

**STERILITE MALE CYTOPLASMIQUE OGU-INRA :
SELECTION DE LIGNEES RESTAURATRICES DE COLZA**

Régine DELOURME et Michel RENARD

INRA - Station d'Amélioration des Plantes

Boîte Postale 29

35650 LE RHEU

Chez le colza (*Brassica napus L.*), une amélioration significative de la productivité (de l'ordre de 20%) est attendue de la création de variétés capables d'exploiter la vigueur hybride. Le colza étant une espèce préférentiellement autogame, la mise au point d'un système de contrôle de la pollinisation croisée était nécessaire. C'est la raison pour laquelle les efforts de recherche ont porté avant tout sur la maîtrise d'un système de stérilité mâle cytoplasmique. Le système actuellement le plus étudié par les sélectionneurs est le système OGU-INRA issu du croisement interspécifique avec un radis mâle-stérile (BANNEROT *et al.*, 1974) puis amélioré par fusion de protoplastes (PELLETIER *et al.*, 1983). Des cybrides mâle-stériles, non déficients en chlorophylle, ayant une bonne productivité et présentant des nectaires bien développées, sont actuellement utilisables pour la création d'hybrides F1 mâle-stériles (PELLETIER *et al.*, 1987).

Des gènes de restauration étant absents dans le colza et présents dans le radis, leur introgression chez le colza a été réalisée par croisement intergénérique entre un colza mâle-stérile et un *Raphanobrassica* (HEYN, 1976). Les premières lignées restauratrices de colza obtenues présentaient une faible fertilité femelle due à l'introduction d'une partie trop importante de génome radis dans celui du colza (PELLAN-DELOURME et RENARD, 1988). Après plusieurs générations de sélection, des lignées restauratrices ayant une fertilité femelle équivalente à celle des variétés cultivées ont été sélectionnées (DELOURME *et al.*, 1991). Le déterminisme génétique de la restauration pour ce système est simple : un gène dominant pour les cybrides 27, 58 et 85.

L'amélioration de la fertilité femelle résulte probablement de fragments chromosomiques radis non liés au gène de restauration. Cependant, de l'information génétique radis a été conservée autour du gène de restauration. En effet, un allèle radis a été identifié à l'un des locus isoenzymatiques Pgi-2 du colza (celui porté par le génome C de *B. oleracea*) et co-ségrège avec l'allèle dominant du gène de restauration (DELOURME et EBER, 1992). Cette forte liaison permet d'effectuer un tri précoce des plantes restaurées dans les programmes de sélection et, en particulier, des plantes restaurées homozygotes avant multiplication.

La recherche de marqueurs RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) a été entreprise de façon à localiser le gène de restauration sur la carte génétique du colza et à estimer la longueur du segment chromosomique radis introgressé.

La méthode BSA "Bulked Segregant Analysis" (MICHELMORE *et al.*, 1991) a été appliquée à trois descendances en ségrégation pour le gène de restauration (deux descendances F2 et une descendance Haploïdes Doublés). Les plantes restaurées homozygotes et les plantes mâle-stériles ont été triées à l'aide du marqueur Pgi-2 lié au gène de restauration. Des mélanges d'ADN des plantes fertiles d'une part et des plantes stériles d'autre part ont été constitués pour chaque descendance et ont été utilisés pour la recherche de marqueurs associés au gène de restauration (DELOURME *et al.*, 1994).

Deux cent trente amorces oligonucléotidiques aléatoires (Opéron, Californie) ont été testées. Treize amorces ont révélé un polymorphisme répétable entre les bulks. La vérification des différences observées sur les individus ayant servi à constituer les bulks a donné :

- 10 marqueurs RAPD complètement liés au gène de restauration ;
- 3 marqueurs partiellement liés au gène de restauration.

Une descendance en ségrégation pour le gène de restauration dans un fond génétique voisin de celui utilisé pour construire la carte génétique colza a été produite et sera utilisée pour localiser le gène de restauration et estimer la longueur du segment chromosomique radis introgressé.

D'autre part, afin d'ordonner ces marqueurs RAPD par rapport au gène de restauration, une descendance F2 de radis ségrégeant pour le gène de restauration a également été produite. Du fait de la difficulté du transfert des marqueurs RAPD du colza au radis, de nouveaux marqueurs sont recherchés à l'aide de la méthode "bulks" dans l'espèce radis elle-même et seront cartographiés, le but ultime de cette recherche étant le clonage du gène de restauration.

Le programme de recherche se poursuit avec pour objectifs de diminuer la taille du fragment chromosomique radis porteur du gène de restauration afin d'améliorer la transmission de ce gène dans les descendances ainsi que le comportement méiotique des lignées restauratrices, voire de cloner ce gène.

L'exploitation de ce système peut déboucher sur différents types variétaux :

- hybrides restaurés traditionnels ;
- composites hybride-lignées (association par exemple de 80% de semences d'hybride mâle-stérile et de 20% de semences de lignées mâle-fertiles pollinisatrices) afin d'utiliser le système d'hybridation sans avoir à introduire le gène de restauration et pour exploiter un gain de rendement potentiel lié à la stérilité mâle (une première composite hybride-lignée "Synergy" a été inscrite au Catalogue français en juillet 1994) ;
- hybrides mixtes (association par exemple de 80% de semences d'hybride mâle-stérile et de 20% du même hybride sous forme restaurée).

BIBLIOGRAPHIE

- BANNEROT H., BOULIDARD L., CAUDERON Y., TEMPE J., 1974. Cytoplasmic Male Sterility Transfer from *Raphanus* to *Brassica*. Proc. EUCARPIA meeting, Crop sect., *Cruciferae* 25 : 52-54.
- DELOURME R., EBER F., RENARD M., 1991. Radish Cytoplasmic Male Sterility in Rapeseed : Breeding Restorer Lines with a Good Female Fertility. Proc. 8th Int. Rapeseed Conf., Saskatoon, Canada, pp1506-1510.
- DELOURME R., EBER F., 1992. Linkage between an Isozyme Marker and a Restorer Gene in Radish Cytoplasmic Male Sterility of Rapeseed (*Brassica napus L.*). Theor. Appl. Genet. 85 : 222-228.
- DELOURME R., BOUCHEREAU A., HUBERT N., RENARD M., LANDRY B.S., 1994. Identification of RAPD Markers Linked to a Fertility Restorer Gene for the Ogura Radish Cytoplasmic Male Sterility of Rapeseed (*Brassica napus L.*). Theor. Appl. Genet. 88 : 741-748.
- HEYN F.W., 1976. Transfer of Restorer Genes from *Raphanus* to Cytoplasmic Male Sterile *Brassica napus*. *Cruciferae* Newslett. 1 : 15-16.
- MICHELMORE R.W., PARAN I., KESSELI R.V., 1991. Identification of Markers Linked to Disease-Resistance Genes by Bulked Segregant Analysis : A Rapid Method to Detect Markers in Specific Genomic Regions by Using Segregating Populations. Proc. Natl. Acad. Sci., USA 88 : 9828-9832.
- PELLAN-DELOURME R., RENARD M., 1988. Cytoplasmic Male Sterility in Rapeseed (*Brassica napus L.*) : Female Fertility of Restored Rapeseed with "Ogura" and Cybrids Cytoplasms. Genome 30 : 234-238.
- PELLETIER G., PRIMARD C., VEDEL F., CHETRIT P., REMY R., ROUSSELLE P., RENARD M., 1983. Intergeneric Cytoplasmic Hybridization in *Cruciferae* by Protoplast Fusion. Mol. Gen. Genet. 191 : 244-250.
- PELLETIER G., PRIMARD C., VEDEL F., CHETRIT P., RENARD M., PELLAN-DELOURME R., MESQUIDA J., 1987. Molecular, Phenotypic and Genetic Characterization of Mitochondrial Recombinants in Rapeseed. Proc. 7th Int. Rapeseed Conf., Poznan, Poland, pp 113-118.