

Fig. 1. — *Satsuma Wase*.

En haut : Pépin. On remarque la protubérance produite sous le testa par le funicule.

En bas : Pépin testa enlevé. On distingue bien le funicule.

Au milieu : Pépin testa et tegmen enlevés. Les multiples embryons nucellaires s'accumulent du côté du hile.

(Photos
H. Chapot, I.F.A.C.)

La Polyembryonie chez les Citrus

par **Claude PY**

INGÉNIEUR AGRICOLE,
GÉNÉTICIEN A L'INSTITUT DES FRUITS
ET AGRUMES COLONIAUX.

Bien que les Citrus comptent parmi les espèces les plus cultivées et partant, celles dont la sélection a été des plus poussées, on ne sait que peu de choses sur les phénomènes génétiques que présentent les Agrumes.

C'est ainsi que faute de connaître le processus de transmission des principaux caractères, sinon des variétés mais même des espèces, on est à l'heure actuelle incapable, à l'inverse de ce qui a lieu pour d'autres plantes cultivées, de conduire des hybridations vers un but économique déterminé.

La responsabilité de cet état de fait incombe en partie au curieux phénomène de la polyembryonie. Ce phénomène rend difficile la distinction dans un semis des plants hybrides présumés et des plants nucellaires.

Or, la polyembryonie elle-même est mal connue ; on ignore son degré pour un très grand nombre de variétés (et non des moindres), on ignore si elle varie avec les individus, les climats et même la disposition des fruits sur l'arbre.

Enfin, son intérêt immédiat pratique (sur la sélection des porte-greffes et l'élimination des viroses chez les variétés commerciales) s'ajoute aux raisons données plus haut pour faire de l'étude de la polyembryonie chez les Citrus un sujet de choix, d'une importance à la fois économique et scientifique.

Les recherches de M. Claude PY au Maroc auprès du Service de l'Horticulture sur ce sujet et dont la note qui suit n'est qu'un résumé sommaire, ajouteront des éléments de valeur au peu que l'on savait sur cette question.

On sait que les graines, en général, ne contiennent qu'un embryon. Il existe cependant un grand nombre de plantes dont les graines en contiennent plusieurs, ce phénomène est appelé *polyembryonie*. Il a été remarqué pour la première fois chez les Citrus, par LEEUWENHOECK en 1719 ; depuis, de nombreux auteurs ont étudié ce curieux phénomène sur divers végétaux, mais sa haute diversité et son importance dans le genre Citrus expliquent tout l'intérêt qu'ont apporté les auteurs à l'étude de la polyembryonie chez les Agrumes.

En effectuant des coupes de l'ovaire au moment de la

fécondation, ou peu après, STRASBURGER, puis d'autres auteurs, ont noté que si l'un des embryons était issu de la fusion du gamète mâle avec le gamète femelle, les autres provenaient d'un bourgeonnement du nucelle, tissu maternel diploïde. En germant, le premier donnera une plante *sexuée*, qui sera hybride si les gamètes étaient génétiquement différents. Les seconds, au contraire, qui se sont développés sans fécondation (embryons *nucellaires*), donneront des plantes identiques au pied-mère. Il arrive parfois cependant que l'on observe la formation de *deux* plantules *sexuées* à partir d'un seul pépin. Elles proviendraient d'em-

bryons qui se seraient développés à partir d'un ovule fécondé unique, par scission de l'œuf peu après la fécondation.

On peut se demander si la pollinisation est indispensable à la formation des embryons asexués ou nucellaires. Les auteurs s'accordent à reconnaître la nécessité de la pollinisation, mais certains, dont TOXOPEUS, n'estiment pas qu'une *réelle* fécondation soit obligatoire. Il semble cependant qu'elle ait généralement lieu chez les Citrus : l'absence de fusion d'un noyau spermatique avec les noyaux polaires empêcherait le développement total ou partiel de l'endosperme, tissu nour-

ricier, et par suite des embryons nucellaires en voie de formation.

Aperçus numériques de la polyembryonie chez les principales espèces de Citrus.

Le nombre d'embryons par pépin est extrêmement variable. Nous avons décortiqué plus de 8.000 pépins appartenant à de nombreuses variétés de chacune des grandes espèces commerciales de Citrus. C'est dans le groupe des mandarines (*Citrus reticulata* BLANCO) et des hybrides de mandarine que l'on rencontre la plus grande variation dans le degré de polyembryonie. Si la *Clémentine* (à part quelques très rares exceptions) est strictement monoembryonique, la Mandarine *Dai-Dai*, ou *Commune*, par contre, a un nombre moyen d'embryons par pépin de $10,46 \pm 0,31$ (moyenne évaluée d'après un dénombrement effectué sur 100 pépins). Nous avons observé jusqu'à 26 embryons dans un seul pépin chez la mandarine *Willow-Leaf*, variété très voisine de la précédente. La plupart d'entre eux ne sont que des ébauches embryonnaires incapables de germer : ils constituent une poussière d'embryons localisés au fond du cône que forme le tegmen dans la région du micropyle.

Nous n'avons pas observé de variétés d'Oranges (*Citrus sinensis* OSBECK) monoembryoniques. Le nombre moyen d'embryons par pépin pour cette espèce se situe autour de 4,5, chiffre légèrement supérieur à celui relevé chez les Bigarades (*Citrus Aurantium* L.) pour les variétés que nous avons étudiées.

Les Pamplemousses vrais (*Citrus grandis* (L.) OSBECK) de leur côté, se sont montrés strictement monoembryoniques ; MOREIRA et ses collaborateurs ont noté cependant quelques très rares exceptions. Les hybrides de pamplemousse, par contre, sont polyembryoniques. Les Pomelos ou Grapefruits (*Citrus paradisi* MACF.) sont légèrement polyembryoniques, le nombre moyen d'embryons par pépin pour les variétés que nous avons étudiées se situe autour de 2,5.

Les Citrons vrais (*Citrus limon* L.) sont faiblement polyembryoniques, mais les hybrides, par contre, s'en distinguent nettement par leurs moyennes, sensiblement supérieures. Les Cédrats (*Citrus Medica* L.) de leur côté, présentent dans nos comptages une gamme continue de moyennes qui va de 1 pour le Cédrat *Poncire* et le Cédrat 109, à $3,91 \pm 0,17$ pour le Cédrat hybride *San Geronimo*.

Un comptage sur le *Poncirus trifoliata* nous a donné un nombre moyen d'embryons par pépin de $2,46 \pm 0,17$ (50 pépins avaient été utilisés pour ce dénombre-

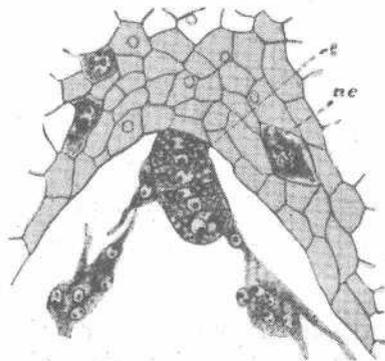
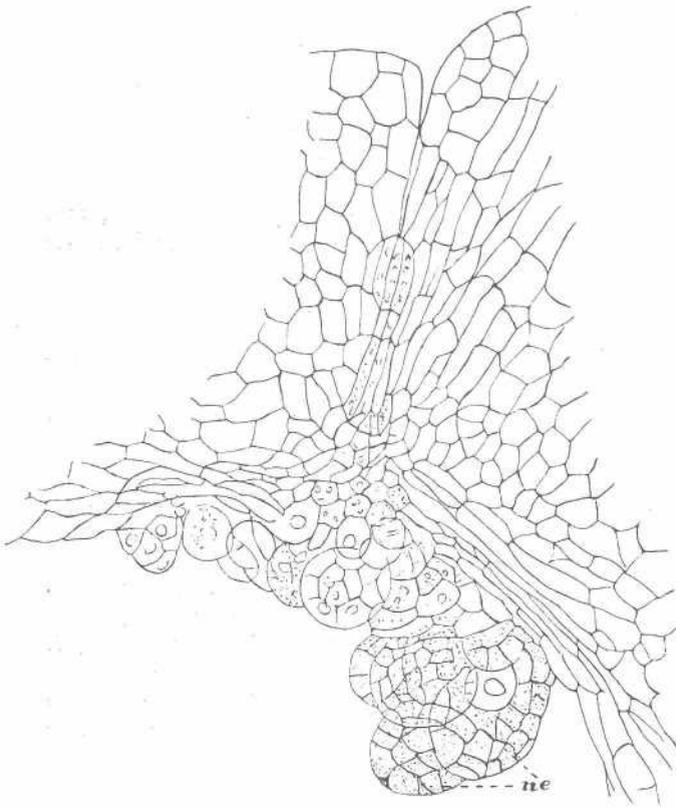


Fig. 2. — Développement des embryons chez *Citrus sinensis* (Osbeck) (en haut) et *Poncirus* (en bas). — e, embryon sexué ne, embryon nucellaire. (Schémas effectués d'après les dessins de Osawa (1912) et de Strasburger (1878).

ment, alors qu'en général nous utilisons 100 pépins par variété).

Variation de la Polyembryonie.

La polyembryonie est un caractère très fluctuant. Dans nos comptages, nous avons fait appel pour chaque variété à un arbre donné et repéré. Pour chacun de ceux-ci, nous avons choisi un échantillon dont nous

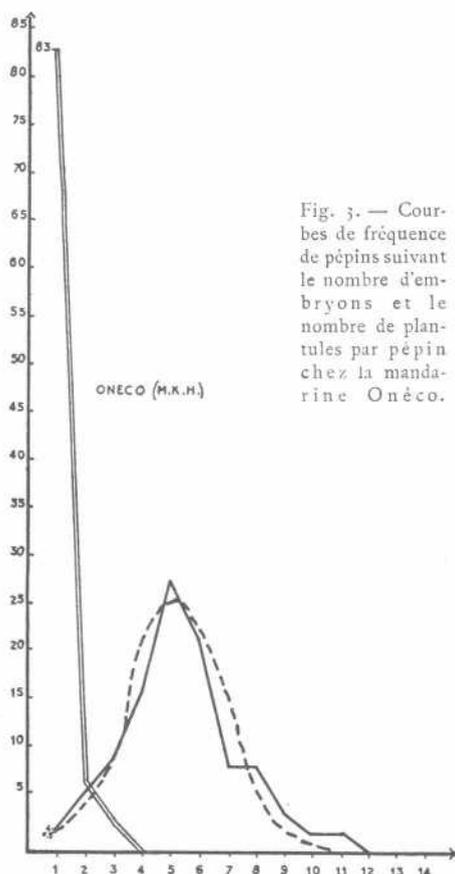


Fig. 3. — Courbes de fréquence de pépins suivant le nombre d'embryons et le nombre de plantules par pépin chez la mandarine Onéco.

avons extrait des pépins que nous avons décortiqués. Des dénombrements effectués d'après des arbres différents nous ont montré que, pour une même variété, la polyembryonie varie d'un arbre à l'autre.

MOREIRA et ses collaborateurs ont montré qu'elle variait également d'une année à l'autre pour un même arbre.

Choissant une variété fortement polyembryonique : la mandarine *Willow-Leaf*, nous nous sommes proposés d'étudier schématiquement la variation de la polyembryonie sur un même arbre. Bien que les résultats soient encore incomplets, on peut néanmoins noter une variation considérable de la polyembryonie sur un

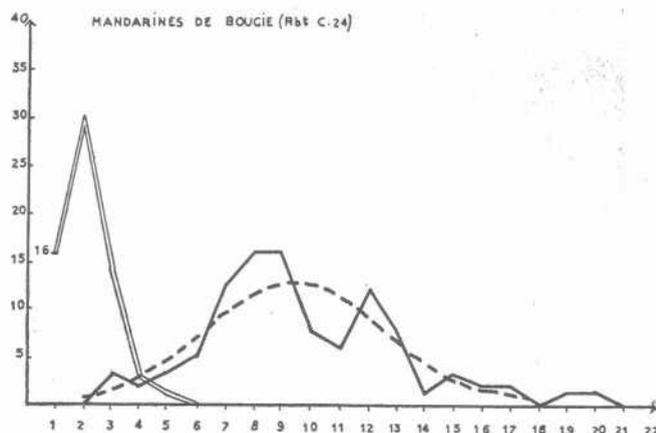


Fig. 4. — Courbes de fréquence des pépins suivant le nombre d'embryons et le nombre de plantules par pépin chez la Mandarine de Bougie.

même arbre ; en cueillant séparément les fruits des branches principales et en dénombrant dans chacun des lots le nombre moyen d'embryons par pépin, on observe des différences profondes. Il semble que le taux de polyembryonie soit plus élevé chez les fruits situés à l'ombre, comme nous l'ont montré les chiffres obtenus sur quelques échantillons ; il serait, en conséquence, supérieur pour les fruits situés à l'intérieur de l'arbre.

Quand on fait des dénombrements d'embryons pour chaque fruit séparément, dans une même variété, on remarque que pour chacun de ces fruits, la distribution des pépins suivant leur nombre respectif d'embryons est assez groupée : on a l'impression que les facteurs qui font varier la polyembryonie y agissent d'une façon homogène. La variation du caractère « polyembryonie » explique toute l'importance de l'échantillonnage, quand on veut connaître pour chaque variété, pour des buts taxonomiques, le nombre moyen d'embryons par pépin. On peut aisément mettre en valeur des différences significatives entre variétés quand elles appartiennent à des groupes différents (groupe des variétés *fortement* polyembryoniques, groupe des variétés *moyennement* polyembryoniques et groupe des variétés *faiblement* polyembryoniques). Mais pour effectuer des comparaisons entre variétés d'un même groupe, il est nécessaire de faire des moyennes sur plusieurs arbres situés dans les localités différentes, et cela pendant plusieurs années.

Germ ination des pépins.

Tous les embryons d'un pépin polyembryonique ne germent pas. Les plus petits se gonflent, émettent par-

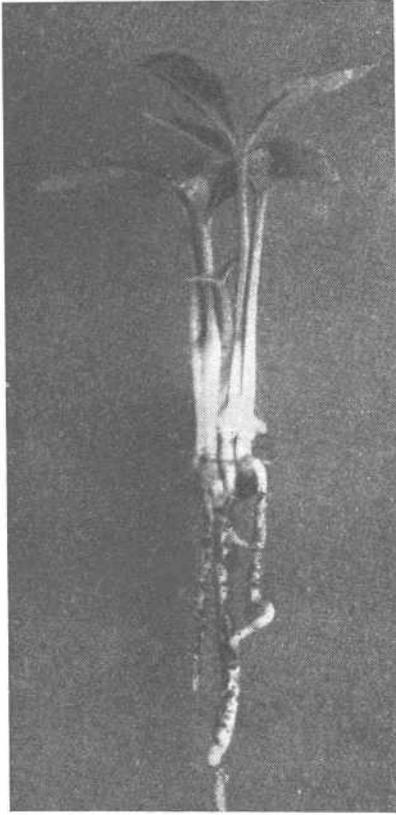


Fig. 5. — *Mandarine commune*. Germination d'un p \acute{e} pin vue du c \hat{o} t \acute{e} du hile. 4 plantules vigoureuses se sont d \acute{e} velopp \acute{e} es (dont une double). (grandeur naturelle).

(Photo H. Chapot, I.F.A.C.)

fois une petite racine, mais sont incapables de poursuivre leur d \acute{e} veloppement. Seuls, en g \acute{e} n \acute{e} ral, les embryons de taille sup \acute{e} rieure \acute{a} 5 mm peuvent donner des plantules. MOREIRA et ses collaborateurs, cependant, ont r \acute{e} ussi \acute{a} obtenir la germination sur milieu artificiel d'embryons dont la taille allait de 2 \acute{a} 5 mm. La sortie des jeunes plantules du p \acute{e} pin se fait souvent avec difficult \acute{e} et on assiste parfois \acute{a} la formation de plantules soud \acute{e} es \acute{a} diff \acute{e} rents niveaux.

Nous avons aussi obtenu *jusqu'* \acute{a} 5 plantules bien form \acute{e} es \acute{a} partir d'un seul embryon, ce fut le cas par deux fois dans des semis de Satsuma *Owari*.

Tailles respectives des divers embryons.

Nous venons de noter la comp \acute{e} tition qui s'est livr \acute{e} e entre embryons, de l'embryog \acute{e} n \acute{e} se \acute{a} la germination des p \acute{e} pins. Un autre point qu'il importe d'examiner est celui concernant l'origine de la plantule la plus d \acute{e} velopp \acute{e} e; c'est elle, en effet, qui sera choisie sur la planche de semis pour l'obtention de porte-greffes.

Les auteurs s'accordent \acute{a} reconna \hat{t} re au plus gros embryon une origine nucellaire; il semble, en effet, qu'en g \acute{e} n \acute{e} ral les embryons nucellaires sont plus vigoureux et \acute{e} vincent fr \acute{e} quemment, d \acute{e} s les premiers stades de l'embryog \acute{e} n \acute{e} se, l'embryon sex \acute{u} é. L'embryon le plus gros germe le premier et donne une plantule qui maintient son avance pendant tr \acute{e} s longtemps, comme l'ont montr \acute{e} les travaux de WEBBER, et qui est donc en

g \acute{e} n \acute{e} ral d'origine nucellaire. Cependant, dans des croisements entre parents \acute{e} loign \acute{e} s, il arrive parfois que l'embryon sex \acute{u} é soit le plus vigoureux. \acute{A} la suite de plusieurs exp \acute{e} riences que nous avons conduites sur le *Bigaradier commun*, nous avons pu v \acute{e} rifier en choisissant et repiquant la plus grande plantule de chaque p \acute{e} pin, que les p \acute{e} pins polyembryonniques donnaient un lot homog \acute{e} ne de jeunes plants, alors que la population issue de p \acute{e} pins monoembryonniques est beaucoup plus h \acute{e} t \acute{e} rog \acute{e} ne.

Dans des conditions naturelles de v \acute{e} g \acute{e} tation, il est tr \acute{e} s difficile de reconna \hat{t} re sur la planche de semis la plantule « sex \acute{u} é \acute{e} » des plantules nucellaires. Cependant, si l'on a choisi comme parent m \hat{a} le une plante au feuillage caract \acute{e} ristique (par exemple le feuillage trifoliol \acute{e} du *Poncirus trifoliata*), il est possible de distinguer tr \acute{e} s t \hat{o} t les plantules « sex \acute{u} é \acute{e} s ». C'est ainsi qu'en pollinisant des fleurs d'orangers par du pollen de ce *Poncirus trifoliata*, on retrouve facilement la *feuille trifoliol \acute{e} e*, caract \acute{e} ristique du *Poncirus*. Toute s \acute{e} lection bas \acute{e} e sur le rejet des plantules les plus petites, \acute{a} la planche de semis, contribuera donc \acute{a} accro \hat{t} re l'homog \acute{e} n \acute{e} it \acute{e} de la population restante.

Le rajeunissement des clones.

Toute plantule nucellaire issue d'un bourgeonnement du tissu maternel devrait \acute{e} tre identique au pied-m \acute{e} re. En comparant deux arbres issus l'un d'un porte-greffe greff \acute{e} avec un bourgeon d'un arbre donn \acute{e} , l'autre d'un porte-greffe identique, mais greff \acute{e} \acute{a} partir d'un ceil pr \acute{e} lev \acute{e} sur une plantule nucellaire issue de ce m \hat{e} me arbre donn \acute{e} , on note des diff \acute{e} rences sensibles. Les arbres « jeunes-clones » greff \acute{e} s \acute{a} partir d'une plantule nucellaire sont plus

Fig. 6. — Vue grossie de la partie inf \acute{e} rieure de la fig. 5. On distingue nettement \acute{a} gauche les deux plantules produites par clivage d'un embryon (Photo H. Chapot, I.F.A.C.)

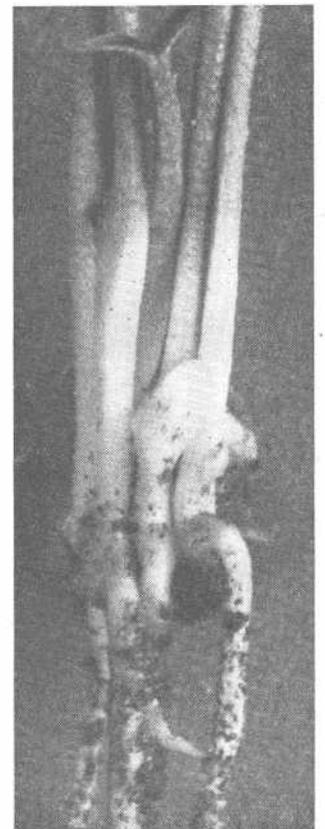
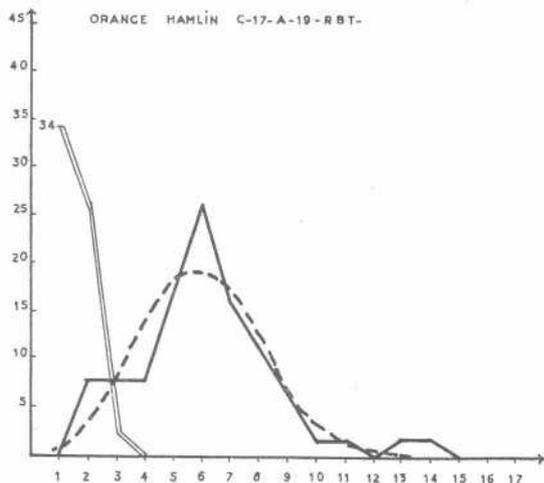


Fig. 7. — Courbes de fréquence des pépins suivant le nombre d'embryons et le nombre de plantules par pépin chez l'Orange Hamlin.



vigoureux, plus grands; ils ont d'une façon générale une tendance plus marquée au développement végétatif. Ils sont très épineux, la floraison et la fructification sont retardées de plusieurs années et sont moins abondantes, généralement, que chez les arbres « vieux-clones ». SWINGLE proposa au Congrès de Génétique de 1932 le terme de *néophyosis* pour désigner l'ensemble de ces phénomènes de rajeunissement. Les modifications dues au rajeunissement des clones sont par-

Fig. 8. — *Satsuma Wase*. Le même pépin que sur la fig. 1, disséqué et séparé en ses embryons constituants. Il y a 10 embryons, la plupart de ceux-ci, vu leur grosseur, sont susceptibles de germer et de donner une plantule viable. (Photo H. Cbapot, I.F.A.C.)

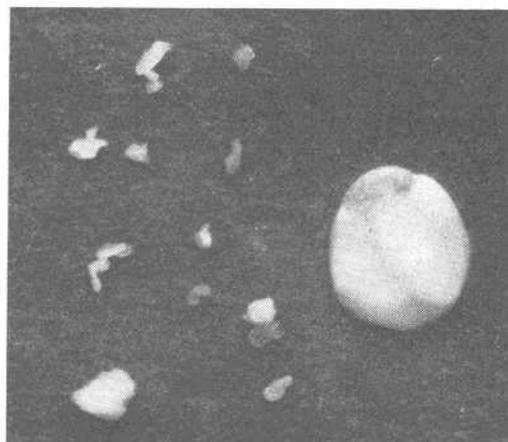
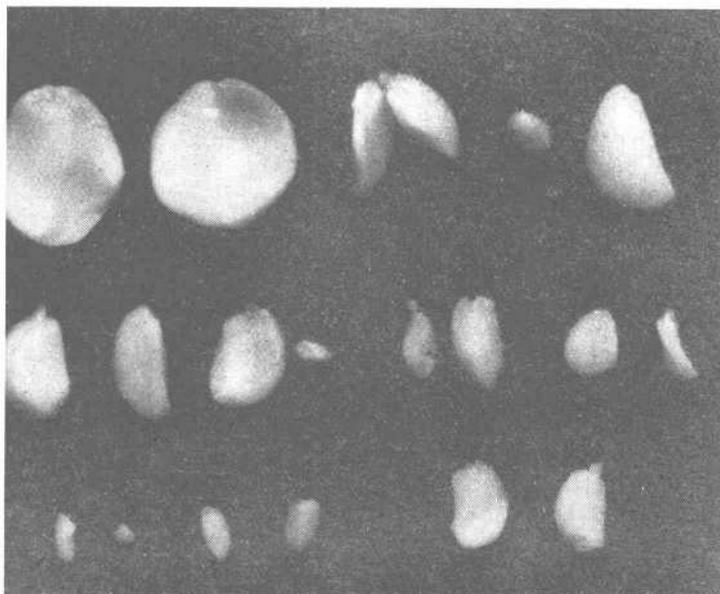


Fig. 9. — Un autre pépin de *Satsuma Wase* disséqué. Les embryons nucellaires sont très nombreux, difficiles à individualiser. Ils ne sont pas capables pratiquement de donner des plantules viables. (Photo H. Cbapot, I.F.A.C.)

fois si profondes que des auteurs ont fait de ces « lignées jeunes-clones » de nouvelles variétés.

La variété « *Satsuma Silverhill* », jeune lignée issue d'une plantule nucellaire de *Satsuma Owari*, se distingue nettement de cette dernière par sa résistance au froid, sa vigueur générale, son retard à la fructification. Après plusieurs hivers spécialement rigoureux en Floride, le *Satsuma Owari* a été notablement atteint par la gelée, tandis que le *Satsuma Silverhill*, situé

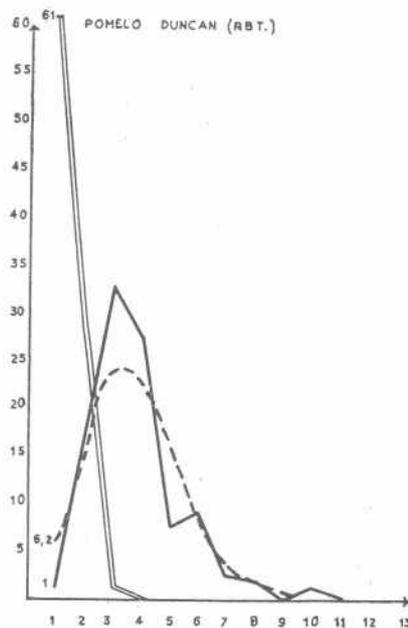


Fig. 10. — Courbes de fréquence des pépins suivant le nombre d'embryons et le nombre de plantules par pépin chez le Pomelo Duncan.

sur la même station, a résisté (SWINGLE, ROBINSON).

Plus récemment, FROST a isolé une plantule nucellaire, issue d'un citron *Eureka*, qui s'est révélée par la

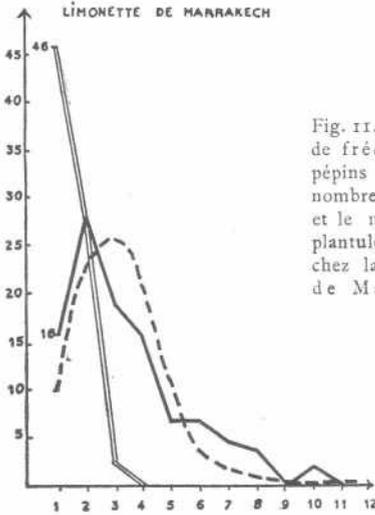


Fig. 11. — Courbes de fréquence des pépins suivant le nombre d'embryons et le nombre de plantules par pépin chez la Limonette de Marrakech.

suite très vigoureuse et très productive. Cette « nouvelle variété », connue maintenant sous le nom de citron *Frost-Eureka*, a été multipliée afin d'entreprendre des essais et depuis plantée en Californie.

Beaucoup d'auteurs se sont demandés quelle pouvait être l'origine de ce « rebondissement de vigueur ». Certains y voient le résultat de l'action d'hormones. Il correspond toujours à l'élimination des maladies à virus par une « substance puissante » qui serait, d'après DARLINGTON et d'autres auteurs, l'acide désoxyribonucléique.

Devant le développement des maladies à virus, la création de lignées exemptes de telles maladies à l'aide de l'embryonie nucellaire prend une importance toute particulière. Pour la lutte contre la *Tristeza* et la *Pso-rosa*, en particulier, les Stations de Recherches américaines orientent dans ce domaine leurs travaux vers la sélection des lignées nucellaires intéressantes exemptes de maladies à virus.

BIBLIOGRAPHIE

1. EGAÑA M. H. El factor « Polyembryonie » en el genero Citrus. *Agr. Rev. Agrop.*, n° 58, p. 657-663, oct. 1933.
2. FROST H. B. Nucellar embryony and juvenile characters in clonal varieties of Citrus. *The Jour. of Heredity*, p. 423-433, n° 29, n° 11, nov. 1938.
3. FROST H. B. Polyembryony, heterozigosis and chimeras in Citrus. *Hilgardia*, p. 365-409, n° 1, 1926.
4. HODGSON R. W. et CAMERON S. H. Effects of reproduction by nucellar embryony on clonal characteristics in Citrus. *The Journ. of Heredity*, p. 417-430, vol. 39, n° 1, nov. 1938.
5. LEROY J. F. La polyembryonie chez les Citrus. Son intérêt dans

- la culture et l'amélioration. *Rev. Int. de Bot. App. et d'Agr. Trop.*, p. 483-495, nov.-déc. 1947.
6. SWINGLE W. T. Nucellar bud seedlings. *The California Citrograph*, vol. 36, n° 2, déc. 1948.
7. WEBBER H. J. Effect of selection within apogamic and clonal progenies. *Amer. Soc. Hort. Sci. Proc.*, p. 53-56, vol. 28, 1931.
8. WEBBER H. J. Variations in Citrus seedlings and their relation to rootstock selection, *Hilgardia*, vol. 7, n° 1, june 1932.
9. WEBBER H. J. et BATCHELOR L. D. *The Citrus Industry*. University of California Press, 1946.
10. ANONYME. A note on embryo rejuvenation. *The Jour. of Heredity*, p. 419-423, vol. 29, n° 11, nov. 1938.

La polyembryonie qui se présente à des degrés très variables chez les diverses espèces et variétés de citrus a joué un très grand rôle dans l'évolution de ce genre. Les conséquences de ce phénomène dans la génétique pure de la plante et notamment dans la sélection des porte-greffes sont très importantes. La reproduction par embryons nucellaires présente une méthode de multiplication asexuée facile, rapide et « purificatrice » (par élimination des maladies à virus) chez des espèces où tout autre méthode de multiplication asexuée applicable à des porte-greffes est longue, difficile et le plus souvent à très faible rendement. De plus, ce phéno-

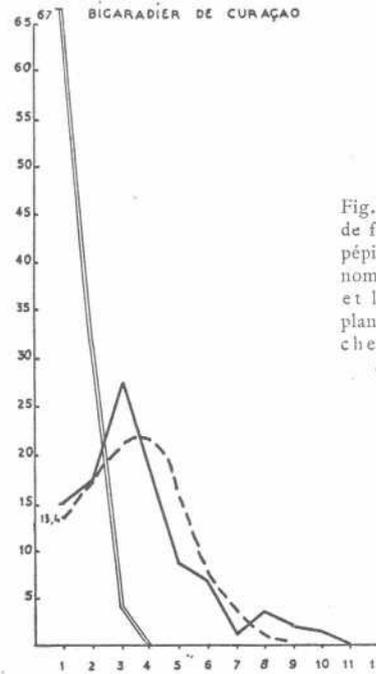


Fig. 12. — Courbes de fréquence des pépins suivant le nombre d'embryons et le nombre de plantules par pépin chez le Bigaradier de Curaçao.

mène présente en lui-même un champ de recherches pures ou appliquées à des fins taxonomiques qui est loin d'être sans intérêt.

* *