

Mémoire de fin d'études

Présenté par Jeannot DIATTA

Pour l'obtention du diplôme de Master 2 Agronomie et Agroalimentaire

**Mention : Master 2 Systèmes et Techniques Innovants en Agriculture
pour un Développement Agricole Durable (STIDAD)**

Parcours : Semences et Plants Méditerranéens et Tropicaux (SEPMET)

**Evaluation des facteurs permettant de
caractériser les combinaisons génétiques pour
la production de semences d'orge hybride**

Par Jeannot DIATTA

Année de soutenance : 2015

Organisme d'accueil : Syngenta Seeds SAS

CONFIDENTIEL

Mémoire de fin d'études

Présenté par Jeannot DIATTA

Pour l'obtention du diplôme de Master 2

**Mention : Master 2 Systèmes et Techniques Innovants en Agriculture
pour un Développement Agricole Durable (STIDAD)**

Parcours : Semences et Plants Méditerranéens et Tropicaux (SEPMET)

**Evaluation des facteurs permettant de
caractériser les combinaisons génétiques pour
la production de semences d'orge hybride**

Par Jeannot DIATTA

Année de soutenance : 2015

Mémoire préparé sous la direction de: Organisme d'accueil :

Professeur Pierre BERTHOMIEU Syngenta Seeds SAS, équipe PPT

Présenté le 17/09/2015 devant le jury :

Professeur Jean Luc REGNARD : Président du jury

Professeur Pierre BERTHOMIEU : Tuteur de stage

Monsieur Alain TREIL : Maitre de stage

Jean Louis NOYER : Rapporteur

Jean Jacques KELNER : Rapporteur

RESUME

Le marché mondial des semences de céréales est l'un des plus importants de ce secteur et est principalement dominé par des variétés lignées. Depuis quelques années, les variétés hybrides commencent à gagner des parts de marché. L'étude présentée dans ce rapport a deux objectifs. Le premier est de caractériser les lignées parentales vis-à-vis de leur aptitude à la production de semences d'orge hybride. Le second concerne l'évaluation du parent mâle selon son potentiel de production et de dispersion du pollen. Les résultats des essais conduits en 2015 ont montré qu'il y a une bonne synchronisation de la floraison des lignées mâles et femelles sur les deux sites français et sur le site allemand, pour les combinaisons parentales testées. Les écarts de floraison des mâles et des femelles (appelés ici synchronisation) ont varié de -5 à +8 jours sur le site allemand, -4 à +8 jours au Sud de la France et de -2 à +7 jours au Nord de la France. Le taux de fécondation (seed-set) a été meilleur en Allemagne où 75% des valeurs de seed-set se sont montrées supérieures à 50%. Sur les autres sites, le taux de fécondation a été assez bon au Nord de la France et médiocre au Sud de la France et en Angleterre. Pour ces deux derniers sites, la mauvaise fécondation semble être imputable aux conditions climatiques de la saison. En effet, les résultats du Sud de la France peuvent être expliqués par une pluviométrie excessive et une humidité relative de l'air non optimale pendant la floraison. L'étude de la production et de la dispersion du pollen a aussi montré que le pic de production de pollen par les parents mâles est atteint au troisième jour de floraison. Des études supplémentaires permettront de valider ces résultats afin d'optimiser les schémas de production des semences d'orge hybride.

Mots clés : Orge hybride, synchronisation, seed-set, production et dispersion du pollen, conditions météorologiques.

ABSTRACT

The cereals seed market is one of the most important worldwide in this sector and it is mainly dominated by inbred lines. For some years now, hybrids are beginning to gain market share. The study presented in this report had two objectives. The first one was to characterize the producing ability of parental lines. The second was to assess the male parent based on its potential for pollen production and dispersal. The results of 2015 trials showed that there was a good synchronization of male and female lines flowering at both French locations and Germany location. Difference between female and male flowering evolved from -5 to 8 days in Germany, from -4 to 8 days in the South of France and -2 to 7 days in northern France. Fertilization rate (seed-set) was better in Germany, where 75% of the seed-set values were greater than 50%. For other sites, fertilization rate was acceptable in Northern France but poor in Southern France and England. For the last two sites, bad fertilization seemed to be due to poor weather conditions during the season. Indeed, the results of Southern France may be explained by sub-optimal relative humidity and excessive rainfall during flowering. Pollen production and dispersal showed that the male pollen production peak is reached in the third day of anthesis. Further studies could validate these results and make it possible to maximize the hybrid seed production schemes in barley.

Key words: Hybrid barley, synchronization, seed-set, pollen production and dispersal, weather conditions

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier M. Alain TREIL responsable de la recherche en production sur le colza et les céréales à paille EAME pour m'avoir donné l'opportunité de réaliser mon stage chez Syngenta. Grâce à votre rigueur dans le travail, votre expérience mais également votre humanité, j'ai pu réaliser ce stage dans de bonnes conditions.

J'exprime également ma reconnaissance à M. Michel RANZATO responsable de l'équipe Production and Processing Technology (PPT) pour m'avoir accueilli dans son équipe.

Ma reconnaissance va également à l'endroit de mon tuteur pédagogique le Pr Pierre BERTHOMIEU Biochimiste et Physiologiste Moléculaire des Plantes pour avoir supervisé ce travail de la meilleure manière qui soit.

Je remercie également tous les membres de l'équipe PPT pour l'accueil qui m'a été réservé, pour l'assistance dans le travail mais aussi pour la bonne ambiance au quotidien : Gabriel CARRE, Médoune FALL, Hélène CLEMECAT, Fabien GALAN, Vincent GUERTAULT, Jean Raphael DENIS, Valentin MILLET, Monique BERTHMIOU, Clara JACOB, Alexandra ALOY et Marion BELEME, vous êtes les meilleurs.

Je tiens également à remercier la Banque Mondiale à travers le Programme de Productivité Agricole de l'Afrique de l'Ouest (WAAPP/PPAAO) qui m'a permis de faire cette formation.

Que les responsables du cursus Amélioration des Plantes et Ingénierie Méditerranéenne et Tropicale/Semences et Plants Méditerranéens et Tropicaux (APIMET/SEPMET) et toute leur équipe trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

Je remercie aussi tous mes compatriotes de l'Association des Etudiants Sénégalais de Montpellier SupAgro, grâce à vous le pays ne m'a pas trop manqué.

Je ne saurais terminer sans remercier mes camarades de la Promotion 2014/2015 APIMET/SEPMET pour tous ces moments passés ensemble. Que succès et réussite vous accompagnent dans vos projets futurs.

Table des matières

RESUME	I
ABSTRACT	II
REMERCIEMENTS	III
Table des matières	IV
Liste des figures	VI
Liste des tableaux	VII
GLOSSAIRE	VIII
SIGLES ET ACRONYMES	XI
INTRODUCTION GENERALE	1
I. Synthèse bibliographique	3
I.1. La plante.....	3
I.2. L'appareil reproducteur de l'orge	5
I.3. La dispersion du pollen chez l'orge	6
I.4. L'hétérosis dans la sélection des plantes hybrides	6
I.5. Les mécanismes favorisant la fécondation croisée chez les plantes.....	8
I.6. La stérilité mâle chez les plantes.....	8
I.7. L'orge hybride	9
I.8. Les concepts relatifs à la sélection des variétés hybrides	10
I.9. Les systèmes de sélection des lignées parentales.....	12
<i>I.9.1. La filiation monograine ou Single Seed Descent (SSD)</i>	12
<i>I.9.2. L'haplodiploïdisation</i>	12
I.10. La sélection des lignées parentales	12
<i>I.10.1. La sélection des mâles (restaureurs)</i>	12
<i>I.10.2. La sélection des mainteneurs</i>	13
<i>I.10.3. La conversion des mainteneurs en femelles CMS</i>	13
<i>I.10.4. Les critères de choix des parents pour la production</i>	13
II. Expérimentations pour la production de semences hybrides d'orge	15
II.1. Problématique de l'étude	15
II.2. Les objectifs.....	16
<i>II.2.1. Les objectifs spécifiques</i>	16

II.3. Matériels et méthode	16
II.3.1. Le site de l'expérimentation	16
II.3.2. Le dispositif expérimental.....	17
II.3.3. Le matériel végétal.....	17
II.3.4. Méthodologie	18
II.3.5. Le traitement des données	19
III. Résultats.....	22
III.1. Evaluation de la synchronisation de la floraison.....	22
III.2. Aptitude des lignées à la production de semences.....	24
III.3. Implication des variables quantitatives et génétiques dans l'établissement du rendement...25	
III.4. Conditions climatiques au cours de la floraison.....	28
III.5. Production et dispersion du pollen pendant la floraison (essai de la CAVAC)	31
V. Discussion	33
Conclusion.....	37
Références bibliographiques	38
SITOGRAFIE.....	41
ANNEXES.....	42

Liste des figures

FIGURE 1: CYCLE SCHEMATIQUE DU DEVELOPPEMENT DE L'ORGE ADAPTE DU CYCLE DE ZADOKS (1974)	4
FIGURE 2: FLEUR TYPE D'UNE POACEAE (SOURCE : HTTP://BOTARELA.FR/POACEAE/DESCRIPTION- DETAIL/ÉPILLET.HTML)	5
FIGURE 3: DIFFERENTS TYPES D'ORGES	5
FIGURE 4: SCHEMA DE CREATION D'UN HYBRIDE (SOURCE SYNGENTA SERVICE R&D).....	11
FIGURE 5: RESEAU DES PLATEFORMES D'ESSAI	17
FIGURE 6: DISPOSITIF DES PIEGES A POLLEN	19
FIGURE 7: DISPOSITIF EXPERIMENTAL DE L'ESSAI "PRODUCE ABILITY" A GRISOLLES SUD DE LA FRANCE	21
FIGURE 8: DECALAGE DE LA FLORAISON DES LIGNEES FEMELLES ET MALES SUR LES SITES DE DEBS, FRSS ET FROG.....	23
FIGURE 9: METHODE DE CALCUL DU TAUX DE FECONDATION.	24
FIGURE 10: GRAPHIQUE DU TAUX DE FECONDATION SUR LES QUATRE SITES D'ESSAI	25
FIGURE 11: GRAPHIQUE DU RENDEMENT EN FONCTION DES VARIABLES QUANTITATIVES ET GENETIQUES.	26
FIGURE 12: PLUVIOMETRIE OBSERVEE PENDANT LA FLORAISON SUR LES QUATRE SITES.	28
FIGURE 13: HUMIDITE RELATIVE DE L'AIR PENDANT LA FLORAISON SUR LES QUATRE SITES.....	29
FIGURE 14: TEMPERATURE MOYENNE JOURNALIERE ET VITESSE DU VENT PENDANT LA FLORAISON SUR LES QUATRE SITES.	30
FIGURE 15: CINETIQUE DE PRODUCTION DU POLLEN AU NIVEAU DES CHAMPS NUMERO 1 ET 2	31
FIGURE 16: TEMPERATURE ET PLUVIOMETRIE PENDANT LA PERIODE DE FLORAISON.....	32
FIGURE 17: VITESSE ET DIRECTION DU VENT DOMINANT PENDANT LA PERIODE DE FLORAISON.....	32

Liste des tableaux

TABLEAU 1: DIFFERENTS STADES DES LIGNEES DESTINEES A LA PRODUCTION D'HYBRIDES	18
TABLEAU 2: LES DIFFERENTS STADES DE NOTATION ET LES CARACTERES MESURES.....	18
TABLEAU 3: LES COMBINAISONS QUI ONT UN DECALAGE DE FLORAISON SUPERIEUR A 2 JOURS A FRSS.....	23
TABLEAU 4: LES COMBINAISONS QUI ONT UN DECALAGE DE FLORAISON SUPERIEUR A 2 JOURS A FROG	24
TABLEAU 5: LES COMBINAISONS QUI ONT UN DECALAGE DE FLORAISON SUPERIEUR A 2 JOURS A DEBS.....	24
TABLEAU 6: ANALYSE DESCRIPTIVE DE LA VARIABLE TAUX DE FECONDATION (FM SEED-SET) SUR LES QUATRE SITES.....	25
TABLEAU 7: STATISTIQUE DESCRIPTIVE DE LA VARIABLE TEMPERATURE (°C).....	29
TABLEAU 8: STATISTIQUE DESCRIPTIVE DE LA VARIABLE VITESSE DU VENT (KM/H).....	30
TABLEAU 9: LES DIFFERENTES DATES DE RELEVES DES PIEGES A POLLEN	31

GLOSSAIRE

Allèles : gènes homologues présents à un même locus et ayant la même fonction mais avec des effets différents.

Allogamie : système de reproduction reposant sur fécondation croisée (entre deux individus génétiquement distincts).

Aptitude à la combinaison : valeur en croisement d'un génotype.

Autofécondation : système de reproduction par lequel les ovules d'une plante sont fécondés par du pollen issu de la même plante.

Autogamie : système de reproduction par autofécondation.

Chromosome : structure nucléoprotéique portant un ensemble de gènes liés sur une même molécule d'ADN.

CMS (Cytoplasmic Male Sterility ou Stérilité mâle cytoplasmique) : chez les plantes, incapacité à produire du pollen, résultant d'une stérilité des éléments mâles des fleurs.

Consanguinité : Conséquence de la reproduction entre individus apparentés.

Croisement : reproduction sexuée entre deux plantes, l'une prise comme mâle, l'autre comme femelle.

Diploïde : état d'une cellule qui possède deux génomes élémentaires haploïdes homologues qui s'apparient à la méiose et dans laquelle les chromosomes vont par paires.

Dominance : à un locus, chez un génotype hétérozygote, masquage de l'effet d'un allèle par l'effet de l'autre allèle. L'allèle masqué est qualifié de récessif l'autre de dominant.

Epistasie : interaction entre gènes non homologues.

Famille : ensemble d'individus apparentés de même type, descendants par exemple de l'autofécondation ou de la fécondation libre d'une plante, ou du croisement de deux plantes.

Gamète : cellule reproductrice résultant de la méiose. Chez les plantes le gamète mâle est contenu dans le pollen, le gamète femelle dans l'ovule.

Gène : séquence d'ADN codant pour un ARN messager, lequel peut ensuite être traduit en protéine.

Gène majeur : gène à effets forts, déterminant un caractère qualitatif ou quantitatif, et dont la ségrégation est visible en F2.

Génome : Le génome est l'ensemble du matériel génétique d'un organisme. Il contient à la fois les séquences codantes, c'est-à-dire celles qui codent pour des protéines, et les séquences non codantes. Chez la majorité des organismes, le génome correspond à l'ADN présent dans les cellules, au niveau de leur noyau ou des organites (mitochondries, chloroplastes). Cependant, chez certains virus appelés rétrovirus (par exemple le rétrovirus VIH), le matériel génétique peut être de l'ARN.

Génomique : science qui regroupe un ensemble d'analyses qui vont de l'établissement de cartes du génome (cartographie) à l'identification de nouveaux gènes, à l'étude de leurs fonctions et au séquençage des molécules d'ADN.

Génotype : au sens large, ensemble des gènes d'un individu, au sens restreint, ensemble des gènes d'un individu à un ou quelques locus particuliers.

GNIS : Groupement National Interprofessionnel des Semences et Plants

Haploïde : état d'une cellule contenant un seul exemplaire du génome de base.

Haplodiploïdisation : biotechnologie qui consiste à générer un individu diploïde à partir de cellules haploïdes (mâles ou femelles) à en doubler le nombre de chromosomes, ce qui conduit à un individu diploïde complètement homozygote.

Hétérosis : augmentation de vigueur observée au niveau de la descendance du croisement entre deux individus (plantes ou animaux) non apparentés.

Hétérozygote : état d'un génotype diploïde présentant des allèles différents à un certain nombre des locus de son génome.

Homozygote : état d'un génotype ne présentant qu'un même allèle, présent en plusieurs exemplaires, à un même locus, et par extension, à l'ensemble des locus de son génome.

Hybride : résultat d'un croisement entre individus génétiquement distincts. L'hybride F1, entièrement hétérozygote, résulte du croisement entre 2 lignées parentales homozygotes.

Hybride simple (une voie) : résultat du croisement de deux lignées parentales non apparentées.

Hybride trois-voies : résultat du croisement d'un hybride simple avec une lignée.

Hybridité : c'est un indicateur de la qualité des semences hybrides. En France le seuil minimal pour la production de semences hybrides est fixé à 90%.

Locus : position d'un gène sur le chromosome.

Mainteneur de stérilité : dans le cas de la stérilité mâle cytoplasmique, génotype qui, croisé à une plante mâle stérile, maintient la stérilité mâle de cette dernière dans sa descendance.

Méiose : division, dite « réductionnelle », des cellules mères des gamètes qui conduit chez les diploïdes à des cellules haploïdes contenant un seul exemplaire de chaque chromosomes.

Parent donneur : dans un schéma de sélection par rétrocroisement, parent porteur du gène à transférer.

Parent receveur (parent récurrent) : dans un schéma de rétrocroisement, parent auquel on souhaite transférer un gène ou un caractère nouveau.

Pollen : chez les plantes, gamétophyte mâle qui donne le gamète mâle.

Restaureur de fertilité : génotype utilisé comme père qui, croisé à un individu femelle, mâle stérile, restaure sa fertilité et lui permet de produire des semences.

Rétrocroisement (ou back-cross) : recroisement répété d'un individu issu de croisement avec l'un de ses parents.

SSD (single-seed descent, ou filiation monograine) : système de fixation par autofécondation, sans sélection, tel que, pour passer à la génération suivante, une seule graine est prise par famille résultant de l'autofécondation des plantes de la génération précédente.

Superdominance : situation dans laquelle, à un locus, l'hétérozygote est supérieur au meilleur des deux parents. L'hétérosis est une conséquence de la superdominance.

Taux de fécondation (seed-set): c'est un indicateur utilisé en production d'hybride qui correspond, chez une céréale, au rapport entre le nombre de grains fécondés d'un épi et le nombre de fleurs fertiles de cet épi.

Testeur : génotype (lignée, hybride ou population) utilisé pour étudier la valeur en croisement

Variété (au sens du sélectionneur) : population artificielle, à base génétique plus ou moins étroite, reproductible et présentant des caractéristiques agronomiques bien définies.

SIGLES ET ACRONYMES

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ARN : Acide Ribonucléique

°C : Degré Celsius

CAVAC : Coopérative Agricole Vendéenne d'Approvisionnement et de Vente de Céréales et Autres Produits Agricoles

CTPS : Comité Technique Permanent de la Sélection de plantes cultivées

DEBS: Deutch Bad Saszuflen

FRSS: France Saint Sauveur

GBMA: Great Britain Market Stainton

ha : hectare

kg : kilogramme

m² : mètre carré

Mds : milliards

mm : millimètre (10⁻³ m)

q : quintal (100 kilogrammes ; 0,1 tonne)

t : tonne

CA : Chiffre d'Affaires

CMS : Cytoplasmic Male Sterility (Stérilité Mâle Cytoplasmique)

Fm : Femelle

PMG : Poids de Mille Grains

PPT : Production and Processing Technology (service de recherche en production)

R&D : Recherche et Développement

Re : Restaurateur

SOC : Service Officiel de Contrôle et de Certification. C'est un service technique du Groupement National Interprofessionnel des Semences et Plants (GNIS)

INTRODUCTION GENERALE

Le monde est caractérisé par une augmentation de plus en plus importante de la population couplée à l'émergence des changements climatiques. L'un des défis pour l'agriculture est de satisfaire les besoins des humains en termes de nourriture. L'augmentation de la population entraîne une urbanisation qui empiète de plus en plus sur les terres agricoles. Les fortes températures mondiales entraînent une grande diminution des rendements au niveau régional et mondial (Parry *et al.*, 2003). Or, le contexte global de l'agriculture mondiale aujourd'hui requiert de d'augmenter la production avec peu d'intrants. Pour relever ce défi, la recherche agricole doit se focaliser sur la sélection de nouvelles variétés plus tolérantes aux effets du climat. Ces variétés doivent être capables d'exprimer leur potentiel dans des environnements pauvres en éléments nutritifs. Une des solutions pour y parvenir est le développement de variétés hybrides car comparées aux variétés conventionnelles, les hybrides ont des rendements plus élevés à cause du phénomène d'hétérosis. Conscientes de ce phénomène, les sociétés d'agrofourniture mettent beaucoup de ressources financières et humaines dans la recherche et le développement (R&D). C'est le cas du groupe Syngenta qui avec son slogan « exprimer le potentiel des plantes » a investi en 2012 1,25 Mrd \$ US en R&D avec plus de 5000 chercheurs répartis dans différents centres multidisciplinaires. La société a mis l'accent sur l'innovation en investissant dans le développement d'hybrides de céréales en paille. Les céréales à pailles (en particulier le blé) représentent l'aliment de base dans beaucoup de pays en développement. Avec la performance des hybrides développés par ses sélectionneurs, Syngenta se positionne aujourd'hui comme leader dans ce secteur. Les premiers hybrides d'orge développés par le groupe connaissent un énorme succès (Semences de France, 2015 <http://www.semencesdefrance.com/cereales-a-paille/orge-hybride/>). Pour améliorer la performance de ces variétés, Syngenta a créé un service dédié à l'optimisation des schémas de production. Ce service dénommé Production and Processing Technology (PPT) se situe à l'interface entre la recherche et la production. Ce service possède ses propres thématiques de recherche et collabore étroitement avec la recherche et la production. Ce service est chargé d'optimiser la production des semences en quantité et en qualité. Ces projets tournent autour de la caractérisation des lignées, l'amélioration des itinéraires techniques et l'optimisation des schémas de production. Le service a travaillé également sur des questions liées à l'irrigation et sur l'apport des oligoéléments. Aujourd'hui ses principales thématiques concernent l'étude de l'aptitude à la production de semences des lignées (Produce Ability) et l'étude de la pollinisation. Ce présent travail a été conduit sur ces deux questions de recherche avec un focus sur les facteurs déterminant l'aptitude à la production des semences.

La première partie de ce document fait une brève présentation du groupe Syngenta et une revue bibliographique qui traite de la culture (orge) et du système d'hybridation utilisé pour la sélection des lignées parentales. La deuxième partie présente le contexte de l'étude, les questions de

recherche et la méthodologie. La troisième partie présente les résultats obtenus, la discussion de ces résultats et la conclusion et perspectives.

I. Synthèse bibliographique

L'orge (*Hordeum vulgare* L.) est une céréale qui a été domestiquée de façon indépendante au sein de deux foyers : au Moyen-Orient (Croissant Fertile) et en Asie centrale il y a environ 8000 ans (Morell et Clegg, 2007). Des données de fouilles archéologiques effectuées en Irak et en Syrie ont montré la présence de caryopses d'orge datés d'environ 8000 ans provenant d'épis modifiés par la domestication. La diversité génétique des variétés d'orge d'Europe et d'Amérique trouve sa source dans l'orge rustique du Moyen-Orient, alors que l'orge cultivée en Asie est liée à l'orge rustique d'Asie centrale (Morrell et Clegg, 2007). Durant la domestication, l'orge a perdu certains caractères comme le « rachis fragile » propice à la dissémination des grains mais incompatible avec la culture. D'autres caractères comme le « grain nu » ou les « épis à six rangs » ont été acquis grâce à la sélection par l'homme. Les principaux caractères qui ont été sélectionnés au cours de la domestication comprennent la réduction ou la perte de la dormance, la levée rapide après semis, le temps court entre la floraison et la maturité, l'augmentation du rendement, la résistance aux maladies et la tolérance aux stress (Badr et El-Shazly, 2012). Cette céréale a longtemps été la plus utilisée pour l'alimentation humaine dans les régions du Croissant Fertile, en Europe centrale et dans le Bassin Méditerranéen. Par la suite elle a été remplacée par le blé (tétraploïde et hexaploïde). La production mondiale d'orge en 2014 est de 138 millions de tonnes (Mt) (Terre-net., 2015).

Dans les pays développés l'orge est utilisée pour l'alimentation animale (bovins, porcins, volailles) mais aussi en brasserie car elle supporte bien le maltage. L'orge utilisée en brasserie possède un faible taux de protéines comparée à l'orge fourragère.

I.1. La plante

L'orge (*Hordeum vulgare*) est une plante annuelle autogame semblable au blé dans la morphologie de ses organes végétatifs et floraux. Elle appartient à la famille des *Poaceae*, tribu des *Triticeae* comme le blé et à la sous-tribu des *Hordeneae* du fait de différences au niveau de la structure de ses épis. Contrairement à l'épi du blé et des autres genres de la sous-tribu des *Triticinae* qui n'ont qu'un seul épillet inséré à chaque nœud du rachis, l'épi d'orge comporte deux épillets par nœud. L'orge spontanée et l'orge cultivée sont des espèces diploïdes avec un même nombre de chromosomes ($2n = 14$). L'orge est une céréale rustique qui s'adapte à différents climats dans le monde. Son aire de culture est très étendue, elle est cultivée dans une centaine de pays par exemple des pays comme la Suède mais aussi dans des aires géographiques comme l'Afrique du Nord ou le Tibet.

Il existe des orges d'hiver résistantes au froid qui ont besoin d'une vernalisation pour induire le développement des organes floraux. En se basant sur la fertilité des fleurs latérales des épillets, l'orge a été classée en deux différents types différents à savoir les orges à deux et six rangs (Alqudah et Schnurbusch, 2014). Les trois fleurs des épillets sont fertiles chez l'orge d'hiver à six rangs (appelée escurgeon) alors que deux fleurs sont stériles chez l'orge à deux rangs (Bonnet,

1966). Les orges d'hiver sont semées en automne tandis que les orges de printemps sensibles au gel, de cycle court avec des épis à deux rangs sont semées en Février ou Mars. La figure 1 représente schématiquement le cycle de développement de l'orge adapté de l'échelle de Zadok.

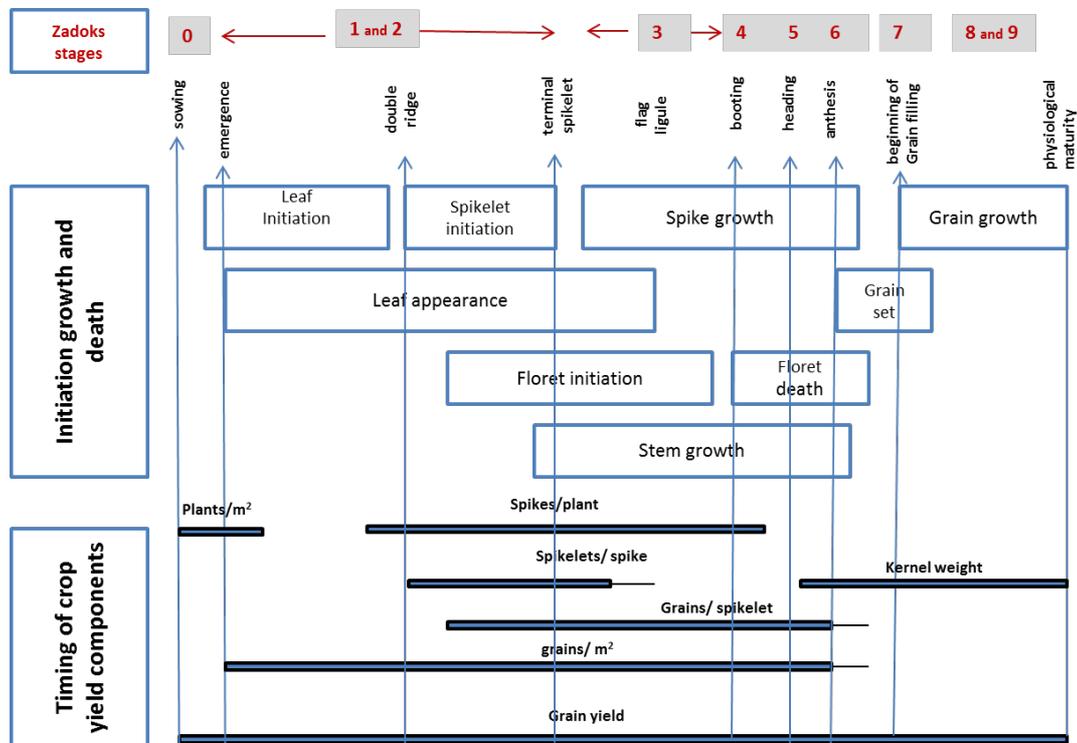


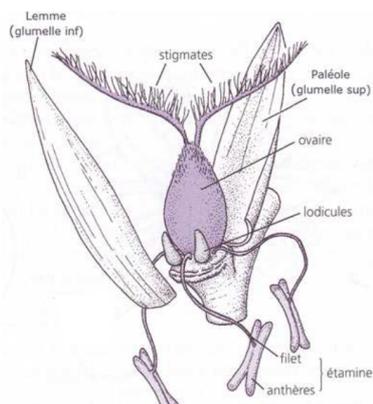
Figure 1: Cycle schématique du développement de l'orge adapté du cycle de Zadoks (1974)

La phase végétative du semis à l'initiation florale (Sowing-Floret initiation) est caractérisée par l'initiation foliaire (leaf initiation) et le tallage (deux stades majeurs du cycle de Zadoks). La phase reproductive commence avec le début de la différenciation de l'épillet (spikelet initiation) dans l'apex et se termine par la pollinisation de la fleur femelle. Pendant le pic de la phase reproductive, les épillets sont initiés jusqu'à atteindre un nombre maximum de primordia. Plus tard, au cours de la dernière partie de cette phase, l'épillet et la tige croissent rapidement et quelques talles et épillets meurent (floret death), déterminant concomitamment le nombre de fleurons fertiles. Le remplissage du grain (grain filling) est la dernière phase après pollinisation, au cours de laquelle l'endosperme développe un nombre variable de cellules puis la matière sèche est accumulée pour déterminer le poids final du grain. C'est au cours de ces dernières étapes que l'embryon développe les ébauches végétatives initiales pour être en mesure de produire un plant à la génération suivante.

Chez l'orge, comme chez beaucoup de Graminées, l'apex produit les feuilles et les primordia de l'épillet dans un ordre chronologique (Arduini *et al.*, 2010). Ainsi toutes les ébauches foliaires sont formées lorsque le premier primordium de l'épillet est initié. L'embryon d'orge mature contient les trois ou quatre premières feuilles de la future pousse (Kirby et Appleyard, 1986).

I.2. L'appareil reproducteur de l'orge

L'épi d'orge est composé d'épillets directement rattachés au rachis ou axe de l'épi. Chaque épillet comporte trois fleurs fertiles insérées alternativement autour du rachis formant ainsi un épi à 6 fleurs par étage dans le cas de l'orge à 6 rangs (cf. Figure 3). Les fleurs sont hermaphrodites et portent à la fois des organes mâles et femelles favorisant l'autofécondation. Les organes mâles sont constitués des anthères contenant le pollen qui sont attachés à la fleur par des filaments. Les organes femelles sont constitués de l'ovaire surmonté par un stigmate plumeux assurant la capture du pollen (cf. Figure 2). Le grain (caryopse) est ovale, poilu au sommet, adhérant aux glumelles à la base. Brown *et al* (1978) ont montré que chez l'orge l'autofécondation intervient pour environ 98% des grains formés et seulement 1,6% proviennent d'une fécondation par le pollen d'une autre fleur. La majeure partie des fleurs sont autofécondées alors qu'elles sont encore fermées. Cependant des études ont montré que l'orge présente des aptitudes à l'allofécondation. En effet, 80% du pollen serait émis à l'extérieur de la fleur et rendu disponible pour la fécondation croisée (D'Souza, 1972). Ainsi, seuls 20% des grains de pollen restent au contact du stigmate. Une telle caractéristique est encourageante dans un contexte de production de semences d'hybrides.



La fleur est constituée :

- De deux membranes qui assurent la protection de la fleur, les **glumelles**. La **lemme** ou glumelle inférieure ou externe et la **paléole** ou glumelle supérieure ou intérieure
- **Des lodicules** qui en se gonflant écartent les glumelles et permettent la sortie des anthères et des stigmates
- D'un verticille généralement constitué de **trois étamines**
- D'un ovaire uniloculaire de deux **stigmates** plumeux qui retiennent facilement les grains de pollen

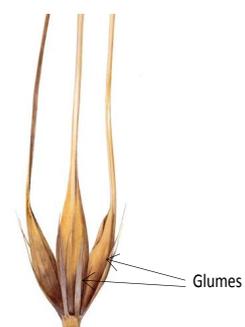
Figure 2: Fleur type d'une Poaceae (source : <http://botarela.fr/Poaceae/Description-detail/Epillet.html>)



Orge 2 rangs



Orge 6 rangs



Epillet

Figure 3: Différents types d'orges

I.3. La dispersion du pollen chez l'orge

Peu d'études ont été menées sur la dispersion du pollen de l'orge car cette espèce est naturellement autogame. La fleur de l'orge étant hermaphrodite, le pollen est libéré au moment où la fleur est encore fermée favorisant l'autofécondation. Pour produire des semences hybrides d'orge, il faut disposer de lignées femelles mâles stériles et il faut sélectionner les lignées mâles de manière à ce que les anthères sortent de la fleur afin que le pollen soit exposé au vent. Ce paramètre favorise le transport du pollen entraînant la fécondation croisée. Chez l'orge, la fécondation croisée est naturellement assurée par le vent. La complexité de ce mode de dispersion réside dans le fait que beaucoup de paramètres peuvent l'influencer. En effet, pour avoir une bonne fécondation, il faut que le pollinisateur (mâle) produise une grande quantité de pollen afin d'augmenter la probabilité de rencontre entre le pollen et le stigmate. Outre la quantité de pollen produite, la puissance et la direction du vent sont deux paramètres importants pour la dispersion du pollen. La puissance du vent permet d'arracher le pollen des anthères alors que sa vitesse va déterminer la distance de dispersion. Les vents horizontaux favorisent la dispersion sur de courtes distances alors que les vents ascendants favorisent plutôt la dispersion du pollen sur de longues distances. Les paramètres météorologiques (par exemple l'humidité relative de l'air, la pluviométrie) peuvent influencer la dispersion du pollen (Kempe *et al.*, 2013). L'humidité de l'air influence la dispersion du pollen car elle fait varier son poids. Plus le pollen est lourd, moins il se disperse loin. Enfin, les lignées mâles doivent être plus hautes que les femelles pour permettre une meilleure exposition du pollen au vent. Outre la quantité de pollen produit, il y a également la puissance et la direction du vent, les paramètres météorologiques qui peuvent influencer la qualité du pollen (viabilité), la taille du pollen car plus il est lourd moins il est déplacé par le vent et la taille des mâles.

Une des rares publications concernant l'étude de la dispersion du pollen d'orge est celle produite par des chercheurs Finlandais en 2002 (Ritala *et al.*, 2002). Ces auteurs ont utilisé comme source de pollen de l'orge OGM. Les lignées femelles mâles stériles (CMS) ont été disposées sur des distances allant de 1 à 100 m sur les quatre points cardinaux. Les auteurs ont montré que la fécondation croisée des CMS est possible avec une très faible fréquence (0-2%) à plus de 50m du donneur de pollen (Ritala *et al.*, 2002).

I.4. L'hétérosis dans la sélection des plantes hybrides

Dans la sélection des plantes hybrides le croisement de lignées génotypiquement différentes produit des hybrides F1 qui ont généralement des rendements supérieurs à ceux des parents. Ce phénomène est connu sous le nom de vigueur hybride ou hétérosis (Luo *et al.*, 2013). L'hybridation des espèces a connu un très grand développement depuis que l'hétérosis a été démontrée chez le maïs. Les principaux avantages des hybrides comparés aux lignées sont le rendement accru en raison de l'exploitation maximale de l'hétérosis, une plus grande stabilité de

rendement en particulier dans des environnements marginaux et la possibilité de combiner les caractéristiques complémentaires dominantes héritées des fonds génétiques mâle et femelle (Longin *et al.*, 2012). Par opposition, l'utilisation de semences de ferme est souvent entravée par la dépression de consanguinité. Par ailleurs, il est important pour les entreprises semencières de vendre chaque année des semences hybrides afin d'avoir des retours élevés sur leurs investissements. Une sélection réussie d'hybrides nécessite un niveau suffisant d'hétérosis pour les caractères économiquement importants et un mécanisme d'hybridation rentable empêchant l'autofécondation des parents femelles mais permettant la fécondation croisée du parent femelle avec le parent mâle (Mühleisen *et al.*, 2013).

L'effet hétérosis a été décrit pour la première fois par Charles Darwin en 1876 après qu'il ait observé que les descendants de la pollinisation croisée du maïs (*Zea mays*) étaient de 25% plus grand que les descendants du maïs autofécondé (Darwin, 1876). Le phénomène a été redécouvert indépendamment par George H. Shull et Edward M. East en 1908 (Shull, 1908 ; East, 1908). Shull (1952) a défini l'hétérosis comme « l'interprétation de l'augmentation de la vigueur, la taille, la fécondité, la vitesse de développement, la résistance aux maladies, aux insectes ravageurs ou aux rigueurs climatiques de toute nature, manifestés par les organismes issus de croisement par rapport aux lignées parentales consanguines, comme les résultats spécifiques de dissemblance dans les constitutions de l'union des gamètes parentaux » (Lamkey et Edwards, 1999). Cette définition est interprétée comme n'impliquant pas une base génétique pour l'hétérosis parce qu'elle décrit essentiellement le phénotype résultant du croisement de deux lignées (consanguines) différentes. Le phénomène biologique de l'hétérosis est décrit par la performance des caractères particuliers par rapport à la moyenne de leurs parents appelé « mid-parent heterosis (MPH) » ou par rapport au parent ayant la meilleure valeur pour le caractère appelé « best parent heterosis (BPH) » (Thiemann *et al.*, 2014). Depuis, l'hétérosis a été largement exploitée dans la sélection végétale en particulier chez le maïs (Hochholdinger and Hoecker 2007). Cette technique a été naturellement élargie à d'autres espèces végétales par les sélectionneurs. La sélection d'hybrides est un succès remarquable chez plusieurs espèces allogames comme le maïs, le tournesol, le sorgho, la betterave à sucre et le seigle (Coors et Pandey, 1999). En revanche, chez de nombreuses plantes comme le riz qui se reproduisent par autofécondation, la production de semences hybrides en quantité suffisante pose un problème de logistique (Luo *et al.*, 2013). En effet, les sélectionneurs se sont très tôt confrontés à des contraintes liées à la production de plantes mâles stériles chez certaines espèces autogames.

La sélection d'hybrides dans les céréales autogames a une longue histoire de tentatives avec des succès modérés (Longin *et al.*, 2012). Beaucoup d'auteurs ont cherché à identifier les problèmes et trouver les solutions possibles, mais jusqu'à maintenant, la part de marché des hybrides est encore une niche par rapport à celles des variétés lignées.

I.5. Les mécanismes favorisant la fécondation croisée chez les plantes

Chez les plantes, il existe des mécanismes qui favorisent la fécondation croisée. Beaucoup de plantes hermaphrodites modifient leur développement floral pour promouvoir la fécondation croisée à travers des mécanismes comme la dichogamie (l'autofécondation est empêchée par la maturité des pistils et des étamines à différents moments), la chasmogamie (type de fleur hermaphrodite qui s'ouvre à l'anthèse et peut être visitée par les insectes vecteurs), l'hétérostylie (les fleurs possèdent des styles de longueurs différentes, ce qui favorise la pollinisation croisée), l'auto-incompatibilité (Kempe et Gils, 2011). Chez certaines espèces, la fécondation croisée est favorisée par l'homme. Chez le maïs (plante monoïque), la castration peut être effectuée simplement en enlevant mécaniquement les organes floraux du mâle (Smith *et al.*, 2004).

I.6. La stérilité mâle chez les plantes

Chez les plantes, la stérilité mâle induite par l'absence de pollen ou d'anthères fonctionnelles est souvent considérée comme un accident de développement (Kempe et Gils, 2011). La stérilité mâle est une caractéristique courante rencontrée chez les espèces végétales. Différents mécanismes de stérilité mâle peuvent être rencontrés dans la nature. Chez les plantes, des réarrangements de l'ADN mitochondrial conduisant à des gènes chimériques peuvent entraîner une incapacité à produire du pollen fertile (Chase et Gabay-Laughnan, 2004 ; Hanson et Bentolila, 2004 ; Horn, 2006). Ce type de stérilité mâle est connu sous le nom de stérilité mâle cytoplasmique (CMS).

Elle résulte d'un conflit génomique entre les génomes mitochondrial et nucléaire (Touzet et Meyer., 2014). La CMS peut être spontanée, suite à une mutagenèse ou être le résultat de croisements interspécifiques, intra spécifiques ou inter génériques (Kaul, 1988). Etant donné que la CMS est déterminée par le génome mitochondrial, la stérilité est héritée de la mère chez la plupart des Angiospermes (Hagemann, 2004). Elle serait causée par des facteurs mitochondriaux qui peuvent être contrecarrés par des facteurs nucléaires de restauration de la fertilité. La CMS a été identifiée et caractérisée chez plus de 150 espèces de plantes y compris le haricot vert, le mil, la betterave à sucre, la carotte, le maïs, l'oignon, le pétunia, le riz, le seigle, le tournesol, l'orge et le blé (Schnable et Wise, 1998). Les explications proposées pour le système CMS comprennent le déficit énergétique de la mitochondrie, la toxicité d'une protéine de la CMS et la mort prématurée des cellules tapétales (Luo *et al.*, 2013). Deux hypothèses ont été proposées pour le mécanisme moléculaire de la CMS (Budar *et al.*, 2003 ; Chase, 2007).

La première hypothèse est celle du modèle de gain de fonction. Ce modèle suggère l'implication potentielle du gène de la CMS dans un processus inconnu qui blesse la mitochondrie (Wang *et al.*, 2013). Ce modèle est supporté par deux exemples. Le premier est le T-cms chez le maïs avec la protéine T-URF13 supposée former un pore dans la membrane interne de la

mitochondrie pour perturber son potentiel (Rhoads *et al.*, 1995 ; Wise *et al.*, 1998). Le deuxième exemple est la protéine ORF138 du Colza Ogura. Similaire à T-URF13 du maïs, cette protéine est impliquée dans un complexe inconnu principalement composé de lui-même qui forme un pore dans la membrane interne de la mitochondrie (Duroc *et al.*, 2009).

Le deuxième modèle est celui de la perte de fonction. Il est retrouvé dans davantage de cas. Chez le Pétunia, Connet et Hanson (1990) ont montré que des complexes de la chaîne mitochondriale de transport d'électrons différents étaient observés entre les variétés mâles stériles et les variétés fertiles. Chez le tournesol, la protéine ORF522 de la CMS a une identité de séquence avec une sous-unité de l'ATP synthase. Les auteurs ont supposé qu'ORF522 peut rivaliser avec la sous-unité normale et porter atteinte à la fonction du complexe ATP synthase (Sabar *et al.*, 2003). Plusieurs études suggèrent l'implication de la respiration sur la perturbation de la production de pollen par un déficit énergétique. Les études visant à identifier les gènes nucléaires et mitochondriaux impliqués dans la CMS ont révélé la diversité des gènes mitochondriaux de stérilité ainsi que les mécanismes par lesquels les gènes de restauration agissent (Touzet et Meyer, 2014).

Cependant malgré le développement des techniques de biologie moléculaire et les nombreux travaux effectués sur ce sujet, le mécanisme moléculaire de la CMS reste mal connu.

Techniquement, la stérilité mâle peut être provoquée par différentes manières. Tout d'abord, les plantes peuvent être stérilisées par pulvérisation d'Agents Chimiques d'Hybridation (CHA) qui empêchent le développement de pollen viable (Tu et Banga, 1998). Cette technique est utilisée chez le blé où les plantes sont pulvérisées avec un gamétocide qui détruit les organes reproducteurs mâles et pas les organes reproducteurs femelles. Quand on utilise des systèmes génétiques, on a recours à des mutations de l'ADN mitochondrial conduisant à la stérilité cytoplasmique (CMS), ou encore à des gènes nucléaires ou des transgènes pouvant mener à l'absence de pollen (stérilité mâle nucléaire, NMS, Kaul 1998 ; Chase *et al.*, 2010). Le développement du pollen chez les Angiospermes comporte de deux étapes successives, microsporogénèse et microgamétogénèse. Ce processus complexe et programmé de développement est orchestré par l'expression à la fois des gènes sporophytiques et gamétophytiques (Kempe et Gils, 2011). Afin de comprendre le développement du pollen, la germination et la croissance du tube pollinique, beaucoup d'efforts ont été menés par l'isolement de gènes spécifiquement exprimés dans les anthères ou le pollen. Aujourd'hui, avec l'avènement des biotechnologies, ces gènes sont devenus des cibles dans de nombreux programmes de recherche.

1.7. L'orge hybride

L'orge (*Hordeum vulgare*) a été largement négligée dans la sélection d'hybrides chez les céréales autogames (Mühlisen *et al.*, 2013). Chez l'orge, les premières plantes mâles stériles ont été développées par Schooler en 1967 à partir d'une lignée d'orge d'origine alloplasmique en

croisant *Hordeum vulgare* avec *Hordeum jubatum*. Cependant l'hybride produit n'était pas fertile. Une stérilité mâle cytoplasmique (CMS) a ensuite été décrite sur une espèce israélienne d'orge sauvage (*Hordeum vulgare spp. spontaneum*) avec un gène majeur restaurateur par Ahokas (1979). Chez l'orge, la CMS est spontanée (elle est retrouvée de manière naturelle chez une espèce d'orge sauvage). Cependant, même si un système CMS était disponible et adapté pour la production de semences hybrides, les institutions publiques ne se sont pas engagées dans la recherche sur l'orge hybride. En 1994, Paul Bury, sélectionneur à New Farm Crops Ltd. (maintenant Syngenta Seeds Ltd.) a converti le système CMS dans les lignées européennes et a commencé une sélection systématique d'orges hybrides (Mühleisen *et al.*, 2013). Jusqu'en 2012, plus de dix variétés d'orges hybrides d'hiver à six rangs, développées par son programme de sélection ont été diffusées.

Syngenta travaille sur les orges hybrides depuis les années 1990 mais ce n'est qu'en 2007 que la première variété d'orge hybride à 6 rangs, à orientation fourragère a été inscrite en France. Le système d'hybridation est basé sur la stérilité mâle cytoplasmique, il est utilisé chez de nombreuses espèces de plantes cultivées. Une lignée femelle naturellement mâle stérile est croisée avec une lignée mâle possédant un gène dominant de restauration de la fertilité de l'hybride F1 produit. Ces facteurs de stérilité et de restauration ont été introgressés dans du matériel élite européen à partir d'une orge sauvage, *Hordeum spontaneum*. Dans la saison culturale 2011-2012, plus 200 000 ha de champs d'orge hybride ont été cultivés en Europe, principalement en Allemagne, en France et au Royaume Uni (Longin *et al.*, 2012).

I.8. Les concepts relatifs à la sélection des variétés hybrides

La stérilité mâle cytoplasmique peut être contrecarrée par des gènes nucléaires appelés gènes restaureurs de fertilité (*Rf* ou *Fr*) qui sont spécifiques pour chaque système CMS étudié. Pour produire un hybride, il faut pouvoir maintenir la lignée femelle, qui est mâle stérile. Pour ce faire, elle est croisée avec une lignée sœur (isogénique) appelée lignée mainteneuse qui a le même génotype nucléaire mais un cytoplasme fertile. La lignée mainteneuse porte un ou des allèles récessif (s) *rf* de restauration de la fertilité, elle est donc mâle fertile. La descendance de ce croisement permet de reproduire la femelle CMS. Celle-ci est ensuite croisée avec une lignée mâle restauratrice de la fertilité portant des allèles *Rf* pour donner l'hybride F1 fertile (cf. Figure 4).

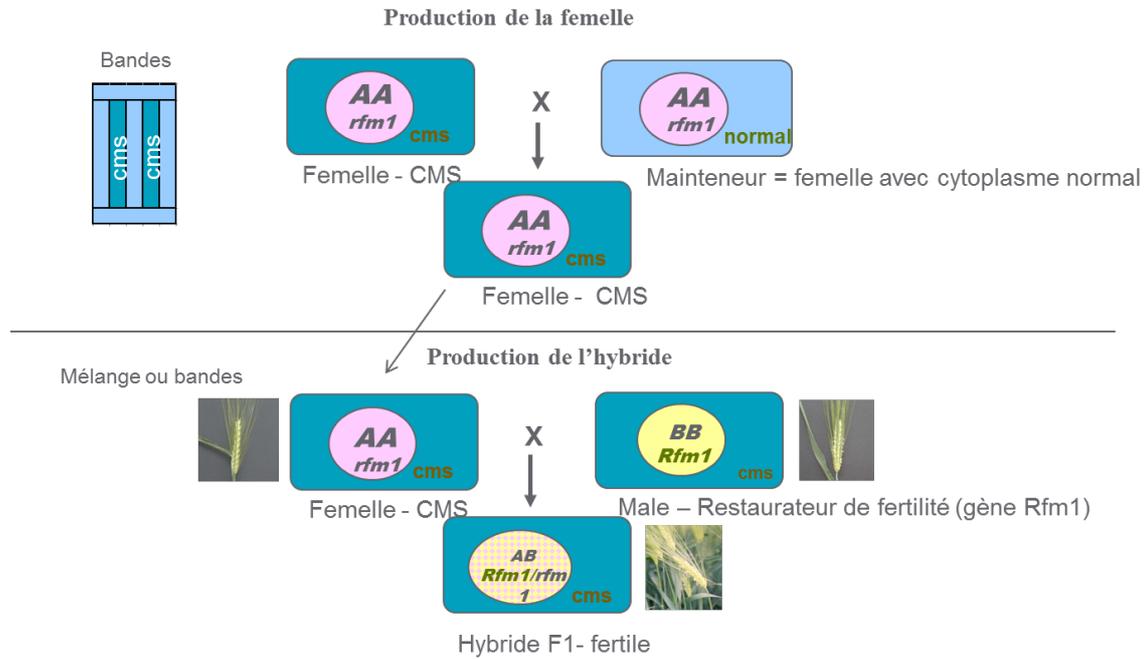


Figure 4: Schéma de création d'un hybride (Source Syngenta service R&D)

cms= cytoplasme stérile

Normal= cytoplasme normal

rfm1 : gène récessif

Rfm1 : gène dominant

AA, BB, AB : individus

Trois concepts de base sont donc à l'origine d'un programme de sélection de variétés hybrides :

- **Autofertilité**, permet le développement de lignées parentales homozygotes
- **Groupes hétérotiques**, permettent une meilleure exploitation de l'hétérosis car plus les lignées parentales sont éloignées génétiquement plus l'hétérosis est fort
- **Mécanisme d'hybridation**, permet la production de semences hybrides à grande échelle

Ici le système d'hybridation est basé sur la **stérilité mâle cytoplasmique (CMS)** avec **gène dominant de restauration nucléaire *Rfm1***. Trois lignées sont utilisées.

- Lignée A : femelle CMS à cytoplasme stérile et gène récessif *rfm1*
- Lignée B : mainteneuse de la stérilité (isogénique à la lignée A) ayant un même génotype nucléaire que la lignée A mais avec un cytoplasme fertile.
- Lignée R : restauratrice de la fertilité avec gène nucléaire *Rfm1*

I.9. Les systèmes de sélection des lignées parentales

Pour la production d'hybrides en orge, les sélectionneurs travaillent sur deux pools génétiques à la fois : les mâles (restaureurs de fertilité) et les femelles (mainteneuses de stérilité).

La sélection des lignées parentales est faite chez Syngenta selon deux systèmes :

- sélection par filiation monograine (SSD) pour les mâles essentiellement
- sélection par haplodiploïdisation pour les femelles

Ces deux systèmes se caractérisent par l'obtention des lignées sans sélection pendant la phase de fixation. Vu que cela conduit à l'obtention de plusieurs plantes issues du croisement lignées x testeur, la contrainte est de sélectionner les deux ou trois meilleurs parents dans un tel ensemble.

I.9.1. La filiation monograine ou Single Seed Descent (SSD)

La filiation monograine est une technique qui permet de limiter la variabilité génétique ce qui la rend efficace pour les caractères peu transmissibles. Elle permet de minimiser le risque de biais par sélection naturelle pendant les premières étapes de la fixation des lignées. Elle permet aussi un gain de temps puisqu'il n'est pas nécessaire d'attendre la maturité de toutes les graines de la plante car une seule suffit. Cependant c'est une méthode coûteuse, lourde à gérer et il y a possibilité de perdre du matériel car si une graine ne germe pas, il est impossible de revenir en arrière.

I.9.2. L'haplodiploïdisation

Cette technique permet une fixation rapide du matériel génétique en cours de sélection. Elle est employée lorsque la variabilité génétique entre les deux parents est peu importante.

L'haplodiploïdisation consiste d'abord à obtenir des plantes haploïdes (chaque chromosome est présent en une seule copie) à partir d'organes mâles (anthères) ou femelles puis à doubler le stock chromosomique. Le doublement du stock chromosomique donne des plantes diploïdes homozygotes (chaque chromosome est présent en deux copies). Ces plantes transmettent à leur descendance 100% de leur patrimoine génétique à leur descendance. Pour l'orge, la diploïdisation est le résultat d'un doublement spontané. Cette technique permet de produire de manière plus rapide des lignées pures en une seule étape comparée aux 7 à 8 générations dans le cas de la fixation classique par « n » générations d'autofécondation.

I.10. La sélection des lignées parentales

I.10.1. La sélection des mâles (restaureurs)

La sélection des mâles (restaureurs) est faite par introgression des facteurs de restauration de la fertilité dans du matériel élite à partir de *Hordeum spontaneum* qui est une orge sauvage.

Après le croisement de la variété élite avec l'orge sauvage, des rétrocroisements avec la lignée élite sont faits pour éliminer le génome de *H. spontaneum*.

I.10.2. La sélection des mainteneurs

Les mainteneurs sont des lignées élites portant des allèles rf/rf présentant un cytoplasme normal (N). Les lignées mainteneuses sont obtenues en faisant une culture d'anthères (haplodiploïdisation) à partir de la F1 ou une autofécondation de la F1. Ces opérations sont répétées jusqu'à la fixation du matériel (année 8-9).

I.10.3. La conversion des mainteneurs en femelles CMS

Pour convertir la lignée mainteneuse en CMS, il suffit de la croiser avec une lignée possédant un cytoplasme stérile et procéder ensuite à des rétrocroisements en utilisant la lignée mainteneuse comme parent récurrent. Pour éliminer plus rapidement les gènes du donneur, on peut avoir recours aux marqueurs moléculaires.

Une autre méthode permettant la production de lignées parentales CMS est la fusion de protoplastes. Elle consiste à sélectionner parmi les plantes issues de la fusion celles qui possèdent le noyau d'un parent et les caractères cytoplasmiques de l'autre. Cette méthode a permis de transférer le cytoplasme de stérilité mâle du radis au colza (Pelletier *et al.*, 1983). Elle a aussi permis de transférer le cytoplasme de stérilité mâle du tournesol chez la chicorée (Rambaud *et al.*, 1993). Dans le cas de l'orge, la méthode repose sur des rétrocroisements.

I.10.4. Les critères de choix des parents pour la production

Pour produire un hybride performant et ayant les meilleures caractéristiques désirées, le choix des parents pour le croisement est basé sur divers critères. En plus des critères classiques de performances agronomiques (rendement, qualité du grain) d'adaptation aux conditions climatiques et de résistances aux bioagresseurs, les sélectionneurs mettent également l'accent sur les caractères phénotypiques et physiologiques des parents ainsi que leur aptitude à la fécondation croisée.

Pour ce qui concerne la lignée femelle, elle doit produire le maximum de grains possible. Et pour ce faire, elle doit posséder les caractéristiques suivantes :

- Avoir une bonne aptitude à la combinaison
- Avoir une bonne aptitude à l'allofécondation
- La floraison doit être plus précoce que celle de la lignée mâle afin que ses fleurs soient prêtes à capter le pollen dès qu'il est diffusé
- L'ouverture des fleurs doit se faire dans le temps et dans l'espace c'est-à-dire que sa durée doit être assez longue
- La lignée femelle doit présenter une taille plus courte que la lignée mâle

Pour les mâles, les critères de sélection sont :

- Aptitude à la combinaison
- Aptitude à l'allopollinisation c'est-à-dire une bonne extrusion des anthères (pour la dissémination du pollen)
- Des géotypes tardifs et suffisamment hauts
- La résistance aux maladies

L'extrusion des anthères est un critère primordial car plus les anthères sortent plus le pollen est exposé au vent et plus sa diffusion est importante. La dispersion du pollen étant assurée ici exclusivement par le vent, une bonne extrusion des anthères et une plus grande hauteur des lignées mâles est gage d'une bonne réussite de la fécondation. Aussi, la floraison mâle doit arriver à un moment où un maximum de fleurs femelles est ouvert.

II. Expérimentations pour la production de semences hybrides d'orge

II.1. Problématique de l'étude

Le développement d'hybrides d'orge est un événement récent comparé aux autres céréales autogames comme le riz. Pionnier dans le domaine de l'orge hybride, le groupe Syngenta possède un service dénommé Production and Processing Technology (PPT) chargé d'améliorer la qualité des semences hybrides produites mais aussi et surtout de comprendre les caractéristiques des parents et leur aptitude à la production de semences. Le service « Production and Processing Technology » (PPT), a commencé ses travaux sur les céréales à paille en 2012. Parmi ces différents thèmes de recherche, figure l'étude de l'aptitude à la production de semences hybrides «Produce Ability » et l'étude de la production et dispersion pollinique. Ce présent travail a été mené dans ces deux thèmes. La « Produce Ability » est d'une grande importance parce qu'elle permet de mieux connaître le matériel génétique afin de mieux piloter le système de production. Elle se justifie parce que le service PPT a trouvé que plus de 37% du rendement des hybrides simple voie étaient expliqués par des facteurs inconnus (cf. ANNEXE 1).

L'objectif est alors d'apporter des réponses sur l'effet de ces variables qui expliquent une part aussi importante du rendement. Pour apporter des réponses, l'accent doit être mis sur l'étude du processus de pollinisation. En effet, l'orge étant une plante autogame, son utilisation pour la production de semences hybrides est souvent caractérisée par un faible taux de fécondation. D'après Basra (1999), ceci est dû à la dispersion du pollen d'orge, aux conditions climatiques ainsi qu'à la synchronisation des deux lignées parentales mâle et femelle. Après des études sur les besoins en oligo-éléments des lignées parentales, le service PPT mène aujourd'hui des travaux sur la pollinisation et les facteurs limitant celle-ci. Ce service travaille aussi sur d'autres productions de semences hybrides comme le tournesol, le colza, la betterave à sucre et le maïs. Leur implication dans les céréales à paille a commencé en 2012. Devant une demande du marché de plus en plus élevée en orge hybride, l'enjeu pour Syngenta est de proposer des variétés hybrides compétitives. Les variétés proposées par la recherche doivent être caractérisées de manière rigoureuse par le service PPT afin de choisir les combinaisons qui ont une bonne aptitude à la production de semences hybrides. Les lignées mâles et femelles choisies sont ensuite proposées au service officiel de contrôle (SOC) relevant du GNIS pour homologation et inscription au catalogue officiel. Le service PPT situé à l'interface entre la recherche et la production travaille en collaboration avec ces deux services. Ainsi, afin de mieux comprendre les mécanismes liés à la production d'orge hybride, le service PPT travaille sur des thématiques diverses et variées. Pour ce faire, des plateformes d'essai sont positionnées dans différents environnements afin de mieux évaluer le comportement des différentes combinaisons de lignées. Pour ce qui concerne cet essai il a été réalisé dans trois pays : France, Angleterre et Allemagne.

II.2. Les objectifs

L'objectif global de cette étude est d'évaluer l'aptitude des croisements à la production de semences hybrides en termes de rendements, de qualité et de rentabilité. Mais aussi d'évaluer le potentiel de production de pollen du restaurateur utilisé en production commerciale de semences hybrides.

II.2.1. Les objectifs spécifiques

Os1 : La caractérisation de la synchronisation de la floraison mâle et femelle des lignées

Os2 : L'évaluation de l'impact du ratio de mâles sur le taux de fécondation, l'hybridité et le rendement

Os3 : La compréhension des facteurs influençant la dispersion du pollen et sa viabilité ainsi que l'impact de cette dispersion sur le rendement.

Il s'agira d'apporter des réponses aux questions suivantes :

- Quel est l'écart de floraison optimal entre les lignées permettant d'obtenir la meilleure fécondation ?
- Les variétés proposées par la sélection possèdent-elles une bonne aptitude à la production de semences hybrides ?
- Quels sont les variables qui expliquent la variabilité du rendement en production de semences ?
- Quel est l'impact des paramètres agro-météorologiques sur la dispersion et la viabilité du pollen ?
- Quelle est la cinétique de production du pollen dans le temps et dans l'espace ?

II.3. Matériels et méthode

II.3.1. Le site de l'expérimentation

Le site de l'expérimentation

Les essais sont implantés dans trois pays et quatre localités (2 en France, 1 en Allemagne et 1 en Angleterre). Pour ma part, j'ai suivi l'essai réalisé sur la plateforme expérimentale située à Grisolles dans le Tarn-et-Garonne en région Midi-Pyrénées. L'étude de la production et dispersion du pollen est menée en parcelles de production en bandes à Aiguillon s/mer (CAVAC) en Vendée. Le réseau des plateformes est représenté sur la Figure 5.

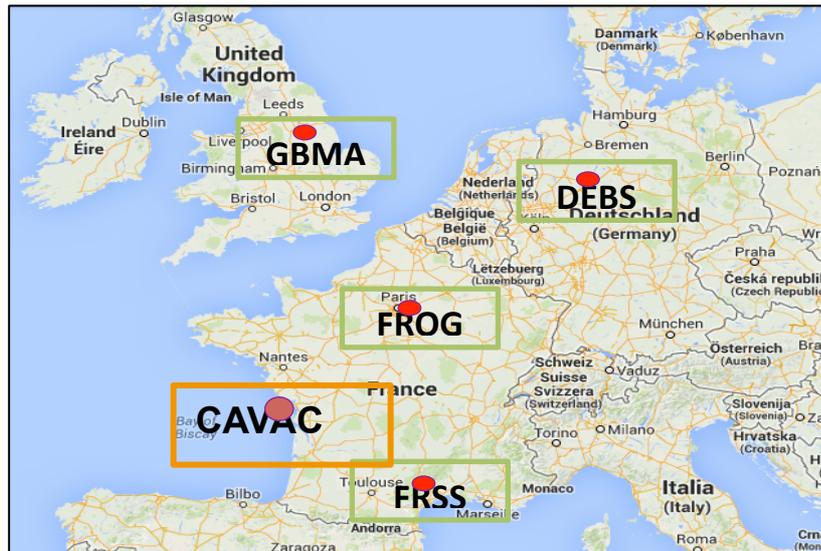


Figure 5: Réseau des plateformes d'essai

DEBS: Deutsch Bad Saszuflen

FRSS: France Saint Sauveur

FROG: France Orgerus

GBMA: Great Britain Market Stainton

CAVAC : Coopérative Agricole Vendéenne d'Approvisionnement et de Vente de Céréales et Autres Produits Agricoles

II.3.2. Le dispositif expérimental

Le dispositif expérimental est en blocs incomplets randomisés (cf. Figure 7). Les essais sont réalisés pour des lignées encore en phase de recherche (stade 5), et dans ce cas aucune répétition du test n'est réalisée, ainsi que pour des lignées en phase de dépôt au CTPS, en vue de l'inscription au catalogue officiel (stade 6).

II.3.3. Le matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de 18 lignées mâles dont 14 en stade 5 et 4 en stade 6 et de 20 lignées femelles dont 13 en stade 5 et 7 en stade 6. Parmi les femelles, il y a 8 hybrides simples (une voie) et 12 hybrides trois voies. Du seigle a été utilisé comme barrière pollinique, des témoins sont également utilisés. Ces témoins sont des variétés hybrides commerciales. Il y a trois témoins locaux (ce sont des témoins dont la zone de production est située sur le lieu de l'essai) et des témoins globaux (des hybrides produits dans les différents sites de l'essai).

Les différents stades des semences hybrides sont représentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 1: Différents stades des lignées destinées à la production d'hybrides

Stade 1 à 5	Recherche
Stade 6.1	1ère année de dépôt au CTPS et premier essai d'évaluation
Stade 6.2	2ème année d'essai au CTPS. Début de présentation aux agriculteurs
Stade 7	Inscription au catalogue et nom commercial de l'hybride
Stade 8, 9 et 10	Production commerciale et stratégies de ventes
Stade 11	Ecoulement des stocks
Stade 12	Destruction des semences

II.3.4. Méthodologie

La méthode consiste à semer en mélange un mâle et une femelle (blend) et non en bandes séparées comme cela se fait souvent en production commerciale d'hybrides. Dans ces mélanges les mâles sont semés avec différents ratios, 6% pour les stades 5, 6 à 10% pour les stades 6 une voie et 10-15% pour les stades 6 trois voies. On sème 15% de mâles dans les 3 voies à cause de la compétition au moment du tallage. En effet, les 3 voies sont plus vigoureuses que les mâles puisque ce sont déjà des hybrides. Donc si on semait à un plus faible ratio, les mâles risqueraient d'être étouffés par les femelles au moment du tallage. Les notations sont faites à différents stades de développement des plantes comme le montre le tableau 2 ci-dessous.

Tableau 2: Les différents stades de notation et les caractères mesurés

Stades	Caractères mesurés
Avant semis	Analyse du sol, précédent cultural
Germination	Densité de levée (nbre de plantes/m ²)
Premier nœud jusqu'à épiaison	Maladies, fertilisation, densité sortie hiver, nombre de talles, épiaison mâle et femelle
Floraison	Début et fin de floraison mâle et femelle, hauteur des plantes mâles et femelles, fin floraison mâle, % de mâles/m ² , densité des épis/m ² , nombre d'épis mâles/m ²
Formation des grains	Taux de fécondation (seed set), taux d'hybridité
Récolte	Poids de 1000 grains (PMG), rendement (q/ha), rendement (doses/ha)

Toutes ces observations doivent être faites au centre de la micro parcelle afin d'éviter l'effet de bordure. Les micro-parcelles ont des dimensions de 6,5 m de long et 1,5 m de large.

En parallèle, une étude pollinique a été menée à la Cavac en Vendée. L'objectif est de caractériser la dispersion du pollen depuis la source (mâle). Mais aussi de voir quelles sont les corrélations qui existent entre la dispersion du pollen, le rendement et le seed-set. Cette étude a été menée sur des parcelles de production en bandes (cf. ANNEXE 2). Pour ce faire, des pièges à pollen ont été posés dans les bandes femelles. Ils sont disposés en diagonale en fonction de la direction du vent dominant. Ces pièges sont internes à Syngenta et ont été confectionnées par les équipes qui travaillent sur le maïs. Les composantes sont un piquet en bois, un pot en plastique, un collier de fixation (de type serflex) et de l'Isoton®. Le principe consiste à attacher le pot sur le piquet planté dans le sol à l'aide du collier (cf Figure 6). Le pot est rempli par 60 cl d'Isoton qui est une solution électrolytique. Elle contient des ions mobiles qui lui permettent de conduire un courant électrique mais elle est électriquement neutre (FUTURA SCIENCES, 2014). La surface de réception du pollen est de 86,5cm². Le comptage des grains est fait avec le Multisizer (BECKMAN COULTER) (cf. ANNEXE 3)



Figure 6: Dispositif des pièges à pollen

II.3.5. Le traitement des données

Les données recueillies seront traitées avec le logiciel JMP Statistical Discovery™ From SAS, version 11. Dans un premier temps nous avons analysé les données obtenues sur les deux sites de France et le site d'Allemagne en évaluant la synchronisation de la floraison des différentes combinaisons parentales et en estimant l'écart de floraison optimal permettant d'obtenir une meilleure fécondation. Ensuite, une évaluation de l'aptitude des lignées à la production de semences a été faite afin de regarder le comportement des différentes génétiques en fonction des différents sites de production. Pour ce faire, nous avons estimé le taux de fécondation (seed-set) et le taux d'hybridité en fonction des localités. Enfin, nous avons fait une analyse de covariance (ANCOVA) pour chercher les variables qui expliquent la variabilité du rendement. Nous avons également analysé les conditions météorologiques pendant la phase de floraison sur les différents sites pour évaluer leur impact sur la fécondation.

Dans un second temps, nous avons analysé les données de dispersion du pollen obtenues à la Cavac afin d'estimer la cinétique de production.



Figure 7: Dispositif expérimental de l'essai "Produce Ability" à Grisolles Sud de la France

-  : Barrière pollinique à base de seigle
-  : Passage pulvérisateur
-  : Parcelles témoin
-  : Limite entre la première date de semis et la seconde date de semis
-  : Parcelles sur lesquelles les mesures ont été faites
-  : Filler= parcelle de bordure pour éviter l'effet bordure

Dimensions : 6,5 m x 1,5 m (pour chaque parcelle élémentaire)

III. Résultats

Le but principal de cet essai est la caractérisation des lignées mâles et femelles candidates pour la production d'hybrides et l'étude de la cinétique de production et de dispersion du pollen.

III.1. Evaluation de la synchronisation de la floraison

Les plages de floraison des différentes lignées ont varié selon le site. Au Sud de la France (FRSS), la floraison femelle s'est étalée du 24/04/15 au 02/05/15 tandis que la floraison mâle allait du 27/04/15 au 02/05/15. Au Nord de la France (FROG), les plages de floraison femelle et mâle ont varié du 06/05/15 au 12/05/15 et du 06/05/15 au 15/05/15 respectivement. En Allemagne, les plages de floraison ont été notées du 11/05/15 au 19/05/15 pour les femelles et du 11/05/15 au 22/05/15 pour les mâles. Le décalage de floraison selon le site est normal puisque les dates de semis n'étaient pas les mêmes. En effet, les calendriers de semis diffèrent selon le site. Au Sud de la France il y avait deux dates de semis (24/10/14 et 08/11/14). Pour représenter le décalage de floraison des différentes combinaisons mâle et femelle, nous avons construit un graphique utilisant un gradient de couleur (cf. Figure 8). Le décalage de floraison correspond au nombre de jours séparant la floraison des lignées femelles de celle des mâles. Les croisements représentés sont ceux des deux sites de France à savoir Saint Sauveur (FRSS), Orgerus (FROG) et du site d'Allemagne (DEBS). Le site de Market Stainton (GBMA) en Grande Bretagne n'est pas représenté car les notations de floraison n'ont pas été faites. En production d'orge hybride, l'idéal est que les fleurs femelles soient ouvertes avant que les mâles ne fleurissent afin qu'elles aient la possibilité de capter un maximum de pollen. Sachant que le pic de production de pollen ne dure que quelques jours, cette notion est essentielle pour sécuriser le taux de fécondation. Le décalage de la floraison des différentes combinaisons va de -5 à +8 à DEBS, -4 à +8 à Saint Sauveur (FRSS), -2 à +7 à Orgerus (FROG). Les valeurs négatives correspondent à des situations dans lesquelles les mâles ont fleuri avant les femelles, ce qui n'est pas souhaitable. Sur les trois sites, il y a donc des combinaisons où les mâles ont fleuri avant les femelles (cf. Figure 8). En se basant sur les études précédentes du service PPT, nous avons fixé le seuil à 2 jours de décalage de floraison. C'est-à-dire un décalage de floraison de 2 jours est suffisant pour que la femelle soit bien fécondée si les conditions météorologiques sont satisfaisantes. Sur les sites de FRSS, FROG et DEBS les combinaisons qui ont un écart de floraison supérieur à deux jours sont consignées dans les tableaux 3, 4 et 5 respectivement. Il faut noter que sur le graphique les mâles et femelles sont classés par ordre croissant. Tous les mâles et femelles figurent sur le graphique mais ne sont pas tous représentés par leur étiquette correspondante. En effet, entre deux mâles ou deux femelles, il y a un ou une qui n'est pas étiqueté. Tous ces mâles correspondent à des lignées tardives sauf Re28 et Re31 qui sont des mâles précoces.

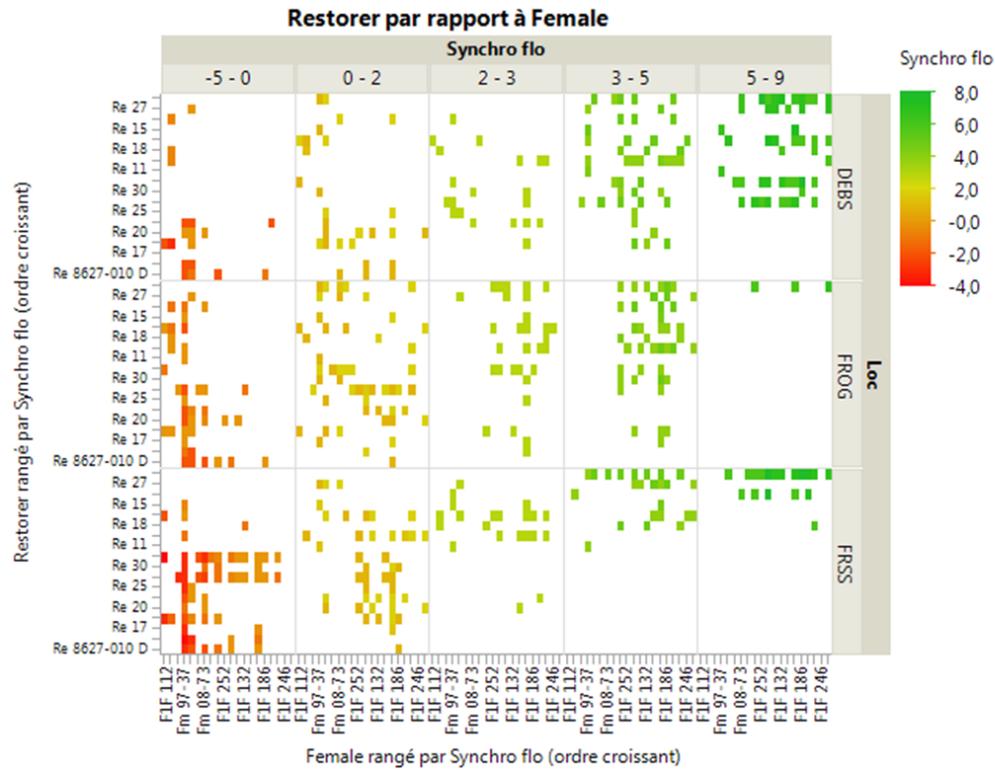


Figure 8: Décalage de la floraison des lignées femelles et mâles sur les sites de DEBS, FRSS et FROG

La couleur verte correspond aux combinaisons qui ont un grand décalage de floraison (plus de 3 jours de décalage), le jaune correspond à un décalage compris entre 0 et 2 jours et le rouge correspond aux situations où le mâle a fleuri avant la femelle.

Tableau 3: Les combinaisons qui ont un décalage de floraison supérieur à 2 jours à FRSS

FRSS	Re21	Re31	Re18	Re27	Re22	Re15
Fm 07-67	✓				✓	
Fm 08-73	✓	✓				
Fm 10-73	✓					
F1F 066	✓	✓	✓			
F1F 252	✓				✓	
F1F 180	✓	✓		✓		
F1F 251	✓			✓		
F1F 132	✓					
Fm 05-26	✓	✓		✓	✓	✓
F1F 186	✓			✓	✓	
Fm 07-11	✓	✓				
F1F 072	✓		✓			
F1F 253	✓			✓	✓	
Fm 97-37		✓				✓
F1F 169				✓	✓	
F1F 069		✓	✓		✓	
F1F 246					✓	

Tableau 4: Les combinaisons qui ont un décalage de floraison supérieur à 2 jours à FROG

FROG	Re21	Re26	Re24	Re27	Re22	Re30	Re23	Re31	Re29	Re18
Fm 07-67					✓					
Fm 08-73										
Fm 10-73										
F1F 066	✓	✓	✓			✓	✓		✓	✓
F1F 252	✓		✓		✓					
F1F 180	✓	✓	✓		✓	✓	✓	✓	✓	
F1F 251	✓		✓	✓	✓					
F1F 132	✓		✓					✓	✓	✓
Fm 05-26	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	
F1F 186	✓	✓		✓	✓	✓			✓	
Fm 07-11	✓						✓			
F1F 072	✓				✓					✓
F1F 253	✓			✓	✓					
Fm 97-37										
F1F 169			✓	✓	✓					

Tableau 5: Les combinaisons qui ont un décalage de floraison supérieur à 2 jours à DEBS

DEBS	Re21	Re26	Re24	Re27	Re22	Re30	Re23	Re28	Re29	Re218	Re15
Fm 07-67	✓				✓						
Fm 08-73	✓	✓	✓	✓				✓			
Fm 10-73	✓		✓								
F1F 066	✓	✓	✓			✓				✓	✓
F1F 252	✓	✓	✓		✓		✓				
F1F 180	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
F1F 251	✓	✓	✓	✓	✓		✓				
F1F 132	✓	✓	✓					✓	✓	✓	✓
Fm 05-26	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
F1F 186	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓				
Fm 07-11	✓						✓				
F1F 072	✓	✓	✓		✓		✓			✓	✓
F1F 253	✓			✓	✓		✓				
Fm 97-37		✓		✓	✓		✓				
F1F 169		✓	✓	✓							
F1F 246					✓						
Fm 09-24		✓	✓								
Fm 04-71		✓									

III.2. Aptitude des lignées à la production de semences

Pour évaluer l'aptitude des lignées à la production de semences, nous avons mesuré le « seed-set » c'est-à-dire le taux de fécondation des femelles dont le calcul est détaillé ci-dessous. Les résultats pour les différents sites sont représentés dans la Figure 10. Les résultats de l'analyse descriptive sont consignés dans le tableau 2 ci-dessous.



Comptage du nombre de fleurs fertiles



Comptage des grains formés

Figure 9: Méthode de calcul du taux de fécondation.

Le taux de fécondation est calculé en choisissant 15 épis au hasard dans chaque micro parcelle. Sur chaque épi on compte le nombre de fleurs fertiles ensuite on détruit l'épi et on compte le nombre de grains. Le taux de fécondation est calculé en faisant un rapport du nombre de grains par le nombre de fleurs fertiles

$$FmSeedset = (nbr\ gr / nbr\ de\ fleurs) * 100$$

$$Hybridité = (nbr\ d'épis\ fem/m^2 * nbr\ gr/épi\ fem) / ((nbr\ d'épis\ fem/m^2 * nbr\ gr/épi\ fem) + (nbr\ d'épis\ mâle/m^2 * nbr\ grains/épi\ mâle))$$

Tableau 6: Analyse descriptive de la variable taux de fécondation (Fm seed-set) sur les quatre sites

Localité	Nb d'observations	Moyenne, Fm seed-set	Min	Max	Ec, type
DEBS	196	0,64	0,21	0,93	0,17
FROG	208	0,40	0,11	0,82	0,13
FRSS	244	0,21	0,04	0,56	0,11
GBMA	196	0,27	0,06	0,61	0,11

Les meilleurs taux de fécondation ont été obtenus à DEBS, site où 75% des valeurs de seed-set sont supérieures ou égal à 50% (cf. Figure 10).

L'hybridité qui est un indicateur de la qualité des semences était analysée elle aussi. La norme en matière de certification se situe à 90%. Le ratio de mâles à 6 % a donné la meilleure hybridité sur les sites de DEBS, FROG et FRSS à l'exception de GBMA où l'hybridité a été de 95% quel que soit le ratio de mâles.

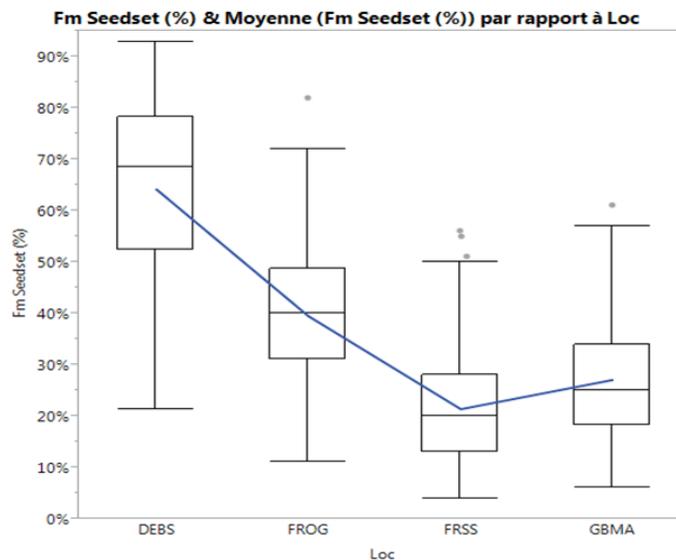


Figure 10: Graphique du taux de fécondation sur les quatre sites d'essai

III.3. Implication des variables quantitatives et génétiques dans l'établissement du rendement

Nous avons fait une recherche des variables qui expliquent la variabilité du rendement. Pour ce faire, nous avons fait une analyse de la covariance (ANCOVA). Cette analyse permet

d'expliquer les résultats obtenus avec des variables quantitatives et qualitatives. Le modèle (rendement en fonction des variables quantitatives et qualitatives) est construit avec la méthode pas à pas descendante du logiciel JMP. La construction du modèle est basée sur le maximum de vraisemblance et le choix du modèle est fait par comparaison des différents modèles en utilisant le critère d'information d'Akaike (AIC). L'AIC représente un compromis entre le biais qui diminue avec le nombre de paramètres et la parcimonie qui est la nécessité de décrire les données avec le plus petit nombre de paramètres possible. Ainsi, le meilleur modèle est celui qui possède l'AIC le plus faible. Les résultats de l'analyse effectuée selon les sites sont représentés ci-dessous (cf. Figure 11).

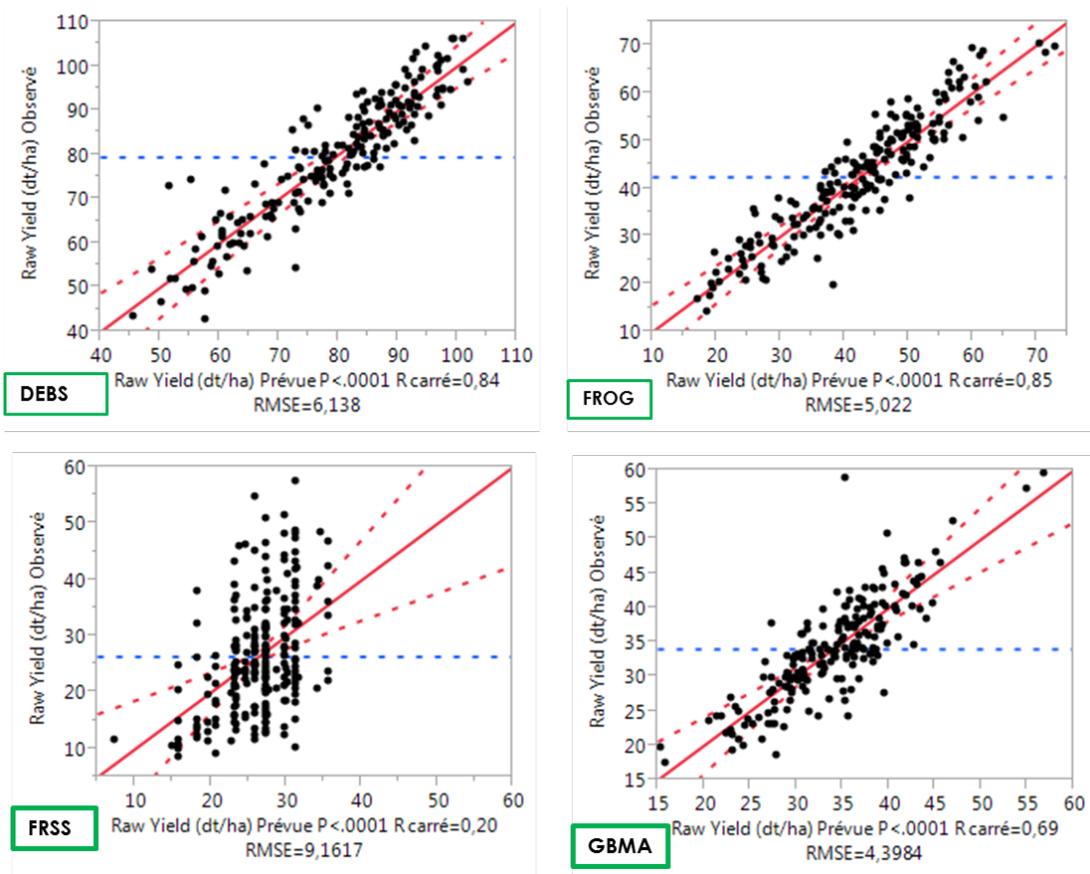


Figure 11: Graphique du rendement en fonction des variables quantitatives et génétiques.

Les points noirs sont la distribution des rendements. La droite rouge en trait plein est la droite de régression linéaire. Les lignes rouges en pointillés représentent l'intervalle de confiance à 95%. La ligne bleue en pointillés représente la moyenne du rendement

Les coefficients estimés des différentes variables sont pour DEBS :

Terme	Erreur			
	Estimation	standard	t ratio	Prob. > t
Constante	45,317336	6,063094	7,47	<0,0001*
Female\Fm 97-37&FIF 069&Fm 10-73&FIF 112&Fm 08-73&Fm 07-67&FIF 251-Fm 05-26&FIF 180&FIF 253&FIF 252&Fm 04-71&FIF 246&FIF 066&FIF 132&FIF 186&FIF 169&FIF 072&Fm 07-11&Fm 09-24)	-5,367215	0,481345	-11,15	<0,0001*
Female\Fm 97-37&FIF 069&Fm 10-73&FIF 112-Fm 08-73&Fm 07-67&FIF 251)	-3,215924	0,695974	-4,88	<0,0001*
Female\Fm 97-37-FIF 069&Fm 10-73&FIF 112)	0,9503774	0,842312	1,13	0,2606
Female\FIF 069-Fm 10-73&FIF 112)	-2,69908	1,278641	-2,11	0,0361*
Female\Fm 05-26&FIF 180&FIF 253&Fm 04-71-FIF 246&FIF 066&FIF 132&FIF 186&FIF 169&FIF 072&Fm 07-11&Fm 09-24)	-2,820209	0,520202	-5,61	<0,0001*
Restorer\Re 11&Re 15&Re 30&Re 17&Re 31&Re 25&Re 29&Re 8627-05&D&Re 21&Re 20&Re 27&Re 22-Re 18&Re 28&Re 24&Re 8627-010 D&Re 26&Re 23)	-3,445063	0,51305	-6,71	<0,0001*
Restorer\Re 11&Re 15&Re 30-Re 17&Re 31&Re 25&Re 29&Re 8627-05&D&Re 21&Re 20&Re 27&Re 22)	-2,251728	0,633927	-3,55	0,0005**
Restorer\Re 17&Re 31&Re 25&Re 29-Re 8627-05&D&Re 21&Re 20&Re 27&Re 22)	0,2557256	0,551363	0,46	0,6433
Restorer\Re 8627-05&D&Re 21&Re 20-Re 27&Re 22)	0,1020164	0,704488	0,14	0,8850
Restorer\Re 8627-05&D&Re 21-Re 20)	0,1007876	1,06373	0,09	0,9246
Restorer\Re 8627-05&D-Re 21)	4,0068904	1,379412	2,90	0,0041*
Restorer\Re 18&Re 28&Re 24&Re 8627-010 D-Re 26&Re 23)	-1,14025	0,712178	-1,60	0,1110
Restorer\Re 18&Re 28&Re 24-Re 8627-010 D)	-3,873849	1,132775	-3,42	0,0008**
Restorer\Re 18-Re 28&Re 24)	-3,099143	1,181853	-2,62	0,0095**
%Re(6%&10%-15%)	-3,305915	0,697985	-4,74	<0,0001*
%Re(6%-10%)	-1,300057	0,447408	-2,91	0,0041*
Total ears/m ²	0,0088722	0,005099	1,74	0,0835
number flowers / Fm ear	-0,412703	0,099877	-4,13	<0,0001*
seeds / Fm ear	0,7302462	0,094107	7,76	<0,0001*

Pour FROG :

Terme	Erreur			
	Estimation	standard	t ratio	Prob. > t
Constante	45,317336	6,063094	7,47	<0,0001*
Female\Fm 97-37&FIF 069&Fm 10-73&FIF 112&Fm 08-73&Fm 07-67&FIF 251-Fm 05-26&FIF 180&FIF 253&FIF 252&Fm 04-71&FIF 246&FIF 066&FIF 132&FIF 186&FIF 169&FIF 072&Fm 07-11&Fm 09-24)	-5,367215	0,481345	-11,15	<0,0001*
Female\Fm 97-37&FIF 069&Fm 10-73&FIF 112-Fm 08-73&Fm 07-67&FIF 251)	-3,215924	0,695974	-4,88	<0,0001*
Female\Fm 97-37-FIF 069&Fm 10-73&FIF 112)	0,9503774	0,842312	1,13	0,2606
Female\FIF 069-Fm 10-73&FIF 112)	-2,69908	1,278641	-2,11	0,0361*
Female\Fm 05-26&FIF 180&FIF 253&Fm 04-71-FIF 246&FIF 066&FIF 132&FIF 186&FIF 169&FIF 072&Fm 07-11&Fm 09-24)	-2,820209	0,520202	-5,61	<0,0001*
Restorer\Re 11&Re 15&Re 30&Re 17&Re 31&Re 25&Re 29&Re 8627-05&D&Re 21&Re 20&Re 27&Re 22-Re 18&Re 28&Re 24&Re 8627-010 D&Re 26&Re 23)	-3,445063	0,51305	-6,71	<0,0001*
Restorer\Re 11&Re 15&Re 30-Re 17&Re 31&Re 25&Re 29&Re 8627-05&D&Re 21&Re 20&Re 27&Re 22)	-2,251728	0,633927	-3,55	0,0005**
Restorer\Re 17&Re 31&Re 25&Re 29-Re 8627-05&D&Re 21&Re 20&Re 27&Re 22)	0,2557256	0,551363	0,46	0,6433
Restorer\Re 8627-05&D&Re 21&Re 20-Re 27&Re 22)	0,1020164	0,704488	0,14	0,8850
Restorer\Re 8627-05&D&Re 21-Re 20)	0,1007876	1,06373	0,09	0,9246
Restorer\Re 8627-05&D-Re 21)	4,0068904	1,379412	2,90	0,0041*
Restorer\Re 18&Re 28&Re 24&Re 8627-010 D-Re 26&Re 23)	-1,14025	0,712178	-1,60	0,1110
Restorer\Re 18&Re 28&Re 24-Re 8627-010 D)	-3,873849	1,132775	-3,42	0,0008**
Restorer\Re 18-Re 28&Re 24)	-3,099143	1,181853	-2,62	0,0095**
%Re(6%&10%-15%)	-3,305915	0,697985	-4,74	<0,0001*
%Re(6%-10%)	-1,300057	0,447408	-2,91	0,0041*
Total ears/m ²	0,0088722	0,005099	1,74	0,0835
number flowers / Fm ear	-0,412703	0,099877	-4,13	<0,0001*
seeds / Fm ear	0,7302462	0,094107	7,76	<0,0001*

Pour FRSS

Terme	Erreur			
	Estimation	standard	t ratio	Prob. > t
Constante	24,810834	1,897238	13,08	<0,0001*
Female\Fm 09-24&FIF 246&FIF 169&Fm 10-73&Fm 07-11&Fm 08-73&Fm 07-67&FIF 112&FIF 253&FIF 252&FIF 251&Fm 09-37&FIF 072&FIF 180-FIF 132&FIF 066&FIF 069&Fm 05-26&FIF 186&Fm 04-71)	-4,528866	1,810805	-2,50	0,0131*
Female\Fm 09-24-FIF 246&FIF 169&Fm 10-73&Fm 07-11&Fm 08-73&Fm 07-67&FIF 112&FIF 253&FIF 252&FIF 251&Fm 09-37&FIF 072&FIF 180)	-4,828848	3,290394	-1,47	0,1426
Female\FIF 246&FIF 169&Fm 10-73&Fm 07-11&Fm 08-73&Fm 07-67&FIF 112&FIF 253-FIF 252&FIF 251&Fm 09-37&FIF 072&FIF 180)	-1,209784	0,778769	-1,55	0,1217
Female\FIF 132&FIF 066&FIF 069&Fm 05-26-FIF 186&Fm 04-71)	-1,512759	1,555322	-0,97	0,3317
Restorer\Re 8627-010 D&Re 24&Re 8627-05&D&Re 31&Re 22&Re 25&Re 11&Re 28-Re 20&Re 26&Re 15&Re 21&Re 23&Re 17&Re 29&Re 30&Re 27&Re 18)	-3,614821	0,80487	-4,49	<0,0001*
Restorer\Re 8627-010 D&Re 24&Re 8627-05&D-Re 31&Re 22&Re 25&Re 11&Re 28)	-2,522368	1,123575	-2,24	0,0257*
Restorer\Re 20&Re 26&Re 15&Re 21&Re 23&Re 17&Re 29&Re 30-Re 27&Re 18)	-2,122992	1,123793	-1,89	0,0601
%Re(6%-10%&15%)	-2,030611	0,633792	-3,20	0,0015*

Pour GBMA

Terme	Erreur			
	Estimation	standard	t ratio	Prob. > t
Constante	0,082628	11,79602	0,01	0,9944
Female\Fm 10-73&Fm 04-71&Fm 09-37&FIF 132&FIF 112&Fm 08-73&FIF 186&Fm 09-24&FIF 069&FIF 252&FIF 253-Fm 05-26&FIF 251&Fm 07-11&Fm 07-67&FIF 169&FIF 180&FIF 246&FIF 066&FIF 072)	-3,781108	0,375245	-10,08	<0,0001*
Female\Fm 10-73&Fm 04-71&Fm 09-37&FIF 132&FIF 112-Fm 08-73&FIF 186&Fm 09-24&FIF 069&FIF 252&FIF 253)	-1,493672	0,504352	-2,96	0,0035**
Female\Fm 10-73&Fm 04-71&Fm 09-37-FIF 132&FIF 112)	-1,76462	0,868081	-2,05	0,0419*
Female\Fm 08-73&FIF 186-Fm 09-24&FIF 069&FIF 252&FIF 253)	1,0207286	0,662131	1,54	0,1250
Female\Fm 08-73-FIF 186)	-1,787203	0,957024	-1,87	0,0635
Female\Fm 09-24&FIF 069-FIF 252&FIF 253)	-3,051038	0,999952	-3,05	0,0026*
Female\Fm 05-26&FIF 251&Fm 07-11&Fm 07-67&FIF 169&FIF 180-FIF 246&FIF 066&FIF 072)	-1,104391	0,585823	-1,89	0,0611
Female\Fm 05-26&FIF 251&Fm 07-11&Fm 07-67-FIF 169&FIF 180)	-0,892884	0,592089	-1,51	0,1333
Restorer\Re 30&Re 29-Re 18&Re 25&Re 22&Re 21&Re 27&Re 28&Re 24&Re 8627-05&D&Re 11&Re 31&Re 15&Re 26&Re 23&Re 20&Re 8627-010 D)	-3,604652	0,553612	-6,51	<0,0001*
Restorer\Re 18&Re 25&Re 22&Re 21&Re 27&Re 28&Re 24-Re 8627-05&D&Re 11&Re 31&Re 15&Re 26&Re 23&Re 20&Re 8627-010 D)	-1,803349	0,395913	-4,55	<0,0001*
Restorer\Re 18&Re 25&Re 22&Re 21&Re 27-Re 28&Re 24)	-2,429832	0,594366	-4,09	<0,0001*
Restorer\Re 18-Re 25)	-1,426804	0,742591	-1,92	0,0563
Restorer\Re 18-Re 25)	-3,323174	1,350586	-2,46	0,0148*
%Re(6%-10%&15%)	-2,439489	0,481646	-5,06	<0,0001*
%Re(6%-10%)	-1,311659	0,640499	-2,05	0,0421*
Fm ears/m ²	0,0096999	0,005852	1,66	0,0992
%Re ears	68,504276	13,72196	4,99	<0,0001*
number flowers / Fm ear	0,1228775	0,079389	1,55	0,1235
seeds / Fm ear	0,2589876	0,076312	3,39	0,0009**
TKW (g)	0,3138226	0,199403	1,57	0,1173

L'analyse montre que le rendement est expliqué aussi bien par les variables quantitatives et les variables liées à la génétique. Les coefficients de Pearson (r²) qui donnent la proportion de la

variabilité expliquée par le modèle sont de 84% à DEBS, de 85% à FROG, de 20% à FRSS et de 69% à GBMA. La statistique F au seuil de 5% est $<0,0001$, cela montre que le test est significatif donc on rejette l'hypothèse nulle d'égalité des moyennes. Il faut noter cependant que la variabilité est expliquée en grande partie par le facteur génétique. En effet, des tests effectués avec les facteurs génétiques seuls montrent que la génétique explique 73% de la variabilité du rendement sur le site de DEBS, 78% sur le site de FROG, 10% à FRSS et 57% à GBMA. Sur trois des quatre sites le modèle explique bien les données mais pas sur site de FRSS où seulement 20% de la variabilité est expliquée par le modèle. Est-ce le modèle qui n'est pas adapté ou bien y a-t-il d'autres facteurs qui expliquent cela ? Pour apporter des éléments de réponse à ces interrogations, nous avons décidé de faire un focus sur la météo qui prévalait pendant la période de floraison des mâles. Le choix de la météo s'explique par le fait que certains paramètres météorologiques ont vraisemblablement une influence sur la pollinisation.

III.4. Conditions climatiques au cours de la floraison

Les données météo des différents sites ont été recueillies sur la plateforme Geotrol (<http://syngenta1.pro.intra/Geotrol/>). Ces données concernent la pluviométrie, l'humidité relative, les températures minimales et maximales, la vitesse du vent et l'évapotranspiration. La Figure 12 représente la pluviométrie des différents sites pendant la période de floraison. Sur les quatre sites, la pluviométrie cumulée a été de 14,7 mm à DEBS, 9,4 mm à FROG, 44,4 mm à FRSS et 11,2 mm à GBMA, avec une pluviométrie maximale journalière de 6,2 mm à DEBS, 5,5 mm à FROG, 23,4 mm à FRSS et 7,2 mm à GBMA. Les pluies ont été plus importantes en début de floraison avec 37 mm les 3 premiers jours. Or dans les 3 autres sites, les précipitations sur les 3 premiers jours ont été de 2,5 mm à FROG, 9 mm à DEBS et 0 mm à GBMA (cf. Figure 12).

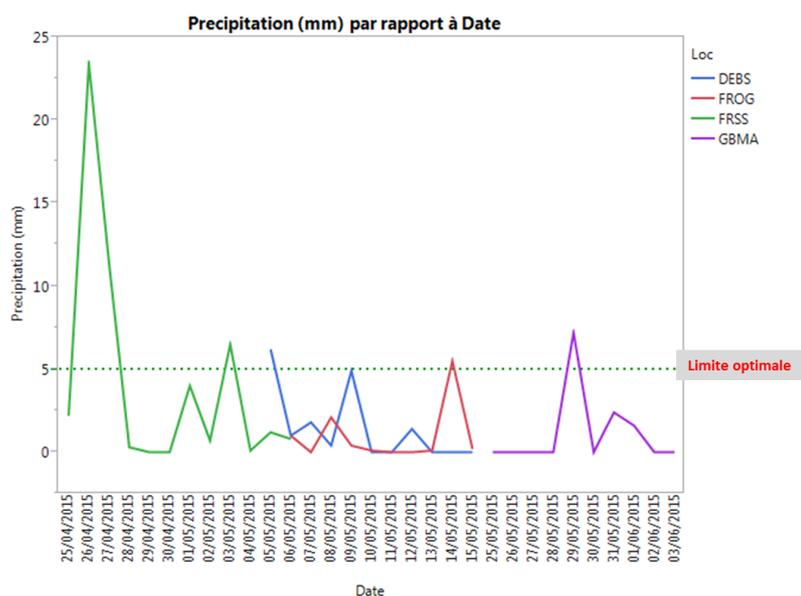


Figure 12: Pluviométrie observée pendant la floraison sur les quatre sites.

En vert la distribution de la pluviométrie à FRSS, en rouge la distribution de la pluviométrie à FROG, en bleu la distribution de la pluviométrie à DEBS et en mauve la distribution de la pluviométrie à GBMA. La ligne verte en pointillés représente la pluviométrie optimale pour la pollinisation.

L'humidité relative de l'air n'était également pas optimale durant la floraison à FRSS. En effet, durant les 12 jours de floraison, elle a été supérieure à l'optimum (70-75%) pendant 7 jours (cf. Figure 13).

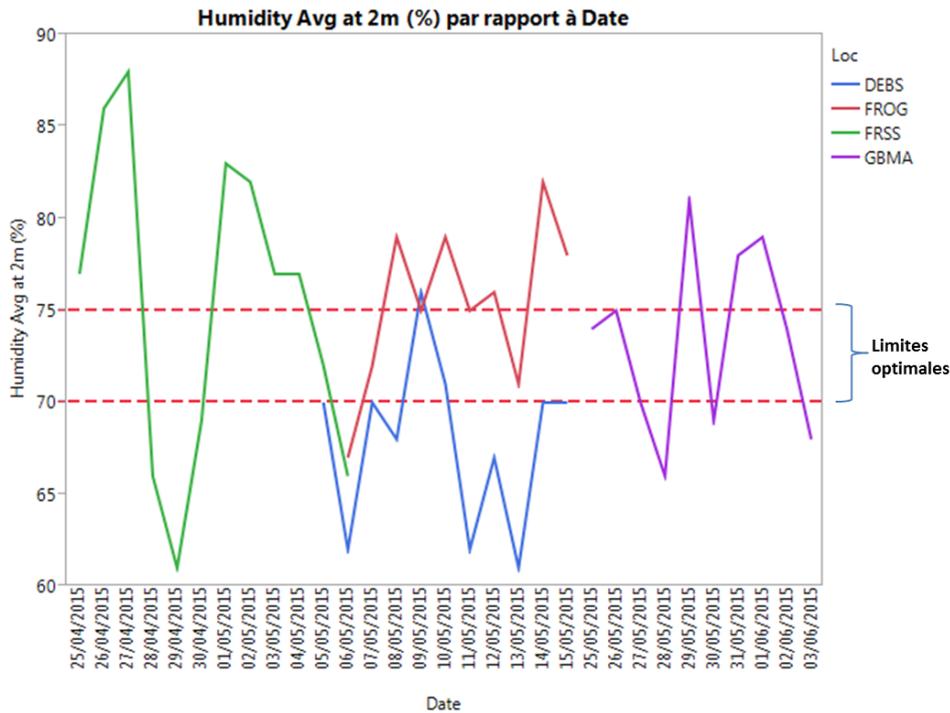


Figure 13: Humidité relative de l'air pendant la floraison sur les quatre sites.

En vert la variation de l'humidité relative à FRSS, en rouge la variation de l'humidité relative FROG, en bleu la variation de l'humidité relative à DEBS et en mauve la variation de l'humidité relative à GBMA. Les deux lignes rouges en pointillés représentent l'humidité relative optimale pour la pollinisation.

La température et la vitesse du vent sont aussi deux paramètres qui jouent un rôle important sur la pollinisation. La température optimale pour la production de pollen est comprise entre 16 et 20°C. Les températures moyennes journalières ont été plus élevées à FRSS que sur les autres sites. La vitesse du vent y était par contre plus faible (cf. Figure 14). Les résultats des statistiques descriptives de la variable température sont résumés dans le Tableau 3.

Tableau 7: Statistique descriptive de la variable température (°C)

Localité	Nb d'observations	Moyenne T°	Min	Max	Ec, type
DEBS	11	14	10	19	3
FROG	10	13	10	18	2
FRSS	12	17	12	21	3
GBMA	10	12	9	15	2

De même, nous avons procédé à une analyse descriptive de la vitesse du vent pendant la floraison (cf Tableau 8).

Tableau 8: Statistique descriptive de la variable vitesse du vent (Km/h)

Localité	Nb d'observations	Moyenne vitesse	Min	Max	Ec, type
DEBS	11	20	9	26	7
FROG	10	17	10	31	6
FRSS	12	17	9	30	6
GBMA	10	34	21	57	13

Les températures moyennes journalières n'ont pas beaucoup varié pendant la floraison. L'optimum (15-20°C) a été dépassé seulement à FRSS. Il a été atteint pendant 3 jours à DEBS et une fois à FROG. Cependant, il n'a jamais été atteint à GBMA.

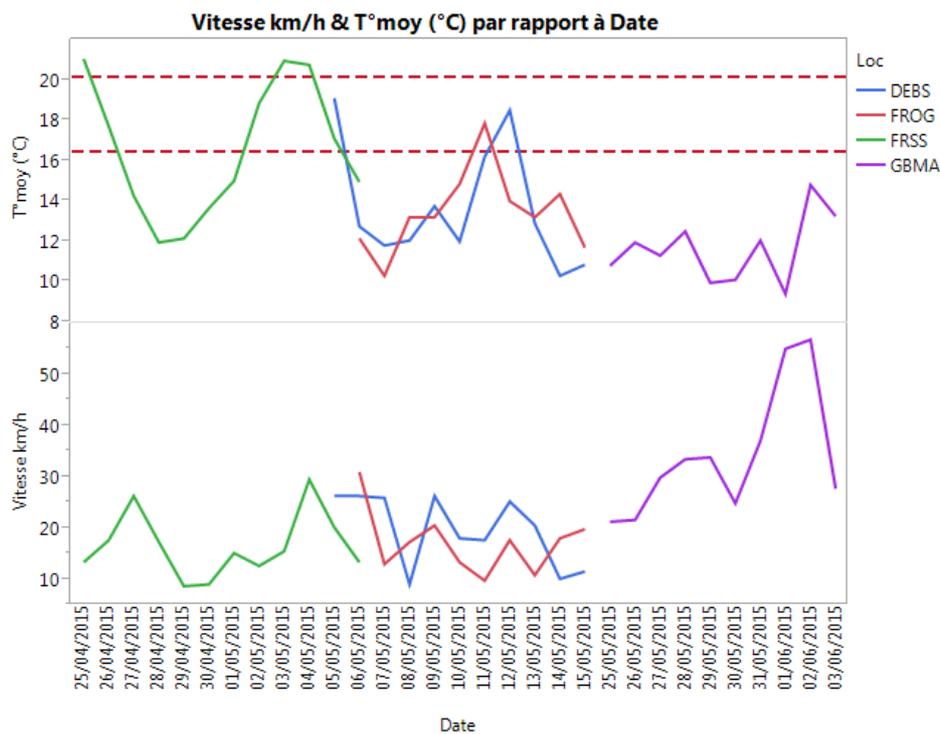


Figure 14: Température moyenne journalière et vitesse du vent pendant la floraison sur les quatre sites.

En vert la variation de la température et de la vitesse du vent à FRSS, en rouge la variation de la température et de la vitesse du vent à FROG, en bleu la variation de la température et de la vitesse du vent à DEBS et en mauve la variation de la température et de la vitesse du vent à GBMA. Les deux lignes rouges en pointillés représentent la température optimale pour la pollinisation.

----- : Températures seuil pour une bonne fécondation

III.5. Production et dispersion du pollen pendant la floraison (essai de la CAVAC)

La production et dispersion du pollen ont été mesurées en posant des pièges à pollen. Les trois premiers jours les pièges sont changés chaque jour et les pots envoyés au laboratoire de palynologie. L'étude a été menée sur deux champs différents semés en bandes. Pour visualiser les données nous avons construit des box plots (cf. Figure 15). La production de pollen a commencé le 27/04/2015. Nous constatons qu'au début la quantité de pollen augmente jusqu'à atteindre un pic le 29/04/2015. Elle baisse ensuite. Il y a une plus grande variabilité des données au niveau du champ numéro 2. Le pic de production est atteint deux jours après le début de la production de pollen sur les deux champs. Nous avons également examiné les conditions météorologiques au cours de cette période. Les résultats sont représentés par la Figure 16. Nous constatons qu'en début de floraison la météo était favorable. La pluie a commencé à partir du 30/04/2015 et les températures étaient en dessous de l'optimum mais assez bonnes pour favoriser une bonne production de pollen. La météo était favorable en début de floraison favorisant une bonne production de pollen. Par contre à la fin de la floraison, elle était mauvaise avec les pluies. Le fond vert correspond aux trois premiers jours de la floraison.

Les différentes dates de relevés sont consignées dans le tableau ci-dessous

Tableau 9: Les différentes dates de relevés des pièges à pollen

Sampling Dates	Start of Trapping	End of Trapping
D1	27/04/2015	28/04/2015
D2	28/04/2015	29/04/2015
D3	29/04/2015	30/04/2015
D4	30/04/2015	01/05/2015
D5	01/05/2015	02/05/2015

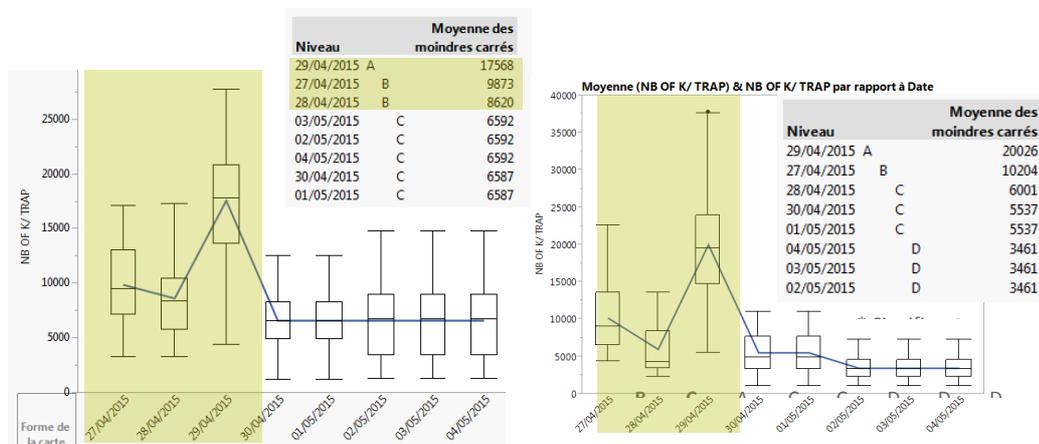


Figure 15: Cinétique de production du pollen au niveau des champs numéro 1 et 2

D'après ces résultats, le succès de la pollinisation semble dépendre des premiers jours de floraison.

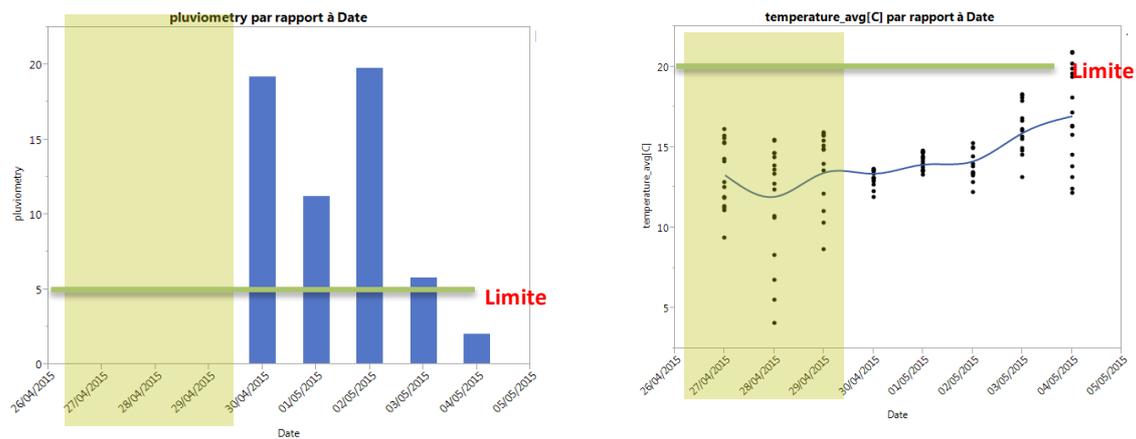


Figure 16: Température et pluviométrie pendant la période de floraison

La pluviométrie optimale pour une bonne production de pollen se situe en deçà de 5mm ; au-dessus de cette valeur, la pluie compromet l'ouverture des anthères et la libération du pollen.

Nous avons également étudié la vitesse et la direction du vent pendant la période de floraison car le vent est le seul facteur assurant la dispersion du pollen d'orge (cf. Figure 17). La vitesse du vent a diminué entre les dates D₁ et D₂, elle a ensuite augmenté jusqu'à atteindre un pic en D₄. Il n'y a pas eu de rafales pendant la floraison, les vitesses du vent sont restées assez faibles mais suffisantes pour un transport normal du pollen. Les vents dominant étaient des vents d'Ouest et de Sud-Ouest avec des vitesses supérieures à 10 km/h.

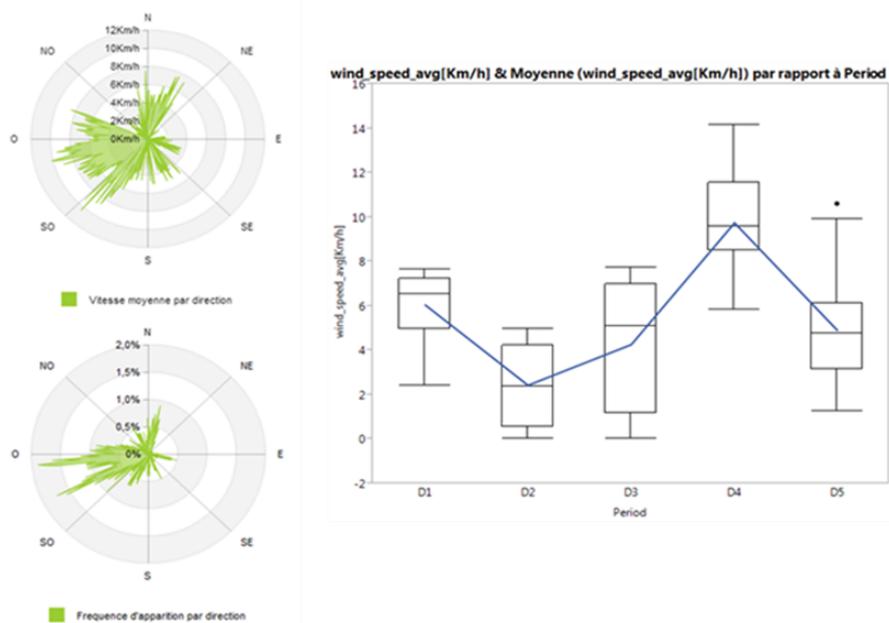


Figure 17: Vitesse et direction du vent dominant pendant la période de floraison

V. Discussion

L'analyse globale des résultats obtenus a fourni des informations diverses que nous allons discuter dans cette partie.

Concernant le décalage de la floraison, l'analyse a montré qu'il y a des combinaisons où ce décalage est bon c'est-à-dire supérieur ou égal à 2 jours. A deux exceptions près, toutes les combinaisons qui ont eu une bonne synchronisation sont celles ayant un mâle à floraison plus tardive. Re31 et Re 28 sont des mâles à anthèse précoce mais qui ont montré un décalage satisfaisant de la floraison, de 3 jours à FRSS et DEBS. En effet, les femelles auxquelles ils ont été combinés sont très précoces. L'analyse a montré qu'en Allemagne, une synchronisation d'un jour suffit quelquefois pour avoir une bonne fécondation. En effet vu que la floraison femelle dure plus longtemps et que la production de pollen atteint son maximum au bout de trois jours, les fleurs femelles sont bien réceptives pendant le pic de pollen. Cependant, il faut que les conditions météo le permettent. L'analyse a montré que les combinaisons qui ont un grand écart des floraisons mâle et femelle ont donné les meilleurs taux de fécondation (seed-set) à DEBS, FROG. Même à FRSS et GBMA les meilleurs seed-set sont obtenus avec les génotypes mâles tardifs. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que les fleurs femelles restent ouvertes très longtemps et elles se referment dès qu'il y a fécondation. Parmi les génotypes mâles utilisés dans les trois sites, la majorité a satisfait le critère d'une bonne synchronisation, ce qui est recherché en production de semences hybrides. Cependant une bonne synchronisation seule n'est pas suffisante pour juger apte un génotype à la production de semences. En effet, ce critère n'est pas le seul recherché en sélection de lignées mâles. D'autres critères tels que l'extrusion des anthères ou la hauteur sont également recherchés.

Au niveau de l'aptitude des lignées à la production de semences, l'analyse du taux de fécondation a montré que celui-ci était très bon à DEBS, bon à FROG, médiocre à GBMA et FRSS. A DEBS 75% des valeurs de taux de fécondation sont supérieures ou égal à 50% le maximum étant de 93%. Avec une moyenne de 64%, nous pouvons conclure que la pollinisation s'est bien déroulée à DEBS. Le seed-set est fortement corrélé au rendement. Il dépend essentiellement des paramètres liés à la génétique. C'est un paramètre qui dépend de la combinaison des caractéristiques morphologiques et physiologiques du mâle et de la femelle. La fécondation de l'orge étant essentiellement assuré par le vent, l'idéal est d'associer des lignées mâles plus hautes que les femelles afin d'assurer une bonne dissémination du pollen produit. La production de pollen en quantité et sa bonne dissémination ne suffisent cependant pas pour avoir un bon taux de fécondation. Un des critères les plus importants est la viabilité du pollen produit. Pour l'instant, la durée de vie du pollen d'orge reste mal connue. Peu de données sont disponibles quant à la variation de la viabilité du pollen dans diverses conditions environnementales (Gomez, 2012).

Aujourd'hui c'est une véritable question de recherche sur laquelle il serait intéressant de se focaliser. Sa résolution pourrait apporter des éléments de réponse à la mauvaise pollinisation observée dans certains sites. Les semences de Syngenta étant vendues en doses (1dose= 900 000 grains), le seed-set est donc un élément très important en production de semences. Pour la société, l'intérêt est d'augmenter ce taux afin d'assurer une bonne rentabilité de ses semences. Le taux d'hybridité était aussi bon à DEBS puisqu'il dépassait souvent 95%. L'hybridité est un indicateur de la qualité des semences hybrides. En France le seuil en semence hybride est de 90% ce qui est très exigeant. L'hybridité aussi est d'une grande importance pour la société puisque si les semences ne respectent pas les normes en vigueur, elles sont déclassées. Si tel est le cas les pertes pour l'entreprise sont importantes. L'analyse des résultats a montré que l'hybridité diminue quand on augmente le ratio de mâles. En effet, dans le calcul de l'hybridité on divise par le nombre d'épis mâle/m². Donc quand on augmente le ratio mâles le nombre d'épis mâle/m² est censé augmenter aussi et de ce fait on augmente le dénominateur ce qui entraîne une diminution de l'hybridité.

La recherche de variables corrélées avec le rendement a montré que celui-ci est expliqué aussi bien par les variables quantitatives que par celles qui sont liées à la génétique. Le modèle statistique a permis d'expliquer une grande variabilité du rendement avec des r² élevés une statistique <5% à l'exception du site de FRSS où même si la statistique <5%, seulement 20% de la variabilité du rendement est expliquée par le modèle. A FRSS même si les caractéristiques du terrain ont permis un bon développement des plantes, la pollinisation a été mauvaise. Les rendements étaient très faibles comparés aux autres sites. Ce sont les conditions météo que nous avons retenues comme pouvant expliquer ce phénomène. En effet, pendant les trois premiers jours de la floraison mâle, il est tombé 37 mm de pluie (2,2mm le premier jour, 23,4 mm le deuxième et 11,4 mm le troisième jour) sur le site de l'essai alors que l'optimum pour une bonne fécondation est de 5 mm (Syngenta résultats d'essai non publiés). La pluie est défavorable à la pollinisation car elle alourdit le pollen et pénalise sa dispersion. De plus, lorsqu'il pleut, les rayons lumineux captés par la plante sont plus faibles. Or, il s'avère que ces derniers favorisent l'ouverture des anthères. La pluie semble donc avoir été un facteur défavorable à la dispersion du pollen. Cela s'est traduit par une mauvaise fécondation sur le site FRSS. Une étude menée par Kempe *et al.* (2013) sur la dispersion du pollen de blé a montré que la pluie inhibe de manière importante le flux global de pollen. Ils ont montré également que les facteurs météorologiques tels que la vitesse du vent et sa direction, la turbulence de l'air, la température et l'humidité et leurs interactions peuvent avoir une influence sur la quantité de pollen produit. Bartkova-Scevkova (2003) a montré en étudiant la concentration du pollen de plantes allergènes (parmi lesquelles des Poacées) dans l'atmosphère de la ville de Bratislava qu'une forte humidité relative et une pluviométrie élevée entraînaient une faible concentration de grains de pollen dans l'atmosphère. Cependant, pour obtenir des données représentatives, il serait nécessaire de ne pas considérer seulement la pluviométrie journalière mais aussi la durée et l'intensité de la

pluie à différents moments de la journée. L'analyse des données météo pendant la floraison sur chaque site a montré que contrairement aux autres sites, le site de FRSS a connu des conditions climatiques défavorables. L'humidité relative de l'air était au-dessus de l'optimum pendant les trois premiers jours de la floraison. Ensuite, elle a baissé jusqu'à atteindre 60% au milieu de la floraison pour ensuite repasser au-dessus de l'optimum en fin de floraison. Ces conditions défavorables ont pénalisé fortement la pollinisation alors que les températures étaient optimales. A GBMA, malgré des températures plutôt défavorables à la pollinisation, les seed-set se sont montrés meilleurs qu'à FRSS. On peut donc penser que d'autres paramètres, tels que l'humidité ou la vitesse du vent, qui y étaient plus favorables qu'à FRSS ont compensé ce déficit de chaleur. Cependant, la faible valeur de température était réelle car les seed-set à GBMA ont été inférieurs à ceux de FROG et DEBS alors que l'humidité et le vent étaient plus propices à la pollinisation. Par manque de chaleur, l'ouverture des anthères a été limitée. A DEBS et FROG même si les températures dépassaient rarement l'optimum, elles n'ont pas été trop basses pour gêner réellement la production de pollen.

Un problème d'adaptation des lignées dans les conditions du Sud de la France pourrait également expliquer les mauvais rendements obtenus à FRSS. Cependant, en comparant les données de 2015 avec celles de 2014, on s'aperçoit que certaines combinaisons ont eu une très bonne pollinisation en 2014 mais pas en 2015. L'analyse comparée de la pluviométrie a montré que les conditions étaient meilleures en 2014 qu'en 2015. En effet, en 2014 aucune précipitation n'a été enregistrée pendant la phase de floraison alors qu'en 2015 44 mm ont été enregistrés dont 37 mm les trois premiers jours de la floraison mâle (cf. ANNEXE 4). Nous pouvons donc écarter le problème d'adaptabilité pour ces hybrides qui faisaient partie des essais de l'année passée et de cette année. La pluie, les autres facteurs météorologiques et leurs interactions pourraient donc avoir induit une faible production et dispersion du pollen à FRSS. Cela expliquerait les mauvais taux de fécondation observés. Des études supplémentaires pour le valider cette hypothèse seraient utiles dans l'avenir.

L'étude pollinique a révélé des résultats intéressants. L'analyse des résultats a montré que la production de pollen est maximale au bout de trois jours de floraison. Ces résultats confirment l'intérêt d'avoir une bonne synchronisation en production de semences hybrides. En production d'hybrides l'idéal est d'obtenir une floraison femelle avant la floraison mâle. Un écart de floraison est nécessaire pour une bonne pollinisation. En effet, si les femelles fleurissent après les mâles, il y a de fortes chances que la fécondation ne se soit pas suffisante. Le pic de production de pollen étant atteint au bout de trois jours, Si la femelle fleurit après ce pic elle sera exposée à une quantité de pollen beaucoup moins importante. Les chances de fécondation des fleurs sont alors moindres et la pollinisation sera nettement impactée. Les tests de corrélations de la dispersion du pollen avec le rendement et le seed-set n'ont pas été faits dans le cadre de ce rapport. Les analyses seront faites par l'équipe PPT céréales pour le compte de son rapport d'activité annuel. Les résultats de la

cinétique de production du pollen apportent des éléments de réponse concernant la mauvaise pollinisation observée sur le site de FRSS.

Conclusion

L'essai de l'aptitude à la production de semences « Produce Ability » mené dans trois pays a donné des résultats satisfaisants en Allemagne et sur le site du Nord de la France en 2015. Les résultats du Sud de la France et en Angleterre n'ont pas été satisfaisants en terme de production, pour cette année. L'analyse des résultats a montré que les sites d'Allemagne et du Nord de la France ont bénéficié des conditions météorologiques favorables pendant la floraison ce qui n'a pas été le cas pour le Sud de la France et plus ou moins en Angleterre. Les résultats de notre analyse nous ont permis de conclure que les mauvaises conditions du Sud de la France seraient responsables de la mauvaise pollinisation à FRSS.

Les résultats de l'étude pollinique a permis de montrer que la production maximale de pollen est atteinte au bout de trois jours après le début de la floraison. Ces résultats sont d'une grande importance dans l'établissement des schémas de production à savoir la culture en bandes ou en blend. En étudiant les corrélations entre la dispersion du pollen, le taux de fécondation (seed-set) et le rendement en fonction des paramètres météorologiques, cela permettrait au service de production d'optimiser ses schémas.

En perspective, nous proposons une étude plus poussée de l'influence des paramètres météorologiques sur la pollinisation. Pour ce faire, il faudrait :

- Disposer des stations météo proches du champ d'essai afin de recueillir des données plus sensibles (pluviométrie à différents moments de la journée).
- Considérer l'intensité et la durée de la pluviométrie à différents moments de la journée puisque la production de pollen se fait essentiellement dans la journée.
- Intégrer les paramètres météorologiques dans les nouvelles thématiques de recherche telles que les « Green zones » serait nécessaire afin de pouvoir prédire à l'aide de modèles, la probabilité que de tels événements surviennent.
- Optimiser les dispositifs expérimentaux en augmentant les répétitions des différentes combinaisons pour mieux apprécier la variabilité des rendements et évaluer l'interaction GxE.
- Répéter si possible les mêmes combinaisons d'une année à l'autre afin de pouvoir mieux évaluer la « produce ability » de ces hybrides.
- Mener une étude sur la viabilité du pollen car c'est un indicateur important mais qui n'est pas bien connu à l'heure actuelle.
- Réduire les études à une ou deux thématiques par an puisque les ressources humaines ne permettent pas de mener plusieurs études à la fois afin d'optimiser les résultats.

Références bibliographiques

- Ahokas H., 1979. Cytoplasmic male sterility in barley. *Acta Agric Scand* 29:219-224.
- Alqudah A.M and Schnurbusch T., 2014. Awn primordium to tipping is the most decisive developmental phase for spikelet survival in barley. *Functional Plant Biology* 41, 424-436. Disponible sur internet: <http://dx.doi.org/10.1071/FP13248>
- Arduini, I., Ercoli, L., Mariotti, M., Masoni, A. (2010) Coordination between plant and apex development in *Hordeum vulgare* ssp. *Distichum*. *Comptes Rendus Biologies*, 333, 5: 454-460.
- Badr A et El-Shazly H., 2011. Molecular approaches to origin, ancestry and domestication history of crop plants: Barley and clover as examples. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology* 10, 1–12., doi:10.1016/j.jgeb.2011.08.002.
- Bartkova-Scevkova J., 2003. The influence of temperature, relative humidity and rainfall on the occurrence of pollen allergens (*Betula*, *Poaceae*, *Ambrosia artemisiifolia*) in the atmosphere of Bratislava (Slovakia). *Int J Biometeorol* 48: 1-5. doi: 10.1007/s00484-003-0166-2
- Bonnett O.T., 1966. Inflorescences of maize, wheat, rye, barley, and oats: their initiation and development. University of Illinois College of Agriculture, Agricultural Experiment Station Bulletin 721, 59–77.
- Brown A.H.D, Zohary D et Nevo E., 1978. Out crossing rates and heterozygosity in natural populations of *Hordeum spontaneum* Koch in Israel. *Heredity* 41:49-62.
- Budar F, Touzet P, De Paepe R., 2003. The nucleo-mitochondrial conflict in cytoplasmic male sterilities revisited. *Genetica* 117: 3–16.
- Chase CD., 2007. Cytoplasmic male sterility: a window to the world of plant mitochondrial–nuclear interactions. *Trends in Genetics* 23: 81–90.
- Chase C.D, Gabay-Laughnan S., 2004. Cytoplasmic male sterility and fertility restoration by nuclear genes. Springer, Dordrecht
- Chase C.D, Ribarits A, Heberle-Bors E., 2010. Male sterility. Springer, Berlin
- Connett M.B, Hanson M.R. 1990. Differential mitochondrial electron transport through the cyanide-sensitive and cyanide-insensitive pathways in isonuclear lines of cytoplasmic male sterile, male fertile and restored petunia. *Plant Physiology* 93: 1634–1640.
- Coors J.G, Pandey S., 1999. The genetics and exploitation of heterosis in crops. ASA, CSSA, and SSSA, Madison, 524p.
- Darwin C., 1876. The effects of cross and self-fertilization in the vegetable kingdom. D. Appleton, New York, 482 p.
- D'Souza L., 1972. A comparative study of the size and receptivity of the stigma of wheat, rye, triticale and secalotricum. *Pflanzenzüchtg* 68:73-82.

- Duroc Y, Hiard S, Vrielynck N, Ragu S, Budar F. 2009. The Ogura sterility inducing protein forms a large complex without interfering with the oxidative phosphorylation components in rapeseed mitochondria. *Plant Molecular Biology* 70: 123–137.
- Gomez J.F., 2012. Anther and pollen development in barley. Thèse Université de Nottingham, Faculty of Science, School of Biosciences. 271 p.
- Hagemann R., 2004. Cytoplasmic male sterility and fertility restoration by nuclear genes. Springer, Dordrecht
- Hanson M.R et Bentolila S., 2004. Interactions of mitochondrial and nuclear genes that affect male gametophyte development. *The Plant Cell* 16:154–169.
- Hochholdinger F et Hoecker N., 2007. Towards the molecular basis of heterosis. *Trends in Plant Science* Vol.12 No.9., doi:10.1016/j.tplants.2007.08.005.
- Horn R., 2006. Recombination: cytoplasmic male sterility and fertility restoration in higher plants. Springer, Berlin.
- Kaul M.L.H., 1988a. Male sterility in higher plants. Springer, Berlin
- Kaul M.L.H., 1998b. Male sterility: classification and concept. Narosa Publishing House, New Delhi
- Kempe K, Boudichevskaia A, Jerchel R, Pescianschi D, Schmidt R et al., 2013. Quantitative Assessment of Wheat Pollen Shed by Digital Image Analysis of Trapped Airborne Pollen Grains. *Adv Crop Sci Tech* 1: 119. doi: 10.4172/2329-8863.1000119
- Kempe K and Gils M., 2011. Pollination control technologies for hybrid breeding. *Mol Breeding* 27:417–437., DOI 10.1007/s11032-011-9555-0.
- Kirby, E.I.M., Appleyard, M. (1986) *Cereal Development Guide* (2nd edition). National Agricultural Centre Arable, Stoneleigh, Warwickshire, Great Britain, p. 95.
- Lamkey K.R et Edwards J.W., 1999. Quantitative Genetics of Heterosis. In: Coors J.G, Pandey S (eds) *The genetics and exploitation of heterosis in crops*. ASA-CSSA-SSSA, 677 South Segoe Road, Madison, WI 53711(USA), 31-48.
- Longin C.F.H, Mühleisen J, Maurer H.P, Zhang H, Gowda M, Reif J.C., 2012. Hybrid breeding in autogamous cereals. *Theor Appl Genet* 125:1087–1096. DOI 10.1007/s00122-012-1967-7.
- Luo D, Xu H, Liu Z, Guo J, Li H, Chen L, Fang C, Zhang Q, Bai M, Yao N, Wu H, Wu H, Ji C, Zheng H, Chen Y, Ye S, Li X, Zhao X, Li R & Liu Y-G., 2013. A detrimental mitochondrial-nuclear interaction causes cytoplasmic male sterility in rice. *Nature Genetics* 45, 5:573-577., doi:10.1038/ng.2570.
- Morrell P.L and Clegg M.T., 2007. Genetic evidence for a second domestication of barley (*Hordeum vulgare*) east of the Fertile Crescent. *PNAS* 104, 9:3289–3294.
- Mühleisen J, Maurer H.P, Stiewe G, Bury P, and Reif J.C., 2013. Hybrid breeding in barley. *Crop Sci.* 53:819–824., doi: 10.2135/cropsci2012.07.0411.

- Parry M.L, Rosenzweig C, Iglesias A, Livermore M et Fischer G., 2003. Effects of climate change on global food production under SRES emissions and socio-economic scenarios. *Global Environmental Change*, volume 14, issue 1, Avril 2004, Pages 53-67. doi:10.1016/j.gloenvcha.2003.10.008
- Pelletier G, Primard C, Vedel F, Chetrit P, Rémy R, Rousselle P et Renard M., 1983. Intergeneric cytoplasmic hybridization in Cruciferae by protoplast fusion. *Mol. Gen. Genet* 191: 244-250.
- Rambaud C, Dubois J et Vasseur J., 1993. Male-sterile chicory cybrids obtained by intergeneric protoplast fusion. *Theor. Appl. Genet* 87: 347-352.
- Rhoads DM, Levings CS, Siedow JN. 1995. URF13, a ligand-gated, poreforming receptor for T-toxin in the inner membrane of cms-T mitochondria. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes* 27: 437-445.
- Ritala A., Nuutila A.M., Aikasalo R., Kauppinen V. et Tammissola J., 2002. Measuring gene flow in the cultivation of transgenic barley. *Crop Science* 42:278-285.
- Sabar M, Gagliardi D, Balk J, Leaver C.J., 2003. ORFB is a subunit of F1FOATP synthase: insight into the basis of cytoplasmic male sterility in sunflower. *Embo Reports* 4: 381-386.
- Schnable P.S. et Wise R.P., 1998. The molecular basis of cytoplasmic male sterility and fertility restoration. *Trends Plant Sci* 3: 175-180.
- Schooler A.B., 1967. A form of male sterility in barley hybrids. *Journal of heredity* 58:206-211.
- Shull G.H., 1952. Beginnings of the heterosis concept. In: Gowen JW (eds) *Heterosis*. Iowa State College Press, Ames: 14-48.
- Smith C.W, Betran J, Runge E.C.A., 2004. *Corn: origin, history, technology, and production*. Wiley, New Jersey.
- Thiemann A, Fu J, Seifert F, Grant-Downton R.T, Schrag T.A, Pospisil H, Frisch M, Melchinger A.E and Scholten S., 2014. Genome-wide meta-analysis of maize heterosis reveals the potential role of additive gene expression at pericentromeric loci. *BMC Plant Biology*, 14:88. Disponible sur internet: <http://www.biomedcentral.com/1471-2229/14/88>
- Touzet. P et Meyer E.H., 2014. Cytoplasmic male sterility and mitochondrial metabolism in plants. *Mitochondrion* 19, 166-171. Disponible sur internet: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mito.2014.04.009>.
- Tu Z.P, Banga S.K., 1998. *Chemical hybridizing agents*. Narosa Publishing House, New Delhi
- Wang K, Gao F, Ji Y, Liu Y, Dan Zh, Yang P, Zhu Y et Li Sh., 2013. ORFH79 impairs mitochondrial function via interaction with a subunit of electron transport chain complex III in Honglian cytoplasmic male sterile rice. *New Phytologist*, 1-11. doi: 10.1111/nph.12180.
- Wise R.P, Bronson C.R, Schnable P.S, Horner H.T. 1998. The genetics, pathology, and molecular biology of T-cytoplasm male sterility in maize. *Advances in Agronomy* 65: 79-130.
- Zadoks J.C, Chang T.T, Konzak C.F., 1974. A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Research* 14:415-421. doi:10.1111/j.1365-3180.1974.tb01084.x.

SITOGRAPHIE

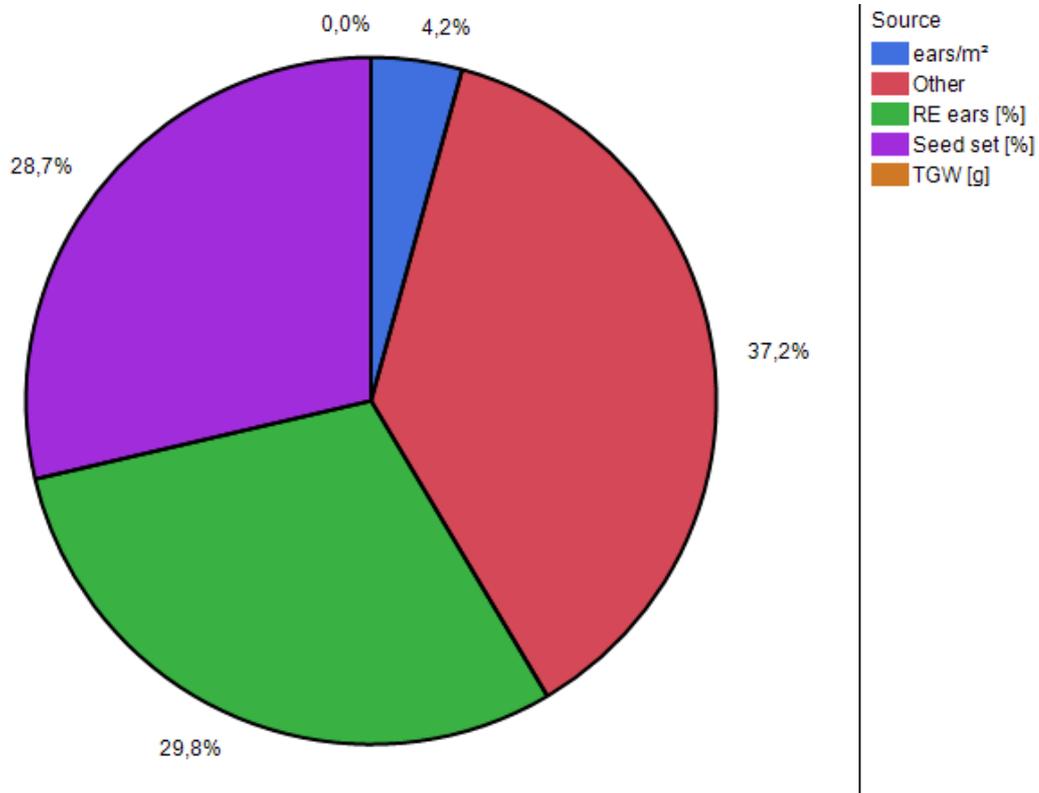
<http://botarela.fr/Poaceae/Description-detail/Epillet.html>)

Terre-net (page consultée le 27/03/2015) : Campagne mondiale 2013/2014. URL: <http://www.terre-net.fr/marche-agricole/actualite-marche-agricole/article/a-138-mt-la-hausse-de-la-production-d-orge-n-enraye-pas-le-declin-de-la-culture-1395-91482.html>).

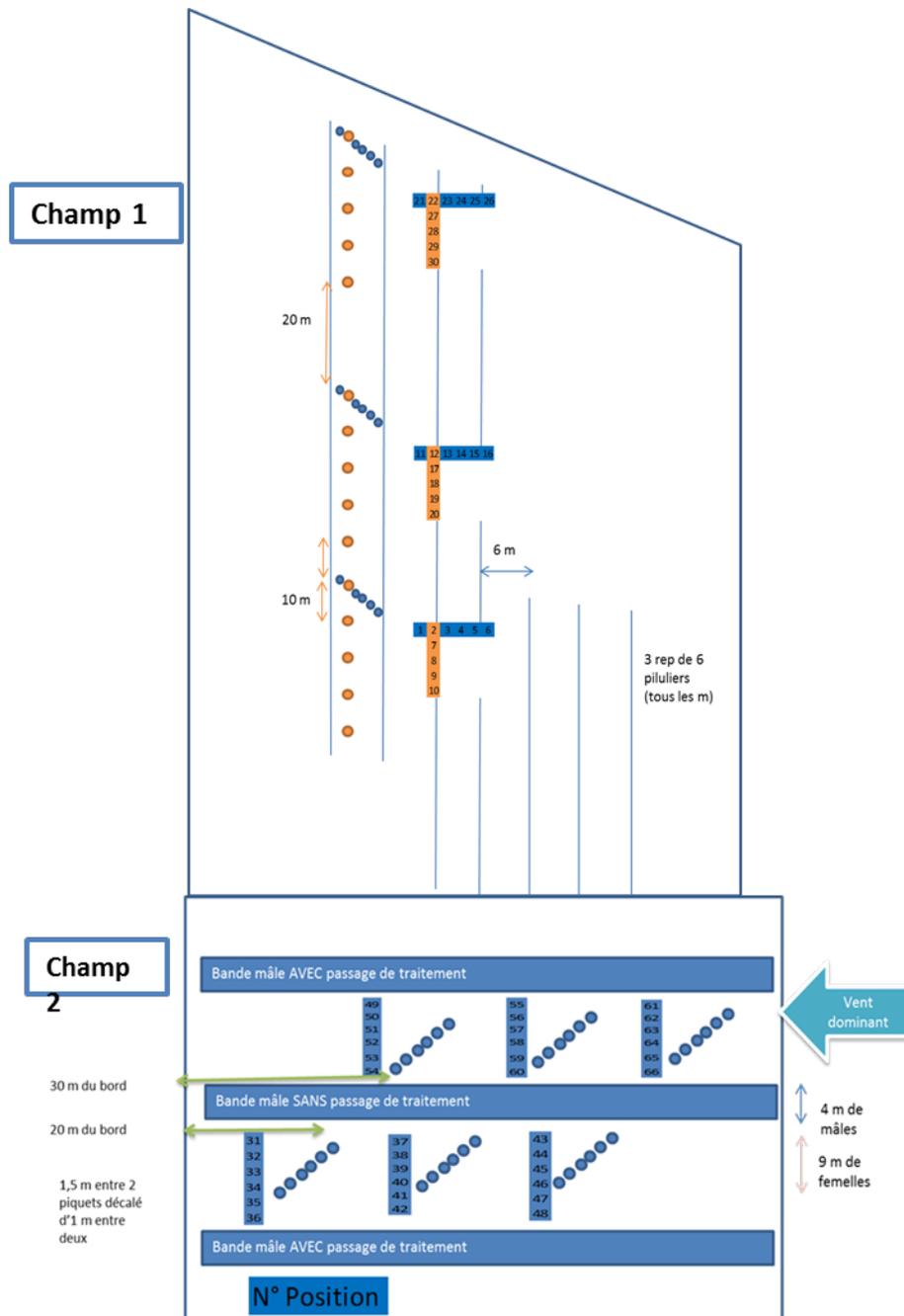
ANNEXES



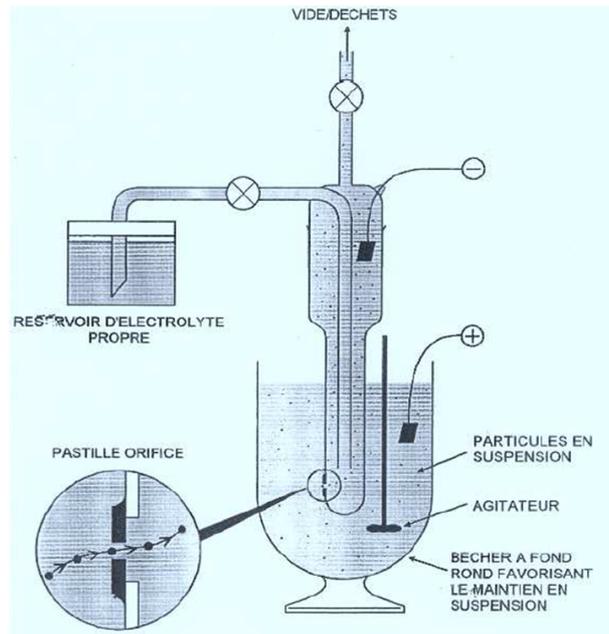
ANNEXE 1: Les composantes du rendement des hybrides simple (une voie)



ANNEXE 2: Dispositif expérimental de l'étude pollinique



ANNEXE 3: Protocole de comptage des grains de pollen



On mesure tout d'abord le volume de solution contenue dans chaque pot. Ensuite, après agitation et homogénéisation de la solution, une partie de celle-ci est prélevée et placée dans un béccher. Aucune précision de mesure n'est obligatoire lors de cette étape. Il faut seulement que le volume soit suffisant pour pouvoir effectuer les relevés.

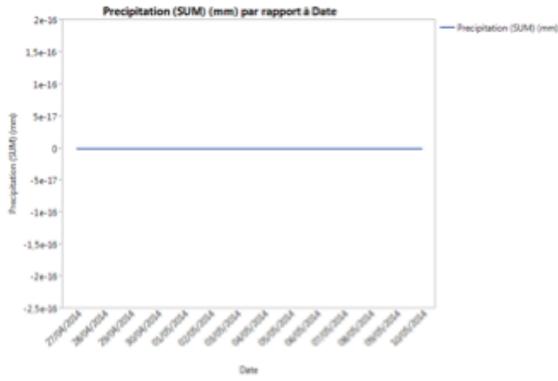
Une fois placée dans le multiziser, la solution continue d'être agitée pour maintenir son homogénéité. Deux électrodes sont alors introduites et diffusent un courant électrique. L'électrode négative possède une ouverture lui permettant de prélever un volume précis de solution et d'en mesurer la tension grâce à la présence de capteurs. Ils détectent les particules car la tension de la zone augmente lorsqu'elles passent. Leurs caractéristiques sont connues car l'intensité des pulsations reçues par les capteurs est directement proportionnelle au volume tridimensionnel des particules (BECKMANCOULTER, 2014).

Les grains de pollen sont dénombrés dans trois prélèvements de 1 ml. C'est la moyenne des nombres de grains de pollen par millilitre qui est utilisée. Elle est multipliée par le volume du pot pour obtenir une estimation du nombre de grains de pollen capté par le pot.

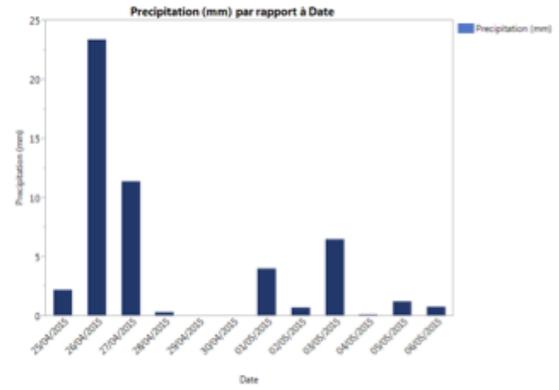
Le procédé d'analyse est identique pour le piégeage de pollen avec les poches. Au préalable, il faut juste mettre le pollen récolté en solution. Pour cela, la poche est rincée abondamment avec de l'Isoton. Une fois les mesures effectués, nous pouvons estimer la quantité de pollen produit par un épi durant la durée de prélèvement.

ANNEXE 4: Comparaison de la pluviométrie pendant la phase de floraison des lignées mâles en 2014 et 2015

Précipitation 2014



Précipitation 2015



RESUME

Le marché mondial des semences de céréales est l'un des plus importants et est principalement dominé par des variétés lignées. Depuis quelques années, les hybrides commencent à gagner des parts de marché. L'étude présentée dans ce rapport a deux objectifs. Le premier est de caractériser les lignées parentales vis-à-vis de leur aptitude à la production de semences d'orge hybride. Le second concerne l'évaluation du parent mâle selon son potentiel de production et de dispersion du pollen. Les résultats ont montré qu'il y a une bonne synchronisation de la floraison des lignées mâles et femelles sur les deux sites français et sur le site allemand. Les synchronisations vont de de -5 à +8 jours sur le site d'Allemagne, -4 à +8 jours au Sud de la France et -2 à +7 jours au Nord de la France. Le taux de fécondation (seed-set) est meilleur en Allemagne où 75% des valeurs de seed-set sont supérieures à 50%. Sur les autres sites, le taux de fécondation était assez bon au Nord de la France et médiocre au Sud de la France et en Angleterre. Pour ces deux derniers lieux, la mauvaise fécondation semble être due aux conditions climatiques. En effet, les résultats du sud de la France s'expliqueraient par une pluviométrie et une humidité relative non optimales pendant la floraison. L'étude de la production et dispersion du pollen a montré que le pic de production de pollen des mâles est atteint au troisième jour de floraison. Des études supplémentaires permettraient de valider ces résultats afin d'optimiser les schémas de production des semences d'orge hybride.

Mots clés : Orge hybride, synchronisation, seed-set, production et dispersion du pollen, conditions météorologiques.

Pour citer cet ouvrage : DIATTA, Jeannot, 2015. Evaluation des facteurs permettant de caractériser les combinaisons génétiques pour la production de semences d'orge hybride. Mémoire, Master 2, option, Systèmes et Techniques Innovants pour le Développement Agricole Durable (STIDAD), spécialité, Semences et Plants Méditerranéens et Tropicaux, Montpellier SupAgro. 47 pages.

Montpellier SupAgro, Centre international d'études supérieures en sciences agronomiques de Montpellier, 2 place Pierre Viala, 34060 Montpellier cedex 02. <http://www.supagro.fr>

CONFIDENTIEL