromosomique a pu avoir lieu au stade tallage .

52 semaines pour la récolte des premières plantes HDC si la floraison des haploïdes est attendue .

- A NOTER . Les mises en culture s'étalent sur une certaine durée qui espace la sortie des plantes d'autant .
- . De même l'apparition des cals dans une boîte s'étale de la 4<sup>ème</sup> à la 8<sup>ème</sup> semaine de culture pour les derniers cals repiqués .
  - . A partir de la néoformation des plantes sur le cal, il faut essayer de réduire au minimum la durée de chacune des étapes jusqu'à la récolte finale .
  - . Le traitement colchicine au stade du tallage ne décale la récolte des HDC par rapport aux HDS que d'environ 4 semaines contre 12 semaines quand le traitement est réalisé après la floraison .

NOTA BENE

Certaines simplifications dans les notations peuvent être apportées lors de la campagne de production ;

- . Les différentes panicules d'un même croisement prélevées ensemble constituent un lot numéroté qui est stocké, désinfecté et mis en culture groupé en plusieurs boites de pétri .
- . Les cals issus de ce lot sont repiqués sans numérotation individuelle sur le milieu de néoformation. Seules le numéro du lot et la date de repiquage sont notés . Les plantes prennent alors un numéro correspondant à leur ordre de sortie .
- . Remplir la FICHE 1 bis à la place des fiches 1 et 2 .

ANNEXES





FICHE II : REPIQUAGE DES CALS

CAMPAGNE :

CROISEMENT EXPLOITE :

PAGE :

MERO ORDRE DU L	NUMERO PANICULE	BOITE N° (EVENTUEL LEMENT)	DATE DE MISE EN CULTURE (MILIEU)	DATE DE REPIQUAGE (MILIEU)	NEOFORMATION DE PLANTES ALB. : ALBINOS CHL. : CHLOROPHYLLIENNES . REMARQUES



CROISEMENT EXPLOITE	ANTHERES EN CULTURE (1)	ANTHERES CALLOGENES (2)	% (2) (1)x100	NB. CAL OBTENUS (3)	RENDT. CAL/ ANTHERES (3)/(1)x100	NB. MOYEN DE CALS PAR ANTH. CALL. (3)/(2)	NB. CALS REPI- QUES (4)	NB. CALS AYANT NEO- FORME (5)	RENDT. EN CALS AYANT NEO- FORME		NOMBRE DE PLANTES DIF- FERENTES EN TUBE (6)
									CALS REPIQUES (5)/(4) x100	ANTH EN CULT. (5)/(1) x 100	

TOTAL ANTH ISES EN ULTURE	TOTAL ANTH. INFECTEES	% INFECTION
---------------------------------	-----------------------------	-------------

FICHE V : BILAN IN VITRO - 2

PAGE :

CAMPAGNE :

CROISEMENT EXPLOITE	NB. CALS REPIQUES (1)	NB. DE CALS AYANT NEOFORME DES PLANTES :		FREQUENCE D'OBTENTION DE CALS CHLOROPHYL (2) / (2) + (3)
		ALBINOS (2) (2) / (1) x 100	CHLOROPHYLLIENNES (3) (3) / (1) x 100	

FICHE VI : SACHET\_RECOLTE

Indiquer : CAMPAGNE  
CROISEMENT

HDS ou HDC	Numéro de cal	Lettre de Plante
------------	------------------	---------------------

Date de Récolte

Remarques :

Exemplaire HDS parmi exemplaires H

Fertilité partielle de l'HDS estimation  
du taux de fertilité .

etc ...





FICHE VIII (suite) : DOUBLEMENT CHROMOSOMIQUE

CROISEMENT :

TRAITEMENT COLCHICINE N° :  
(DATE)

RESULTATS FINAUX

% MORTALITE :

$$\frac{\text{ECLATS TEMOIN MORTS}}{\text{ECLATS TEMOIN REPIQUES}} \times 100 =$$

$$\frac{\text{ECLATS TRAITES MORTS}}{\text{ECLATS TRAITES REPIQUES}} \times 100 =$$

% REUSSITE :

$$\frac{\text{ECLATS DOUBLES}}{\text{ECLATS TRAITES}} \times 100 =$$

$$\frac{\text{PLANTES DOUBLEES}}{\text{PLANTES TRAITES}} \times 100 =$$



## I PREPARATION DES SOLUTIONS-MERE

### • MACROELEMENTS N 6

Pour 2 l de Solution  
en gr

Chlorure de Calcium	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	3,33	} dans un litre d'eau distillée chaude
Sulfate d'Amonium	$(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$	9,26	
Dihydrogenophosphate de potassium	$\text{KH}_2 \text{PO}_4$	5,0	
Sulfate de Magnésium	$\text{Mg} \text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	3,7	
Nitrate de Potassium	$\text{KNO}_3$	56,6	} dans 800 ml d'eau distillée chaude

- . Bien attendre la dissolution de chacun des constituants puis mélanger dans une fiole jaugée ; ajuster à 2000 ml
- . Prendre 100 ml par litre de milieu à faire

### • MICROELEMENTS N6

Pour 500 ml de solution  
en mg

Sulfate de manganèse	$\text{MnSO}_4, \text{H}_2\text{O}$	134,2
Sulfate de Zinc	$\text{ZnSO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$	75
Iodure de Potassium	KI	40
Acide Borique	$\text{H}_3\text{BO}_3$	80
	$\text{H}_2\text{O}$ Q.S.P	500 ml en fiole jaugée

- . Prendre 10 ml par litre de solution à faire

• SOLUTIONS-MERE DE PHYTOHORMONES

• Solution de mCPA, de 2,4-D ou de PICLORAM à 1g/l ( $10^{-3}$  kg x l<sup>-1</sup>)

Pour 50 ml de solution stock

2,4-D	}	50mg
mCPA		
PICLORAM		

Ethanol absolu 50 ml dans fiole jaugée

Prendre 1 ml par litre de milieu ( $10^{-6}$  kg x l<sup>-1</sup>)

• Solution d'AIA à 1g/l ( $10^{-3}$  kg x l<sup>-1</sup>)

Pour 50 ml de solution stock

Acide Indole Acétique	50 mg	
Ethanol absolu	5 ml	dissoudre
Eau	Q.S.P	50 ml

ajuster en  
fiole jaugée

Prendre 0,5 ml par litre de milieu à faire

• Solution de kinetine à 1g/l ( $10^{-3}$  kg/l<sup>-1</sup>)

Kinétine	50 mg
NaOH ou Hcl N/10	50 ml dans fiole jaugée

Prendre 1 ml par litre de milieu à faire .

SOLUTION DE Fer E.D.T.A

Pour 500 ml de solution  
en g

Sulfate de Fer	FE SO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O	1,39
Acide Ethylene Diamine Tetra Acétique	Na <sub>2</sub> EDTA	1,86

. Dissoudre séparément les 2 éléments dans 250 ml d'eau distillée chaude puis mélanger les 2 solutions sur un agitateur chauffant laisser agiter la solution 15 à 30 mm. La couleur de celle ci doit passer d'un jaune clair à un jaune plus intense . Ajuster à 500 ml en fiole jaugée .

. Stocker la solution au réfrigérateur dans un récipient entouré de papier aluminium pour éviter la destruction du composé par la lumière .

. Prendre 10 ml.

SOLUTION DE VITAMINES N6

Pour 100 ml de solution  
en mg

Glycine		200
Thiamine HCl		100
Pyridoxine		50
Acide Nicotinique		50
H <sub>2</sub> O	Q.S.P	100 ml en fiole jaugée

. Prendre 1 ml par litre de milieu à faire .

## II PREPARATION DES MILIEUX

	N 6	M 7	P
MACROELEMENTS N6	100 ml	100 ml	100 ml
MICROELEMENTS N6	10 ml	10 ml	10 ml
SOLUTION Fe EDTA	10 ml	10 ml	10 ml
VITAMINES N6	1 ml	1 ml	1 ml
mCPA (1g/l)	1 ml	-	-
AIA (1g/l)	-	0,5 ml	-
KINETINE (1g/l)	-	1 ml	-
SACCHAROSE	60 g	40 g	60 g
AGAR *	8,5 g	8,5 g	10 g
PH	6,5	6,5	6,5
ajusté à par NaOHN			en tube pyrex 200 mm séchage incliné
COULAGE	en petite B de P Ø 55mm	en petite ou grande B de P Ø 90 mm	

\* nettoyer le BACTO AGAR en le plaçant dans un filtre dans un entonnoir et en faisant percoler 500 ml à 1l d'eau distillé . On peut également employer de l'agarose à 4,5g/l .

. AUTOCLAVAGE à 110°C à 1 bar pendant 20 mm .

. Le milieu est coulé aseptiquement lorsque le récipient apparait tiède à la main (45°C) en remplissant à mi-hauteur les boîtes de Pétri .

1l de milieu = 80/90 B de P Ø 55mm ou 30/40 B de P Ø 90 mm .

. Stockage au réfrigérateur en boîtes plastique préalablement passées à la javel et à l'alcool + une nuit sous les U.V .



Constituents (mg/l)	M e d i a <sup>a</sup>													
	Murashige- Skoog	Linsmaier- Skoog	Miller	Blaydes	Chaleff's R-2	K-1	N <sub>6</sub>	N <sub>6</sub> (for japonica)	Hsien No. 5 (for indica)	SK-3	SK-8 (for indica x japonica)	Szechuan medium	Medium V	Hsienmiao II
NiCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	-	-	-	-	-	0.01	-	-	-	-	-	-	-	-
Biotin	-	-	-	-	-	0.5	-	-	-	-	-	-	-	-
Thiamine.HCL	0.1	0.1	0.1	0.1	1.0	1.0	1.0	1.0	0.6	0.5	0.5	1.0	1.0	1.0
Pyridoxine.HCL	0.5	0.5	0.1	0.1	-	1.0	0.5	0.5	0.6	0.5	0.5	0.5	1.0	5.0
Nicotinic acid	0.5	0.5	0.5	0.5	-	1.0	0.5	0.5	3.0	2.5	2.5	0.5	1.0	5.0
Foric acid	-	-	-	-	-	0.5	-	-	-	-	-	-	-	-
Ca-pantothenate	-	-	-	-	-	1.0	-	-	-	-	-	-	-	-
Inositol	100	100	-	-	100	-	-	5000	-	-	-	-	100	100
Glycine	2.0	-	2.0	2.0	-	5.0	2.0	2.0	2.0	10.0	10.0	2.0	-	20.0
Alanine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10.0	-
Yeast extract	-	-	-	-	-	-	-	-	1360	1000	1000	-	800	-
Lactoalbumin hydrolysate	-	-	-	-	-	-	-	500	300	-	-	-	-	-
Sucrose	30,000	30,000	30,000	30,000	30,000	30,000	50000	50000	60000	60,000	60,000	40,000	50,000	30,000
Agar	10,000	10,000	10,000	10,000	8,000	10,000	10000	8000	10000	7,500	8,000	10,000	9,000	9,000
2,4-D <sup>a</sup>	-	-	-	-	-	-	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	-	2.0	-
NAA <sup>a</sup>	-	-	-	-	0.3	-	-	-	2.0	2.0	2.0	-	0.2	1.0
IAA <sup>a</sup>	-	2.0	5.0	5.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kinetin <sup>a</sup>	-	0.2	-	0.5	2.0	-	-	-	3.0	-	-	-	-	2.0
pH	5.8	5.6	5.8	6.0	5.8-6.0	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8

<sup>a</sup>Murashige and Skoog(1962), Linsmaier and Skoog(1965), Miller(1963), Blaydes(1966); Chaleff, R.S(Personal communication); K-1, Oono(1975); N-6, SK-3, Szechuan, Medium V, and Hsienmiao II, Liang(1978); N<sub>6</sub>(Japonica), Hsien No. 5, SK-8, IRRI Team visit to China-1979.

### III PREPARATION DE L'ENGRAIS "RIZ" (R. DECHANET)

TYPES D'ENGRAIS ; . COMPOSE "CANNE" 15.7.24  
. SUPERPHOSPHATE à 46%  
. SULFATE D'AMMONIAQUE à 22%

FORMULE PROPOSEE POUR 1 ha :

MACROELEMENTS

		N	P	K
15.7.24	250 kg	37,5	17,5	60
SUPER P	100 kg	-	46	-
SULF. d'AMMO- niaque	100 kg	22	-	-
		<hr/>	<hr/>	<hr/>
		59,5	63,5	60

DOSE POUR 1 m<sup>2</sup>

15-7-24 25g

SUPERPHOSPHATE 10g

SULF. D'AMMONIAQUE 10g

CYTOLOGIE : PREPARATION DU CARMIN ACETIQUE (F. CORAIL)

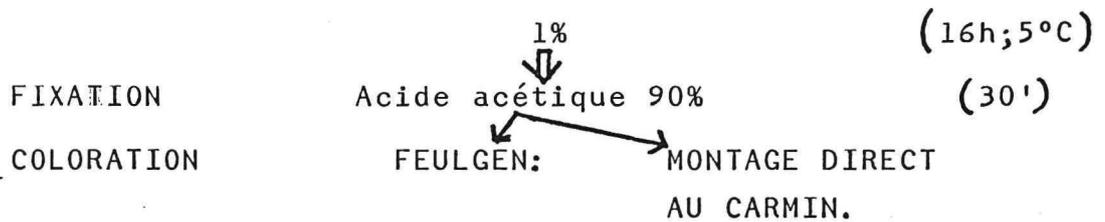
Faire bouillir doucement pendant une heure 0,5 grammes de Carmin 40 Prolabo dans 35 ml d'acide acétique pur et 65 ml d'eau distillée puis filtrer.

METHODE D'OBSERVATION DES CHROMOSOMES DES JEUNES  
PLANTES ANDROGENETIQUES DE RIZ

Placer les jeunes plantes in vivo ou in vitro à l'obscurité pendant une nuit .

Prélever les pointes racinaires en bon état et en croissance active .

RACCOURCISSEMENT :  $\alpha$ -mono Bromonaphtalène Prolabo



Hydrolyse dans HclN  
10-12' à 60°C

↓  
Réactif de schiff  
2h - obscurité

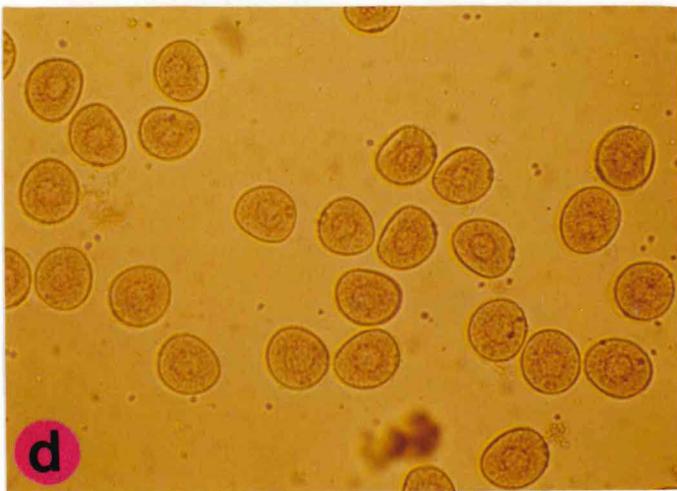
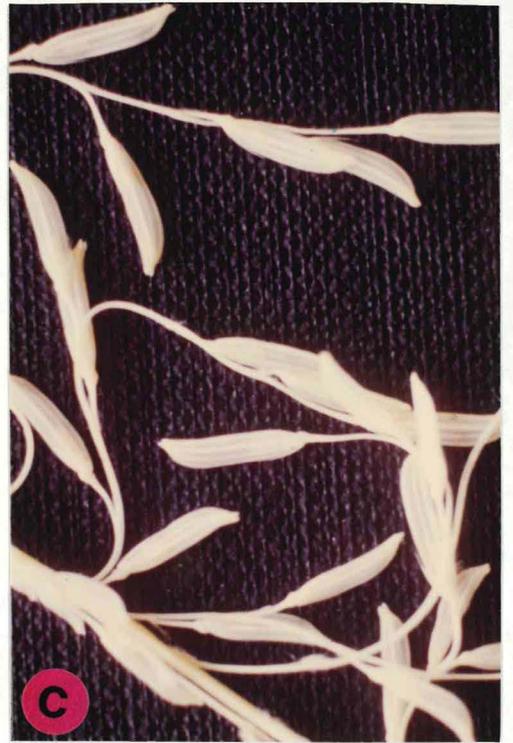
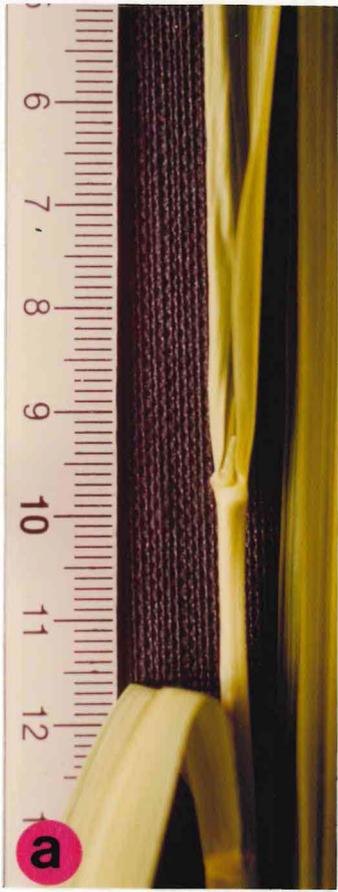
↓  
Rinçage 10'  
eau distillée

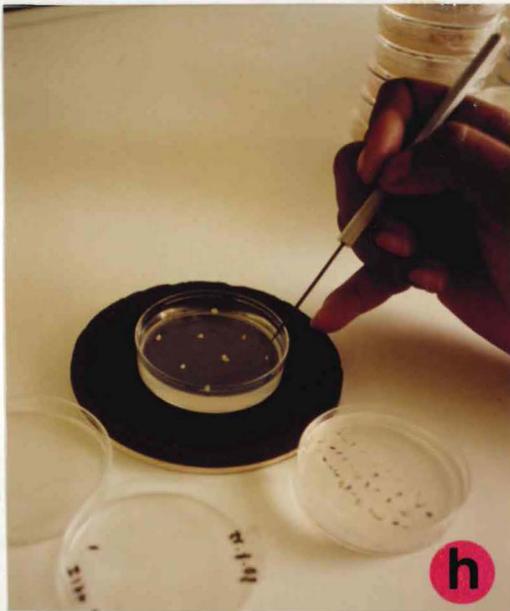
↓  
MONTAGE CARMIN  
ACETIQUE.

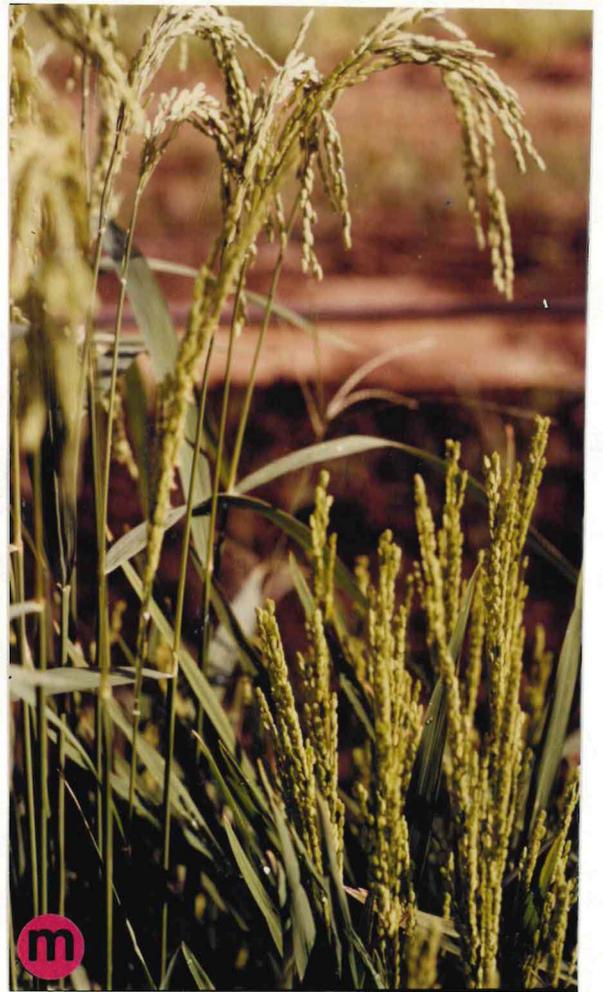
## LEGENDES DES PHOTOGRAPHIES

=====

- FIG a : Exsertion correcte de la gaine paniculaire au prélèvement.
- FIG b : Epillets de l'extrémité des racèmes ayant dépassé le stade de mise en culture (épillets verts, anthères oranges) .
- FIG c : Epillets au bon stade (épillets crème, anthères jaune pale)
- Fig d : Microspores uninucléées
- FIG e : Mise en culture des anthères .
- FIG f : Anthères en culture ( $\emptyset$  boîte de Pétri 55mm) .
- FIG g : Apparition des cals à 4 semaines de culture .
- FIG h : Repiquage des cals sur milieu de néoformation .
- FIG h : Néoformation de jeunes plantes 4 semaines après le transfert.
- FIG j : Repiquage des jeunes plantes sur le milieu de développement .
- FIG k : Jeune plante androgénétique établie en tube ( $\emptyset$  tube 25mm)
- FIG l : Jeunes plantes sevrées sous tunnel .
- FIG m : Floraison de plantes haploïdes et diploïdes spontanées
- FIG n : Préparation des éclats de talles haploïdes en vue du traitement à la colchicine .
- FIG o : Reprise des éclats traités et repiqués.
- FIG p : Doublement d'un talle haploïde.







CAMPAGNE : 1983-84 A

RESULTATS DES MISES EN CULTURE  
DE JANVIER A MARS 1984

CROISEMENT EXPLOITE	NOMBRE D'ANTHERES  (1)	NOMBRE CAL S  (2)	RENDEMENT CAL S/ANTH  (2)/(1) x 100	NOMBRE CAL S AYANT NEOFORME  (3)	RENDEMENT EN PLANTES CHLORO.		NOMBRE PLANTES #tes EN TUBE
					/CAL S (3)/(2) x 100	/ANTH (3)/(1) x 100	
Beira Campo x IRAT 13	7700	1782	23,1 %	20	1,15 %	0,26 %	90
IRAT 13 x Beira Campo	16240	2431	14,9 %	29	1,19 %	0,18 %	102
Beira Campo x IAC 47	6640	476	7,1 %	2	0,42 %	0,03 %	2
Beira Campo x IRAT 146	4640	2122	45,7 %	21	1 %	0,45 %	58
Pratao x IRAT 13 (croisement témoin)	560	720	128,5 %	1	0,14 %	0,18 %	1
Beira Campo (Variété témoin)	400	96	24 %	5	5,2 %	1,25 %	10

CAMPAGNE : 1983-84 A

DOUBLEMENT SPONTANE ET TRAITEMENT COLCHICINE DES PLANTES HAPLOIDES

CROISEMENT EXPLOITE	SURVIE		DOUBLEMENT SPONTANE			TRAITEMENT COLCHICINE (OCT 1984)			
	NB CALS AYANT NEOFORME	NB "CALS" AYANT SURVECU	NB "CALS" HDS	%	NB LIGNEES HDS ISSUES DE CES CALS	NB CALS HAPLOIDES	NB PLANTES ≠ HAPLOIDES TRAITEES COLCHICINE	DOUBLEMENT	
								CALS NB	PLANTES NB
Beira Campo x IRAT 13	20	18	8	44,5 %	20	10	16	4 (40%)	5 (30%)
IRAT 13 x Beira Campo	29	24	19	79 %	64	5	11	0	0
Beira Campo x IAC 47	2	2	2	100 %	2	-	-	-	-
Beira Campo x IRAT 146	21	12	10	83 %	33	2	7	0	0
Pratao x IRAT 13 (croisement témoin)	1	1	1	100 %	-	-	-	-	-
Beira Campo (Variété témoin)	5	5	4	80 %	-	-	-	-	-

CAMPAGNE : 83-84 B

RESULTATS DES MISES EN CULTURE  
DE AOUT à OCTOBRE 1984

CROISEMENT EXPLOITE	NOMBRE D'ANTHERES  (1)	NOMBRE CAL S  (2)	RENDEMENT CAL S/ANTH  (2)/(1)×100	NOMBRE CAL S AYANT NEOFORME  (3)	RENDEMENT EN PLANTES CHLORO.		NOMBRE PLANTES #tes EN TUBE
					/CAL S (3)/(2)×100	/ANTH (3)/(1)× 100	
Beira Campo x IRAT 13	480	107	22,3 %	0	-	-	-
IRAT 13 x Beira Campo	1080	44	4,1 %	0	-	-	-
Beira Campo x IAC 47	900	33	3,6 %	0	-	-	-
IAC 47 x Beira Campo	1680	88	2,3 %	1	2,6 %	0,06 %	1
IAC 25 x CA 435	2700	143	5,3 %	3	2,1 %	0,11 %	4
CA 435 x IAC 25	1480	82	5,5 %	0	-	-	-
CA 435 x Chianan 2	4260	836	19,6 %	23	2,75 %	0 53 %	55
IRAT 137 x Apura Famille F4 73/2	60	39	65 %	8	20,5 %	13,3 %	15

CROISEMENT EXPLOITE	SURVIE		DOUBLEMENT SPONTANE			TRAITEMENT COLCHICINE (MAI et AOUT 85)					
	NB CALS AYANT NEOFORME	NB "CALS" AYANT SURVECU	NB "CALS" HDS	%	NB LIGNEES HDS ISSUES DE CES CALS	NB CALS HAPLOIDES	NB PLANTES ≠ HAPLOIDES TRAITEES COLCHICINE	DOUBLEMENT			
								CALS		PLANTES	
							NB	%	NB	%	
IAC 47 x BEIRA CAMPO	1	1	1	100 %	1	-	-	-	-	-	
IAC 25 x CA 435	3	3	-	-	-	-	-	-	-	-	
CA 435 x CHIANNAN 2	23	17	6°	35,5%	12	12°	25	9 (75%)	18 (72%)		
IRAT 137 x Apura Famille F4 73/2	8	6	3	50 %	8	3	5	*	*		

\* = résultats en cours d'obtention

° = un cal a néoformé à la fois des plantes haploïdes et diploïdes spontanées

CAMPAGNE 1984-85 A : RESULTATS DEFINITIFS DES MISES EN CULTURE  
DE JANVIER 1985

<u>CROISEMENT</u> <u>EXPLOITE</u>	ANTHERES EN CULTURE	ANTHERES CALLOGENES	%	NB de cals	REND. CALS/ ANTHERE	NB DE CALS AYANT NEO- FORME UNE OU PLUSIEURS PLTES CHLORO.	REND.   / ANTH		NB DE PLTES ≠ EN TUBE
							CHLORO. EN PLANTES		
	1	2	2/1x100	3	3/1 x 100	4	4/3x100	4/1x100	5
CA 435 x Chianan 2	2065	680	32,9%	5329	258%	79	1,5%	3,8%	124
Beira Campo x IAC 47	490	16	3,2%	88	17,9%	0	0 %	0 %	0
IAC 47 x Beira Campo	1200	36	3 %	234	19,5 %	1	0,4%	0,08%	1
CA 435 x IAC 25	500	87	17,4%	423	84,6%	8	1,9%	1,6%	16
IAC 25 x CA 435	510	78	15,3%	302	59,2%	1	0,3%	0,2%	2
Beira Campo x IRAT 13	2030	94	4,6%	493	24,3%	7	1,4%	0,34%	14
IRAT 13 x Beira Campo	1430	179	12,5%	720	50,3%	2	0,28%	0,14%	2

CROISEMENT EXPLOITE	SURVIE		DOUBLEMENT SPONTANE			TRAITEMENT COLCHICINE (AOUT-OCT 1985)			
	NB CALS AYANT NEOFORME	NB "CALS" AYANT SURVECU	NB "CALS" HDS	%	NB LIGNEES HDS ISSUES DE CES CALS	NB CALS HAPLOIDES	NB PLANTES ≠ HAPLOIDES TRAITEES COLCHICINE	DOUBLEMENT	
								CALS NB	PLANTES NB
CA 435 x CHIANAN 2	79	75	35°	46,6 %	46	46°	72	*	*
IAC 47 X Beira Campo	1	1	1	100 %	1	-	-	-	-
CA 435 x IAC 25	8	8	7	87,5 %	10	1	3	*	*
IAC 25 x CA 435	1	1	0	0 %	0	1	2	*	*
Beira Campo x IRAT 13	7	5	3	60 %	5	2	5	*	*
IRAT 13 x Beira Campo	2	2	1	50 %	1	1	1	*	*

\* = résultats en cours d'obtention

° = 6 calcs ont néoformé à la fois des plantes haploïdes et diploïdes spontanées

CAMPAGNE : 84-85 A

RESULTATS DES MISES EN CULTURE DE

FEVRIER/MARS 1985

CROISEMENT EXPLOITE (FAMILLE F5)	NOMBRE D'ANTHERES (1)	NOMBRE CALs (2)	RENDEMENT CALs/ANTH $(2)/(1) \times 100$	NOMBRE CALs AYANT NEOFORME (3)	RENDEMENT EN PLANTES CHLORO.		NOMBRE PLANTES #tes EN TUBE
					/CALs $(3)/(2) \times 100$	/ANTH $(3)/(1) \times 100$	
IRAT 137 x IRAT 177 (6)	1550	860	55,5 %	5	0,58 %	0,32 %	10
IRAT 177 x Apura (12)	1100	988	90,0 %	1	0,1 %	0,09 %	1
IRAT 137 x Apura (15/8)	1100	936	85 %	6	0,64 %	0,54 %	12
" (19/2)	1780	319	18 %	0	-	-	-
" (40/7)	1860	389	21 %	10	2,57 %	0,53 %	21
" (73/1)	2760	1132	41 %	7	0,61 %	0,25 %	11

CROISEMENT EXPLOITE (FAMILLE F5)	SURVIE		DOUBLEMENT SPONTANE			TRAITEMENT COLCHICINE (OCT et DEC 1985)			
	NB CALS AYANT NEOFORME	NB "CALS" AYANT SURVECU	NB "CALS" HDS	%	NB LIGNEES HDS ISSUES DE CES CALS	NB CALS HAPLOIDES	NB PLANTES ≠ HAPLOIDES TRAITEES COLCHICINE	DOUBLEMENT	
								CALS NB	PLANTES %
IRAT 137 x I 177 (6)	5	5	3	60 %	7	2	2	*	*
IRAT 177 x Apura (12)	1	1	0	0 %	0	1	1	*	*
IRAT 137 x Apura (15/8)	6	6	2	33,3 %	4	4	8	*	*
" (40/7)	10	10	*	*	*	*	*	*	*
" (73/1)	7	7	*	*	*	*	*	*	*

\* = résultats en cours d'obtention

CROISEMENT EXPLOITE	ANTHERES	ANTHERES	%	CALS	CALS/	DE CALS	REPI-	AYANT NEO-	FORME	CALS REPIQUES	ANTH EN CULT.	PLANTES DIF-
	EN CULTURE	CALLOGENES	(2)	OBTENUS	ANTHERES	PAR ANTH.	QUES	FORME	(5)/(4) x100	(5)/(1) x 100	TUBE (6)	
	(1)	(2)	(1)x100	(3)	(3)/(1)x100	CALL. (3)/(2)	(4)	(5)				
MUTANT MAK. x IAC 47	800	98	12,2	1029	128,6	10,5	523	18	3,44	2,25	22	
IAC 47 x MUTANT MAK.	1610	141	8,7	2106	130,8	14,9	1059	6	0,56	0,37	6	
I.177 x M. MAK	2380	413	17,3	3907	164,1	9,4	2632	17	0,65	0,71	27	
M. MAK x I.177	2205	480	21,8	4166	188,9	8,7	2469	6	0,24	0,27	8	
CUTTACK 4 x M. MAK	2830	366	12,9	4218	149,0	11,5	2086	12	0,57	0,42	17	
M.MAK, X CUT. 4	1130	141	12,4	2252	199,3	15,9	1072	1	0,09	0,09	1	
I.112 x Lageado	3080	248	8,05	1755	57,0	7,1	655	1	0,15	0,03	1	
Lageado x I.112	2960	357	12,0	2690	90,9	7,5	1125	0	0	0	0	
F. x mIAC 5100	1885	142	7,5	1350	71,6	9,5	767	2	0,26	0,1	5	
mIAC 5100 xF.	1000	60	6,0	671	67,1	11,2	325	0	0	0	0	
<u>TOTAUX</u>	<u>19880</u>			<u>24144</u>			<u>12713</u>					

TOTAL ANTH  
MISES EN  
CULTURE : 22 520

TOTAL  
ANTH.  
INFECTEES : 2640

% INFECTION  
: 11,7%

RESULTATS DES MISES EN CULTURE DU 13/8 AU 10/9 1985

CAMPAGNE 84-85 B

CROISEMENT EXPLOITE	ANTHERES EN CULTURE (1)	ANTHERES CALLOGENES (2)	.% (2) (1)x100	CAL S OBTENUS (3)	CAL S/ ANTHERES (3)/(1)x100	DE CALS PAR ANTH. CALL. (3)/(2)	REPI- QUES (4)	AYANT NEO- FORME (5)	FORME		PLANTES DIF- FERENTES EN TUBE (6)
									CAL S REPIQUES (5)/(4) x100	ANTH EN CULT. (5)/(1) x 100	
I.112 x Apura	1796	156	8,7	12138	119,0	13,7	1318	3	0,23	0,17	3
Apura x I.112	985	97	9,8	1067	108,3	11,0	707	5	0,70	0,5	6
I.177 x Apura	1986	109	5,5	1271	64,0	11,7	818	2	0,24	0,1	2
Apura x I.177	690	38	5,5	525	76,1	13,8	307	2	0,65	0,29	3
I.137 x Apura	1230	44	3,6	346	28,1	7,8	273	1	0,36	0,08	1
Apura x I.137	1145	25	2,2	73	6,4	2,9	39	1	2,56	0,09	1
M.MAK.x Apura	1218	34	2,8	242	19,9	7,1	163	1	0,61	0,08	1
Apura x M.MAK.	130	9	6,9	36	27,7	4	34	2	5,88	1,54	3
I.117 x Apura	700	17	2,4	89	12,7	5,2	72	1	1,39	0,14	1
Apura x I.117	775	20	2,6	76	9,8	3,8	44	0	0	0	0
<u>TOTAUX</u>	10655			5863			3775				

TOTAL ANTH  
MISES EN  
CULTURE : 17 295

TOTAL  
ANTH.  
INFECTEES : 6640

% INFECTION  
: 38,4%

RESULTATS DES MISES EN CULTURE DU 12/9 AU 14/10 1985

CAMPAGNE 84-85 B