

# Effets physiologiques induits par irradiation gamma aiguë de rameaux greffons de Clémentinier, *Citrus reticulata* BLANCO.

J.-M. LEGAVE, Dominique TISNE-AGOSTINI et C. JACQUEMOND\*

avec la collaboration technique de F. VITTORI.

PHYSIOLOGICAL EFFECTS INDUCED BY ACUTE GAMMA IRRADIATION OF CLEMENTINE BUDSTICKS, *CITRUS RETICULATA* BLANCO.

J.M. LEGAVE, Dominique TISNE-AGOSTINI and C. JACQUEMOND.

*Fruits*, Jun. 1989, vol. 44, n° 6, p. 329-333.

ABSTRACT - Within a breeding programme by bud irradiation in clementine, a first step was to study the budwood radiosensitivity in order to state the optimal dose range for treatments of more importance.

EFFETS PHYSIOLOGIQUES INDUITS PAR IRRADIATION GAMMA AIGUE DE RAMEAUX GREFFONS DE CLEMENTINIER, *CITRUS RETICULATA* BLANCO.

J.M. LEGAVE, Dominique TISNE-AGOSTINI et C. JACQUEMOND.

*Fruits*, Jun. 1989, vol. 44, n° 6, p. 329-333.

RESUME - Dans le cadre d'un programme d'amélioration du Clémentinier par irradiation de bourgeons, une étude préalable de radiosensibilité a permis de déterminer une gamme de doses « optimales » de rayonnement à appliquer pour des traitements ultérieurs de plus grande ampleur.

## INTRODUCTION

La mutagenèse induite par irradiation de bourgeons s'est révélée être une méthode efficace pour améliorer ou diversifier une espèce fruitière (2, 7). Cette méthode a été notamment utilisée avec succès pour l'amélioration de certains agrumes (4, 5). Le Clémentinier, groupe de mandariniers de l'espèce *Citrus reticulata* BLANCO, n'a par contre fait l'objet que de travaux de mutagenèse d'ampleur réduite et à objectif très ponctuel (8). Le niveau probablement élevé d'hétérozygotie du Clémentinier (+) et un nombre assez fréquent de mutants naturels d'intérêt agronomique chez cette espèce d'origine récente (1, 3) laissent penser qu'il s'agit d'un matériel propice à la mutagenèse induite. Ainsi un programme de mutagenèse par irradiation de bourgeons a été mis en place à la Station d'Agronomie de San Giuliano (Corse) afin de favoriser à long terme le développement du verger Corse de Clémentinier.

Nous rapportons ici les premiers résultats concernant la radiosensibilité de rameaux greffons de Clémentiniers dans des conditions bien définies. Il s'agit en effet d'une étape

préliminaire nécessaire, notamment en l'absence de données bibliographiques précises à ce niveau (2).

## MATERIEL ET METHODE

Des radio-expositions aux rayonnements gamma du Cobalt 60 ont été effectuées sur deux années successives au Centre d'Etudes Nucléaires de Cadarache. Le tableau 1 précise les principales caractéristiques des traitements effectués.

Le débit de dose, relativement élevé, peut être considéré comme pratiquement constant. La gamme de dose a par contre été réduite lors de la deuxième année, avec corrélativement une augmentation du nombre de greffons par dose, afin de préciser les effets des doses jugées les plus intéressantes. Ces traitements ont été appliqués à quatre cultivars assainis par microgreffage d'apex et choisis pour leur intérêt agronomique :

- la clémentine « Commune » (clone SRA 63) originaire d'Algérie,
- trois mutants naturels de ce type commun, respectivement dénommés « Corsica I », « Nules » et « Caffin ».

(\*) hybride interspécifique présumé entre Mandarinier et Bigaradier.

\* - LEGAVE - Laboratoire d'Arboriculture fruitière ENSA-INRA, 9 place Viala - 34060 MONTPELLIER.  
TISNE-AGOSTINI et JACQUEMOND - Station INRA-IRFA d'Agronomie de San Giuliano - 20230 SAN NICOLAO (Haute Corse).

TABLEAU 1 - Principales caractéristiques des traitements

	Débit de dose en Gray/minute	Dose en Gray (1)					Nombre de greffons par traitement
		0	10	30	50	70	
première année	6	0	10	30	50	70	16 (52 bourgeons)
deuxième année	5,5	0	20	30	40		24 (68 bourgeons)

(1) 1 Gray (GY) = 100 rad

Les principales améliorations escomptées sont une mise à fruits plus rapide, une augmentation du calibre des fruits et des modifications de précocité de l'époque de maturité.

Après prélèvement sur des arbres contrôlés pour leur état sanitaire, des rameaux portant des bourgeons en repos apparent ont été irradiés directement ou stockés jusqu'à l'irradiation à environ 11°C et 70 p. 100 d'hygrométrie.

Juste après irradiation ils ont été greffés en couronne (fin avril) sur des *Citrus volkameriana* âgés de 2 ans, issus de semis et conduits en pots sous abri plastique ou en serre. Par la suite l'évolution des greffons dans ces conditions a fait l'objet d'observations classiques afin d'apprécier l'importance des effets physiologiques radioinduits suivant la dose de rayonnement ou le cultivar.

## RESULTATS

### Effets physiologiques radioinduits d'ordre quantitatif.

Aucune différence notable de radiosensibilité n'a été observée entre les différents cultivars. Ces effets sont donc analysés globalement en fonction de la dose de traitement. Ils présentent différents aspects traduits par les différentes courbes de la figure 1. Dans l'ensemble ces courbes ont des allures concordantes entre les deux années d'expérimentation.

- Taux de rameaux greffons demeurés totalement ou partiellement vivants.

Seule une dose relativement élevée de 70 Gy a provoqué une diminution notable de ce taux, toutefois encore assez élevé à cette dose (environ 70 p. 100 de la survie des témoins, figure 1 a).

- Taux de bourgeons demeurés vivants.

Ce taux prend en compte la mortalité de bourgeons apicaux sur certains greffons (survie partielle) et précise donc davantage les effets de l'irradiation sur la survie. Comme précédemment on peut noter que ces effets ont été peu importants et notamment aux doses les plus élevées (figure 1 b).

- Somme des pousses, rosettes et bourgeons demeurés latents.

Chaque bourgeon survivant peut donner naissance à un nombre variable de pousses (au moins 1 cm de longueur) et/ou de rosettes, ou bien demeurer latent. Cette somme intègre donc à la fois les effets de l'irradiation sur la survie des bourgeons (critère précédent) et sur l'évolution des mé-

ristèmes contenus dans chacun des bourgeons survivants. Cette évolution s'effectue par flux de croissance successifs, mais la somme considérée est pratiquement fixée dès le premier flux de croissance et fait apparaître des différences sensibles suivant la dose d'irradiation (figure 1 c). Des doses faibles (10 et 20 Gy) semblent avoir induit une stimulation du bourgeonnement alors que les doses les plus élevées (50 et 70 Gy) ont notablement réduit les capacités de croissance des bourgeons demeurés vivants.

- Somme des pousses.

Ce critère précise les capacités de croissance des bourgeons demeurés vivants et fait apparaître, par rapport au critère précédent, des différences encore plus importantes suivant la dose de traitement (figure 1 d). Le nombre de pousses formées à doses faibles a été très voisin de celui des témoins ; un effet possible de stimulation apparaissant très réduit. A l'inverse, l'application de doses élevées s'est traduite par une très importante réduction du nombre de pousses. Cet effet très marqué à la suite du premier flux de croissance (notamment à 70 Gy) s'est atténué après le deuxième flux de croissance en raison d'une évolution tardive en pousses de rosettes et/ou de bourgeons latents.

- Somme des longueurs des pousses.

Ce dernier critère intègre à la fois les effets de l'irradiation sur la survie et le nombre de pousses (critère précédent) et ses effets sur la rapidité de croissance des pousses. Des doses faibles (10 et 20 Gy) ont induit une légère diminution de cette somme à la fin du premier flux de croissance en raison uniquement d'un léger ralentissement de la croissance des pousses pendant cette période. Cette diminution s'est sensiblement accentuée à doses moyennes (30 et 40 Gy) pour devenir très importante à doses élevées (50 et 70 Gy) en raison à la fois d'une réduction plus ou moins importante du nombre des pousses (voir précédemment) et d'un ralentissement de plus en plus marqué de la croissance des pousses (figure 1 e). A la suite du deuxième flux de croissance ces divers effets se sont plus ou moins atténués (figure 1 f).

### Effets physiologiques d'ordre qualitatif.

Des dédoublements de pousses (fasciations) ainsi que des malformations foliaires variées ont été observés à partir d'une dose de 40 Gy à des fréquences très faibles (figure 2).

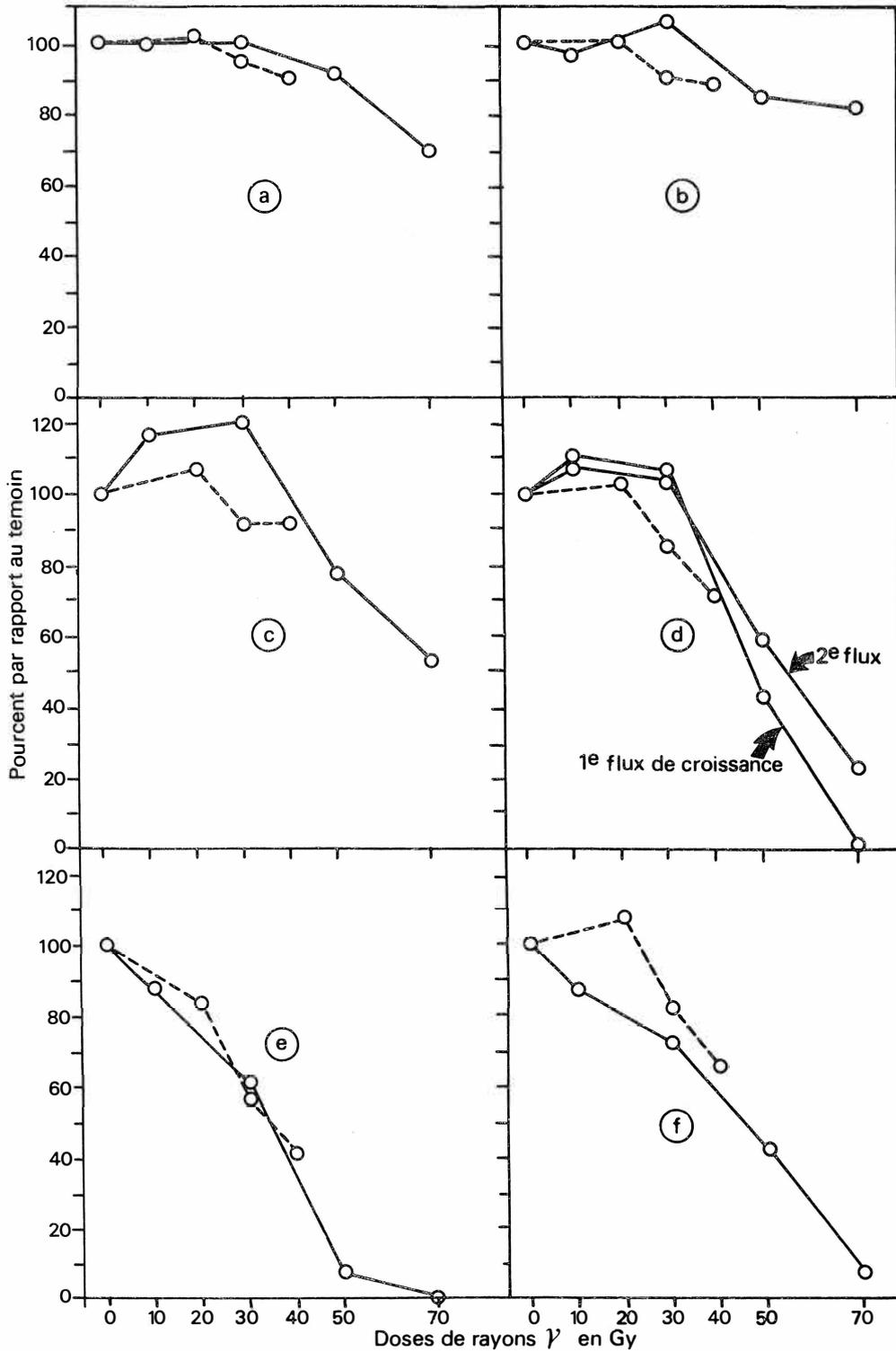


FIGURE 1 - Effets de la dose d'irradiation sur la survie et la croissance analysés suivant différents critères quantitatifs, exprimés chacun en pourcentage du témoin pour chacune des deux années de traitement (○—○ première année, ○- -○ deuxième année).

a - taux de survie totale ou partielle des greffons.

b - taux de bourgeons survivants.

c - somme des pousses, rosettes et bourgeons latents à la suite du premier flux de croissance.

d - somme des pousses à la suite du premier flux de croissance puis du deuxième flux de croissance (pour la deuxième année seulement).

e - somme des longueurs de pousses à la suite du premier flux de croissance.

f - somme des longueurs des pousses à la suite du deuxième flux de croissance.



**FIGURE 2** - Effets physiologiques d'ordre qualitatif.  
A - Fasciation sur la pousse de droite contrairement à la croissance normale de la pousse de gauche (feuillage normal sur les 2 pousses).  
B - Déformations foliaires très importantes sur une pousse à croissance très réduite.

## DISCUSSION ET CONCLUSION

D'une façon générale des doses croissantes de rayonnement provoquent une diminution de la survie et inversement une augmentation de la fréquence des mutations avec un risque de plus en plus élevé que des mutations recherchées soient associées à des mutations défavorables, ce qui conduit à une notion de doses optimales de traitement (2). Dans la pratique de multiples facteurs interfèrent pour déterminer l'importance des effets physiologiques et génétiques radio induits, certains de ces facteurs étant difficilement contrôlables (conditions de croissance après irradiation en particulier). Pour des traitements ultérieurs de plus grande ampleur, il semble donc plus judicieux de traiter des bourgeons à différentes doses susceptibles d'avoir un effet optimal. Dans un premier temps cette gamme de doses est souvent déterminée en fonction des effets physiologiques.

Cette étude relative au Clémentinier montre que les effets de doses croissantes sont assez différents suivant le critère de radiosensibilité considéré. Une réduction de survie des bourgeons de 50 p. 100 (D.L. 50) est un critère

qui a été souvent utilisé et qui conduirait à choisir des doses supérieures ou voisines de 70 Gy (figures 1 b et 1 c). Toutefois, une telle dose s'est traduite par une très importante réduction de la croissance végétative au cours de la première année (figures 1 d, 1 e et 1 f). Un tel effet traduit des dommages physiologiques importants et corrélativement on peut craindre l'induction d'effets génétiques désavantageux. Pour cette raison, il est assez souvent conseillé (2, 7, 9, 11) d'utiliser des doses à effets plus modérés (survie supérieure à 50 p. 100). Par ailleurs de telles doses permettent de combiner des taux élevés de survie et de mutations (6, 9). Dans cette optique on peut retenir, pour des traitements ultérieurs de plus grande ampleur, une gamme de doses de 30 à 50 Gy ayant induit une réduction plus ou moins importante de la croissance avec une survie également assez variable mais toujours nettement supérieure à 50 p. 100. Dans un programme analogue concernant l'amélioration du cultivar de Clémentinier «Montréal» des doses sensiblement supérieures ont été retenues (8).

Enfin, notons que des effets de stimulation après irradiation à doses faibles ont été également observés (10).

## BIBLIOGRAPHIE

1. BONO (R.), FERNANDEZ DE CORDOVA (L.) et SOLER (J.).  
*Proc. Int. Soc. Citriculture*, 1, 1981, p. 91-94.
2. BROERTJES (C.) et VAN HARTEN (A.M.).  
Application of mutation breeding methods in the improvement of vegetatively propagated crops.  
*Elsevier Scientific publishing Company, Amsterdam*, 1978, 316 p.
3. DEVAUX (R.).  
*Proc. Int. Soc. Citriculture*, 1, 1981, 101-102.
4. HEARN (C.J.).  
*J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 111 (2), 1986, 304-306.
5. HENSZ (R.A.).  
*Proc. Int. Soc. Citriculture*, 1, 1981, 89-91.
6. LAPINS (K.O.), BAILEY (C.H.) et HOUGH (L.F.).  
*Radiat. Bot.*, 9, 1969, 379-389.
7. LAPINS (K.O.).  
Methods in fruit breeding.  
*Purdue University Press, West Lafayette, Indiana*, 1983, 464 p.
8. RUSSO (F.), DONINI (B.) et STARRANTINO (A.).  
*Proc. Int. Soc. Citriculture*, 1, 1981, 68-70.
9. SILVY (A.) et MITTEAU (Y.).  
Nuclear techniques and *in vitro* culture for plant improvement.  
*IAEA, Vienna*, 1986, 395-405.
10. SPIEGEL-ROY (P.) et PADOVA (R.).  
*Radiation Botany*, 13, 1973, 105-110.
11. VISSER (T.).  
Induced mutations in vegetatively propagated plants.  
*IAEA, Vienna*, 1973, 21-33.

**PHYSIOLOGISCHE AUSWIRKUNGEN DER AKUTEN GAMMABESTRAHLUNG VON PFROPFREISEN DER KLEMENTINE *CITRUS RETICULATA* BLANCO.**

J.M. LEGAVE, Dominique TISNE-AGOSTINI und C. JACQUEMOND.  
*Fruits*, Jun. 1989, vol. 44, n° 6, p. 329-333.

**KURZFASSUNG** - Im Rahmen eines Programms zur Sortenverbesserung der Klementine durch Knospenbestrahlung wurden im Wege einer Voranalyse der Strahlungsempfindlichkeit optimale Strahlungsdosierungswerte für spätere Behandlungen in grösserem Umfang bestimmt.

**EFFECTOS FISIOLÓGICOS INDUCIDOS POR IRRADIACION GAMMA AGUDA DE RAMOS INJERTOS DE CLEMENTINO: *CITRUS RETICULATA* BLANCO.**

J.M. LEGAVE, Dominique TISNE-AGOSTINI y C. JACQUEMOND.  
*Fruits*, Jun. 1989, vol. 44, n° 6, p. 329-333.

**RESUMEN** - En el marco de un programa de mejora del Clementino por irradiación de injertos, un estudio previo de radiosensibilidad ha permitido determinar una gama de dosis «óptimas» de radiación a aplicar para tratamientos ulteriores de mayor amplitud.

