

MUTATIONS OBTENUES CHEZ VICIA FABA L. PAR INJECTION DE SUBSTANCES CHIMIQUES

P. BRYSSINE

SOMMAIRE

Introduction
Substances utilisées pour les injections
Matériel végétal employé
Appréciation de l'effet du traitement
Manifestations constatées sur les plantes traitées
Observations concernant les plantes C₁
Observations concernant les plantes C₂
Quelques considérations à propos des résultats obtenus
Conclusion

INTRODUCTION

Depuis ces quinze dernières années, l'emploi de substances chimiques pour provoquer les mutations chez les végétaux attire de plus en plus l'attention des chercheurs. La récente mise au point de RÖBBELIN (2) résume l'état actuel de cette question, rappelle les principaux parmi les nombreux travaux exécutés à ce sujet et donne des raisons de l'importance de ces recherches et des possibilités qu'elles offrent pour la compréhension de phénomènes héréditaires et même pour la compréhension de phénomènes fondamentaux de la vie.

Au cours de ces travaux, de très nombreuses substances chimiques ont été expérimentées. Dans le répertoire de travaux de ANGULO-CARPIO (1), sur les mutations provoquées, nous trouvons les groupes de substances expérimentées suivantes : *alcaloïdes* (calchicine, ses dérivés, colchicine associée avec d'autres substances, dérivés de diazine), *hydrocarbures* et leurs dérivés (paradichlorobenzène, naphthalène, naphthoquinone, acénaph-tène), *urée* et ses dérivés, *insecticides* et *herbicides*, *antibiotiques* (streptomycine, actinomycine, pénicilline, etc.), *acides organiques* et dérivés (ac. silicilique, ac. giberillique, ac. dioxyrubionucléique, ac. borique, ac. acétique, etc.), *sels métalliques* et *organiques*, *hormones*, *enzymes*, *colorants*

divers, substances gazeuses et volatiles, extraits de tissus animaux et végétaux, essences, huiles, etc.

De notre côté, cherchant à provoquer les mutations dans l'espèce *Vicia Faba* L., nous avons également essayé différentes substances chimiques, d'abord sur les graines et ensuite sur les plantes adultes. Notre but était essentiellement pratique. Cette espèce, bien que très variable en ce qui concerne les caractères quantitatifs de son appareil végétatif (tiges, feuilles et fleurs), est, par contre, très pauvre en caractères morphologiques distinctifs. Pour cette raison, il est souvent extrêmement difficile de caractériser les variétés économiquement intéressantes par rapport à d'autres variétés de valeur inférieure.

Ayant rencontré de grandes difficultés pour obtenir en nombre suffisant des plantes saines et viables après le traitement des graines par les substances mutagènes ou supposées telles, nous avons pensé introduire ces substances à l'intérieur de la plante au cours de la végétation en les injectant avec l'aide d'une seringue hypodermique. Mais l'injection de liquides à l'intérieur de tissus de végétaux et même dans leurs vaisseaux est très difficile, à cause du squelette pecto-cellulosique qui pénètre tous les tissus de la plante et les rend très rigides. Pour cette raison, on ne peut injecter que de très faibles quantités de liquide sans provoquer de graves traumatismes aux tissus. Mais la fève présente une particularité intéressante, à savoir que ses tiges sont creuses à l'intérieur et que ce creux n'est pas compartimenté par des cloisons au niveau des nœuds ; il est donc très facile de le remplir de liquide à l'aide d'une seringue.

Cette cavité intérieure apparaît très précocement, d'abord vers le point d'insertion des rameaux sur la tige principale (pratiquement au niveau du collet), et avec le développement de la plante, s'étend progressivement vers le haut en s'élargissant de telle sorte que, vers le début de la floraison, suivant les conditions de croissance, sa capacité est de l'ordre de 3 à 10 cm³. Sa limite supérieure est facilement repérable de l'extérieur, car elle se trouve régulièrement au niveau du nœud portant le bouton prêt à s'ouvrir. A la maturité complète, la cavité s'étend de la base jusqu'au sommet de la plante. En pleine floraison et quand les gousses inférieures commencent à se former, sa capacité, chez les plantes bien développées, est de l'ordre de 30 à 40 cm³. Il est donc possible d'introduire à l'intérieur d'un rameau donné d'une fève en pleine floraison des quantités assez importantes de liquides mutagènes ou de substances mutagènes en solutions. Mais il est évident que, pour que le traitement soit capable de produire les mutations, il est indispensable que ces substances agissent sur les méristèmes ou sur les cellules germinales. Aussi est-il important que ces substances parviennent aux cellules des méristèmes ou aux cellules germinales, et ceci le plus tôt possible.

L'expérience a montré que la plante absorbe assez rapidement les liquides administrés par cette voie. En général non seulement l'eau et les solutions aqueuses sont absorbées 24 heures après l'injection, mais, passé cette période, les parois de la cavité apparaissent parfaitement sèches, même si la transpiration de la plante est réduite du fait de la pluie ou du ciel couvert. De même, notre expérience l'a également montré, l'éther et l'acétone dilués dans l'eau sont absorbés. L'huile et les solutions huileuses

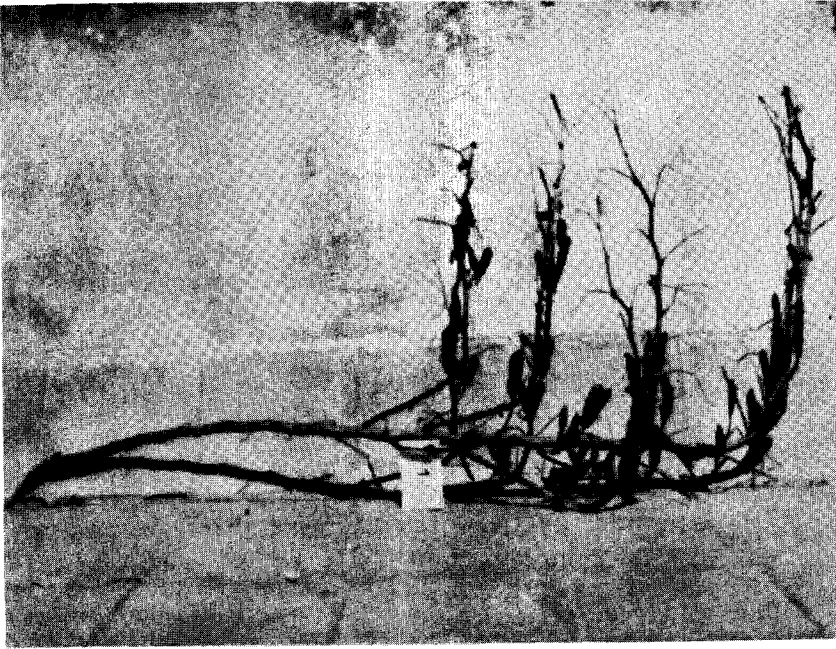
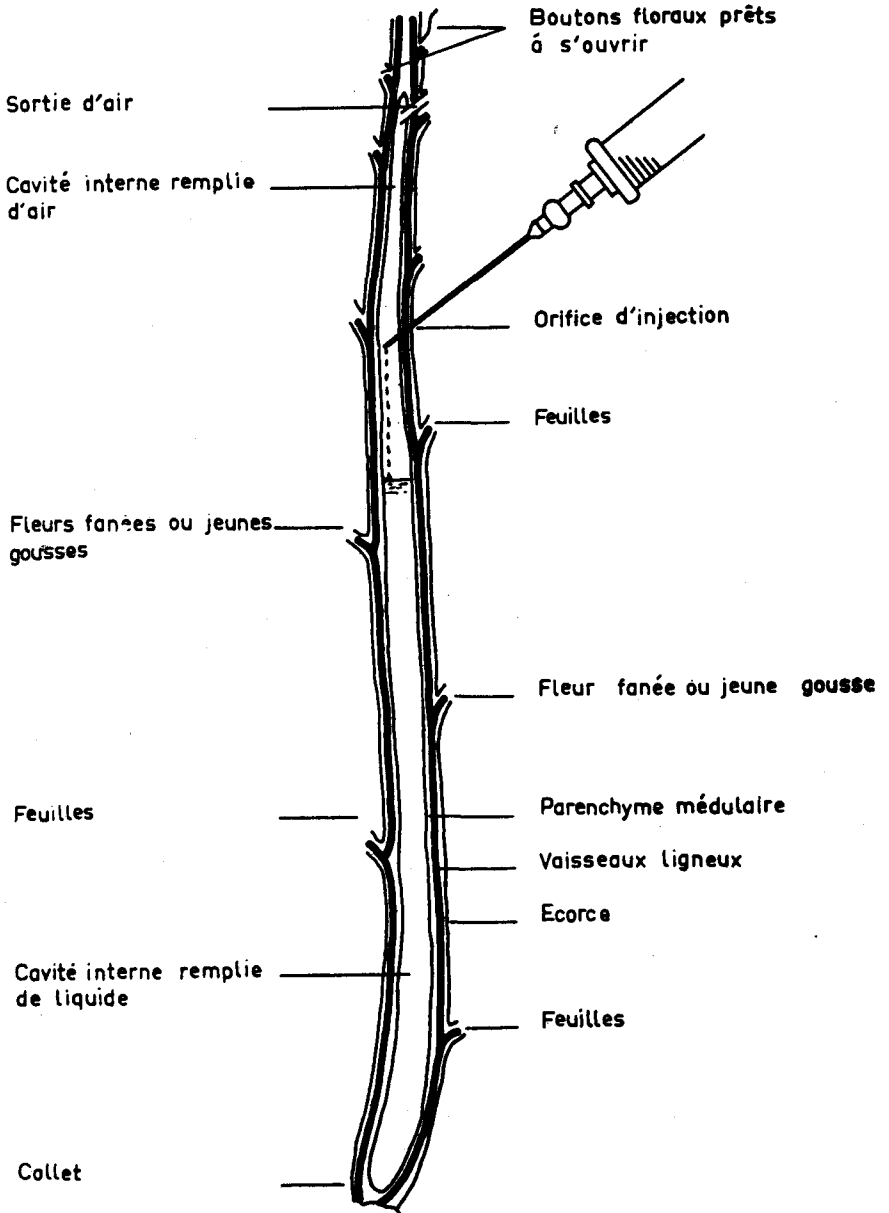


FIG. 1

pénètrent également à l'intérieur des tissus de la plante, mais cette pénétration est beaucoup plus lente ; au bout de quelques jours l'huile imbibe les parties inférieures de la plante qui prend un aspect très particulier, donnant le même effet que le papier gras. Les tissus de soutien sont ramollis, les rameaux traités de cette manière perdent de leur rigidité et souvent s'affaissent sur le sol, tout en continuant à vivre et à fleurir normalement en donnant des gousses et des graines (FIG. 1).

Il est incontestable que les substances introduites sont absorbées par les cellules de la moelle qui se trouvent directement à leur contact ; mais l'épaisseur de ce parenchyme étant faible, ces substances ont beaucoup de



chances de pénétrer dans le système circulatoire et notamment dans les vaisseaux ligneux voisins, où ils pourront être repris par la sève ascendante et amenés jusqu'aux méristèmes et aux cellules germinales. L'accès du liquide injecté vers les vaisseaux pourrait être facilité par des encoches pratiquées sur les tiges avec une lame de rasoir avant l'injection et obstruées de l'extérieur avec du scotch. Mais nous avons peu utilisé cette dernière technique.

L'injection de liquide, bien que très simple, demande quelques précautions. D'abord, la cavité interne contient de l'air, ou tout au moins un gaz qui oppose une résistance, et pour le chasser il faut pratiquer deux orifices, l'un pour l'injection et l'autre pour la sortie du gaz. Ensuite, l'injection ne doit pas être brutale, afin d'éviter la formation d'un bouchon d'air comprimé qui, après le retrait de l'aiguille, pourrait refouler le liquide. Les aiguilles employées, compte tenu du liquide injecté, doivent être les plus fines possible. Pour éviter l'obstruction de l'aiguille par les morceaux de fibre, le plan de biseau doit être orienté vers le haut. Enfin, l'orifice de sortie d'air ne doit pas être orienté vers l'opérateur afin d'éviter les risques d'éclaboussement par le trop plein des substances injectées, parfois dangereuses.

SUBSTANCES UTILISEES POUR LES INJECTIONS

Au cours de cette étude, les groupes de substances suivantes ont été essayés :

Solvants

Généralement, l'eau distillée a été employée, mais aussi quelques solvants organiques, seuls ou dilués avec de l'eau distillée et notamment :

Glycérol à 10 % et à 20 %

Ethanol à 10 %, à 20 %, à 50 %, à 75 % et à 100 %

Ether éthylique à 10 %, à 50 % et à 100 %

Acétone à 10 %, à 20 % et à 50 %

Huile d'arachide (pour certaines substances non solubles dans l'eau)

Substances mitoclasiques

Colchicine en solutions aqueuses à 2 %, 1 %, 0,5 % et 0,25 %, 0,125 %, 0,0625 %, 0,0312 % et 0,0156 %

Acénaphthène (200 mg et 400 mg dans 20 cm³ d'éther et 80 cm³ d'huile d'arachide)

Hexa-chloro-cyclohexane (500 mg dans 20 cm³ d'éther et 80 cm³ d'huile d'arachide)

Para-di-chloro-benzène (1 g dans 20 cm³ d'éther et 80 cm³ d'huile d'arachide)

Sels métalliques dissous dans l'eau distillée

Sulfate de manganèse à 1 % et à 2 %

Nitrate de manganèse (solution demi-concentrée)

Nitrate de bismuth à 0,5 %

Chlorure de sodium à 1 % et à 2 %

Iodure de potassium à 2 %

Extraits de vieilles graines (ayant perdu leur faculté germinative) :

Obtenus par extraction par des solvants de substances solubles à partir de graines réduites en farine (50 g). Durée de trempage de 24 à 48 heures. Les solutions filtrées étaient injectées immédiatement. Plusieurs variantes ont été employées :

Simple trempage dans l'eau distillée (vieilles graines de pois chiche, de fève, de soja, de pois et de tabacs (*Nicotiana tabacum* et *Nicotiana rustica*).

Hydrolyse partielle de la farine de vieilles graines par l'acide chlorhydrique à 10 % pendant 48 h, avec la neutralisation du liquide par CaCO_3 (pois chiche, soja, tabac).

Extraits alcooliques à 50 % et à 100 % (pois chiche, soja, pois).

Extrait étherés à 50 % et à 100 % (pois chiche, soja, pois).

Extraction par le mélange acétone (25 %) et eau distillée (75 %) (pois chiche, soja).

Macération dans le mélange éther-huile d'arachide (20 % et 80 % respectivement) (haricot, haricot de Lima, soja, pois chiche).

Au cours de cette étude préliminaire les doses et les concentrations employées étaient forcément arbitraires. Notre but était d'essayer le plus grand nombre de substances possible, quitte à préciser plus tard les doses les plus adéquates pour les traitements, dont les premiers résultats se présenteraient comme les plus encourageants. En tout, près d'une centaine de traitements différents ou de variantes de traitements ont été exécutés en trois années d'étude (années 1956, 1958 et 1960) à raison de 10 pieds par traitement, les plantes traitées alternant en plein champ avec les plantes non traitées. La période d'injection s'étendait généralement du début de la floraison jusqu'à l'époque de la formation de jeunes gousses à la base des rameaux. Chaque fois, la cavité interne des rameaux traités était complètement remplie de liquide. Bien que les quantités injectées de cette manière soient variables, suivant le degré de développement de la plante, elles étaient dans l'ensemble proportionnelles au volume du rameau traité.

MATERIEL VEGETAL EMPLOYE

Trois lignées de *Vicia Faba L.* ont été employées au cours de cette étude :

- F. 111 : Une sélection CRA dans une population locale (Région de Fès). C'est une forme marocaine typique de *Vicia faba major forma divulgata*. Au cours de nombreuses années d'observation elle se révéla comme parfaitement stable. D'autre part, c'est la variété la plus précoce de la collection du CRA.
- F. 294 : Féverole de Florence à graine noire (*Vicia faba minor*) introduite d'Italie en 1950, très tardive.
- F.s. 81A : Une lignée issue d'un hybride naturel (1948), lignée de précocité intermédiaire entre les deux lignées précédentes. C'est une févette à grain blanc (*Vicia faba aequina*), très luxuriante et très productive

APPRECIATION DE L'EFFET DU TRAITEMENT

Pour apprécier l'effet du traitement et l'apparition éventuelle de mutations, il existe deux manières d'effectuer le contrôle :

1. *Etude cytologique d'éléments prélevés sur les rameaux traités* (boutons floraux, graines de pollen, méristèmes).
2. *Analyse génétique de la descendance issue des plantes traitées.*

Compte tenu de ce que le but du présent travail, essentiellement pratique était d'obtenir des lignées présentant des caractères morphologiquement remarquables, la deuxième voie de contrôle a été choisie. La première manière de contrôle des mutations, bien que très utile et prévue par le programme des travaux, n'a pu être réalisée faute de temps.

En accord avec la nomenclature adoptée pour l'étude des mutations obtenues par voie chimique, les plantes traitées elles-mêmes ont été désignées par C_0 , la première génération issue de ces plantes par C_1 , la suivante par C_2 et ainsi de suite.

En tenant compte de ce que, dans la plupart des cas, le traitement avait un effet dépressif sur la fécondité des rameaux traités et même des plantes tout entières, la quantité de graines obtenues de chaque rameau traité était généralement très faible et parfois même nulle. Pour cette raison, à la récolte, toutes les graines C_0 issues du même traitement (1 rameau par pied, sur 10 pieds pour chaque traitement) ont été réunies ensemble et semées en vrac pour produire des populations C_1 . Mais à partir de cette génération (C_1) les pieds remarquables présentant des écarts importants par rapport à la norme ont été suivis en culture pedigree.

MANIFESTATIONS CONSTATEES SUR LES PLANTES (OU RAMEAUX) TRAITES (C₀)

Comparativement aux plantes témoins, l'effet du traitement a été très variable suivant la substance et la dose employées, mais en général, comme il a déjà été signalé, cet effet était dépressif en ce qui concerne le développement de l'appareil végétatif et de la fertilité des plantes. Dans certains cas, au contraire, une certaine luxuriance végétative se manifestait (emploi de faibles doses de colchicine, solutions salines à 1 % et à 2 % et extrait de graines de pois germées) ou bien les plantes traitées possédaient la même vigueur que les plantes témoins (traitements : glycérol à 10 % et à 20 % ; méthanol à 10 % et à 20 % ; éthanol à 10 % et à 20 % ; acétone à 10 %).

Tous les autres traitements appliqués ont provoqué des troubles plus ou moins graves. Outre la réduction générale de la vigueur et de la fertilité des plantes traitées, les modifications de la morphologie et du comportement des plantes devenaient parfois manifestes. Elles peuvent être classées de la manière suivante :

1. Manifestation d'un aspect plus ou moins tourmenté de la partie supérieure de la tige. Les entre-nœuds se raccourcissent et donnent aux tiges un aspect en zig-zag, ou au contraire s'allongent et le rameau prend une forme quelque peu remontante (colchicine, éther éthylique) (FIG. 2 et 3).
2. Inhibition d'élongation dans la partie supérieure de la tige. Les feuilles et les fleurs du sommet, très déformées, forment une espèce de rosette. Cette malformation est très caractéristique de l'effet produit par les injections de fortes doses de colchicine (FIG. 4). Notons en passant qu'à plusieurs reprises, le même effet a été obtenu sur le pois, en utilisant la même substance.
3. Apparition de panachures sur les feuilles (Nitrate de bismuth, iodure de potassium (FIG. 5).
4. Apparition de chlorose sur les feuilles (iodure de potassium), avec chute prématurée des feuilles.
5. Apparition de taches nécrotiques sur les tiges (sommet) et les feuilles, suivie de la dessiccation et de la chute de ces dernières (Alcool à 75 % et plus, éther à 50 % et plus, colchicine à 1 % et à 2 %, nitrate de manganèse, iodure de potassium à 1 %).
6. Fasciation plus ou moins accusée de la partie supérieure de la tige.

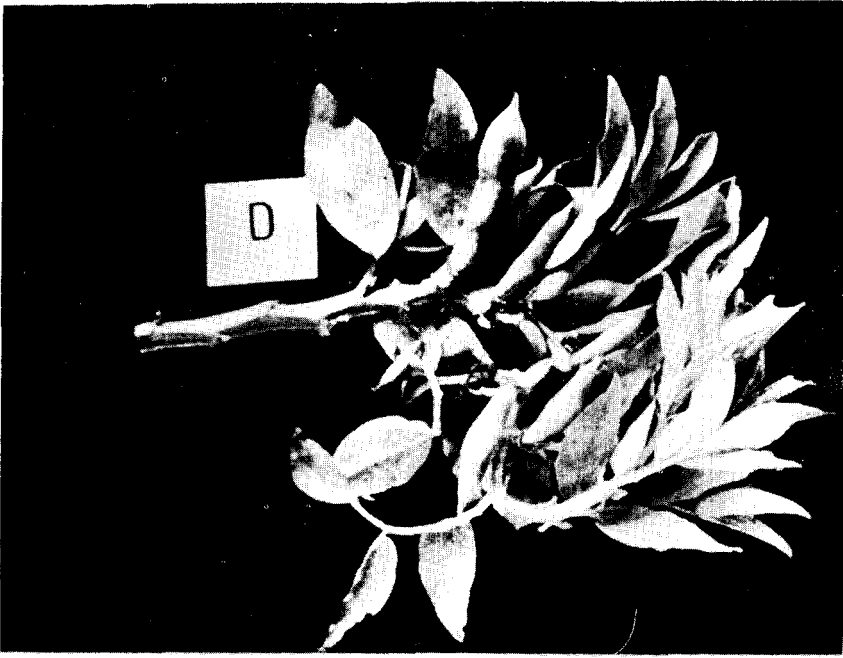


FIG. 2

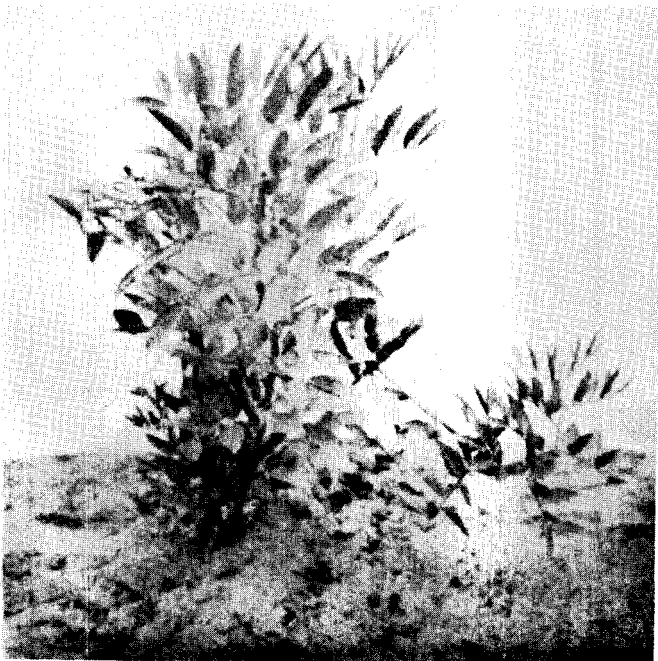


FIG. 3



FIG. 1

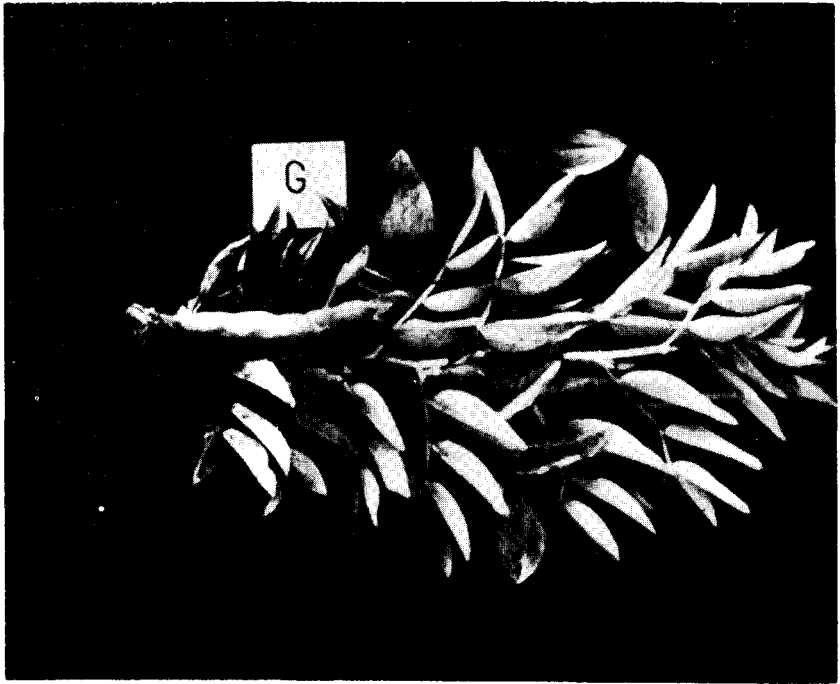


FIG. 2

7. Dichotomie de rameau, consécutive à un dédoublement au niveau du méristème terminal (FIG. 6 et 7).
8. Formation de rameaux de deuxième et même de troisième ordre, bien au-dessus du niveau du sol (FIG. 8 et 9).
9. Fasciation de feuilles. Feuilles doubles.
10. Transformation de l'apex terminal de certaines feuilles en une foliole en forme d'entonnoir (FIG. 10).
11. Coulure fréquente de fleurs et de jeunes gousses, aboutissant parfois à la stérilité complète (Alcool, éther, iodure de potassium...).
12. Formation de gousses très pédunculées, comme conséquence de la coulure des fleurs inférieures de l'inflorescence (FIG. 11).
13. Malformation des gousses. Gousses très courtes, larges, étranglées, tordues (FIG. 12 et 13).
14. Prolifération anarchique de cellules de parenchyme médullaire avec comme conséquence, l'obturation plus ou moins complète de la cavité centrale (Extraits de vieilles graines et de tissus d'autres espèces).
15. Apparition de désordres plus ou moins graves dans la structure de certains cordons libéro-ligneux.
16. Ramollissement de certains tissus de soutien (Injections huileuses).
17. Très forte réduction de la productivité en graines de certaines plantes traitées et du poids individuel des graines chez ces dernières. Le tableau I donne les résultats de la récolte 1960 après les traitements divers effectués sur la lignée de Fève F. 111. (Voir TABLEAU 1).

OBSERVATIONS CONCERNANT LES PLANTES C₁

Dans l'ensemble, les plantes C₁ ressemblaient au cours de la végétation aux plantes témoins de la variété dont elles étaient issues (lignées : F. 111, F. 294 et F.s. 18 A). Mais la vigueur des plantes issues de graines provenant de plantes traitées était généralement inférieure à celle des plantes témoins. D'autre part, la vigueur variait dans de très larges limites d'un pied à l'autre dans les parcelles C₁, de sorte que l'hétérogénéité de ces parcelles était très grande. Cette variation allait de pieds normaux ayant le même aspect que ceux des parcelles témoins jusqu'aux pieds très chétifs, rabougris, dont les plus faibles périssaient au cours de la végétation. Entre ces extrêmes, toute une série de formes intermédiaires a été constatée. Mais à la suite d'un examen plus attentif un certain nombre de



FIG. 7

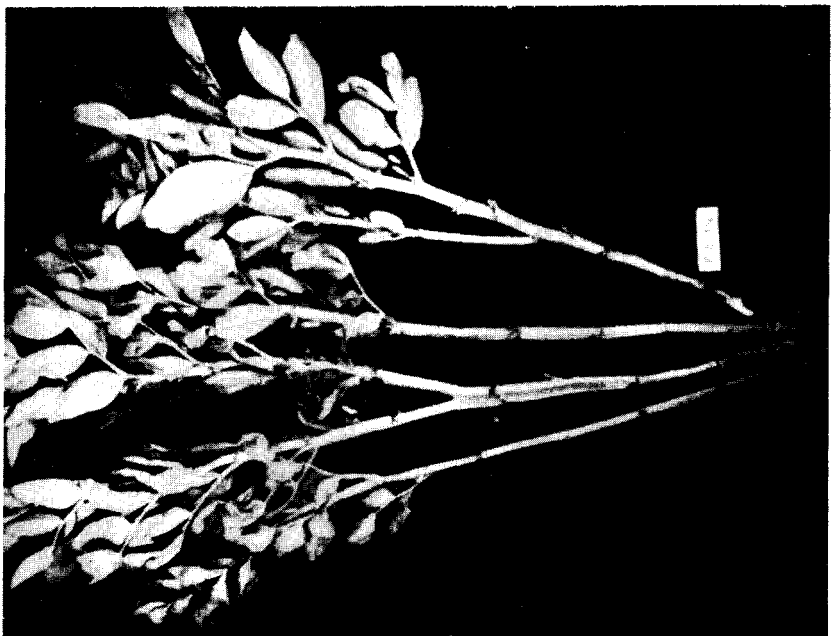


FIG. 6



FIG. 9

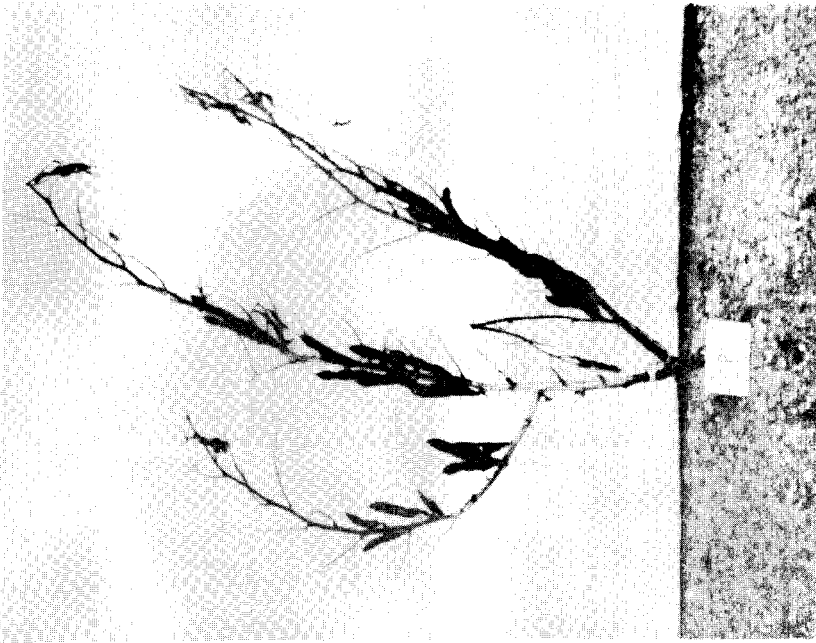


FIG. 8

TABLEAU 1

TRAITEMENT	RÉCOLTE (GRAINES) SUR 10 PIEDS, EN g		POIDS MOYEN D'UNE GRAINE EN mg	
	Traité	Témoin	Traité	Témoin
A. Glycérine à 20 %	120	154	87	93
B. Méthanol à 20 %	195	262	116	119
C. Ethanol à 50 %	64	136	87	90
D. Ether éthylique à 100 % ..	37	145	83	97
E. Acétone à 10 %	143	139	101	102
F. Sulfate de manganèse à 20 %	182	164	121	115
G. Nitrate de manganèse (demi- concentré)	28	204	103	103
H. Nitrate de bismuth à 2 % ..	170	184	103	105
M. Extrait éthéré de vieilles grai- nes de soja	2	171	85	127
N. Extrait alcoolique (30 %) de vieilles graines de pois	192	196	105	127
P. Ether à 50 %	116	163	107	114
R. Extrait de vieilles graines de haricots (macération dans l'huile d'arachide)	134	152	108	128
S. Extrait de vieilles graines de haricot de Lima (macération dans l'huile d'arachide)	150	150	113	119
T. Extrait de vieilles graines de <i>vigna</i> (macération dans l'huile d'arachide)	147	106	118	119
U. Huile d'arachide	136	116	111	97
V. Colchicine à 1 %	104	138	109	126
W. Acénaphène (200 mg dans 20 cm ³ d'éther + 80 cm ³ d'huile d'arachide)	119	142	118	127

pieds présentaient non seulement des écarts quantitatifs, mais également des modifications morphologiques profondes, déjà constatées en C₀. Par exemple, dans les parcelles de F. 111, issues de plantes traitées en février-mars 1958, les anomalies suivantes ont été constatées pendant la campagne 1958-1959 chez certaines plantes :

1. *Plantes présentant certaines feuilles dédoublées dans les parcelles issues de graines de plantes traitées avec :*

- lysat acide de vieilles graines de soja (4 pieds sur 46 pieds en culture).
- lysat acide de vieilles graines de pois chiche (1 pied sur 34 pieds).
- lysat acide de vieilles graines de *Nicotiana rustica* (2 pieds sur 20 pieds).
- colchicine à 0,2 % (1 pied sur 35 pieds).
- solution saline à 1 % (1 pied sur 32 pieds).

2. *Plantes présentant des folioles asciniées sur certaines feuilles dans les parcelles issues de graines de plantes traitées avec :*

- les extraits aqueux de vieilles graines de pois chiche (1 pied sur 42 pieds en culture).
- de vieilles graines de soja (2 pieds sur 33 pieds)
- la colchicine à 0,2 % (1 pied sur 35 pieds).
- extrait de jeunes graines de petits pois en formation (1 pied sur 48 pieds).

3. *Plantes présentant des bifurcations de rameaux au sommet : 3 pieds présentant cette caractéristique sur 28 pieds présents dans la parcelle et issus de graines traitées avec le lysat acide de vieilles graines de *Nicotiana rustica*.*

Il ne semble pas qu'il s'agisse ici de véritables mutations, mais plutôt de sommatations parce que ces caractères, à une exception près, ne se sont pas maintenus dans la génération suivante (campagne 1959-1960). Il est probable qu'au moment du traitement (en C₀) ce ne sont pas les cellules germinales qui ont été touchées mais plutôt certains tissus des embryons de jeunes graines déjà en formation. Ces manifestations pourraient être considérées comme des indicateurs de la crise profonde que subissent ces plantes, mais dans leur descendance il fut constaté régulièrement des modifications d'autres caractères, manifestement héréditaires.

A la récolte, les graines de ces plantes présentaient en général des écarts manifestes par rapport à la norme en ce qui concerne leur grosseur, leur forme, la couleur de leur tégument, ou leur hile. Il est vrai que ces écarts ont été également constatés sur d'autres pieds issus de C₁, mais beaucoup moins profondément modifiés par les traitements.

Dans la plupart des cas, les modifications constatées sur les graines se sont révélées héréditaires (vérification au cours de la campagne 1959-1960). Dans le cas de la lignée F. 111 ces modifications ont été constatées à la suite des traitements suivants :

- Lysat acide de vieilles graines de soja — Présence de pieds à graines brunes (3 pieds sur 46 pieds en culture), possédant le hile (6 pieds sur 46) ; à très grosses graines (1 pied sur 46).
- Extrait aqueux de vieilles graines de pois chiche — Présence de pieds à graines violacées (5 pieds sur 42), à graines brunes dont le tissu interne de la gousse adhère au tégument (1 pied sur 42).
- Extrait aqueux de vieilles graines de tabac — Présence de pieds possédant les graines du type *aequina* (fève).
- Extrait aqueux de vieilles graines de soja — Présence de pieds à tégument brun foncé (6 pieds sur 33) dont 4 contenant des graines de petites dimensions (type *aequina*).
- Colchicine à 2 % — Présence de graines à tégument violacé (2 pieds sur 82).

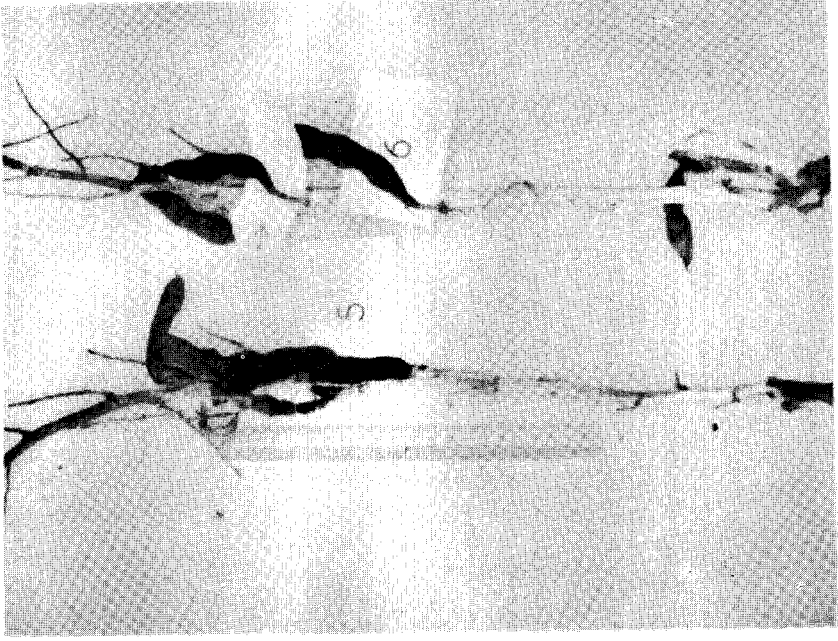


FIG. 11

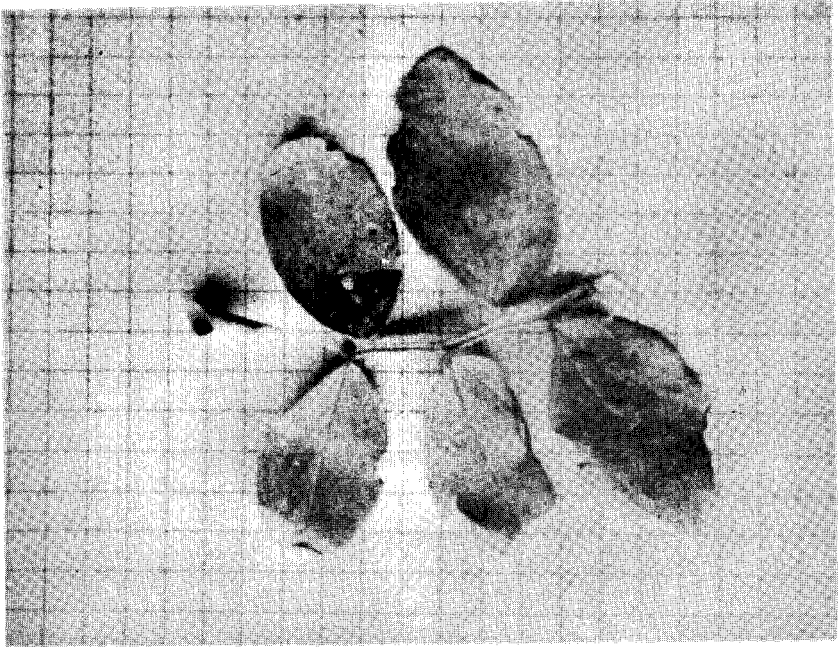


FIG. 10

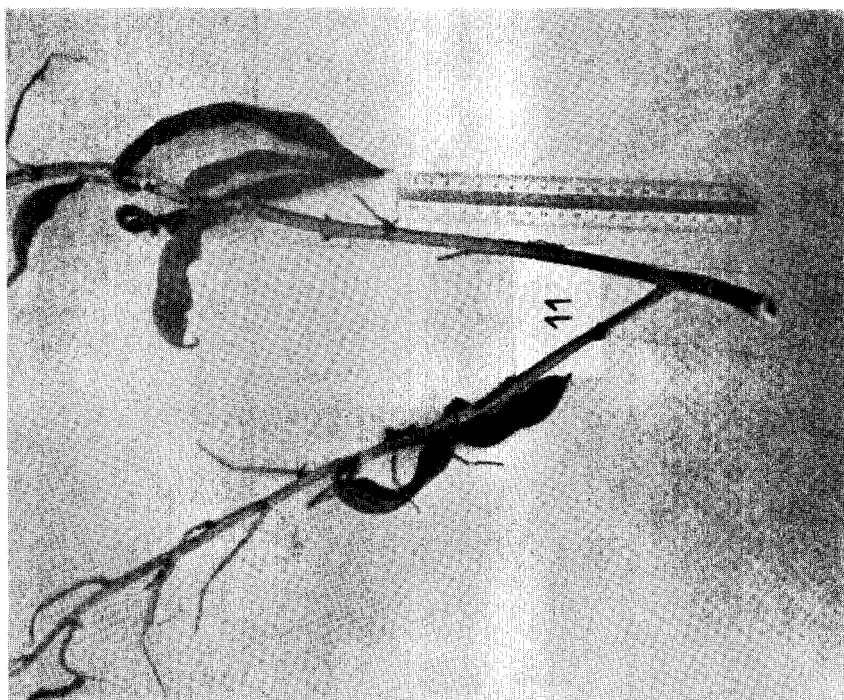


FIG. 13

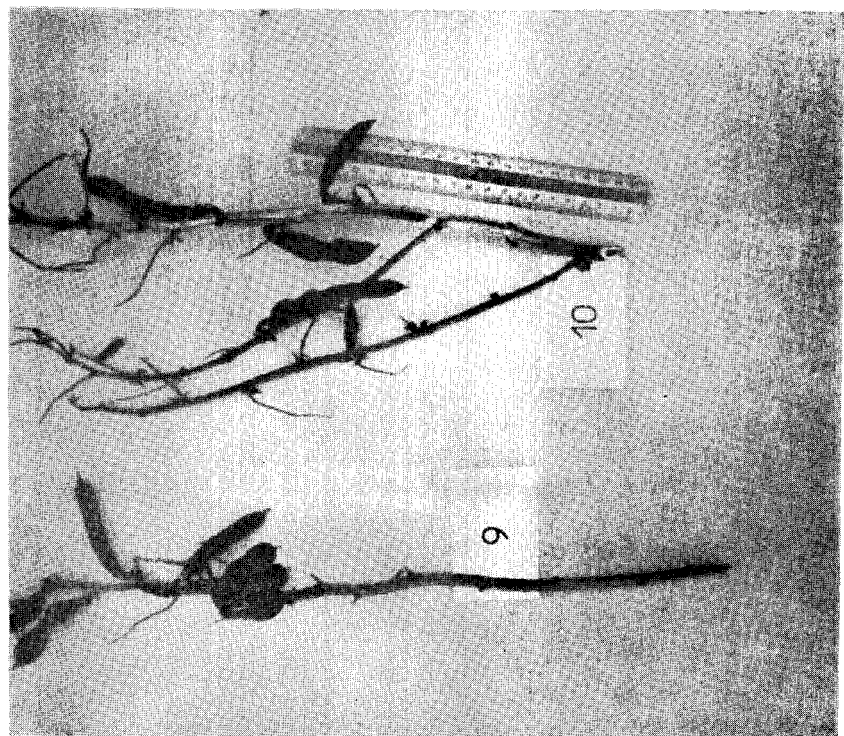


FIG. 12

- Extrait aqueux de vieilles graines de fèves — Présence de 2 pieds (sur 40), à gousses brillantes contenant des graines à tégument brun.
- Iodure de potassium à 2 % — Présence de 4 pieds (sur 30) à gousses lisses plus ou moins brillantes, dont 2 contenant des graines à tégument brun.
- Extrait de graines de pois germées — Présence d'un pied (sur 36) à graines brunes et 2 pieds à petites graines (type *aequina*).

Des variations analogues ont été constatées dans C_1 des lignées F.s. 81 A et F. 294, mais leur amplitude était plus faible que dans la lignée F. 111.

OBSERVATIONS CONCERNANT LES PLANTES C_2

Pour l'étude en C_2 , ont été retenues uniquement les plantes qui avaient été remarquées en C_1 , soit comme manifestant des caractères morphologiques remarquables, soit par leur aspect particulièrement déprimé, soit par l'aspect atypique de leurs graines. Les graines provenant de ces pieds ont été semées séparément.

Du point de vue de la vigueur apparente, ces lignées étaient en général plus uniformes que les parcelles C_1 . En ce qui concerne les lignées issues de F. 111 presque toutes étaient sensiblement aussi précoces que F. 111 typique, mais dans la plupart des cas des différences morphologiques concernant quelques caractères ont été constatées. Dans cette génération (1959-1960) la plupart des lignées expérimentées se sont comportées comme des hybrides, ce qui est apparemment normal, étant donné que les mutants ont plus de chances de se produire sous la forme hétérozygote qu'homozygote. Certaines lignées issues de plantes très atypiques en C_1 ont été en C_2 identiques à F. 111 originelle. Mais étant donné le nombre généralement faible des plantes représentant chaque lignée (généralement entre 20 et 50) il est possible que certaines mutations récessives n'aient pas pu se manifester.

Des formes nouvelles sont apparues en C_2 , notamment la forme remontante de la tige (FIG. 14 et 15), forme très rare, auparavant constatée à Rabat comme une mutation spontanée dans la lignée F. 0200 et suivie sous le numéro F.H. 195 (FIG. 16) (comme hybride, la forme homozygote n'a pas pu être obtenue et semble être létale) ; plantes chlorotiques, plantes albinos, plantes ramifiées, plantes à port semi-étalé (FIG. 17) (la forme typique étant à port dressé).

L'analyse de la descendance C_2 de fèves traitées de la lignée F. 111 à la campagne 1959-1960 a donné les résultats suivants :

Traitement avec le lysat acide de vieilles graines de soja :

Quatre lignées ont été étudiées. La première était issue d'un pied d'aspect normal qui a donné à la récolte des graines de forme normale mais à tégument brun. Parmi les 14 plantes étudiées dans cette lignée, 10 étaient d'aspect typique, mais les 4 autres à port remontant. D'autre part, dans cette même lignée, 10 étaient à graines brunes (dont les 4 à port remontant) et 4 à graines blanches typiques. Les 3 autres lignées étaient issues de pieds possédant des feuilles asciniées en C₁. Une se montra typique et identique au témoin, mais dans les deux autres, parmi les pieds typiques, il a été trouvé un pied à grosses gousses (type *macrocarpa*) et un pied à graines violacées.

Traitement avec le lysat acide de vieilles graines de pois chiche :

Trois lignées ont été étudiées. La première était issue d'un pied d'aspect normal, possédant des graines de forme typique mais à tégument brun, la seconde d'un pied possédant des feuilles asciniées et la troisième, d'un pied à feuilles doubles. La première lignée dont les plantes étaient d'aspect normal a donné, à la récolte, une disjonction suivant la couleur du tégument des graines : brun/blanc. Les 30 plantes de la deuxième lignée étaient toutes d'aspect normal, sauf une qui possédait des feuilles asciniées. C'est le seul cas constaté où l'ascination des feuilles n'est pas sûrement une conséquence directe du traitement. Dans la troisième lignée toutes les plantes étaient normales sauf une qui, plus luxuriante, possédait des gousses du type *macrocarpa*.

Traitement avec le lysat acide de graines de Nicotiana rustica :

Trois lignées étudiées, issues de pieds dont le premier était à sommet fourchu et à graines brunes, le second à feuilles doubles et le troisième plus ou moins typique, mais chétif et rabougri. La première lignée n'a donné que 7 plantes chétives (sur 20 graines semées) dont une à sommet fourchu et à graines brunes, tandis que les 6 autres étaient à graines blanches et du type normal. La deuxième lignée (30 pieds) a été composée de pieds normaux, sauf un à grosses gousses *macrocarpa* ; la forme et la couleur des graines étaient manifestement typiques, mais une disjonction nettement mendélienne a été constatée en ce qui concerne la couleur de leur hile : 24 noirs, 8 blancs. La troisième lignée était composée de 19 pieds normaux et de 6 pieds remontants, ce qui suggère une disjonction mendélienne monohybride.

Traitement avec l'extrait aqueux de vieilles graines de tabac :

Deux lignées étudiées étaient issues de pieds dont l'un possédait des gousses lisses, brillantes et dressées et le deuxième se distinguait par sa

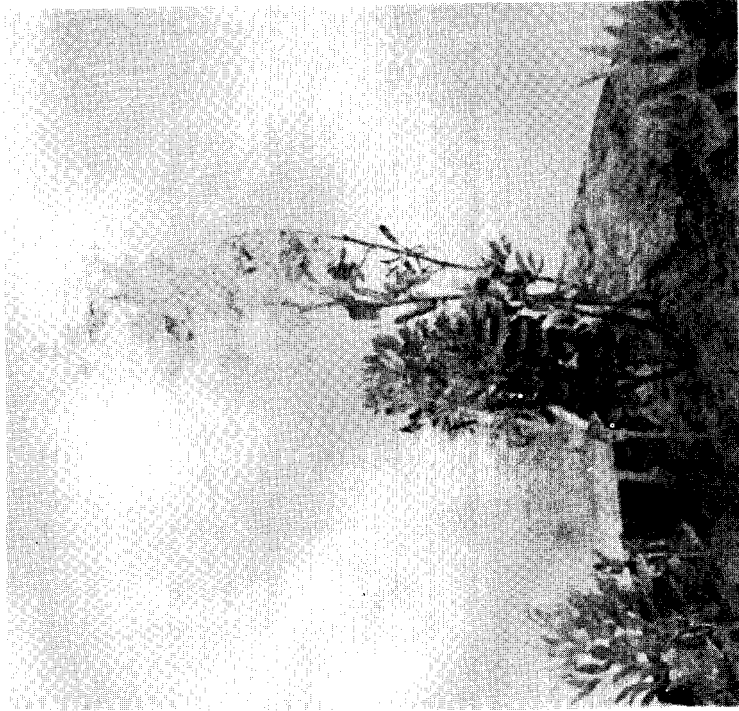


FIG. 14



FIG. 15



FIG. 16

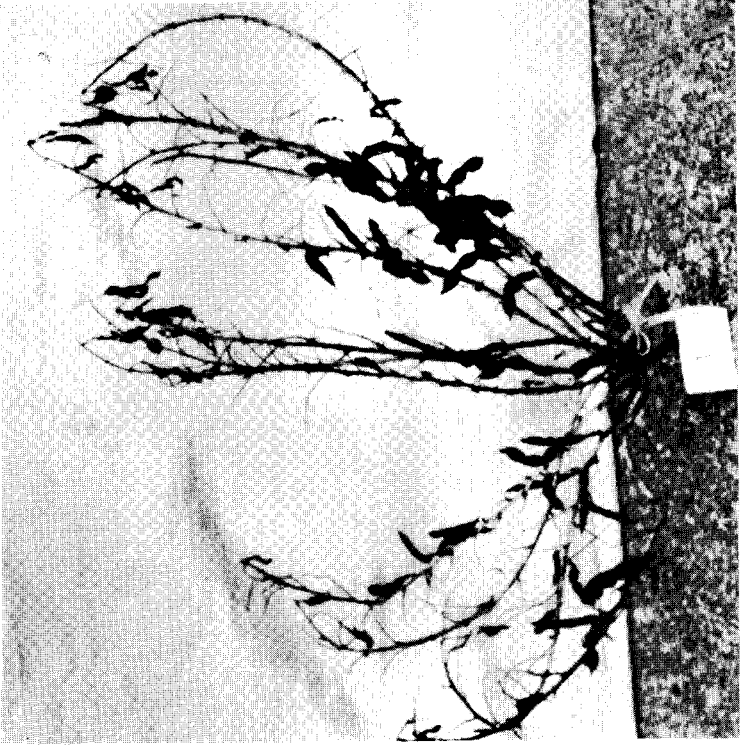


FIG. 17

luxuriance, tout en restant typique par ses caractères morphologiques. La première lignée (65 pieds) a conservé la forme lisse et dressée du parent C₁, mais 35 pieds seulement pourraient être classés comme possédant les gousses brillantes, 12 autres avaient la surface terne et poilue. En tenant compte d'une certaine difficulté de classement pour certains pieds, cette disjonction pourrait être rapprochée de la disjonction mendélienne monohybride: 48,75 : 16,25 ($X^2 = 1,483$; $p = 0,30$). La deuxième lignée, très vigoureuse, était composée de plantes tout à fait typiques.

Traitement avec l'extrait aqueux de vieilles graines de soja (non réduites en farine) :

Trois lignées issues de pieds possédant des feuilles ascinéées, et toutes à graines brunes, n'ont donné aucun descendant possédant les feuilles ascinéées. Toutes les plantes présentes étaient, dans l'ensemble, typiques. Quant à la couleur des graines, les disjonctions en brun et blanc ont été constatées dans les trois lignées, mais dans une seulement cette disjonction pourrait être assimilée à une disjonction monohybride (19 brunes, 7 blanches — théoriquement 19,5 : 6,5) ; dans les deux autres cas, les rapports entre brun et blanc étaient respectivement 8 : 8 et 24 : 13.

Traitement avec l'extrait aqueux de vieilles graines de soja (réduites en farine) :

Les pieds mères dont étaient issues les trois lignées étudiées, étaient du type F. 111, mais chétifs et rabougris. Un pied était à graines brunes. Un a reproduit des plantes normales et typiques, tandis que pour les deux autres, les disjonctions suivantes ont été constatées. Dans le premier cas (39 pieds) 27 pieds possédaient des gousses brillantes et lisses et 12 pieds des gousses ternes. (Chiffres théoriques pour une hypothèse monofactorielle 29,25 : 0,75 ; $X^2 = 0,689$; $p = 0,50$). Dans l'autre (34 pieds), issue du parent à graines brunes, une disjonction s'est manifestée : 21 pieds à graines brunes et 13 pieds à graines blanches.

Traitement avec la solution d'iodure de potassium à 2 % :

Parmi les quatre lignées issues de pieds à sommet de tiges fourchues, l'une se révéla parfaitement typique, mais dans les trois autres une variation de port a été signalée (plantes à port dressé, plantes à port étalé et les intermédiaires). La bifurcation de la tige ne s'est manifestée dans aucune de ces quatre lignées.

Traitement avec la solution de colchicine à 2 % :

Les trois lignées étudiées étaient issues de pieds dont un se distinguait par sa forme chétive et les deux autres, d'aspect normal en végétation,

avaient donné des graines violacées. Dans la première, une très grande variabilité du port a été observée ; dans les deux autres, une disjonction en graines violacées et graines blanches, respectivement 19 violacées, 13 blanches et 20 violacées, 12 blanches.

Traitement avec l'extrait obtenu de graines de pois germées :

Deux lignées étudiées, dont une était issue de pieds qui ont produit des graines beaucoup plus petites que la norme et l'autre d'un pied possédant des graines brunes. La première lignée était composée de pieds plus ou moins typiques et la deuxième a donné une disjonction en ce qui concerne la couleur du tégument (13 bruns, 4 blancs).

Dans la descendance C_2 d'autres traitements, une grande variabilité de caractères quantitatifs a été souvent observée, mais il n'a été repéré aucune forme morphologique facile à analyser.

La descendance des lignées F.s. 81 A et F. 294 n'a pas été suffisamment étudiée en C_2 et C_3 , faute de temps, mais quelques pieds très luxuriants repérés dans C_3 de F. 294 traités (campagne 1958-1959) ont donné des disjonctions intéressantes.

Parmi ces lignées notons :

ftc 7 : (issue d'un traitement à l'acénaphène en 1956). Pied mère présentant des gousses sensiblement plus longues que le type (F. 294). Sur 26 plantes en culture, 1 pied avait des gousses très longues, pendantes, mais étroites (type particulier non observé encore dans la collection du C.R.A. parmi les féveroles) ; 4 pieds possédaient des gousses typiques (F. 294), tous les autres ressemblaient plus ou moins au parent C_3 .

ftc 8 : (issue de la lignée F. 294 traitée à l'hexa-chloro-cyclohexane en 1956). Pied très robuste en C_3 et à gousses brillantes (comme F. 294) ; a donné 48 pieds à gousses brillantes et 13 pieds à gousses ternes. Cette disjonction est à rapprocher de la disjonction monohybride 45,75 : 15,25. $X^2 = 0,443$; $p = 0,50$.

ftc 12 : (issue de la lignée F. 294, traitée à l'hexa-chloro-cyclohexane en 1956). Le pied trouvé dans C_3 et qui a donné naissance à cette lignée avait des gousses dans l'ensemble typiques, brillantes, mais plus amples. Cette lignée d'apparence assez homogène était composée de 68 pieds à gousses lisses, brillantes et de 24 pieds à gousses ternes velues. Cette disjonction est évidemment mendélienne simple (théoriquement : 69 : 23 ; $X^2 = 0,059$; $p = 0,90$).

ftc 15 : (issue de la lignée F. 294 traitée à l'hexa-chloro-cyclohexane en 1956). Lignée issue d'un pied luxuriant à gousses de même type que celles du parent de la lignée précédente. Ici nous trouvons encore une

disjonction : 58 pieds à gousses brillantes lisses et 17 pieds à gousses ternes velues (chiffres théoriques : 56,25 : 18,75 ; $X^2 = 0,217$; $p = 0,80$).

fic 17 : (issue de la lignée F. 294 traitée avec la colchicine à 2 %) Pied luxuriant repéré en C_3 , à belles graines violettes (type *minor*), a été observé pour la première fois dans les féveroles étudiées au C.R.A. depuis 15 ans. Une disjonction mendélienne a été constatée : 198 pieds à graines violacées et 68 pieds à graines blanches (chiffres théoriques respectifs : 199,5 et 66,5 ; $X^2 = 0,045$; $p = 0,90$).

Il faut également signaler quelques autres lignées de cette série, très luxuriantes, issues de plantes ramifiées (ramifications du second et même du troisième ordre, bien au-dessus du niveau du collet, cas exceptionnel chez les fèves) et qui ont conservé cette caractéristique en C_4 . Dans certaines lignées le pourcentage de ces plantes atteint 90 %. La plupart de ces lignées étaient issues de la lignée F. 294, après le traitement à la colchicine à 2 %, en 1956. Ce caractère est apparemment héréditaire, mais son mode de transmission semble être complexe.

QUELQUES CONSIDERATIONS

A PROPOS DES RESULTATS OBTENUS

Les modifications très diverses observées sur les plantes après les traitements (fasciations, feuilles ascinéées, feuilles doubles, bifurcations de la partie supérieure de la tige) sont vraisemblablement, dans la plupart des cas, des sommutations qui en même temps sont des indicateurs d'une crise grave que subit la plante à la suite du traitement. Mais d'autres modifications apparaissent dans les générations qui suivent le traitement. Bien qu'en C_1 , dans un certain nombre de cas, ces phénomènes puissent encore être considérés comme des sommutations, à partir de C_2 , ce sont incontestablement des mutations qui généralement se présentent sous la forme hétérozygote, et la disjonction qui s'en suit est généralement mendélienne simple, ne concernant le plus souvent qu'un seul caractère.

Parmi les mutations apparues, aucune ne pourrait être considérée comme spécifique de tel ou tel traitement. Le manque de temps et de place ne nous a pas permis d'étendre la culture de C_2 et C_3 . Il est incontestable, compte tenu du nombre relativement faible des plantes en étude (2 000 à 3 000 pour l'ensemble des traitements chaque année), que les

mutations récessives rares n'avaient pas beaucoup de chances d'apparaître. Néanmoins, les mutations obtenues sont assez nombreuses et peuvent être classées, suivant la partie ou l'organe de la plante modifiée, de la manière suivante :

Appareil végétatif : Plantes albinos, plantes à port divers (port étalé, port en gobelet, etc.), plantes semi-remontantes, plantes à ramification dans la partie aérienne de la plante et non au niveau du collet comme c'est le cas chez les fèves ; plantes complètement stériles.

Gousses : Gousses d'autres types (*macrocarpa*, *longua*, *aequina*, *minor*), chez les fèves du type *divulgata*. Apparition de gousses ternes et velues chez les formes à gousses lisses et brillantes.

Graines : Variations de la grosseur et de la forme de la graine ; modification de la couleur du tégument (graines brunes, et violacées chez la variété à graine blanche) ; apparition de graines à hile blanc chez la variété à hile noir ; adhérence de tissus internes des gousses à la surface de la graine.

Il est important de noter qu'en général les formes nouvelles repérées ne diffèrent de la forme typique que par un seul caractère.

Dans le cas de F. 111, qui tranche nettement sur l'ensemble des variétés du C.R.A. par sa précocité, toutes les formes dérivées après les traitements sont en général pareillement précoces, ce qui confirme qu'il s'agit bien de mutations et non d'hybridations fortuites.

Dans cette étude préliminaire, les doses employées étaient forcément arbitraires, mais en général assez fortes, tout au moins en ce qui concerne les substances chimiques caractérisées. Mais, fait surprenant, les substances injectées même à doses très élevées étaient presque toujours supportées par la plante. Dans deux cas les plantes furent tuées 48 heures après l'injection, notamment à la suite d'injections d'alcool ou d'éther (de 75% à 100 % respectivement) par temps sec et chaud (période de chergui). Dans des conditions plus clémentes, les plantes ont supporté ces doses, bien qu'étant très abîmées, chétives et à peu près stériles. Pour les autres substances et les autres concentrations, la tolérance de la plante apparaît en fonction des conditions externes. Cela est dû incontestablement à la dilution plus ou moins rapide de la substance toxique dans les tissus gorgés d'eau ou au contraire déshydratés par la sécheresse.

Dans le cas de différents extraits organiques (extraits de vieilles graines, extraits de tissus verts d'autres espèces) la quantité de matière introduite est généralement faible mais non négligeable, comme nous le montre le tableau II, établi d'après les analyses de M^{me} DUREAU.

TABLEAU II

**Extraits secs et cendres de solutions obtenues par macération
de 50 grammes de substances dans 100 cm³ d'eau,
pendant 48 heures, suivie de filtrage**

SOLUTIONS ISSUES DE :	CENDRES	EXTRAITS SECS
Farine de pois chiche dans l'eau salée à 2 %	7,14 %	2,26 %
Farine de pois chiche (graines de la récolte 1954)	2,89 %	0,33 %
Graines de pois chiche de la récolte 1957	0,39 %	0,07 %
Graines de tabac de la récolte 1948	0,43 %	0,11 %
Farine de soja (graines de la récolte 1955)	5,23 %	0,70 %
Graines de <i>Phaseolus lunatus</i> de la récolte 1953	1,18 %	0,23 %

Les substances injectées sont absorbées rapidement par la plante. On ne constate pas de dépôt sur les parois des cellules de la cavité centrale ni au fond de cette cavité. En tenant compte de ce que cette cavité, suivant l'âge, représente au moment de l'injection 5 % à 20 % du volume total de la plante et en supposant que les substances injectées se répartissent régulièrement à l'intérieur de la plante, parties inertes de la plante comprises, la concentration doit être diluée vingt à cinq fois. Même après cette dilution la plupart des substances injectées doivent être toxiques.

Une réaction curieuse des tissus de la plante est observée régulièrement quelques jours après l'injection de certaines substances, notamment les extraits de vieilles graines : la prolifération brusque et anarchique des éléments de tissus conducteurs et de soutien et surtout de cellules du parenchyme médullaire. Il reste à préciser s'il s'agit dans ce cas d'une simple manifestation trophique ou bien d'un véritable néoplasme.

CONCLUSION

A partir de ces essais de repérages préliminaires, il est très difficile de dire laquelle, parmi les substances employées, donne les résultats les plus intéressants, pour le but proposé. Toutefois, l'emploi de substances mitoclasiques à fortes concentrations (colchicine, acénaphène et hexachloro-cyclo-hexane) semble à retenir, ainsi que celui de différents extraits de vieilles graines (tabac, soja, pois chiche), surtout après leur hydrolyse acide.

Dans les conditions de nos essais, il n'était pas possible d'évaluer avec exactitude les taux de mutations obtenus dans chaque traitement, parce qu'en C_2 nous n'avons cultivé qu'un nombre limité de pieds extraits de C_1 , pieds qui, par leur aspect morphologique, étaient apparemment touchés par le traitement. Rappelons que notre but était essentiellement utilitaire. Mais la méthode proposée nous paraît rentable parce qu'à notre avis, elle présente les avantages suivants :

1. Le mode d'administration des substances chimiques est simple, facile et rapide.
2. Le traitement pourrait être exécuté en plein champ.
3. Il est possible d'introduire à l'intérieur de la plante des quantités appréciables de substances en solutions.
4. Il est possible de répéter le traitement plusieurs fois sur le même objet*.
5. L'aptitude de la plante à supporter des concentrations élevées de substances toxiques administrées par cette voie est apparemment plus grande que lorsqu'elles sont introduites par les racines et par les graines.

Il est donc concevable qu'on puisse dans une certaine mesure, suivant le moment de l'exécution du traitement, la nature des substances employées, la nature des solvants utilisés et en pratiquant des ablations de certains organes de la plante, diriger ces substances :

- soit vers les méristèmes,
- soit vers les boutons floraux ou les fleurs au moment de l'anthèse (action sur la ligne germinale),
- soit vers les jeunes gousses (action sur les ovules fécondés),
- soit vers la base de la tige et vers les racines de manière à ce que les substances introduites agissent sur les jeunes pousses (huile employée comme solvant), partant de la base de la plante.

* Sauf, bien entendu, dans le cas où la cavité interne est rapidement obstruée par la prolifération vigoureuse des cellules médullaires.

ملخص

صبت مواد محاولة مختلفة (مواد متكلزك، مديسات عضوية، املاح معدنية، مستخلصات الحبوب القديمة ومستخلصات انسجة انواع اخرى) بواسطة محقنة تحت الجلد في تجويف موجود داخل الساق وذلك رغبة في تسبب التبادل في قيسيا فابا، ل *Vicia faba* L. قد لوحظت في الاغصان المختبرة تغيرات شكلية محسوسة. منها (ازعاجات النمو، تشابك الاوراق وبرقمتها وتفريع الاغصان...الخ) شوهدت اشكال مختلفة متغيرة ابتداءً من س تخص :

ا - اعضاء نباتيه (هياة النبات، شكل التشعب، نباتات مصادرة بالبرص واخرى عاقرة).

ب - القشور (اشكالها، ضخامتها وازغابها).

ج - الحبوب (ضخامتها، شكلها ولون غشاؤها وسرتها).

ان احسن النتائج التي حصل عليها من بين المواد المختبرة

كانت باستعمال مواد متكلزك *mitoclasiques* القوية النجم

(كلشسن *colchicine* ، اسنفتن *acénaphène* ، هكس - كلر

سكل - هكسن *hexa-chloro-cyclo-hexane*) وكذلك مستخلصات

الحبوب القديمة (التبغ، الصوية و الحوص).

RÉSUMÉ

Dans le but de provoquer des mutations chez *Vicia faba* L., différentes substances en solutions (substances mitoclasiques, solvants organiques, sels métalliques, extraits de vieilles graines et extraits de tissus d'autres espèces)

ont été injectées, à l'aide d'une seringue hypodermique, dans la cavité se trouvant à l'intérieur de la tige.

Des modifications morphologiques notables ont été observées sur les rameaux traités (troubles de croissance, fasciations, chlorose et panachure des feuilles, dichotomie de rameaux, etc.).

Divers types de mutants ont été constatés à partir de C_1 concernant :

- a. l'appareil végétatif (port de la plante, type de ramification, plantes albinos, plantes stériles) ;
- b. les gousses (leur forme, grosseur, pubescence) ;
- c. les graines (grosseur, forme, couleur du tégument et du hile).

Parmi les substances expérimentées, les meilleurs résultats ont été obtenus avec les substances mitoclasiques à fortes concentrations (colchicine, acénaphène, hexa-chloro-cyclo-hexane) ainsi que les extraits de vieilles graines (tabac, soja et pois chiche).

P.B.

RESUMEN

Con el fin de obtener mutaciones en *Vicia faba* L. diferentes sustancias en solución (sustancias mitoclásicas, disolventes orgánicos, sales metálicas, extractos de granos viejos y extractos de tejidos de otras especies) han sido inyectadas con una jeringa hipodérmica en la cavidad situada en el interior del tallo.

Se han observado notables modificaciones morfológicas en los ramos tratados (trastornos de crecimiento, deformaciones teratológicas, clorosis y manchas en las hojas, dicotomía de los ramos, etc.).

Se han comprobado diversos tipos de mutaciones a partir de C_1 concernientes a:

- a. aparato vegetativo (porte de la planta, tipo de ramificación, plantas albinas, plantas estériles) ;
- b. vainas (su forma, grosor, pubescencia) ;
- c. granos (grosor, forma, color del tegumento y del cabillo).

Entre todas las sustancias experimentadas los mejores resultados han sido obtenidos con las sustancias mitoclásicas en concentraciones fuertes (colchicina, acenafteno, exa-cloro-ciclo-exano) y con los extractos de granos viejos (tabaco, soja, garbanzo).

J.G.

SUMMARY

In order to induce mutations in *Vicia faba* L, various substances in solution (mitoclastic substances, organic solvents, metal salts, old seed extracts as well as tissue extracts from other species) were injected by means of a hypodermic syringe inside the plant stem.

Notable morphological changes were observed on the treated branches, namely : growth disorders, fasciations, leaf chlorosis and variegation, dichotomy of branches, etc.

Various mutant types were observed starting from C₁ and bearing on:

- a. vegetative parts (plant habit, branching system, albino plants, sterile plants);
- b. pods (their form, size and pubescence);
- c. seeds (size, form, seed coat and hilum colouring).

Among the substances tested, the best results were obtained with highly concentrated mitoclastic substances (colchicine, acenaphthene, hexachloro-cyclo-hexane) and also with old seed extracts (tobacco, soya bean and chick pea).

R.G.

BIBLIOGRAPHIE

1. ANGULO-CARPIO, M.D. — 1957. Acción de agentes químicos en citogenética — *Genética Ibérica*, **9**, 309-328.
1958. *Idem*, **10**, 193-208.
1959. *Idem*, **11**, 99-112.
1960. *Idem*, **12**, 205-222.
2. RÖBBELIN, G. — 1959. 15 Jahre Mutations-Auslösung durch Chemikalien — *Der Züchter*, **29**, 92-95.