

# Possibilité d'utilisation d'une cytokinine seule ou associée à d'autres régulateurs de croissance pour lever la dormance des graines de rosacées fruitières du genre *Prunus*.

D. ROUSKAS et J. HUGARD\*

POSSIBILITE D'UTILISATION D'UNE CYTOKININE SEULE OU ASSOCIEE A D'AUTRES REGULATEURS DE CROISSANCE POUR LEVER LA DORMANCE DES GRAINES DE ROSACEES FRUITIERES DU GENRE *PRUNUS*

D. ROUSKAS et J. HUGARD

*Fruits*, mars 1982, vol. 37, n° 3, p. 195-202.

RESUME - Pour germer normalement, une fois placées en conditions favorables et donner ensuite naissance à des plantes de croissance régulière dépourvues d'anomalies foliaires, les graines des espèces fruitières appartenant à la famille des Rosacées doivent au préalable être soumises, en état d'imbibition, à une période d'exposition à des températures basses de l'ordre de 2 à 6°C, dite période de stratification.

La durée de cette période varie d'une espèce à l'autre et d'une population à l'autre au sein d'une même espèce.

L'imbibition pendant 24 heures dans une solution de benzyl-aminopurine à 200 mg/l<sup>-1</sup> peut remplacer l'action du froid et permettre l'obtention d'une germination et de plantules normales.

L'addition d'acide gibberellique GA<sub>3</sub> ou GA<sub>4+7</sub> à la solution de BAP améliore la vitesse de germination des graines.

Après trente et quatre-vingt jours de croissance, les plantes issues de graines traitées sont plus développées que les plantes témoins provenant de graines normalement stratifiées. Le diamètre à la base de leur tige principale est en particulier sensiblement plus important.

## INTRODUCTION

La réalisation d'un programme d'amélioration génétique d'une espèce végétale quelconque par voie sexuée suppose la meilleure maîtrise possible de la germination de ses graines. C'est pourquoi des recherches complémentaires sont nécessaires en vue de simplifier les méthodes d'obtention des plantules à partir des semences ou d'en accroître la sécurité.

Ces considérations s'appliquent particulièrement aux arbres fruitiers de la famille des Rosacées.

En effet, dans la majorité des cas, leurs graines ne germent normalement qu'après avoir été soumises, une fois imbibées, à une exposition plus ou moins longue à des températures comprises généralement entre plus 2 et plus 6°C en milieu humide. Pour les graines produites dans le cadre d'un programme d'amélioration variétale et le plus souvent issues d'hybridations contrôlées, la nécessité de cette stratification constitue un risque supplémentaire non négligeable. En effet, malgré une protection phytosanitaire soignée, ces graines, placées dans du sable humide à basse température, sont exposées à des contaminations d'origines diverses.

\* - I.N.R.A. - Laboratoire de Recherches d'Arboriculture fruitière  
Centre de Recherches agronomiques de Montpellier  
34060 Montpellier Cedex

Communication présentée au 1<sup>er</sup> Colloque sur les Recherches fruitières, Bordeaux, 1981.

Parvenir à réduire ou à supprimer la période de stratification constitue donc un moyen d'améliorer l'efficacité du travail de création variétale.

Il en va de même dans un autre secteur important des recherches conduites en arboriculture fruitière en vue de fournir aux arboriculteurs un matériel végétal de haute valeur, celui de la détection des maladies transmissibles par greffage. Cette détection s'appuie souvent sur les techniques d'indexage, or, celles-ci, en particulier chez les arbres fruitiers à noyau, font souvent appel à de jeunes plants issus de semis. La réalisation pratique des tests se trouve ainsi subordonnée à la disponibilité, au moment voulu, des jeunes plants nécessaires. La difficulté réside dans le fait que la quantité de plants dont on a besoin à chaque instant doit être prévue longtemps - souvent deux à trois mois - à l'avance de façon à réserver le temps de stratification indispensable.

On comprend que la conduite du travail d'indexage gagnerait en facilité et en souplesse d'organisation si la durée d'exposition au froid pouvait être substantiellement réduite ou mieux encore éliminée.

De nombreux auteurs ont mis en évidence l'existence d'une inhibition tégumentaire et d'une dormance épicytolaire s'opposant à la germination des graines de pêcher (REMY, 1961 ; SHARMA et SINGH, 1978). Une exposition au froid (plus 2 à plus 6°C) des graines imbibées maintenues en milieu humide permet de lever ces obstacles. CARLSON et TUKEY (1945) ont montré que la durée de l'exposition au froid nécessaire pour obtenir une germination normale en conditions favorables variait avec l'origine génétique des semences.

Le rôle de substances de croissance diverses sur l'incapacité à germer des graines en l'absence d'exposition préalable au froid et sur l'acquisition progressive de cette aptitude à basse température a donné lieu à de nombreux travaux (LUCKWILL, 1952 ; MATHUR et COUVILLON, 1971 ; BONAMY et DENNIS, 1977 ; DENNIS, MARTIN, GASKIN et MAC MILLAN, 1978).

REMY (1961) a montré que les effets de l'imbibition, dans une solution de gibberellines, de graines de pêcher non stratifiées au froid sont faibles.

Par contre, la pulvérisation de solution d'acide gibberellique sur des plantules issues de graines insuffisamment stratifiées et à l'état de rosettes, déclenche leur croissance normale.

Le travail qui fait l'objet de ce compte-rendu a consisté à comparer, pour les semences de deux cultivars de pêcher d'origine génétique et de caractéristiques physiologiques très différentes, la levée de l'état de dormance, d'une part par exposition à basse température, d'autre part par l'action d'une cytokinine, la benzyl-amino-purine (BAP) seule ou associée à une gibberelline.

## MATERIEL ET METHODES

Les noyaux des deux cultivars étudiés ont été fournis par la Station d'Arboriculture fruitière INRA de Bordeaux. Après récolte, à la fin de l'été, ils ont été conservés entre trois à six mois à 20°C à l'état sec avant utilisation.

Le cultivar «INRA GF 305» d'une grande homogénéité génétique est d'un usage courant comme porte-greffe du pêcher ainsi que comme plante indicatrice de diverses maladies transmissibles par greffage ; il est originaire de la région parisienne à climat tempéré.

Le cultivar «S 2464 Okinawa» provient d'une île de l'Océan Pacifique à climat subtropical.

Les graines, extraites de l'endocarpe, ont été stérilisées par trempage dans une solution d'hypochlorite de calcium à 90 g/l<sup>-1</sup> pendant trente minutes. Après trois rinçages successifs à l'eau distillée stérile, elles ont été divisées en deux lots :

les graines du premier lot ont été imbibées pendant 24 heures dans de l'eau distillée stérile, celles du second pendant le même temps et à la même température de 25°C dans une solution de régulateur de croissance ajustée à pH 5,5.

La composition des solutions utilisées est présentée dans le tableau 1.

La mise en solution de la BAP a été obtenue par agitation à l'aide d'un appareil magnétique dans de l'eau distillée à 90°C.

Les graines du premier lot, imbibées à l'eau stérile, ont été ensemencées dans des conditions rigoureuses d'asepsie, après que la moitié d'entre elles eurent été débarrassées de leurs téguments, à la surface d'une couche de vermiculite (6 g) imbibée d'eau distillée stérile (28 ml par boîte de Pétri de 10 cm de diamètre).

A l'issue de l'ensemencement, ces graines munies ou non de leurs téguments, ont été placées à plus 5°C dans un réfrigérateur à température contrôlée pour une durée variant de 5 à 90 jours ; chaque traitement thermique a porté sur 50 graines.

Les graines du second lot traitées par les solutions de substances de croissance ont été ensemencées dans les mêmes conditions que précédemment. Chacun des traitements a porté sur 20 graines ; dans ce cas, toutes les graines étaient munies de leurs téguments.

La mise en germination à l'issue du traitement par le froid ou par les substances de croissance a été effectuée à l'obscurité à 25°C.

La transplantation des plantules en pots sur milieu de tourbe a été réalisée pour tous les traitements dès que la racine eut atteint un centimètre de longueur. La croissance de ces plantules a été suivie pendant plusieurs mois.

TABLEAU 1 - Composition des solutions de régulateurs de croissance utilisées pour l'imbibition pendant 24 heures des graines des cultivars de pêcher INRA GF 305 et S 2464 Okinawa.

BAP en mg/l <sup>-1</sup>	GA <sub>3</sub> en mg/l <sup>-1</sup>	BAP + GA <sub>3</sub> en mg/l <sup>-1</sup>	GA <sub>4+7</sub> (28 % + 72 %) en mg/l <sup>-1</sup>	BAP + GA <sub>4+7</sub> en mg/l <sup>-1</sup>
20	50	70 + 50	50	70 + 50
40	100	200 + 100	100	200 + 100
60				
70				
80				
100				
150				
200				

La germination est caractérisée par le pourcentage de graines germées après 15 jours de séjour en conditions favorables et par la vitesse de germination calculée d'après la formule proposée par HARRINGTON (1962).

### RESULTATS ET DISCUSSION

Les figures 1, 2, 3 et 4 rendent compte des caractéristiques de germination et de croissance des plantules des graines et des embryons des cultivars INRA GF 305 et S 2464 Okinawa soumises à différentes durées de stratification.

On remarque que les graines du cultivar «INRA GF 305» munies de leurs téguments exigent une durée de stratification de soixante-dix jours à plus 5°C pour germer parfaitement et donner naissance à des plantules à croissance normale ; 30 jours du même traitement suffisent pour obtenir un résultat identique à partir des graines débarrassées de leurs téguments.

La figure 5 illustre les symptômes observés lorsque la durée d'exposition au froid est insuffisante.

Avec les graines du cultivar «S 2464 Okinawa» les durées de stratification nécessaires sont respectivement de 30 jours pour les graines et de 25 jours pour les embryons.

Ces résultats confirment l'importance de l'origine génétique des semences sur la durée d'exposition au froid nécessaire pour obtenir une germination et une croissance normales.

Ils permettent également d'apprécier chez les deux cultivars l'importance relative de l'inhibition tégumentaire et de la dormance embryonnaire dans le phénomène d'incapacité à la germination et à la croissance normales.

Les téguments des graines du cultivar «INRA GF 305» exercent un effet inhibiteur marqué alors que ceux du cultivar «S 2464 Okinawa» ont dans ce domaine un pouvoir très limité.

Les figures 6 et 7 rendent compte des caractéristiques de germination des graines des deux cultivars étudiés à l'issue d'un trempage de 24 heures dans des solutions de BAP à diverses concentrations, ainsi que de la croissance des plan-

tules issues des graines traitées.

On remarque que ces plantules manifestent un développement plus rapide que celles provenant de semences stratifiées. Elles dépassent très vite en longueur et en diamètre à la base comme le montre la figure 8 les plantules obtenues à partir de graines stratifiées.

L'observation des systèmes racinaires des deux types de plantules montre que ce système est beaucoup plus ramifié chez les plantules provenant de graines traitées à la BAP conduisant à la formation d'un chevelu racinaire sensiblement plus important. Tout se passe comme si le traitement à la BAP réduisait considérablement l'inhibition exercée par l'apex racinaire en croissance sur l'émission de racines latérales telle qu'on l'observe chez les plantules provenant de graines stratifiées.

Il convient également de remarquer que la concentration optimale de la solution de BAP utilisée pour le trempage des graines est sensiblement plus réduite, 80 mg/l<sup>-1</sup>, dans le cas du cultivar «S 2464 Okinawa» que dans celui du cultivar «INRA GF 305», 200 mg/l<sup>-1</sup>.

Cette observation doit être rapprochée du fait que la durée de stratification au froid exigée par les graines du premier est nettement plus brève que celle dont ont besoin les semences du second.

Le tableau 2 montre que les gibberellines GA<sub>3</sub> et GA<sub>4+7</sub> ont une faible action directe sur la germination des graines non stratifiées lorsqu'elles sont employées seules. Par contre, utilisées avec la BAP elles semblent agir en synergie avec cette dernière.

Des recherches complémentaires encore en cours prouvent que l'action de la BAP et des gibberellines mise en évidence sur graines de l'espèce pêcher, *Prunus persica* BATSCH., s'exerce également sur les semences d'abricotier, *Prunus armeniaca* L. et de prunier Sainte Lucie, *Prunus mahaleb* L. Pour l'abricotier, cultivar «Manicot GF 1236» l'efficacité optimale a été obtenue avec une solution mixte à 10 mg/l<sup>-1</sup> de BAP + 20 mg/l<sup>-1</sup> de GA<sub>4+7</sub> ; pour le prunier Sainte Lucie (graines d'origine commerciale) le meilleur résultat a été atteint avec une solution de 20 mg/l<sup>-1</sup> de BAP + 20 mg/l<sup>-1</sup> de GA<sub>4+7</sub>.

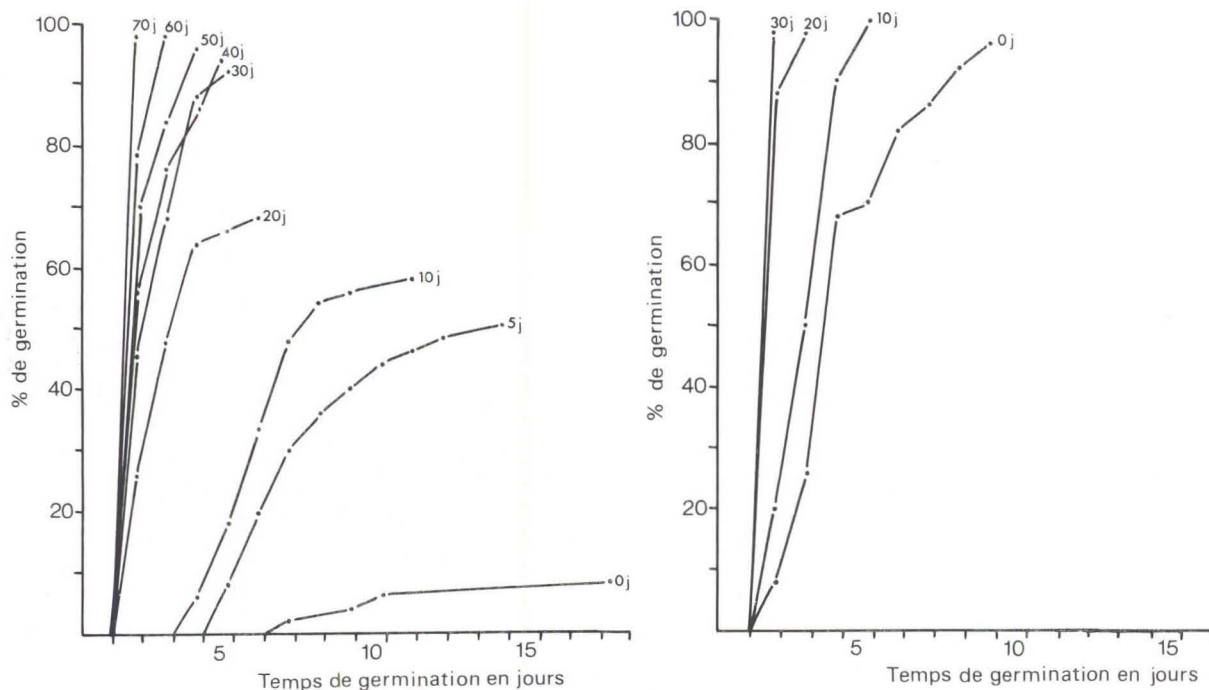


Figure 1 - Courbes de germination des graines (à gauche) et des embryons (à droite) du cultivar 'GF 305' en fonction du temps de stratification à + 5°C. Echantillon expérimental de 50 graines ou embryons.

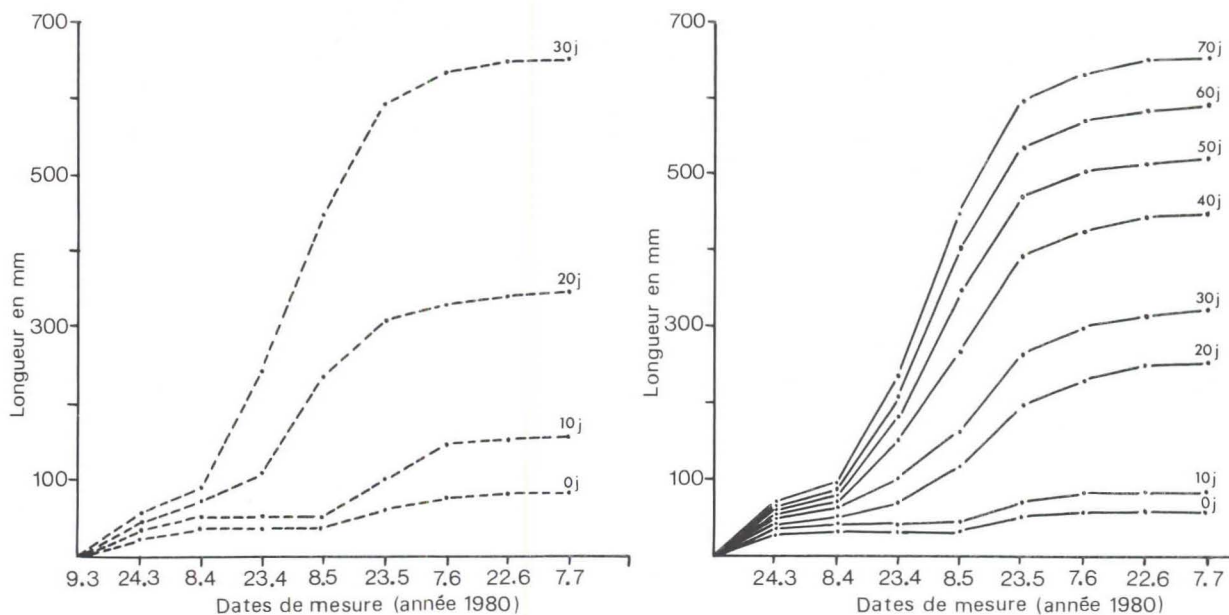


Figure 2 - Courbes de croissance des plants du cultivar 'GF 305' en fonction de la durée de stratification à + 5°C des graines (à droite) des embryons (à gauche). Echantillon expérimental de 20 plants.

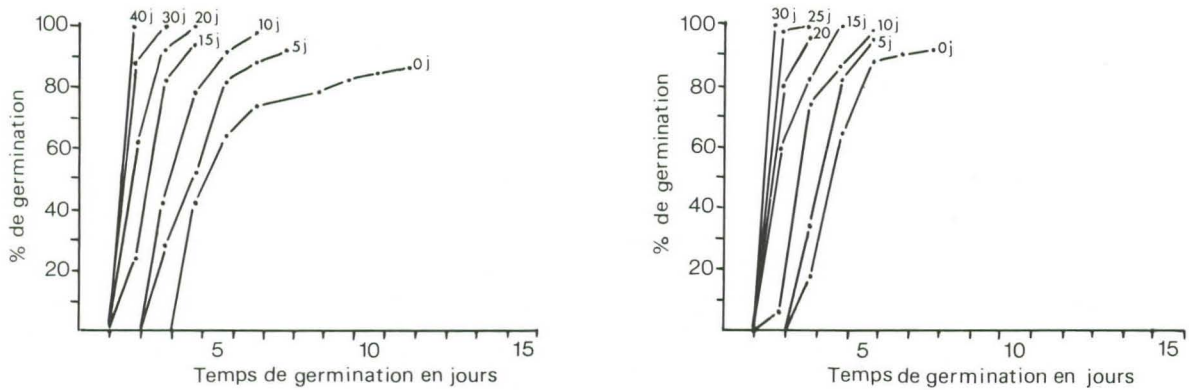


Figure 3 - Courbes de germination des graines (à gauche) et des embryons (à droite) du cultivar 'S 2464' en fonction du temps de stratification à + 5°C. Echantillon expérimental de 50 graines ou embryons.

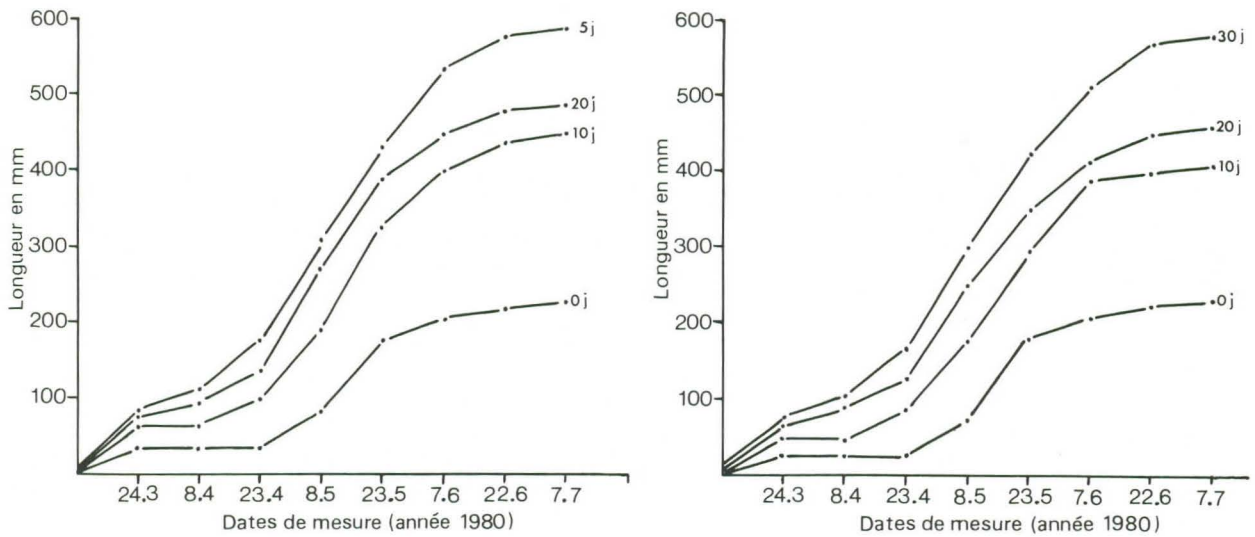


Figure 4 - Courbes de croissance des plants du cultivar 'S 2464' en fonction de la durée de stratification à + 5°C des graines (à gauche) des embryons (à droite). Echantillon expérimental de 20 plants.

Figure 5 - Plants du cultivar «GF 305» âgés de 70 jours.

Les trois plants de gauche, issus de graines stratifiées 30 jours à 5°C, montrent différents degrés d'anomalies foliaires ; les deux plants de droite, provenant d'embryons stratifiés de façon identique, sont normaux.

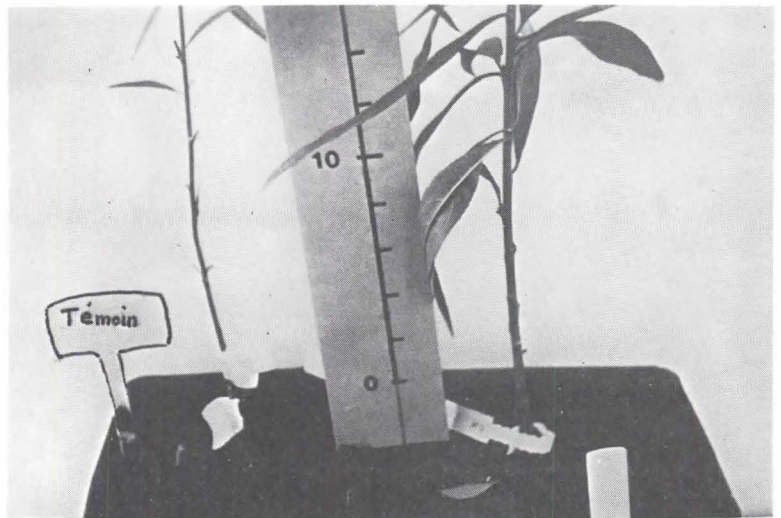
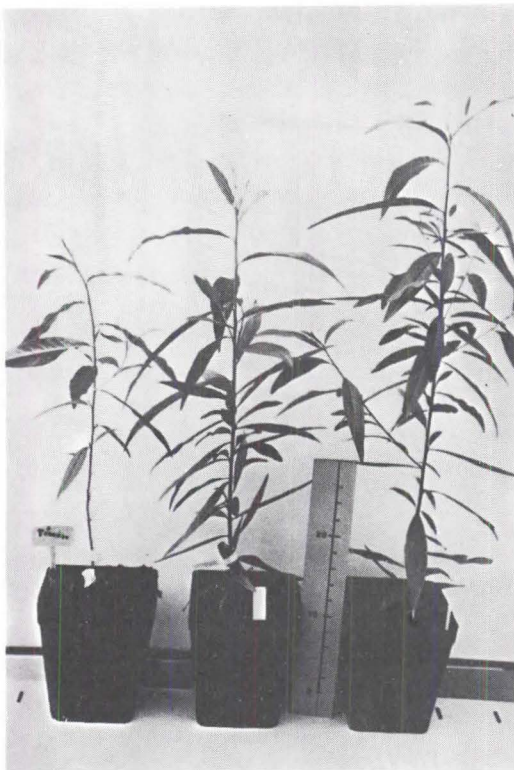
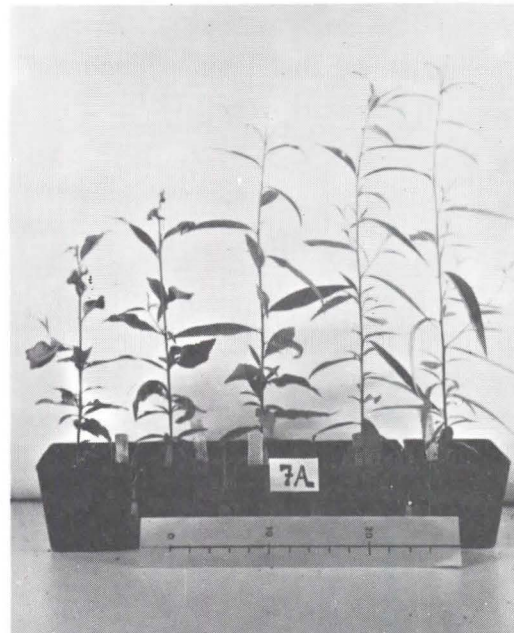


Figure 8 - Plants de «GF 305» âgés de 80 jours.

Sur le cliché de gauche, le plant le plus à gauche est issu d'une graine stratifiée 3 mois à 5°C, les deux autres proviennent de graines trempées dans une solution de BAP à 200 mg/l<sup>-1</sup>.

Sur le cliché de droite, on remarque le diamètre sensiblement plus important de la tige du plant de droite provenant d'une graine trempée dans une solution de BAP à 200 mg/l<sup>-1</sup>. L'autre plant est issu d'une graine stratifiée 3 mois à 5°C.

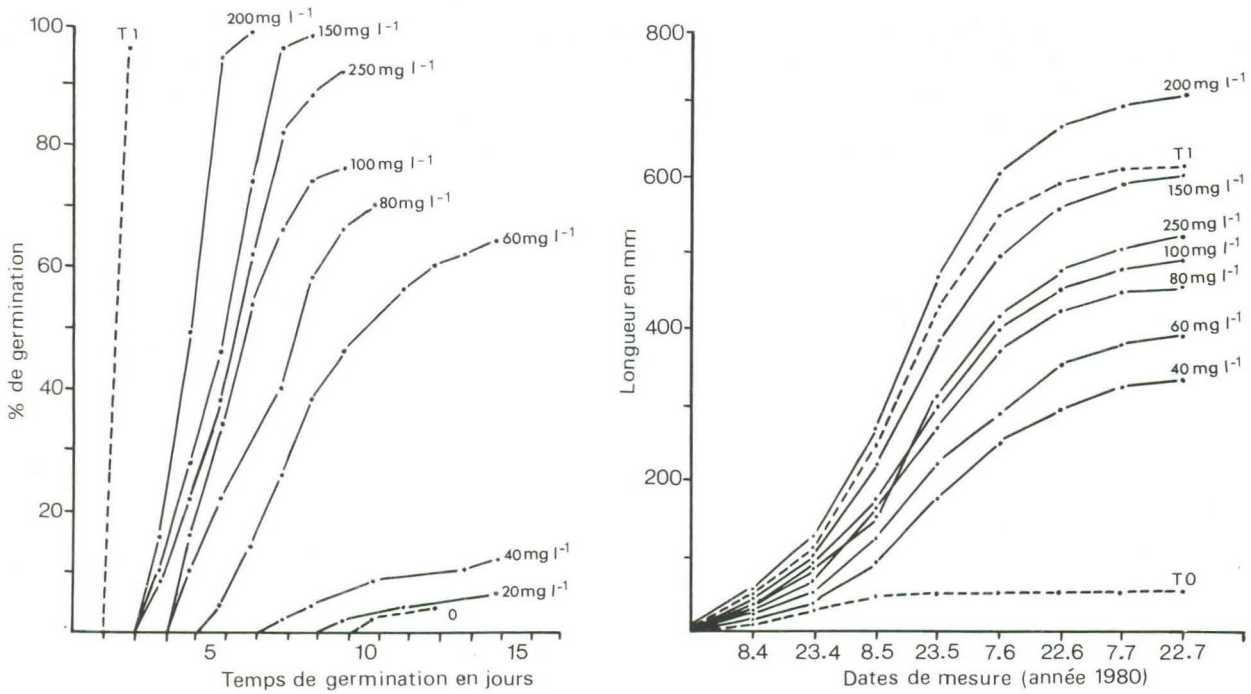


Figure 6 - Courbes de germination pour le cultivar 'GF 305' des graines (à gauche) et de croissance des plants issus de ces graines (à droite) après trempage des graines dans des solutions de BAP à différentes concentrations. Echantillon expérimental de 50 graines et de 20 plants.  
 T0 : témoin non stratifié      T1 : témoin stratifié à 5°C pendant trois mois

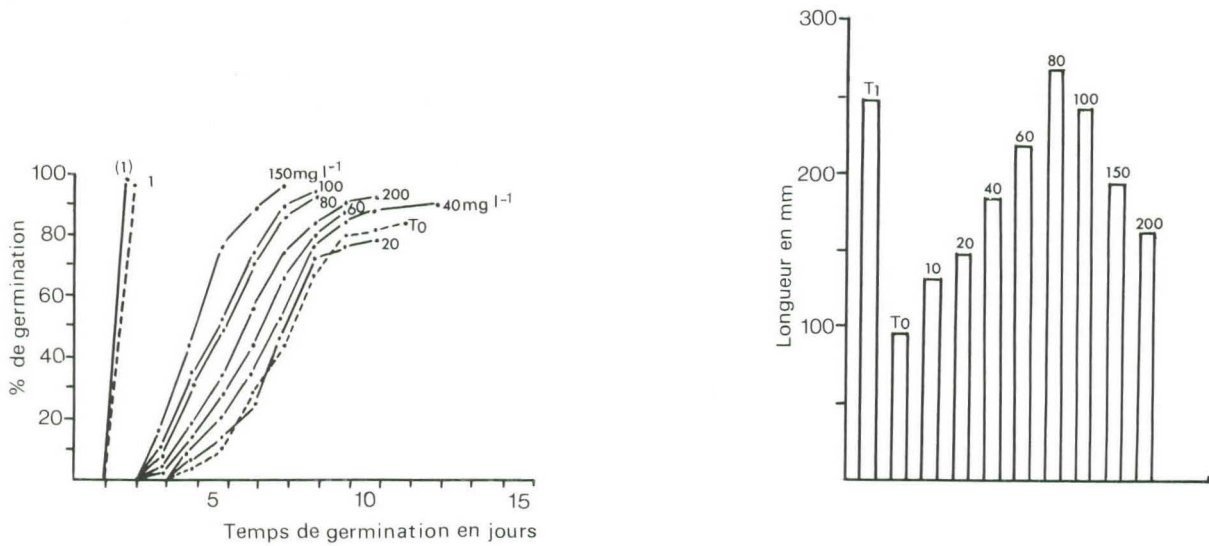


Figure 7 - Courbes de germination des graines à gauche, histogramme représentant la croissance des plants issus de ces graines à droite, pour le cultivar 'S 2464' après trempage des graines dans des solutions de BAP à différentes concentrations. Echantillon expérimental de 50 graines et de 20 plants.  
 T0 : témoin non stratifié      T1 : témoin stratifié à 5°C pendant trois mois

TABLEAU 2 - Action en l'absence de stratification à basse température de la benzyl-amino-purine (BAP) et des gibberellines GA<sub>3</sub> et GA<sub>4+7</sub> sur : la germination des grainés du cv «GF 305» ; la présence d'anomalies foliaires sur les plantules issues de ces graines. Chaque lot élémentaire compte 50 graines munies de leurs téguments. Toutes les plantules obtenues par les traitements de benzyl-amino-purine avaient à la fin de leur croissance une hauteur de tige supérieure à 30 cm.

traitements		germination des graines		pourcentage de plantules avec anomalies foliaires
		pourcentage	vitesse en jours*	
BAP	200 mg/l <sup>-1</sup>	99,5	4,4	9,6
GA <sub>3</sub>	{ 50 mg/l <sup>-1</sup>	6	8	100
	{ 100 mg/l <sup>-1</sup>	6	7,6	100
GA <sub>4+7</sub> (28 % + 72 %)	{ 50 mg/l <sup>-1</sup>	10	8,1	100
	{ 100 mg/l <sup>-1</sup>	8	7,3	75
BAP + GA <sub>3</sub>	{ 70 + 50 mg/l <sup>-1</sup>	70	7,6	17,1
	{ 200 + 100 mg/l <sup>-1</sup>	98	4,1	8,1
BAP + GA <sub>4+7</sub>	{ 70 + 50 mg/l <sup>-1</sup>	76	7,7	15,7
	{ 200 + 100 mg/l <sup>-1</sup>	96	4,2	8,3

\* - formule de HARRINGTON.

En conclusion, cette méthode de traitement des graines à la BAP présente l'avantage essentiel d'induire un développement particulièrement rapide des plantules. Cette rapidité

est sans doute liée à la ramification précoce et importante de l'appareil racinaire de ces plantules.

#### BIBLIOGRAPHIE

- BONAMY (P.A.) et DENNIS (F.G.). 1977.  
Abscisic acid levels in seeds of Peach. II. Effects of stratification temperature.  
*J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 102, 26-28.
- CARLSON (R.F.) et TUKEY (H.B.). 1945.  
Differences in alter ripening requirements of several sources and varieties of Peach seeds.  
*Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 46, 199-202.
- DENNIS (F.G.), MARTIN (G.C.), GASKIN (P.) et MAC MILLAN (J.). 1978.  
Hormones in Pear seeds. II. Levels of ABA, dihydrophaseic acid and their metabolites in relation to seed dormancy in several pyrus species.  
*J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 103, 314-317.
- HARRINGTON (J.F.). 1962.  
The effect of temperature on the germination of several kinds of vegetal seeds.  
*XVth Inter. Hort. Cong. II*, 435-441.
- LUCKWILL (L.C.). 1952.  
Growth inhibiting and growth promoting substances in relation to the dormancy and after ripening of Apple seeds.  
*J. Hort. Sci.*, 27, 53-65.
- MATHUR (D.D.) et COUVILLON (G.A.). 1971.  
Stratification effects on endogenous gibberellic acid (GA) in Peach seeds.  
*Hortscience*, 6 - 6, 538-541.
- REMY (P.). 1961.  
Recherches physiologiques sur la maturation des graines d'arbres fruitiers à noyau.  
*Ann. Amélior. Plantes*, 11 (2) 113-298.
- SHARMA (H.C.) and SINGH (R.N.). 1978.  
Effect of stratification temperature, stratification period and seed coat on seed germination of Peach cultivar «Sharbati».  
*Scientia Hort.*, 9-1, 47-52.

