

Premières observations sur le déterminisme génétique de la polyembryonie spontanée chez un hybride interspécifique *Vitis vinifera* × *V. riparia*

par

A. BOUQUET¹⁾

Preliminary observations on genetic determination of spontaneous polyembryony in an interspecific hybrid, *Vitis vinifera* × *V. riparia*

Summary. — Seeds of the hybrid cv. 65-1 Kuhlman (*Vitis vinifera* × *V. riparia*) show a percentage of polyembryony of about 5 %, much superior to the rates observed in the *V. vinifera* varieties.

Cytological studies made on multiple embryos suggest this variety to be a potential source of haploids in *Vitis*.

The expression of polyembryony was investigated in the progenies of the cv. 65-1 Kuhlman crossed with different *V. vinifera* varieties. Highest percentage of polyembryony observed on a seedling plant is 7.7 %. Thus, introduction of this character into genotypes of *V. vinifera* by back-crossing seems possible.

The results obtained do not allow final conclusions about heritability of polyembryony, but, nevertheless, there may be a relatively simple genetic determination of this character.

Introduction

Chez les angiospermes, les graines polyembryonnées sont une source classique d'haploïdes d'origine parthénogénétique (WEBBER 1940). Bien que la vigne cultivée (*Vitis vinifera* L.) doive être considérée comme une espèce monoembryonique, des embryons multiples peuvent se former spontanément avec une fréquence qui varie de 0 à 0,35 % selon les cépages, mais qui dépend en fait essentiellement des conditions climatiques au moment de la floraison (BOUQUET 1980). Une telle fréquence, relativement faible, n'est pas favorable à la recherche et à l'obtention de plantes haploïdes viables, d'autant plus que dans la majorité des cas, les petites plantules des couples dissymétriques sont pratiquement sub-létales en conditions non stériles (BOUQUET 1978 a).

NEGRUL (1934) a signalé la présence systématique d'embryons doubles dans les pépins de la variété russe NIMRANG. Cependant, cette observation n'a pas pu être confirmée par STOUT (1936) qui travaillait il est vrai sous des conditions climatiques très différentes.

Au cours de son étude sur la maturation des pépins de vigne, BALTHAZARD (1978) a pu constater que l'hybride interspécifique *V. vinifera* × *V. riparia* 65-1 Kuhlman également dénommé «Saint-Sauveur d'Alsace» présentait une fréquence de polyembryonie de l'ordre de 4 à 5 %, donc très supérieure à celle observée chez les cépages de *V. vinifera*.

OLMO (1978) a trouvé également un taux de polyembryonie comparable dans un lot de pépins récoltés dans l'État de New-York sur une vigne sauvage de l'espèce *V. riparia*.

¹⁾ Avec la collaboration technique de G. PILY.

Il est donc possible que le taux de polyembryonie observé chez l'hybride interspécifique 65-1 Kuhlman, soit en fait une caractéristique génétique issue de l'espèce sauvage *V. riparia*. Cependant, il faudrait admettre dans ce cas que cette espèce manifeste un certain polymorphisme pour ce caractère puisque OLMO signale que la polyembryonie n'a été observée que dans un seul lot de pépins parmi d'autres. D'autre part, nous n'avons observé personnellement aucun embryon multiple dans un millier de pépins récoltés sur 4 clones femelles de *V. riparia* en collection à Bordeaux.

Il était donc intéressant de préciser le déterminisme génétique du caractère de polyembryonie observé chez la variété hybride 65-1 Kuhlman, en vue de son introduction ultérieure dans des génotypes de *V. vinifera*, tout en vérifiant naturellement que ce caractère est une source possible d'embryons haploïdes d'origine parthénogénétique.

Matériel et méthodes

La variété 65-1 Kuhlman donnant en autofécondation un pourcentage très élevé de plantes anormales à croissance végétative faible, nous avons dû écarter dans un premier temps toute étude génétique faisant appel à cette technique.

En 1977, quatre croisements *V. vinifera* × 65-1 Kuhlman ont été réalisés à Bordeaux en utilisant du pollen récolté à Montpellier. En 1978, deux croisements 65-1 Kuhlman × *V. vinifera* ont été réalisés à Montpellier par MM. RENNES et TRUEL. Les contraintes de phénologie florale n'ont pas permis d'effectuer des croisements réciproques faisant intervenir les mêmes cépages *V. vinifera*. En 1977, les cépages utilisés comme géniteurs femelles furent le Merlot, le Mourvèdre, le Cabernet Sauvignon et le Grolleau. En 1978, les cépages utilisés comme pollinisateurs furent le Chardonnay et le Pinot noir.

Les pépins issus de ces croisements contrôlés ont été semés en 1978 et 1979 à Bordeaux, ce qui a permis d'obtenir 6 familles de pleins-frères dont les plantes ont été cultivées en hydroponique sous serre pendant 18 mois. En 1979 et 1980, des lots de pépins issus de fécondation libre ont été récoltés sur les plants de semis mis à fruits. Après nettoyage et désinfection à l'hypochlorite de soude, les pépins ont été placés en stratification à 0—5 °C pendant 6 mois. En 1980 et 1981, les pépins ont été mis à germer, à la température de 23—25 °C, considérée comme optimale pour l'extériorisation du caractère de polyembryonie. A l'émergence de la radicule (1—2 cm de long) les pépins ont été triés visuellement, le nombre d'embryons multiples observés étant rapporté au nombre de pépins germés.

En ce qui concerne les dénombrements chromosomiques, la technique utilisée est la coloration classique de Feulgen après pré-traitement à l' α -monobromonaphtalène et fixation à l'alcool acétique 3:1 (BOUQUET 1978 b).

Résultats et discussion

1 — Expression du caractère de polyembryonie spontanée chez la variété 65-1 Kuhlman

Des lots de pépins issus de fécondation libre ont été récoltés sur 4 années, de 1974 à 1978 et dans deux milieux climatiques très différents (Colmar et Montpellier). Les résultats des germinations effectuées entre 1977 et 1981 à Bordeaux, sont donnés par le Tableau 1.

On constate une relative stabilité du taux de polyembryonie quels que soient l'année de récolte et le milieu.

Tableau 1

Expression de la polyembryonie spontanée chez la variété 65-1 Kuhlman (pépins issus de fécondation libre)

Expression of spontaneous polyembryony in the cv. 65-1 Kuhlman (open pollinated seeds)

Origine des pépins	Année de récolte	Année de germination	Nombre de pépins	Nombre de pépins germés	% germination	Nombre de pépins polyembryonnés	% polyembryonie
Colmar	1974	1978	6 300	4 014	64,0	195	4,86
Colmar	1975	1977	3 230	2 002	62,0	96	4,8
Montpellier	1977	1978	3 500	2 479	70,8	103	4,15
Montpellier	1978	1979	627 ¹⁾	402	64,1	18	4,47
Montpellier	1978	1981	17 000	8 001	47,0	170	2,12

¹⁾ Pépins issus de croisements contrôlés 65-1 Kuhlman \times *V. vinifera*.

Le taux nettement plus faible observé en 1981 sur des pépins récoltés en 1978 à Montpellier s'explique par une mauvaise conservation des pépins au froid, qui se traduit d'ailleurs par une baisse sensible du pourcentage de germination.

2 — Dénombrements chromosomiques sur plantules et embryons multiples issus de la variété 65-1 Kuhlman

En 1978, les dénombrements chromosomiques effectués sur plusieurs dizaines de plantules issus de pépins polyembryonnés n'ont révélé que des plaques métaphasiques typiquement diploïdes (observations sur pointes de racines).

En fait ce résultat négatif s'explique aisément par le taux élevé de létalité ou subléthalité observé chez les petites plantules des couples dissymétriques. Seules les plantules ayant eu un développement végétatif suffisant ont pu être analysées cytologiquement et il est assez logique que ces plantules se soient révélées toutes diploïdes.



Métaphase haploïde ($n = 19$) observée sur un embryon multiple sublétal issu de la variété 65-1 Kuhlman.

Haploid metaphase ($n = 19$) observed on sublethal multiple embryo obtained from the cv. 65-1 Kuhlman.

Devant cette situation, nous avons procédé en 1981 à des dénombrements chromosomiques sur une quarantaine d'embryons issus de pépins polyembryonnés et considérés a priori comme sub-létaux, compte tenu de leur taille (0,2—0,5 cm à la germination) et de la dissymétrie qu'ils manifestaient vis-à-vis de l'autre plantule des couples.

Bien que l'analyse caryologique de certains de ces embryons se soit révélée malaisée (taux de mitoses observables très faible), nous avons pu identifier des mitoses haploïdes typiques sur 3 d'entre eux (Fig.) ce qui confirme que la polyembryonie spontanée observée chez la variété 65-1 Kuhlman est une source potentielle d'haploïdes dans le genre *Vitis*.

Naturellement, se pose le problème de la stabilité chromosomique de ces embryons haploïdes, une diploïdisation spontanée n'étant pas à exclure. Une structure de type mixoploïde (haploïde-diploïde) a d'ailleurs pu être observée sur des embryons sub-létaux issus de pépins polyembryonnés de la variété Merlot (BOUQUET 1978 a).

3 — Expression de la polyembryonie spontanée dans les descendances de croisement

Les résultats relatifs à l'ensemble des plantes des descendances sont donnés par le Tableau 2.

Les pourcentages de polyembryonie (rapportés au nombre de pépins germés) varient de 0,28 % à 0,60 % selon les descendances, avec une moyenne de 0,39 %.

Ces pourcentages sont donc nettement inférieurs au taux de polyembryonie observés sur la variété 65-1 Kuhlman. Par contre, ils sont supérieurs aux taux observés sur les variétés *V. vinifera* utilisées dans les croisements. Ces taux varient en effet de 0,046 % pour le Cabernet Sauvignon à 0,34 % pour le Merlot, avec une moyenne de 0,12 % (BOUQUET 1980).

D'autre part, les pourcentages de polyembryonie observés dans les descendances de croisements avec la variété 65-1 Kuhlman sont très supérieurs aux pourcentages de

Tableau 2

Expression de la polyembryonie spontanée dans les descendances de croisements avec la variété 65-1 Kuhlman (chiffres et pourcentages relatifs à l'ensemble des plantes testées)

Expression of spontaneous polyembryony in the progenies of the cv. 65-1 Kuhlman (values and percentages relating to the whole of tested plants)

Croisement	Nombre de plantes testées	Nombre de pépins récoltés	Nombre de pépins par plante	Nombre de pépins germés	% germination	Nombre de pépins polyembryonnés	% polyembryonie
Merlot × 65-1 K	11	1 881	171	905	48,1	4	0,44
Mourvèdre × 65-1 K	19	5 073	267	1 796	35,4	5	0,28
Cabernet Sauvignon × 65-1 K	5	2 576	515	558	21,7	2	0,35
Grolleau × 65-1 K	3	1 011	337	272	26,9	1	0,36
65-1 K × Pinot noir	59	12 041	204	3 089	25,6	9	0,29
65-1 K × Chardonnay	51	7 445	145	2 494	33,5	15	0,60
Ensemble	148	30 027	202	9 114	30,4	36	0,39

polyembryonie observés dans des lots de pépins récoltés en serre sur des plants de semis issus de croisements interspécifiques ou intraspécifiques, ne faisant pas intervenir la variété 65-1 Kuhlman. Dans le cas de ces croisements, les taux de polyembryonie observés ne dépassent en effet pas 0,02 %.

Il est d'ailleurs probable que les conditions de serre soient relativement défavorables à la formation et au développement des embryons multiples au cours de la floraison et de la mise à fruits des plants de semis.

Si on étudie l'expression du caractère de polyembryonie plante par plante (cf. Tableau 3 et 4) on constate que dans le cas des descendance *V. vinifera* × 65-1 Kuhlman, 8 plantes sur 38 soit 21 % de l'effectif, expriment le caractère; le taux de polyembryonie observé sur ces 8 plantes varie de 0,50 % à 5,55 %, avec une moyenne de 0,78 %.

Dans le cas des descendance 65-1 Kuhlman × *V. vinifera*, 15 plantes sur 110, soit 13,6 % de l'effectif, expriment le caractère; le taux de polyembryonie observé sur ces 15 plantes varie de 0,64 % à 7,7 %, avec une moyenne de 1,79 %.

La première observation qui vient à l'esprit est qu'un effet cytoplasmique sur le déterminisme génétique de la polyembryonie n'est pas à exclure, puisque le taux

Tableau 3

Distribution des plants de semis issus de croisements avec la variété 65-1 Kuhlman en fonction du taux de polyembryonie

Distribution of the 65-1 Kuhlmann progenies in terms of polyembryony rate

Croisement	Nombre de plantes testées	Taux de polyembryonie				% de plantes exprimant la polyembryonie
		0	0,5—1 %	1—5 %	> 5 %	
<i>V. vinifera</i> × 65-1 K	38	30	5	2	1	21,0
65-1 K × <i>V. vinifera</i>	110	95	4	7	4	13,6
Ensemble	148	125	9	9	5	15,5

Tableau 4

Expression de la polyembryonie spontanée dans les descendance de croisements avec la variété 65-1 Kuhlman (chiffres et pourcentages relatifs aux plantes manifestant la polyembryonie)

Expression of spontaneous polyembryony in the progenies of the cv. 65-1 Kuhlman (values and percentages relating to the plants exhibiting polyembryony)

Croisement	Nombre de plantes	Nombre de pépins récoltés	Nombre de pépins par plante	Nombre de pépins germés	% germination	Nombre de pépins polyembryonnés	% polyembryonie (moyenne)	% polyembryonie (extrêmes)
<i>V. vinifera</i> × 65-1 K	8	3 818	477	1 539	40,3	12	0,78	0,50—5,55
65-1 K × <i>V. vinifera</i>	15	3 415	228	1 337	39,1	24	1,79	0,64—7,70
Ensemble	23	7 233	314	2 876	39,7	36	1,25	0,50—7,70

observé sur les plantes issues de croisements 65-1 Kuhlman \times *V. vinifera* est nettement supérieur à celui observé sur les plantes issues des croisements réciproques. Cependant, une telle remarque doit être tempérée par le fait que les géniteurs *V. vinifera* utilisés dans les deux types de croisement ne sont pas les mêmes, et surtout que l'estimation de la polyembryonie a porté sur 2 années différentes.

Quoiqu'il en soit, le fait de retrouver dans les descendancees un pourcentage non négligeable de plantes présentant un taux de polyembryonie comparable, sinon supérieur à celui du parent 65-1 Kuhlman, permet d'envisager une introduction relativement aisée du caractère de polyembryonie dans des génotypes de *V. vinifera*, au moyen de rétrocroisements.

En ce qui concerne le déterminisme génétique du caractère, les résultats obtenus ne permettent pas de tirer des conclusions définitives à ce sujet. En effet, il faut tenir compte du fait que l'expression de la polyembryonie chez les différents plants de semis dépend à la fois du nombre de pépins récoltés et du taux de germination de ces pépins, lesquels sont extrêmement variables.

En moyenne, le nombre de pépins récoltés sur les plantes exprimant la polyembryonie et le pourcentage de germination de ces pépins, sont nettement supérieurs au nombre de pépins récoltés sur l'ensemble des plantes des descendancees et au pourcentage de germination de ces pépins, comme le montre d'ailleurs la comparaison des Tableaux 2 et 4.

Dans ces conditions, il est nécessaire de comparer les taux de polyembryonie observés sur des plants de semis relativement homogènes quant à leur production de pépins et au taux de germination de ceux-ci.

Si on se limite aux plants de semis présentant un nombre de pépins et un taux de germination égaux ou supérieurs aux moyennes des descendancees, la répartition de ceux-ci en fonction de l'expression de la polyembryonie est donnée par le Tableau 5.

La distribution observée est compatible avec une disjonction théorique de type 1:1. Par conséquent, et bien que l'échantillon testé soit de taille modeste (22 plantes), on ne peut pas exclure l'hypothèse d'un déterminisme génétique simple, de type monogénique.

L'expression d'un gène dominant, présent à l'état hétérozygote chez la variété 65-1 Kuhlman, pourrait être modulée dans les descendancees de croisements par des gènes mineurs présents chez *V. vinifera* et responsables de la variabilité observée chez cette espèce pour le caractère de polyembryonie spontanée (BOUQUET 1980).

Tableau 5

Distribution de la polyembryonie parmi des plants de semis sélectionnés en fonction du nombre de pépins par plant et du taux de germination

Distribution of polyembryony among seedlings selected for the number of seeds per plant and percentage of germination

Croisement	Nombre de plantes	Présence d'embryons multiples	Absence d'embryons multiples	χ^2	Disjonction 1:1
<i>V. vinifera</i> \times 65-1 K	6	3	3	0	NS
65-1 K \times <i>V. vinifera</i> Chardonnay	9	4	5	0,11	NS
65-1 K \times <i>V. vinifera</i> Pinot noir	7	2	5	1,28	NS
Ensemble	22	9	13	0,72	NS

Une telle hypothèse demande naturellement à être confirmée au moyen d'autofécondations effectuées sur les plants de semis donnant les taux les plus élevés d'embryons multiples, dans la mesure où ces autofécondations sont compatibles avec l'obtention de descendance suffisamment vigoureuses et fructifères. Ce travail est actuellement en cours à Bordeaux.

Résumé

Les pépins de la variété hybride 65-1 Kuhlman (*Vitis vinifera* × *V. riparia*) présentent un taux de polyembryonie de l'ordre de 5 %, très supérieur aux taux observés jusqu'à présent dans les variétés de *V. vinifera*.

L'étude cytologique d'un certain nombre d'embryons multiples confirme que cette variété pourrait être une source de plantes haploïdes dans le genre *Vitis*.

Les taux de polyembryonie observés sur des plants de semis issus de croisements entre la variété 65-1 Kuhlman et différents cépages de *V. vinifera* varient de 0 à 7,7 %, ce qui permet d'envisager l'introduction par rétrocroisements du caractère de polyembryonie dans des génotypes de *V. vinifera*.

En ce qui concerne l'hérédité du caractère, les résultats obtenus ne permettent pas de tirer des conclusions définitives, mais n'excluent cependant pas la possibilité d'un déterminisme génétique relativement simple.

Références bibliographiques

- BALTHAZARD, J., 1978: Relations entre la véraison des baies et la maturation des graines de Vigne. Génétique et amélioration de la vigne. C. R. du 2^e Symp. Intern. Amélior. Vigne, Bordeaux — France INRA éd., 69—74.
- BOUQUET, A., 1978 a: La Polyembryonie spontanée chez *Vitis vinifera* L. Génétique et amélioration de la Vigne. C. R. du 2^e Symp. Intern. Amélior. Vigne, Bordeaux, France INRA éd., 17—25.
- —, 1978 b: Méthode de dénombrement chromosomique dans le genre *Vitis*. Ann. Amélior. Plantes 28, 251—255.
- —, 1980: Effect of some genetic and environmental factors on spontaneous polyembryony in grape (*Vitis vinifera* L.). *Vitis* 19, 134—150.
- NEGRUL, A. M., 1934: Contribution to the question of parthenocarpy and apomixis in the grape. Tr. Prikl. Bot. Genet. Selek., Ser. VIII, 2, 229—268.
- OLMO, H. P., 1978: Genetic problems and general methodology of breeding. Génétique et amélioration de la Vigne. C. R. du 2^e Symp. Intern. Amélior. Vigne, Bordeaux, France INRA éd., 3—10.
- STOUT, A. B., 1936: Seedlessness in grapes. Tech. Bull. N. Y. Agricult. Exp. Sta. Geneva, N. Y., 238.
- WEBBER, J. M., 1940: Polyembryony. Bot. Rev. 6, 575—598.

Eingegangen am 30. 9. 1981

A. BOUQUET
Station de Recherches de Viticulture,
INRA
Centre de Recherches de Bordeaux
33140 Pont-de-la-Maye
France