

SYNTHESE DU RAPPORT D'AVANCEMENT

Programme soutenu par France Bois Forêt Section Spécialisée Pin Maritime

Référence FBF 20/RD/1128 – B01980

Faisabilité de développement de variétés spécialisées de pin maritime

Porteur(s) du projet : Alliance Forêts Bois & FCBA
Prestataire(s) : Alliance Forêts Bois, Forelite
Montant du soutien apporté par France Bois Forêt : 30 323 euros

Objectifs et contexte :

Un programme d'amélioration génétique initié en 1960 par G. Illy (INRA) et actuellement travaillé au sein du groupement d'intérêt scientifique Groupe Pin maritime du futur (GPMF) depuis 1995 a pour but de sélectionner et doter les professionnels de variétés de pin maritime (*Pinus pinaster* Ait) les plus performantes pour une gamme large de produits sur le massif landais. Les principaux critères de sélections actuels sont la vigueur et la forme (rectitude du tronc), d'où la dénomination des variétés actuellement commercialisées dites **variétés « VF »** (V pour vigueur, F pour Forme). Depuis 2016, des vergers à graines VF4 sont en cours de déploiement pour fournir les pépinières en variétés VF4.

En complément de cette action de fond, le but est de montrer la **faisabilité de développer des variétés spécialisées de pin maritime**. Ces variétés seraient destinées à un marché de niche, soit en très faibles quantités, ce qui vient en complément du programme d'amélioration du GIS PMF. Le but est d'évaluer la possibilité de développer en France des **variétés spécialisées par croisements contrôlés biparentaux** (une mère croisée par un père) en préservant un **niveau de coût au plus bas** et dans le **respect du cadre réglementaire français** (homologation de variétés testées au CTPS).

Le projet d'une durée de 3 ans (2018-2020) comporte 3 taches :

- Tache 1 : Optimisation de la technique de croisements contrôlés
- Tache 2 : Réalisation de croisements contrôlés
- Tache 3 : Homologation de variétés spécialisées

La convention annuelle FBF 20/RD/1128 (B01980) traite de la 3^{ème} année du projet (campagnes 2020-2021 et 2021-2022).

Principaux résultats obtenus :

Tache 1 : Optimisation de la technique de croisements contrôlés

Le travail consiste à tester et améliorer la technique de croisement contrôlé de tout temps utilisée depuis les premiers programmes génétiques de croisements de pins maritimes.

Suite à une 1^{ère} recherche bibliographique et plus précisément au colloque IUFRO Seed Orchard qui s'est tenu en Suède en 2017, des essais ont montré sur pin taeda que des poches d'une société spécialisée en croisements contrôlés nommée *PBS International* (Pollination Bag Specialists, <https://www.pbsinternational.com>) a permis d'améliorer considérablement la survie des cônes et donc la production de graines de pin taeda (Austin Heine, 2017).

Deux types de poches de la société PBS International ont été testés : (i) une poche de pollinisation (référence 3D.55) et (ii) une poche de récolte de pollen (référence CMP.55).

Pollinisation

L'expérimentation a été menée sur la campagne de pollinisation de 2021 sur 2 clones du plan d'expérimentation de la tache 2 : les mères 729 et 783. 10 poches PBS réparties sur 2 clones (5 rameaux par clone) ; 1 poche par clone ne recevra pas de pollen. Cela sera comparé à 2 modalités (* 5 rameaux) :

poche en boyau cellulosique (référence) et sans poche (témoin en pollinisation open). La période de réceptivité de fleurs a été très courte, environ une semaine. Des dégâts de gel ont été cette année observés lors de la pollinisation (gel tardif) causant un biais dans l'évaluation des techniques en test. En septembre 2021, une notation de réussite des croisements a été effectuée et une protection physique a été maintenue (dans le cas de croisements par empochage) ou installée (dans le cas de pollinisation sans empochage) afin d'éviter des dégâts sur conelets par des bio-agresseurs tels que la punaise américaine). Les croisements contrôlés par empochage avec la poche PBS a obtenu une efficacité de 40% contre 100% pour le croisement de référence avec le boyau cellulosique. Le résultat espéré par l'utilisation des poches PBS est bien en-deçà de son potentiel présenté par la société. Ce faible pourcentage peut être expliqué par une mauvaise manipulation de la poche. Malgré le résultat d'un seul essai décevant, un essai sur un plus grand nombre de poches serait intéressant en perçant la poche au niveau du tissu (préconisation du fabricant).

Récolte de pollen

En raison de la crise de la Covid-19 de 2020 où aucun croisement n'a été possible (campagne 2020-2021), du pollen d'une dizaine de clones (provenance corse pour le dossier d'homologation de LC3 – tache 3) est récolté afin de concevoir un système individualisé de forçage et extraction du pollen, pour éviter la pollution entre les clones et permettre un mélange homogène en équi-proportion de cette dizaine de clones. Pendant la campagne 2021-2022, l'étape de forçage est travaillée cette fois directement sur le terrain. L'idée est de réduire le nombre de manipulation et le temps alloué à cette étape. Pour cela, il est proposé de récolter le pollen directement au champ en isolant des rameaux par ensachage sous poche PBS pendant la période d'émission du pollen. Cela correspond à une étape de forçage en milieu naturel. La poche testée est une poche de la société PBS référencée CMP.55 (sans fenêtre) qui est comparée à la référence actuelle de forçage sous serre. On remarque que malgré un nombre plus faible de rameaux au départ estimé à 3 à 4 fois moins, on obtient une récolte plus ou moins équivalente selon les clones, avec une variabilité de -3.7g à +3.6g. Une estimation plus juste mériterait d'être faite en calculant le nombre exact de rameaux. On observe également que quelle que soit la modalité, l'activité de l'eau est comprise entre 0.489 et 0.613 (delta de 0.124). Cette activité de l'eau est plus faible pour le forçage naturel (0.509 en moyenne). Quelle que soit la modalité de forçage (serre ou naturel), on obtient un très bon taux de germination, validant ainsi cette nouvelle technique d'extraction de pollen directement sur le terrain.

Tache 2 : Réalisation de croisements contrôlés

Une étape essentielle avant réalisation des croisements contrôlés biparentaux est la constitution du plan de croisements avec plus précisément l'élaboration d'une liste des meilleurs géniteurs G0 (clones de la toute première population d'amélioration du pin maritime) et G1 (génération suivante).

Une liste des meilleurs géniteurs G1 (croisements G1*G1) est constituée sachant que l'étude de 2019) montre une certaine stabilité du calcul de l'index jusqu'à atteindre un seuil à l'augmentation des poids des critères vigueur ou écart à la verticalité de l'index de sélection des géniteurs. L'index de référence utilisé dans le programme d'amélioration du GIS PMF permet de sélectionner les meilleurs individus « moyens » et non les meilleurs individus sur critère ciblé (ex : forte croissance, forte rectitude, résistance à la sécheresse ou au nématode du pin, etc.).

A partir de la liste des meilleurs géniteurs et en sélectionnant des individus disponibles et accessibles à la nacelle sur le parc à clones ou conservatoire de Castillonville, 2 plans de croisements sont réalisés sur les campagnes 2019-2020 et 2021-2022.

Sur la campagne 2019-2020, 6 croisements contrôlés biparentaux G1*G1 (couple mère *père) incluant 9 géniteurs différents ont été réalisées en 2019 sur le parc à clones de Castillonville à Cestas : F1.1380 * F1.2580 ; F1.0977 * F1.1678 ; F1.0729 * F1.0724 ; F1.0724 * 16-190-1 ; F1.0783 * F1.0770 ; F1.0770 * F1.0783. Pour réaliser ces croisements, le pollen a été récolté la même année (2019) pour permettre l'apport de pollen frais en plusieurs piqures (et non congelé comme cela est souvent le cas pour la première piquure de pollen). Les poches de croisements ont été retirées fin 2019/début 2020. Fin 2020, les cônes issus des croisements contrôlés ont été récoltés. Entre la notation de décembre 2019 sur conelets et la récolte du cône en janvier 2021, on n'observe pas de perte notamment sur les

3 croisements suivants 1380*2580, 977*1678 et 729*724, soit un taux de réussite entre 74% et 100% avec cônes ne s'ouvrant pas naturellement. On constate un rendement en graines très faible d'en moyenne 20 graines par cône avec un taux de graines pleines inférieur à 50% en moyenne. La problématique de pénurie de graines est ici visible. De plus, on suppose que le mécanisme d'ouverture du cône ne peut s'enclencher naturellement que par la présence de graines viables. Concernant la germination des plants suite à une mise en stratification et semis, le taux de reprise des plants est relativement bon avec max 84% ; cependant le nombre de plants disponibles reste faible compte tenu du faible nombre de graines produites. Ces plants pourront faire l'objet d'une plantation dans un test afin d'évaluer la performance des croisements biparentaux sur 1 site.

Sur la campagne 2021-2022, il est proposé de travailler la technique par supplémentation de pollen (MSP), soit par l'apport de pollen pendant la période de réceptivité des fleurs sans avoir besoin d'empocher les fleurs. Cela ouvre des portes sur la constitution d'une variété spécialisée par supplémentation pollinique (apport d'un seul père ou d'un mélange de pères). Une validation / optimisation technique est pour autant nécessaire et est initié dans le cadre de ce projet sur la campagne 2021-2022. En partant du plan d'expérimentation de la campagne 2019-2020, soit des mêmes croisements biparentaux, il est proposé en complément de polliniser 4 mères : 729, 724, 783, 770 avec un mélange de pollen incluant les 4 pères des croisements biparentaux : 724 + 16*190-1 + 770 + 783 en croisement sous poche ou en pollinisation de masse. Lors de cet essai, on suspecte l'effet cumulatif de facteur biotique (ravageur tel que la punaise) et abiotique (gel tardif) qui ont touché tout l'essai et notamment le clone 783 (variabilité clonale) avec une forte pollution pollinique. La réceptivité des fleurs est un critère important à prendre en compte Si on considère le clone 729, celui présentant le moins de pollution pollinique, on note un taux de réussite de 100% pour le cas de croisements contrôlés (en biparental ou mélange de pollen) et un taux de réussite compris entre 80% et 100% en pollinisation par supplémentation de pollen en liquide (80%) ou poudre (80-100%). Ce résultat montre l'intérêt de polliniser par MSP car on obtiendrait un bon développement des conelets par apport massif de pollen sans avoir besoin d'empocher au préalable. Cependant, il faudra valider après récolte des cônes dans un an la paternité des graines parmi les 4 clones pères du mélange de pollen utilisé (en prenant en compte et qualifiant la pollution pollinique). Le pollen apporté sous forme liquide présente un résultat satisfait (80%), équivalent à l'apport sur forme poudre (82%) sur toute la période de réceptivité des fleurs. En effet cette modalité a été testée car cela permettrait une économie en quantité de pollen comparativement à l'utilisation directe de pollen en poudre ; c'est-à-dire une réduction de la quantité de pollen à récolter sur le terrain et donc un cout moindre. Si on s'intéresse maintenant à détecter le période de réceptivité des fleurs ; on remarque que les modalités d'apport « précoce » et « tardif » obtiennent 100% de réussite alors qu'en apportant le pollen sur toute la période de réceptivité le taux passe à 82%. Les 2 modalités « précoce » et « tardif » ont été protégées pendant une partie de la période de développement des fleurs alors que la modalité couvrant la totalité de la période de floraison n'a jamais été protégée, notamment pendant la période de gel. On peut donc supposer que la protection pendant quelques jours a pu éviter 20% de perte en fleurs.

Tache 3 : Homologation de variétés spécialisées

Au démarrage du projet, des éléments de blocage sont apparus tel que la non-diversité génétique (actuellement une quarantaine de clones composent un verger à graine). Afin d'évaluer la qualification à terme d'une variété dite spécialisée (atteindre le niveau le plus élevé de commercialisation), un premier travail de compilation des données disponibles et d'analyse de ces données est mené et montre le besoin de compléter le réseau de tests in-situ représentant des croisements biparentaux (évaluation des croisements par mesures dendrométriques). Suite à un atelier intitulé « Transformation de dispositifs expérimentaux en structure de production de MFR ou en unité de conservation » animé par l'INRAE en mars 2019, FCBA a pris connaissance de la possibilité d'homologuer au CTPS une variété en utilisant l'annexe B2 « Fiche descriptive de Parents de famille(s) » de l' « Arrêté du 24 octobre 2003 relatif au règlement technique d'admission de matériels de base destinés à la production, par voie générative, de matériels forestiers de reproduction en catégorie qualifiée ». Le consortium GAPP a reçu l'autorisation de réaliser une variété d'hybrides Landes*Corse par croisements contrôlés (dénomination Lanton-LC3) sur le nouveau verger à graines de pins

maritimes VF4 le temps que le verger puisse être récolté et homologué en tant que variété VF4 en réduisant le nombre de pères à 10 (au lieu de 30) en raison d'une récolte réduite de pères pendant la crise de la Covid-19.

Conclusion générale

Les essais d'optimisation de techniques de pollinisation montrent qu'il faut continuer à travailler sur les poches de pollinisation et d'améliorer le processus de récolte in situ de pollen jusqu'à son stockage et sa réactivation en année N+1 ou plus. Ce travail est à mener sur un échantillon plus important de clones en prenant en compte la variabilité clonale. Cette variabilité clonale a été observée à différents niveaux dans le projet : sur la période de réceptivité des fleurs avec une importance pressentie dès le premier stade de développement du bourgeon floral mais aussi sur leur niveau tolérance (ou attractivité) aux aléas biotiques ou abiotiques. Polliniser une fleur réceptive par un pollen actif paraît simple mais les notions de floribondité, réceptivité, capacité germinative, comptabilité pollinique sont le point de départ pour la réussite d'un croisement et pourraient devenir à terme des critères complémentaires pour la constitution d'une variété (projet FBF-SSPM 2022). De plus, l'essai de pollinisation en masse (MSP), soit l'apport d'un mélange de pollen en plusieurs applications sans ensachage manuel au préalable, montre également l'importance de connaître le stade de réceptivité des fleurs. Cette technique qui est finalement une forme d'optimisation de la pollinisation obtient des premiers résultats intéressants notamment sur la piste de mise en solution du pollen afin de réduire la quantité nécessaire (réduction coût) mais il reste à explorer et optimiser le processus (date de d'apport selon stade phénologique, nombre d'apport, état du pollen, etc... mais aussi vérification du taux de paternité sur graines).

Les essais de croisements biparentaux par croisements contrôlés ont été mis à rude épreuve en raison de la problématique actuelle de perte en fructifications et en graines. Ils ont démontré l'importance de protéger les fructifications tout au long du cycle de développement sur 2 ans. La protection physique sur la 1ère phase du cycle semble diminuer la mortalité du conelet. Au niveau de la 2ème phase de développement, on obtient un cône visuellement plus petit et plus résineux avec une part importante de graines vaines ; on suspecte que la présence de celles-ci bloque l'ouverture naturelle mécanique. Les quelques graines obtenues sont dédiées à la plantation d'un essai pour évaluer la performance des descendants des croisements G1*G1 sélectionnées.

Au sujet de la sélection des clones au sein de la population d'amélioration (G0, G1, G2), l'évaluation de ces clones et de la descendance de leur croisement (G0*G0, G*G1, etc) est primordiale pour proposer la constitution d'une variété. A ce jour, on dispose de peu de dispositifs comparant des familles G1*G1 pour affiner le comportement des descendants sur le terrain et ainsi permettre à terme une demande d'homologation au CTPS avec le plus haut niveau de commercialisation. De plus, le choix de il s'avère que le choix de la formule d'index de sélection actuellement multicritère (poids sur la vigueur et la forme) est très important car il impacte directement le classement final. Toutefois, l'atteinte d'un seuil en matière de modification dans les classements s'observe à l'augmentation du coefficient volume ou écart à la verticalité ; on peut parler de stabilité. Mais il ne faut pas oublier que les critères volume et écart à la verticalité sont corrélés négativement et qu'il est donc compliqué d'avoir des individus très bons en vigueur et en rectitude. D'où cet index qui sélectionne des arbres « moyens » dans un consensus « volume – écart » à des fins de proposer une seule variété à toutes les consortiums (VF4, HLC). Finalement, ce travail permet de positionner la stratégie de sélection par index multi-critères au centre des réflexions des sélectionneurs. Il soulève l'interrogation de l'utilisation d'autres index de sélection pour réaliser la sélection des meilleurs géniteurs, individus pour un objectif particulier, comme par exemple une variété adaptée au milieu sec (station). Pour finir, la dérogation obtenue pour le dossier d'homologation LC3 (10 clones corses pollinisant le pool de mères VF4) est bon exemple et montre la faisabilité de déposer un dossier pour l'homologation d'une variété dite « spécialisée » avec un choix restreint et réfléchi de parents.

Valorisation envisagée :

Le projet a fait l'objet d'une publication à la Lettre B (FBF) « Variétés spécialisées de pin maritime : vers un possible développement ».

Indicateurs - campagne 2021-2022 :

Indicateur 1 : 32 croisements réalisés = 8 modalités * 4 clones

Indicateur 2 : De 0% à 100% de réussite des croisements contrôlés selon les modalités et les clones

Année de publication : 2022