

# L'amélioration des agrumes :

## I- Les ressources génétiques.

Dominique de ROCCA SERRA et P. OLLITRAULT\*

**CITRUS BREEDING.**  
**I - MANAGEMENT OF GENETIC RESOURCES.**  
 D. de ROCCA SERRA et P. OLLITRAULT.

*Fruits*, Numéro spécial Agrumes 1992, p. 115-123.

**ABSTRACT** - A sound knowledge of the genetic structure of citrus, and their specific constraints, is a critical prerequisite for comprehensive citrus breeding programs.

An extensive updated review discusses the above mentioned points. Major citrus repositories of the tropical and subtropical zone are also commented with reference to their actual status of disease-free selected germplasm.

**L'AMELIORATION DES AGRUMES.**  
**I - LES RESSOURCES GENETIQUES**  
 D. de ROCCA SERRA et P. OLLITRAULT .

*Fruits*, Numéro spécial Agrumes 1992, p. 115-123.

**RESUME** - Pour être efficace, l'amélioration génétique se doit de reposer sur l'identification des gènes d'intérêt agronomique, sur une bonne connaissance de la structure du complexe d'espèce, ainsi que des contraintes des régimes de reproduction. Ces différents éléments sont discutés sur la base d'une synthèse bibliographique. La présentation des différents conservatoires génétiques et des techniques d'assainissement du germplasm complète ce tour d'horizon des ressources génétiques des agrumes.

La superficie totale plantée en agrumes est évaluée à plus de 3 millions d'hectares (ROUSE, 1988) répartie sur une aire très large située approximativement entre les 40e degrés de latitude Nord et Sud, tout autour du monde. Les agrumes présentent donc une grande capacité d'adaptation à des conditions pédoclimatiques très différentes. L'adaptation aux pressions parasitaires en constante évolution et la conquête de nouveaux espaces justifient à elles seules les nombreux programmes de création variétale et de sélection menés à travers le monde. Ceux-ci peuvent s'appuyer sur une base génétique large dont l'efficacité de l'exploitation repose sur une évaluation à deux niveaux :

- l'évaluation agronomique qui permet de sélectionner directement des génotypes intéressants mais également de pépérer les gènes des programmes de création variétale ;
- l'évaluation génétique qui s'intéresse à l'organisation de la diversité génétique et aux modalités de sa gestion (en particulier aux systèmes de reproduction et aux compatibilités sexuelles).

Nous faisons ici un point bibliographique sur ces différents aspects. Une revue des principaux conservatoires et la description des méthodes d'assainissement du germplasm complètent ce tour d'horizon des ressources génétiques des agrumes.

### TAXONOMIE ET DIVERSITE GENETIQUE

#### Classification botanique et centre de diversification.

Le terme d'agrumes correspond à trois genres botaniques : *Citrus*, *Fortunella* et *Poncirus* (les Anglo-saxons appellent citrus l'ensemble des agrumes). Ils appartiennent avec huit autres genres dont *Eremocitrus*, *Microcitrus*, *Clymenia*, *Citropsis* et *Severinia*, à la sous-tribu des *Citri-nae*, tribu des *Citreae*, sous-famille des *Aurantioideae*, famille des *Rutaceae*, dans l'ordre des *Géraniales* (tableau 1, d'après SWINGLE et REECE, 1967).

- Le genre *Fortunella* désigne les kumquats. Il comprend 2 ou 4 espèces selon les auteurs avec quelques cultivars commerciaux.

\* - SRA San Giuliano. INRA-IRFA - 20230 SAN NICOLAO Haute Corse

TABLEAU 1 - Taxonomie des *Citrus* et genres apparentés de la sous-famille des *Aurantioideae* (d'après SWINGLE et REECE, 1967).

Division .....	Embryophyla
Sous-division .....	Angiospermae
Classe .....	Dicotyledoneae
Sous-classe .....	Archichlomydeae
Ordre .....	Géraniales (autres ordres : Rosales, Sapindales)
Sous-ordre .....	Geraniineae (5 autres sous-ordres)
Famille .....	Rutaceae (11 autres familles)
Sous-famille .....	Aurantioideae (6 autres sous-familles)

AURANTIOIDEAE								
Tribus .....	Clauseneae	Citreae						
Sous-tribus	Micromelinae	Clauseniae	Merrilliinae	Triphasilinae	Citrinae	Balsamocitrinae		
Groupes .....					A fruits primitifs	A fruits proches des agrumes	Agrumes vrais	
Genres :	Micromelum	Glycosmis Clausena Murraya	Merrillia	Wenzelia Monanthocitrus Oxanthera Merope Triphasia Pamburus Luvunga Paramignia	Severinia Pleiospermum Burkillanthus Limnocitrus Hesperethusa	Citropsis Atalantia	Fortunella Eremocitrus Poncirus Clymenia Microcitrus Citrus (1)	Swingle Aegle Afraegle Aeglopsis Balsamocitrus Feronia Feroniella

(1) - Fortunella, Poncirus, Citrus = agrumes proprement dits.

- Le genre *Poncirus* est monospécifique : *P. trifoliata* est la seule espèce, parmi les agrumes, à être à feuilles caduques et trifoliolées, elle est très résistante au froid, son fruit est impropre à la consommation.

- Deux grandes classifications existent pour le genre *Citrus*. Celle de TANAKA (1961) comprend 156 espèces tandis que SWINGLE et REECE (1967) n'en distinguent que 16. Cette contradiction s'explique par les larges possibilités d'hybridations interspécifiques ainsi que par la polyembryonie qui fixe ces structures hybrides ; TANAKA élève ainsi au rang d'espèce de nombreux hybrides intra ou interspécifiques.

Les agrumes sont originaires du Sud-Est asiatique. Selon TANAKA (1954), le principal centre d'origine se situerait sous une ligne allant du Nord-Est de l'Inde au Nord de la Birmanie et au Sud de l'île de Hainan. A partir de cette zone, la dispersion se serait effectuée vers l'Est de l'Inde, l'archipel malais et la Chine du Sud.

La diffusion des agrumes à travers le monde s'est faite très lentement. Le cédratier (*Citrus medica*) fut la première espèce connue en Europe (300 ans avant J.C. d'après WEBBER, 1967). Le bigaradier (*C. aurantium*), le citronnier (*C. limon*) et l'oranger (*C. sinensis*) n'ont été introduits dans le Bassin méditerranéen que vers la moitié du XIIIe

siècle et le mandarinier (*C. reticulata*) au XIXe siècle. La diffusion vers le continent américain est postérieure au second voyage de Christophe COLOMB. Le pomélo (*C. paradisi*), originaire de la zone antillaise est sans doute issu d'une hybridation spontanée entre les agrumes introduits dans la région.

#### Ploïdie.

Chez tous les agrumes et genres apparentés le nombre de chromosomes de base est  $n = 9$  (KRUG, 1943). La grande majorité des agrumes est diploïde, seuls quelques polyploïdes naturels ont été identifiés (*Fortunella hindsii*, lime Tahiti) ou produits artificiellement. La diploïdie est également de règle pour les dix genres suivants : *Severinia*, *Triphasia*, *Citropsis*, *Aeglopsis*, *Feronia*, *Murraya*, *Afraegle*, *Atalantia*, *Clausena*, *Microcitrus*, *Eremocitrus*, *Micromelum* (IWAMASA et NITO, 1988).

Dans les semis de graines polyembryonnées, la fréquence des tétraploïdes spontanés varie de 1 à 3 p. 100 (BARRETT et HUTCHISON, 1978). Elle est sous contrôle génétique mais peut être modifiée par des facteurs physiologiques et environnementaux (HUTCHISON et BARRETT, 1982). Ces tétraploïdes seraient issus d'un doublement des tissus nucléaires de l'ovule (CAMERON et SOOST, 1969).

Des triploïdes peuvent également être obtenus dans des descendance d'hybridations entre diploïdes. Ils sont alors issus de la fécondation d'un gamète femelle non réduit par un gamète mâle haploïde (ESEN et SOOST, 1971). La fréquence de gamètes femelles non réduits varie suivant les génotypes entre, moins de 1 p. 100 à près de 20 p. 100 (IWAMASA et NITO, 1988).

Quelques aneuploïdes ont été observés (ESEN et SOOST, 1972), issus de croisements  $2n \times 4n$ , avec un nombre de chromosomes allant de 19 à 41. Des niveaux de ploïdie supérieurs à  $4n$  sont très rares.

Il faut donc constater que, malgré une aptitude non négligeable à produire des descendants triploïdes ou tétraploïdes, la polyploïdie semble avoir joué un rôle négligeable dans l'évolution des agrumes. Ceci pourrait s'expliquer par les moindres vigueur et fertilités de ces niveaux de ploïdie, et donc par un désavantage sélectif important. De plus, les cultivars tétraploïdes ont généralement de faibles rendements, une écorce du fruit épaisse et irrégulière (SOOST et CAMERON, 1975) et présentent donc peu d'intérêt pour la consommation humaine. Ils constituent, en revanche, des géniteurs privilégiés, en croisement avec des diploïdes, pour la production de variétés triploïdes aspermes.

#### Structuration de la diversité génétique dans le genre *Citrus*.

L'analyse du polymorphisme au niveau moléculaire (TORRES *et al.*, 1978 ; HANDA *et al.*, 1986 ; GREEN *et al.*, 1986 ; ROOSE, 1988 ; OLLITRAULT, 1990 a) a permis de préciser l'organisation génétique du genre *Citrus*.

Les structures intraspécifiques apparaissent très contrastées :

- *Citrus medica* (cédratier) présente une diversité allélique très faible due à une forte homozygotie et un faible polymorphisme entre cultivars ;

- *Citrus paradisi* (pomélo), *C. sinensis* (oranger) et *C. aurantium* (bigaradier) présentent des structures intraspécifiques similaires. La diversité allélique et l'hétérozygotie sont modérées et le polymorphisme intercultivar est inexistant ;

- *Citrus limon* (citronnier) est très hétérozygote mais ne présente aucun polymorphisme intervariétal ;

- *Citrus latifolia* et *C. aurantifolia* (limettiers à gros et à petits fruits) sont également fortement hétérozygotes ;

- *Citrus grandis* (pamplemoussier) et *C. reticulata* (mandarinier) offrent une très grande richesse allélique principalement due à un important polymorphisme intervariétal.

Ces résultats mettent en lumière les modes de diversification variétale dans les différentes espèces. Ainsi *Citrus sinensis*, *C. aurantium*, *C. paradisi* et *C. limon* paraissent s'être diversifiés par mutations successives à partir d'un génotype ancestral, tandis que les hybridations ont joué un rôle majeur pour *Citrus grandis* et *Citrus reticulata*. Ces deux dernières espèces constituent ainsi un très important réservoir de gènes.

Les marqueurs moléculaires ont également confirmé les relations interspécifiques proposées par BARRETT et RHODES (1976) dans une étude de taxonomie numérique. La diversité des *Citrus* cultivés se structure ainsi autour de trois pôles. Le premier regroupe les mandariniers, les oranges et les bigaradiers, le second associe les pamplemoussiers et les pomélos, le troisième est formé par les cédratiers qui ont sans doute participé à la genèse des limettiers. Les citronniers seraient issus d'une hybridation entre le groupe des mandariniers et celui des limettiers (OLLITRAULT, 1990 a). Enfin, le *Citrus halimii* récemment découvert en Malaisie paraît être éloigné des *Citrus* cultivés, et son apport à leur évolution est sans doute minime, sinon nul (OLLITRAULT et FAURE, 1991).

#### DISPERSION DES GENES ET GENOMES D'INTERET AGRONOMIQUE

L'évaluation agronomique a permis de repérer de nombreux génotypes possédant des caractéristiques agronomiques intéressantes, tant dans le genre *Citrus* que dans les genres apparentés. L'héritabilité de ces caractères n'est toutefois pas toujours connue.

#### Les ressources des agrumes vrais.

Depuis de nombreuses années, *Poncirus trifoliata* a été utilisé comme source de résistance au froid. Les kumquats, les mandariniers Satsuma et les *Citrus junos* (Yusu) résistants au froid sont également utilisés comme géniteurs pour l'amélioration des cultivars. *C. inchangensis* pourrait également être une source de résistance.

La tolérance à la salinité est un des objectifs de la sélection de porte-greffe. La mandarine Cléopâtre et la lime Rangpur sont utilisées à cet effet, soit directement, soit comme géniteurs. En Chine, les hybrides «gou tou chen» et «xiao hong chen» ont été sélectionnés pour les zones de polder du Zhejiang (AUBERT, com. pers.).

Qu'il s'agisse de cultivars ou de porte-greffe, un des objectifs majeurs est la résistance aux maladies et parasites. Pour les *Phytophthora* sp. et les nématodes, la principale source de résistance est le *Poncirus*. GRIMM et HUTCHISON en 1980 ont également trouvé des résistances chez *Citrus grandis* et *C. aurantifolia*. Pour la Tristeza, importante maladie virale, la meilleure source de résistance trouvée est également le *Poncirus*. *Citrus sinensis* est tolérant au blight (maladie de dégénérescence), *C. grandis* et certaines mandarines originaires de la zone tropicale seraient tolérants au greening (maladie bactérienne).

SADANA et JOSHI (1979) ont cherché des résistances aux acariens phytophages. Ils ont retenu les mandariniers Satsuma et Dancy ainsi que le pomélo Marsh qui est relativement résistant.

#### Les ressources des genres apparentés.

Les genres voisins des agrumes présentent de nombreux caractères de résistances qui les rendent attractifs pour une utilisation comme porte-greffe (IBPGR, 1986).

Des résistances au sel sont ainsi trouvées chez *Severinia buxifolia*, *Eremocitrus glauca* et *Limnocitrus littoralis*. Les deux premiers sont par ailleurs également résistants au bore.

Certains *Microcitrus* et en particulier l'hybride *M. australis* x *M. australisica* présentent une bonne aptitude à pousser dans des sols pauvres en azote organique.

Des résistances aux nématodes et aux *Phytophthora* sp. sont présentes dans le genre *Severinia* et l'espèce *Citropsis gillettiana* (GROSSER, 1990). Tandis que *Murraya paniculata* est tolérant au greening (NITO et AKIHAMA, 1990).

Les genres *Feronia* et *Feroniella* stimulent une première floraison précoce des *Citrus* lorsqu'ils sont utilisés comme porte-greffe ce qui présente un intérêt indéniable pour les programmes de création variétale (IBPGR, 1986).

Par ailleurs, les *Aurantioideae* sont, ou pourraient être, utilisés pour la pharmacopée, les arômes, les huiles essen-

tielles, le bois, l'ornement, etc. (tableau 2, d'après JONES, 1989).

### LES FACTEURS DE GESTION DE LA RECOMBINAISON SEXUEE

Biologie florale et système de reproduction.

● Biologie florale.

Dans les régions subtropicales la floraison des agrumes est très abondante et a lieu généralement au début du printemps, l'induction florale se déroulant début janvier. Quelques cultivars, comme le citronnier Eureka, ont plusieurs floraisons dans l'année. Les *Fortunella* fleurissent généralement après les *Citrus*. Les *Poncirus* ont généralement une floraison plus précoce. Ces écarts de précocité de floraison contribuent à l'accroissement de la différenciation génétique entre ces trois genres.

TABLEAU 2 - Utilisations actuelle et potentielle des *Aurantioideae* (d'après JONES, 1989).

Genres (a)	Types d'utilisation (b)										Notes (c)	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
<i>Micromelum</i>	+	+										
<i>Glycosmis</i>	+				+				+			
<i>Clausena</i>	+	+	+	+	+		o					
<i>Murraya</i>	+	+	+	+	+	+						
<i>Merrillia</i>		+										
<i>Oxanthera</i>				o	-		o					S
<i>Merope</i>	+			o								C
<i>Triphasia</i>	+	+	+		+							
<i>Pambunus</i>		+		o	o							C
<i>Luvunga</i>	+				o			+				
<i>Paramignya</i>	+											S
<i>Severinia</i>	+		+	+	+							ECV
<i>Pleiospermium</i>				o								S
<i>Burkillanthus</i>				o								
<i>Limnocitrus</i>	+			o								C
<i>Naringi</i>	+	+	+		o							S
<i>Citropsis</i>				+	o							
<i>Atalantia</i>	+	+	+	+	o							
<i>Fortunella</i>	+		+	+	+	+						F
<i>Eremocitrus</i>			+	+								FSC
<i>Poncirus</i>	+			+	+	+						F
<i>Clymenia</i>			+			o						
<i>Microcitrus</i>			+		+	o						
<i>Citrus</i>												
' <i>Citrus</i> '	+		+	+	+	+	+	+				
' <i>Papeda</i> '	+		+	+		+		+				FMV
<i>Swinglea</i>	+			+								
<i>Aegle</i>	+	+	+					+	+	+		S
<i>Afraegle</i>			+	+								
<i>Aeglopsis</i>				+								
<i>Balsamocitrus</i>				o								
<i>Limonia</i>	+		+	+								S
<i>Feroniella</i>			+	+	o							S

a - répartition suivant Swingle (1967)

b - types d'utilisation : 1) médical 2) bois d'oeuvre 3) condiment 4) porte-greffe 5) haies d'ornement 6) croisement 7) huiles essentielles 8) fourrage 9) poison 10) domestique

+ - utilisation observée actuellement o - utilisation potentielle

c - Notes : (F) tolérance au froid, (S) tolérant à la sécheresse, (E) tolérant aux excès d'eau,

(M) résistant aux maladies, (C) tolérant à la salinité, (V) vigoureux.

Chez certaines espèces comme *Poncirus trifoliata*, *Citrus limon*, *C. aurantifolia*, *C. medica*, le style est absent d'un bon nombre de fleurs. La proportion de fleurs portant des anthères est également variable suivant le cultivar et les conditions de culture.

Le stigmate est réceptif quelques jours avant l'anthèse et jusqu'à plusieurs jours après. L'anthèse peut, pour certains cultivars, se dérouler avant l'ouverture de la fleur favorisant ainsi l'autofécondation. Pour les autres cultivars, l'auto-pollinisation peut également se faire facilement étant donné la proximité des anthères et du stigmate. Cependant plusieurs caractéristiques des fleurs les rendent très attractives pour les insectes : l'attrait de la corolle, le parfum, le nectar abondant, le pollen. Ce dernier est par ailleurs adhérent, de type entomophile et le vent semble n'être qu'un facteur secondaire dans l'allopollinisation.

On assiste à une chute de fleurs et de jeunes fruits tout juste noués souvent dans des proportions importantes (90 p. 100 chez les citronniers, 95 p. 100 chez les oranges ...).

#### ● Le système de reproduction.

Le système de reproduction des agrumes se caractérise par une grande diversité de comportement. La polyembryonie de nombreux génotypes constitue sa plus grande originalité, et a sans doute limité considérablement les brassages génétiques en induisant dans les semis, des fréquences très élevées de multiplication conforme du génotype maternel. A l'inverse, l'autoincompatibilité a dû favoriser la recombinaison dans les populations monoembryonnées.

#### - La polyembryonie.

Chez de nombreux cultivars les graines contiennent plusieurs embryons ; les embryons surnuméraires sont issus des cellules du nucelle. Très occasionnellement, il peut y avoir division de l'oeuf fécondé et deux embryons sexués. La fécondation semble nécessaire au développement des embryons nucellaires (SOOST, 1987). L'embryon sexué est en compétition avec le ou les embryons nucellaires, à la fois pour l'espace et pour les éléments nutritifs. Les graines polyembryonnées produisent rarement plus de deux ou trois plantules. Lorsque le nombre d'embryons par graine est faible, la probabilité de survie de l'embryon sexué est augmentée.

Cette apomixie partielle a joué un rôle essentiel dans l'évolution des agrumes et est aujourd'hui de toute première importance pour les programmes d'amélioration génétique. De nombreuses études se sont donc intéressées à son contrôle ainsi qu'à la distinction des plants d'origine zygotique et nucellaire :

#### . Expression de l'apomixie partielle.

Seules deux espèces (*C. medica* et *C. grandis*) ne présentent que des cultivars monoembryonnés. Pour les autres, le degré de polyembryonie peut varier de manière importante suivant les variétés (FROST et SOOST, 1968). La polyembryonie apparaît comme dominante et son degré

est vraisemblablement déterminé par un petit nombre de gènes dans le genre *Citrus* (CAMERON et SOOST, 1979 et 1980). Par ailleurs, dans les semis de cultivars polyembryonnés, les proportions de plants zygotiques et nucellaires varient en fonction des conditions environnementales et suivant les pollinisateurs (KHAN et ROOSE, 1988).

Plusieurs techniques ont été utilisées pour tenter d'accroître la proportion de plants zygotiques. Ainsi un choix rigoureux des conditions environnementales (NAKATANI *et al.*, 1978 et 1982), des traitements chimiques (DE LANGE et VINCENT, 1977), la culture *in vitro* d'embryons immatures (RANGAN *et al.*, 1969) ou d'ovules (OLLITRAULT, 1990 b) ainsi que des irradiations gamma (10 à 20 Gray) de boutons floraux un mois avant anthèse (IKEDA, 1982), permettent d'améliorer sensiblement l'obtention de plantes hybrides. De plus, des études *in vitro* ont permis d'identifier des substances, dont certains régulateurs de croissance, qui répriment l'embryogenèse nucellaire (TISSERAT et MURASHIGE, 1977).

Il est possible, pour les cultivars monoembryonnés, d'induire la production de plants nucellaires par culture *in vitro* de nucelles isolés (JUAREZ *et al.*, 1976).

#### . Discrimination.

Les plants nucellaires présentent, comme les plants zygotiques, des caractères de juvénilité marqués (présence d'épines, première induction florale tardive) et sont souvent plus vigoureux que les zygotes issus d'autofécondation.

De nombreuses techniques biochimiques ont été expérimentées pour distinguer précocement les plants zygotiques et nucellaires : chromatographie en couche mince (TATUM *et al.*, 1974), chromatographie en phase gazeuse (WEINBAUM *et al.*, 1982), polyphénols (ESEN et SOOST, 1977). A l'heure actuelle, l'électrophorèse d'isozymes s'avère la plus performante pour les analyses de routine (SOOST *et al.*, 1980 ; OLLITRAULT, 1990 a).

#### - Stérilité gamétique.

Qu'elle affecte les pièces mâles ou femelles de la fleur, la stérilité gamétique peut être, soit d'ordre génétique, soit d'ordre physiologique et due à des facteurs environnementaux comme des basses températures (IWAMASA et IWASAKI, 1963), ou à l'utilisation de certains porte-greffe (BRIEGER et GURGEL, 1941).

La stérilité pollinique est très souvent présente à des degrés variables. L'exemple de stérilité mâle le plus connu est celui de l'oranger Washington Navel. De plus, chez de nombreux cultivars comme les pomelos Marsh et Thompson, le citronnier Eureka, la proportion de pollen viable est faible : 5 à 15 p. 100.

La stérilité femelle est, quant à elle, plutôt due à une mauvaise évolution des tissus gamétiques qu'à une absence d'organes reproducteurs : chez les Satsuma comme chez les orangers Washington Navel, Hamlin, Valencia et le pomelo Marsh, le sac embryonnaire dégénère très fréquemment avant d'atteindre le stade 8 noyaux (JACKSON *et al.* nd).

Des études de cytogénétiques ont permis de mettre en évidence l'origine de certaines stérilités totales ou partielles (IWAMASA, 1966). En effet, les translocations (ex. l'oranger Valencia), les inversions (ex. la lime mexicaine) ou les phénomènes d'asynapsie (*Citrus junos*) affectent à des degrés divers la fertilité des gamétophytes.

#### - Incompatibilité.

Auto et inter-incompatibilités sont présentes chez les agrumes. Tous les pamplemoussiers sont auto-incompatibles; plusieurs hybrides ou supposés tels le sont également : les tangelos Orlando et Minneola, les cultivars Robinson, Nova, Page, Fairchild, le clémentinier. Certains cultivars d'oranger et de citronnier le seraient également (FROST et SOOST, 1968). Certains cultivars auto-incompatibles sont également incompatibles en croisement : Orlando et Minneola, Robinson, Nova et Page (HEARN *et al.*, 1969) et quelques cas d'inter-incompatibilité unilatérale ont également été cités (UENO, 1978). La plupart des hybrides entre cultivars auto-incompatibles présentent ce même caractère.

Ces résultats sont cohérents avec une incompatibilité de type gamétophytique, gouvernée par une série d'allèles S. L'existence de huit allèles a été proposée par SOOST, (1969). Chez le clémentinier cette incompatibilité gamétophytique ne revêt qu'un caractère partiel, quelques tubes polliniques atteignant l'ovaire (TISNE-AGOSTINI et ORSINI, 1990).

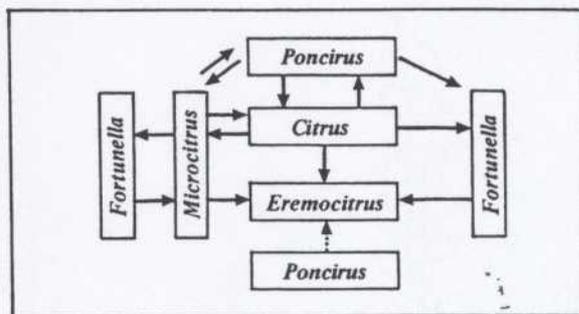
Ces incompatibilités peuvent être contournées par l'application d'exsudats stigmatiques, ou d'extraits de pollen avant autopollinisation ainsi que par des pollinisations répétées de fleurs immatures.

Les stérilités gamétiques et l'incompatibilité gamétophytique peuvent être une gêne pour le sélectionneur, mais elles lui offrent, en combinaison avec la parthénocarpié (très largement répandue dans le genre *Citrus*), l'opportunité d'obtenir des cultivars à fruits aspermes.

#### Les hybridations interspécifiques et intergénériques.

Les premiers hybrides intergénériques entre *Citrus* et *Poncirus* et *Citrus* et *Fortunella* ont été réalisés par l'USDA dès 1897. Depuis, de très nombreuses combinaisons ont été testées (BARRETT, 1977 et 1982 ; IWAMASA *et al.*, 1988). Ces travaux ont démontré la très grande compatibilité sexuelle entre *Citrus*, *Fortunella*, *Poncirus*, *Eremocitrus* et *Microcitrus* (figure 1). Les études d'affinité chromosomique chez les hybrides entre ces différents genres (IWAMASA *et al.*, 1988) suggèrent qu'ils possèdent des structures chromosomiques très voisines et ce, malgré une séparation de 20 à 30 millions d'années entre les trois premiers originaires d'Asie et les deux derniers d'origine australienne.

Des croisements entre *Citropsis* et *Citrus*, et *Citropsis* et *Fortunella* ont fourni quelques graines, mais aucun plant hybride n'a pu être obtenu (NITO et AKIHAMA, 1990). Les hybridations réalisées avec des genres plus éloignés (*Glycosmis*, *Murraya*, *Triphasia*, *Severinia*, *Hesperethusa*) n'ont pas produit de graines (IWAMASA *et al.*, 1988).



♀ ♂  
 ← : survie des hybrides  
 ←----- : absence de germination des graines ou mort des jeunes plants.

FIGURE 1 - Compatibilité des agrumes en croisements intergénériques (d'après IWAMASA *et al.*, 1988).

Récemment, les techniques de fusions de protoplastes ont permis d'élargir considérablement la base génétique exploitable par le sélectionneur, grâce à la réalisation de nombreux hybrides somatiques (GROSSER, 1990).

#### LES CONSERVATOIRES

Deux grands types de conservatoire peuvent être distingués : 1) les conservatoires régionaux destinés à évaluer, dans les conditions locales, les performances de variétés exotiques en comparaison avec les variétés indigènes, et à multiplier les génotypes élites pour la production ; 2) les banques de gènes qui regroupent les généiteurs potentiels des programmes de création à long terme. Le premier type justifie la conservation de nombreux mutants d'un même cultivar de base (ex. l'oranger Washington Navel) si celui-ci revêt une importance régionale particulière. A l'inverse, la constitution d'une banque de gènes doit chercher à maximiser la diversité génétique conservée.

La sélection sanitaire ou l'assainissement des pieds mères des cultivars conservés doit constituer l'une des priorités des conservatoires des ressources génétiques d'agrumes. La première voie d'assainissement des pieds mères a été la sélection de plants de semis d'origine nucellaire (CASSIN et LOSSOIS, 1977). Il est en effet démontré que, sauf rare exception, les maladies des agrumes ne sont pas transmissibles par la graine. Toutefois, cette technique présentait l'inconvénient d'induire des caractères de juvénilité et n'était pas applicable aux cultivars monoembryonnés ou aspermes. Les tentatives d'induction *in vitro* de l'embryogenèse nucellaire à partir de variétés monoembryonnées a par ailleurs conduit à la régénération de très nombreux «variants» (NAVARRO *et al.*, 1985). Aujourd'hui, l'assainissement est classiquement réalisé par combinaison de la thérapie et du microgreffage de méristèmes (NAVARRO, 1981 ; VOGEL *et al.*, 1988). Le contrôle de l'état sanitaire est ensuite assuré grâce aux techniques d'indexation classiques (VOGEL *et al.*, 1988) ou aux techniques moléculaires (ELISA, électrophorèse de l'ARN des viroïdes). Il s'accompagne d'une vérification de la conformité pomologique des cultivars régénérés par microgreffage ; celle-ci est indispensable, en particulier pour les cultivars en chimère.

Les collections les plus importantes au niveau mondial sont celles de l'Université de Californie (Riverside) et de l'USDA (Orlando, Floride) aux Etats-Unis, celle de l'IVIA (Moncada, Valence) en Espagne, celle d'Okitsu Branch (Fruit Tree Research Station) au Japon et celle de la SRA de San Giuliano (INRA-IRFA, Corse) pour la France. Ces deux dernières collections se sont récemment enrichies de matériel traditionnel asiatique suite à des prospections menées dans le cadre, respectivement, de projet IBPGR (AKIHAMA *et al.*, 1985) et FAO-PNUD (AUBERT, 1990). Toutes ces collections associent la vocation de conservatoire régional et celle de banque de gènes. Le conservatoire de l'Université de Malaisie est, pour sa part, remarquable par sa collection d'*Aurantioideae* d'Asie du Sud-Est et la banque de données informatisée qui y est associée (JONES, 1989).

A l'heure actuelle, dans les différentes collections, les génotypes sont conservés sous forme d'arbres, soit en plein champ, soit sous cage d'isolement pour éviter la transmission de maladies par les insectes dans les zones à risques. De récents travaux sur la cryoconservation de suspensions

cellulaires (SAKAI *et al.*, in press) ouvrent des perspectives prometteuses pour la constitution de banques de gènes cryoconservés.

## CONCLUSION

De nombreux géniteurs d'intérêt agronomique ont été identifiés dans le genre *Citrus* et les genres apparentés. La compatibilité sexuelle, tant interspécifique qu'intergénérique, est par ailleurs très large. Cependant, plusieurs facteurs limitent leur exploitation dans des schémas d'amélioration sur plusieurs cycles : 1) peu d'informations sont disponibles concernant le déterminisme génétique des caractères considérés ; 2) les particularités du système de reproduction (polyembryonie, incompatibilité) réduisent les possibilités d'hybridation ; 3) la phase juvénile est longue et l'encombrement des descendances est important. Le recours aux hybridations intergénériques est donc peu recommandé dans les programmes d'amélioration des cultivars. En revanche, une diversité génétique très large a été exploitée pour l'amélioration des porte-greffe, soit classiquement par hybridations, soit plus récemment par fusions somatiques.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AKIHAMA (T.), SHICHIJO (T.), TSUCHIYA (S.) and UENO (I.). 1985.  
Evaluation and utilization of citrus germplasm - the case of the IBPGR citrus project.  
*In Proceedings of the International Symposium on Southeast Asian Plant Genetic Resources*. K.L. MEHRA and S. SASTRA-PRAJAS (Eds), 104-111.
- AUBERT (B.). 1990.  
Programme ASIAGRU, réserve génétique Agrumes et Rutacées endémiques.  
*Doc. int. IRFA*, 30 p.
- BARRETT (H.C.). 1977.  
Intergeneric hybridization of *Citrus* and other genera in *Citrus* improvement.  
*Proc. Int. Soc. Citric.*, 2, 586-589.
- BARRETT (H.C.). 1982.  
Breeding cold hardy citrus scion varieties.  
*Proc. Int. Soc. Citric.*, 1, 61-68.
- BARRETT (H.C.) and HUTCHISON (D.J.). 1978.  
Spontaneous tetraploidy in apomictic seedlings of *Citrus*.  
*Econ. Bot.*, (32), 27-45.
- BARRETT (H.C.) and RHODES (A.M.). 1976.  
A numerical taxonomic study of affinity relationships in cultivated *Citrus* and its close relatives.  
*Syst. Bot.*, 1, 105-136.
- BRIEGER (F.G.) and GURGEL (J.T.A.). 1941.  
Influença do cavalo sobre a fertilidade do polen no cavaleiro, em citrus.  
*Bragantia*, 1, 713-757.
- CAMERON (J.W.) and SOOST (R.K.). 1969.  
Characters of new populations of *Citrus* polyploids, and the relation between tetraploidy in the pollenparent and hybrid tetraploid progeny.  
*Proc. 1st Int. Citrus Symp.*, vol. 1, 199-205.
- CAMERON (J.W.) and SOOST (R.K.). 1979.  
Sexual and nucellar embryony in F1 hybrids and advanced crosses of *Citrus* with *Poncirus*.  
*J. of Am. Soc. Hort. Sci.*, 104, 3, 408-410.
- CAMERON (J.W.) and SOOST (R.K.). 1980.  
Mono and polyembryony among tetraploid *Citrus* hybrids.  
*Hortscience*, 15, 730-731.
- CASSIN (J.) and LOSOIS (P.). 1977.  
Method of nucellar selection used in Corsica.  
*Proc. Intern. Citrus Congress, Florida*.
- DE LANGE (J.H.) and VINCENT (A.P.). 1977.  
*Citrus* breeding : new techniques in stimulation of hybrid production and identification of zygotic embryos and seedlings.  
*Proc. Int. Soc. Citric.*, 2, 589-595.
- ESEN (A.) and SOOST (R.K.). 1971.  
Unexpected triploid in *Citrus* : Their origine, identification and possible use.  
*J. Hered.*, 62, 329-333.
- ESEN (A.) and SOOST (R.K.). 1972.  
Aneuploidy in *Citrus*.  
*Am. J. Bot.*, 59, 473-477.
- ESEN (A.) and SOOST (R.K.). 1977.  
Separation of nucellar and zygotic citrus seedlings by use of polyphenol oxydase catalysed browning.  
*Proc. Int. Soc. Citric.*, 2, 616-618.
- FROST (H.B.) and SOOST (R.K.). 1968.  
Seed reproduction : development of gametes and embryos.  
*In «The Citrus industry»* (W. Reuther, L.D. Batchelor and H.J. Webber, eds.), vol. II, 290-324, University of California Press.
- GREEN (R.M.), VARDI (A.) and GALUN (E.). 1986.  
The plastome of *Citrus*. Physical map, variation among *Citrus* cultivars and species, and comparison with related genera.  
*T.A.G.*, 72, 761-769.
- GRIMM (G.R.) and HUTCHISON (D.J.). 1980.  
Evaluation of *Citrus* spp., relatives and hybrids for resistance to *Phytophthora parasitica* Dastur.  
*Rev. Plant Pathol.*, 59, 863-865.
- GROSSER (J.W.). 1990.  
Citrus rootstock improvement by cell fusion.  
*Citrus and vegetable Magazine*, 9, 28-32.
- HANDA (T.), ISHIZAWA (Y.) and OOGAKI (C.). 1986.  
Phylogenic study of fraction I protein in the genus *Citrus* and its close related genera.  
*Jpn. J. Genet.*, 61, 15-24.
- HEARN (C.J.), REECE (P.C.) and FENTON (P.). 1969.  
Self incompatibility and the effects of different pollen sources upon fruit characteristics of four *Citrus* hybrids.  
*Proc. 1st Int. Citrus Symposium* (H. Chapman ed.), vol. 1, 183-187. Univ. of California, Riverside.
- HUTCHISON (D.J.) and BARRETT (H.C.). 1982.  
Tetraploid frequency in nucellar seedlings from single trees of Carrizo and Troyer hybrids.  
*1981 Proc. Int. Soc. Citric.*, 1, 27-29.
- I.B.P.G.R. 1986.  
*Citrus* species and *Poncirus trifoliata*.  
*In Genetic resources of tropical and sub-tropical fruits and nuts*. IBPGR ed., 105-115.

- IKEDA (F.). 1982.  
Repression of polyembryony of gamma rays in polyembryonic Citrus.  
*1981 Proc. Int. Soc. Citric.*, 1, 39-44.
- IWAMASA (M.). 1966.  
Studies on the sterility in the genus *Citrus* with special reference to the seedlessness.  
*Bull. Hort. Res. Sta. Japan*, Ser. B, 6, 1-77.
- IWAMASA (M.) and IWASAKI (T.). 1963.  
On the sterility phenomenon caused by low temperature in the Mexican lime (*Citrus aurantifolia* Swing.).  
*Bull. Hort. Res. Sta. Japan, Min. Agr. and Forest*, Ser. B, 2, 25-45 (in Japanese with English summary).
- IWAMASA (M.) and NITO (N.). 1988.  
Cytogenetic and the evolution of modern cultivated citrus.  
*in Proc. 6th Int. Citr. Cong. Goren and Mendel eds, Philadelphie*, 265-275.
- IWAMASA (M.), NITO (N.) and LING (J.T.). 1988.  
Intra and intergeneric hybridization in the orange subfamily, Aurantioideae.  
*In Proc. 6th Int. Citr. Cong., Goren and Mendel eds., Philadelphie*, 123-130.
- JONES (D.T.). 1989.  
Collection, utilisation and conservation of citrus genetic resources in Malaysia.  
*In Genetic Resources of under utilised plants in Malaysia. A.H. Zakri (ed.)*, 141-160.
- JUAREZ (J.), NAVARRO (L.) et GUARDIOLA (J.L.). 1976.  
Obtention de plants nucellaires de divers cultivars de clémentiniers au moyen de la culture de nucelle *in vitro*.  
*Fruits*, 31 (12), 751-756.
- KHAN (I.A.) and ROOSE (M.L.). 1988.  
Frequency and characteristics of nucellar and zygotic seedlings in three cultivars of trifoliolate orange.  
*J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 113 (1), 105-110.
- KRUG (C.A.). 1943.  
Chromosome numbers in the subfamily Aurantioideae with special reference to the genus *Citrus*.  
*Bot. Gaz.*, 48, 602-611.
- NAKATANI (M.), IKEDA (I.) and KOBAYASHI (S.). 1978.  
Studies on an effective method for getting hybrid seedlings in polyembryonic Citrus 1.  
*Bull. Fruit Tree Res. Sta. Ser. E, Akitsu, Jpn*, (2), 25-38.
- NAKATANI (M.), IKEDA (I.) and KOBAYASHI (S.). 1982.  
Studies of an effective method for getting hybrid seedlings in polyembryonic Citrus. 3. Artificial control of the number of embryos per seed in Minneola tangelo and sweet orange cultivars by high temperature treatment.  
*Bull. Fruit Tree Res. Sta. Ser. E*, (4), 29-40 (in Japanese, with English summary).
- NAVARRO (L.), ORTIZ (J.M.) and JUAREZ (J.). 1985.  
Aberrant citrus plants obtained by somatic embryogenesis of nucelli cultured *in vitro*.  
*Hort-Science*, 20 (2), 214-215.
- NAVARRO (L.). 1981.  
Citrus shoot-tip grafting *in vitro* (S.T.G.) and its applications : a review.  
*Proc. Int. Soc. Citric.*
- NITO (N.) and AKIHAMA (T.). 1990.  
Prospect of *Citrus* and related genera for disease resistant rootstock.  
*In Proc. 4th Int. Asia-Pacific Conf. on Citrus Rehabilitation. FAO-UNDP RAS/86/022 reg. proj.*, 39-47.
- OLLITRAULT (P.). 1990 a.  
Isozymes and RFLP's as genetic markers in citrus selection.  
*In Proc. 4th Int. Asia-Pacific Conf. on Citrus Rehabilitation. FAO-UNDP RAS/86/022 reg. proj.*, 57-68.
- OLLITRAULT (P.). 1990 b.  
Somatic embryo grafting : a promising technique for citrus breeding and propagation.  
*In Proc. ISCN, 3rd Congress, Australia*, 10 p.
- OLLITRAULT (P.) et FAURE (X.). 1991.  
Apport du polymorphisme enzymatique pour l'étude de l'organisation de la diversité génétique du genre *Citrus*.  
*Fruits*, à paraître.
- RANGAN (T.S.), MURASHIGE (T.) and BITTERS (W.P.). 1969.  
*In vitro* studies of zygotic and nucellar embryogenesis in citrus.  
*In Chapman (ed.) Proc. 1st Int. Citrus Symp. Riverside, Univ. California*, vol. 1, 225-229.
- ROOSE (M.L.). 1988.  
Isozymes and DNA restriction fragment length polymorphisms in *Citrus* breeding and systematics.  
*Proc. 6th Int. Citr. Cong.*, 155-165.
- ROUSE (R.E.). 1988.  
Major *Citrus* cultivars of the world as reported from selected countries.  
*Hortscience*, 23 (4), 680-684.
- SADANA (G.L.) and JOSHI (R.). 1979.  
Comparative sensibility of different varieties of *Citrus* to the attack of phytophagous mite, *Brevipalpus californicus*.  
*Sci. Cult.*, 45, 413-414.
- SAKAI (A.), KOBAYASHI (S.) and OIYAMA (I.).  
Freeze preservation of nucellar callus of Navel orange (*Citrus sinensis* Osb. var. *brasiliensis* Tanaka) by a simple and novel method.  
*Plant Cell Reports* (in press).
- SOOST (R.K.). 1969.  
The incompatibility gene system in *Citrus*.  
*Proc. 1st Int. Citrus Symposium (H. Chapman, ed.)*, vol. 1, 189-190. University of California Riverside.
- SOOST (R.K.). 1987.  
Breeding *Citrus* - Genetics and nucellar embryony.  
*In «Improving vegetatively propagated crops» (A. Abbott and R. Atkins, eds.)*, 83-110. Academic Press, London.
- SOOST (R.K.) and CAMERON (J.W.). 1975.  
Citrus.  
*In «Advances in fruit breeding» (J. Janick and J.N. Moore, eds.)*, 507-540. Purdue University Press, West Lafayette, Indiana.
- SOOST (R.K.), WILLIAMS (T.E.) and TORRES (A.M.). 1980.  
Identification of nucellar and zygotic seedlings with leaf isozymes.  
*Hortscience*, 15, 728-729.
- SWINGLE (W.T.) and REECE (P.C.). 1967.  
The botany of *Citrus* and its wild relatives.  
*In «The Citrus Industry» (W. Reuther, L.D. Batchelor and H.J. Webber, eds.)*, vol. 1, 190-430. University of California, Berkeley.
- TANAKA (T.). 1954.  
Species problem in *Citrus*.  
*Ueno, Tokio : Japanese Society for the Promotion of Science*.
- TANAKA (T.). 1961.  
Citrologia : semi centennial commemoration papers on *Citrus* studies.  
*Citrologia supporting Fondation, Osaka, Japan*, 114 p.
- TATUM (J.H.), BERRY (R.E.) and HEARN (C.J.). 1974.  
Characterization of *Citrus* cultivars and separation of nucellar and zygotic seedlings by thin layer chromatography.  
*Proc. Fla. State Hort. Soc.*, 87, 75-81.
- TISNE-AGOSTINI (D.) et ORSINI (A.). 1990.  
L'incompatibilité pollinique chez le clémentinier : observation *in vivo* de la croissance des tubes polliniques.  
*Agronomie*, 10, 525-532.
- TISSERAT (B.) and MURASHIGE (T.). 1977.  
Repression of asexual embryogenesis *in vitro* by some plant growth regulators.  
*In vitro*, 13, 799-805.
- TORRES (A.M.), SOOST (R.K.) and DIEDENHOFEN (U.). 1978.  
Leaf isozymes as genetic markers in *Citrus*.  
*Amer. J. Bot.*, 65 (8), 869-881.
- UENO (I.). 1978.  
Studies on cross incompatibility in *Citrus* Tachibana Tanaka.  
*Bull. Fruit Tree Res. Stn, Ser. B, Akitsu, Jpn*, (5), 1-7.
- VOGEL (R.), BOVE (J.M.) et NICOLI (Maryse). 1988.  
Le programme français de sélection sanitaire des agrumes.  
*Fruits*, 43 (12), 709-720.
- WEBBER (H.J.). 1967.  
History and development of the citrus industry.  
*In «The Citrus Industry» (W. Reuther, L.D. Batchelor and H.J. Webber, eds.)*, vol. 1, 1-39.
- WEINBAUM (S.), COHEN (E.) and SPIEGEL-ROY (P.). 1982.  
Rapid screening of *Satsuma* mandarin progeny to distinguish nucellar and zygotic seedlings.  
*Hortscience*, 17, 239-240.

**EL MEJORAMIENTO DE LOS CITRICOS.  
I - LOS RECURSOS GENETICOS.**

**D. de ROCCA SERRA et P. OLLITRAULT.**

*Fruits*, Numéro spécial Agrumes, p. 115-123.

**RESUMEN** - Para ser eficaz, el mejoramiento genético debe fundarse en identificación de progenitores de interés agronómico, un buen conocimiento de la estructura del complejo genético de la especie como de las limitantes de los regimenes de reproducción. Estos diferentes puntos son discutidos sobre la base de una síntesis bibliográfica. La presentación de los diferentes bancos genéticos y de las técnicas de saneamiento del germoplasma completa esta vista de conjunto de los recursos genéticos de los cítricos.