

**RÉSUMÉ**

Le cerisier est une espèce délicate en matière de pollinisation. Les variétés cultivées étant pour la plupart autostériles, il faut intercaler dans les plantations des variétés pollinisatrices dont les périodes de floraison concordent. Afin de déterminer l'interpollinisation des variétés, des tests de compatibilité pollinique en verger sont réalisés depuis de nombreuses années en partenariat avec les stations régionales. Lourds et délicats, ils donnent bien souvent des résultats aléatoires en fonction des conditions pédoclimatiques de l'année. Aussi des outils biomoléculaires se sont développés depuis quelques années. Une étude en cours, associant le Ctifl et l'Inra Bordeaux depuis 2006, a permis d'identifier clairement les groupes d'incompatibilité pollinique des principales variétés de cerisier utilisées en amélioration ou en arboriculture fruitière en France.

**BIOMOLECULAR STUDIES  
AND ORCHARD TESTS:  
POLLEN COMPATIBILITY OF  
CHERRY VARIETIES**

*Cherry is a tricky species when it comes to pollination. Since most commercial cultivars are self-sterile, they must be planted interspersed with pollinating varieties having the same flowering seasons. To determine the cross-compatibility between different varieties, pollen compatibility tests have been carried out in the orchard for many years in partnership with regional research stations. These tests are cumbersome and tricky, and often yield unpredictable results depending on the pedoclimatic conditions of the year. For this reason, biomolecular tools have been developed in recent years. A study under way since 2006 by a partnership between Ctifl and Inra Bordeaux allowed a clear identification of pollen incompatibility groups among the main cherry cultivars used for breeding or in cherry orchards in France.*



## Études biomoléculaires et tests en verger

# Les compatibilités polliniques des variétés de cerisier

Chez le cerisier, il existe un système d'incompatibilité pollinique particulier : les cerisiers appartenant au même groupe d'incompatibilité ne peuvent pas se féconder entre eux. Jusqu'à récemment, l'identification des groupes d'incompatibilité était difficile car cela nécessitait de réaliser des croisements sur le terrain, mais diverses paires d'amorces ont été développées pour amplifier les séquences visant à caractériser les allèles des deux gènes supposés responsables de l'incompatibilité. Ainsi les tech-

niques biomoléculaires permettent aujourd'hui d'identifier en laboratoire le groupe pollinique de chaque variété. Aussi depuis 2006, une étude, associant le Ctifl et l'Inra Bordeaux, a pour but d'identifier les groupes d'incompatibilité pollinique des principales variétés de cerisier. Cette étude va donc contribuer à mieux connaître la dynamique de croisements entre ces diverses variétés en apportant ainsi une information complémentaire aux observations déjà recueillies sur le terrain.



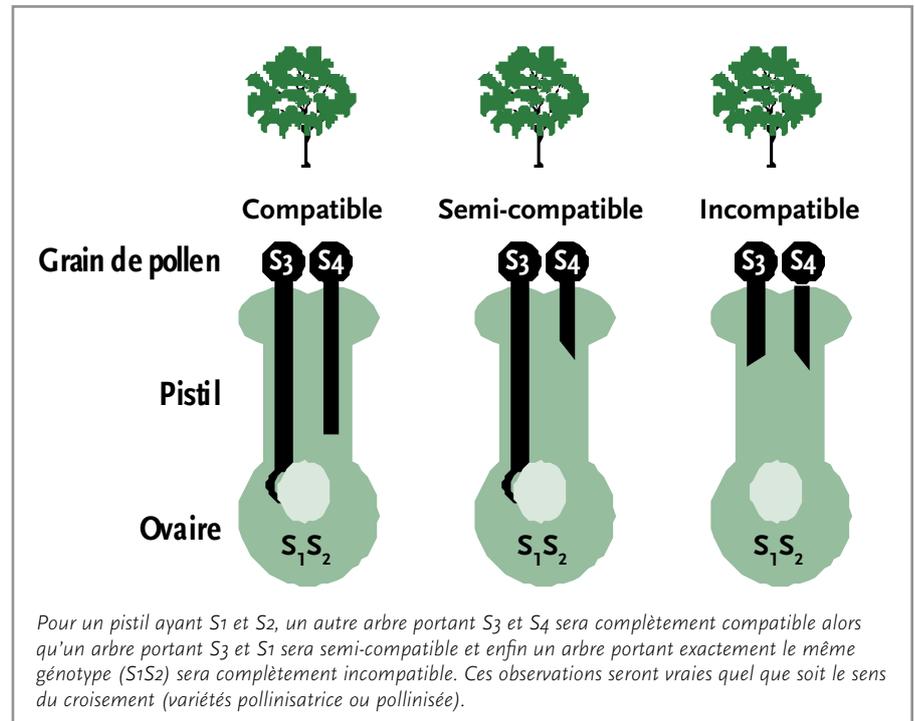
## Les mécanismes de l'incompatibilité pollinique du cerisier

Il existe de nombreux systèmes empêchant l'autofécondation chez les plantes. L'auto-incompatibilité peut être due à la morphologie de la fleur (positionnement des étamines par rapport au pistil par exemple). Elle peut également être d'origine génétique. Cette auto-incompatibilité d'origine génétique repose sur des gènes d'incompatibilité (S) existant sous forme de nombreux allèles ( $S_1, S_2, S_3, \dots, S_x$ ). Elle va s'exprimer lorsqu'un grain de pollen essaie de féconder une plante. Le pollen, gamétophyte mâle haploïde, ne contient qu'un seul allèle pour chaque gène. Mais une partie des composants de sa paroi a été synthétisée par les cellules nourricières du pollen (le tapis) au cours de sa formation. Ces cellules sont diploïdes et ont donc les deux allèles pour chaque gène. Dans le cas de l'auto-incompatibilité sporophytique, si l'un des deux allèles de la plante diploïde qui a généré le pollen est le même que l'un des deux allèles de l'ovaire (diploïde), le tube pollinique ne pourra pas germer et la fécondation ne pourra avoir lieu. Seule la fécondation entre deux plantes éloignées disposant d'allèles différents est possible. Dans le cas de l'auto-incompatibilité gamétophytique, si l'allèle porté par le génome haploïde du pollen est identique à l'un des deux allèles de l'ovaire (diploïde), la fécondation est impossible. Dans ce second cas, seul le croisement entre des plantes ayant au moins un allèle différent est possible. Le cerisier est une espèce pourvue d'un système d'auto-incompatibilité gamétophytique. Ce système rend donc obligatoire la fécondation croisée (ou encore appelée allogamie stricte) (FIGURE 1).

## Déterminisme moléculaire de l'auto-incompatibilité gamétophytique

Il existe différents types d'auto-incompatibilité gamétophytique. Celle qui s'exprime chez le cerisier repose sur l'action d'une enzyme appelée S-Rnase dont l'action consiste à empêcher la progression du tube pollinique du pollen portant un allèle identique à la plante. Un modèle propose que la plante sécrète deux S-Rnases, codées par un gène. D'autre part, une protéine du pol-

FIGURE 1 - Fécondation croisée ou allogamie stricte



len, codée par un second gène lié à celui codant pour la S-Rnase, se fixerait à une des deux S-Rnases dans le cas de l'auto-incompatibilité, activant ainsi la S-Rnase et la dégradation du tube pollinique. Ce modèle reste en discussion dans la littérature (Franklin-Tong et Franklin, 2003). Pour résumer, l'auto incompatibilité gamétophytique repose donc sur l'expression de deux gènes liés.

Il faut également préciser qu'un allèle de compatibilité a été créé par l'homme. Cet allèle est dénoté  $S_4'$  et correspond à une modification de l'un des deux gènes. La variété mutée originellement s'appelle Stella et certaines variétés ayant Stella dans leur ascendance sont également autocompatibles.

## Méthodes pour étudier les groupes d'incompatibilité

Deux méthodes ont principalement été développées pour établir les groupes d'incompatibilité chez le cerisier. Historiquement, les améliorateurs ont tout d'abord utilisé des croisements systématiques entre variétés pour tester la compatibilité. Puis, avec l'avènement de la biologie moléculaire, les généticiens ont utilisé de nouveaux outils permettant de déterminer la compatibilité

sur la base du polymorphisme des gènes déterminant les phénotypes au niveau du pollen et du pistil. Cela a permis de classer les cerisiers en divers groupes d'incompatibilité pollinique, ainsi les variétés appartenant au même groupe d'incompatibilité (ayant les mêmes allèles S) ne peuvent pas se féconder entre elles.

## Les tests de compatibilité pollinique en verger

Depuis de nombreuses années, en partenariat avec les stations régionales, des tests de compatibilité pollinique en verger sont réalisés afin de déterminer l'inter pollinisation des variétés. La pollinisation manuelle permet de contrôler les parents du fruit obtenu et donc de déduire la compatibilité ou



Castration des fleurs au stade D

incompatibilité pollinique de deux variétés. Elle consiste tout d'abord en la castration des fleurs au stade D, bouton blanc (fleurs encore closes) de la variété que l'on va polliniser. Ensuite, ces fleurs castrées sont pollinisées au pinceau, avec du pollen préa-



Pollinisation au pinceau des fleurs castrées

blement récolté et séché, sur la variété voulue. Une fois la pollinisation réalisée, des manchons sont posés afin de protéger les fleurs de toutes pollinisations naturelles, ils seront retirés lorsque les fleurs sont totalement fanées.

Pour l'analyse des résultats, les fruits noués (ayant grossi et bien vert) sont comptés et le pourcentage de nouaison est calculé par rapport au nombre de fleurs fécondées au départ. Lorsque ce taux est supérieur à 10 %, les variétés sont considérées comme compatibles. Et lorsqu'il est inférieur à 5 % alors les variétés sont classées comme incompatibles. Mais ces tests lourds et délicats donnent bien souvent des résultats aléatoires en fonction des conditions pédoclimatiques ce qui les rends difficiles à interpréter. Pendant de nombreuses années, seulement six allèles (de S1 à S6) codant l'incompatibilité étaient ainsi connus ; ils ont été détectés par des tests classiques de pollinisation effectués notamment par le John Innes Institute (par exemple Crane et Brown, 1937). Une table des génotypes des variétés fut présentée par Matthews et Dow en 1969.

### Les études biomoléculaires

Les études de génétique moléculaire ont permis de caractériser plus précisément le nombre d'allèles chez le cerisier. Les travaux ont d'abord porté sur la révélation des différentes S-Rnases présentes dans les styles des différentes variétés (Bošković et Tobutt, 1996 ; Bošković et al., 1997). De nouveaux allèles ont été découverts. Bošković et al. (1997) et Bošković et Tobutt (2001) font état des allèles S7 à S14 sur la base de zymo-

TABLEAU 1 - Groupes d'incompatibilité pollinique des principales variétés de cerisier

Variétés	Clone	Profil S (Allèles)	Groupe d'incompatibilité pollinique
Arcina® Fercer	2 680	S2 S6	25
Badacsony	2 672	S3 S12	22
Belge	3 768	S3 S12	22
Bellise® Bedel*	3 821	S1 S9	18
Bigalise® Enjidel*	3 528	S2 S3	4
Black Star*	3 915	S1 S3	2
Burlat	370	S3 S9	16
Coralise® Gardel*	3 498	S2 S3	4
Duroni 3	2 472	S3 S6	6
Earlise® Rivedel*	3 540	S1 S9	18
Early Red, Maraly*	3 663	S1 S9	18
Ferdiva*	3 115	S3 S6	6
Ferdouce*	3 239	S1 S2	1
Fermina*	3 122	S1 S14	30
Fernier	2 315	S1 S6	20
Fertard*	3 382	S3 S6	6
Fertille*	3 476	S3 S6	6
Firm Red, Marim*	3 661	S1 S4	9
Folfer*	3 387	S6 S9	10
Giant Red, Mariant*	3 746	S1 S3	2
Grace Star*	3 917	S4' S9	SC S4' S9
Hedelfingen	1 877	S3 S5	7
Karina		S3 S4	3\$
Kordia	2 509	S3 S6	6
Lapins	2 180	S1 S4'	SC/O S1 S4'
New Moon® Sumini	3 028	S2 S3	4
Noire de Meched	2 678	S3 S12	22
Primulat® Ferprime*	3 094	S2 S9	43
Rainier	1 378	S1 S4	9
Regina	2 868	S1 S3	2
Samba® Sumste*	2 945	S1 S3	2
Satin® Sumele*	3 696	S1 S3	2
Selah®*	4 001	S3 S4	3
Skeena*	3 632	S1 S4'	SC/O S1 S4'
Staccato*	3 554	S3 S4'	SC/O S3 S4'
Stark Hardy Giant	1 927	S1 S2	1
Sumbola		S1 S3	2\$
Summit	2 017	S1 S2	1
Sunburst	2 216	S3 S4'	SC/O S3 S4'
Sweetheart® Sumtare*	3 502	S3 S4'	SC/O S3 S4'
Sweet Early® Panaro 1*	3 573	S1 S9	18
Techlovan*	3 009	S3 S6	6
Tieton®*	4 000	S3 S9	16
Van	1 903	S1 S3	2
Vanda®	3 742	S1 S5	14

(Résultats provenant essentiellement des études 2006-07 menées par l'INRA de Bordeaux)

\* = COV

\$ = Résultats provenant uniquement de la bibliographie (Schuster et al., 2005).

SC/O = variété auto fertile/donneur universel, information provenant uniquement de la bibliographie (Schuster et al., 2005 ; Bošković R et al., 1996 ; Sonneveld T et al., 2001 ; Sonneveld T et al., 2003).



grammes de protéines styloïdes. S8 fut ensuite déclaré comme état S3 de part sa même fonctionnalité (Sonneveld et al. 2001).

Ensuite, les efforts de différentes équipes ont porté sur le développement d'outils moléculaires et sur l'utilisation de la PCR (Polymerase Chain Reaction) de l'ADN (acide désoxyribonucléique) génomique. Des amorces permettant l'amplification des deux gènes s'exprimant dans le style et dans le pollen permettent de génotyper chaque variété et de connaître les allèles du système d'auto-incompatibilité gamétophytique (Sonneveld et al. 2001 ; Sonneveld et al., 2003 ; Sonneveld et al., 2006 ; Vaughan et al., 2006).

## Résultats de l'étude et conséquences pratiques

Cette étude, réalisée depuis 2006 avec le Ctifl et l'Inra de Bordeaux, a permis d'identifier les groupes d'incompatibilité pollinique des principales variétés de cerisier (**TABLEAU 1**).

Pour garantir une pollinisation réussie, il faut que les deux variétés choisies n'appartiennent pas au même groupe d'incompatibilité, mais également qu'elles fleurissent en même temps et que la pollinisation par les abeilles soit garantie.

Des degrés de compatibilité existent entre les variétés :

- deux variétés sont compatibles, lorsqu'elles n'ont aucun allèle S commun, comme Ferdouze Cov (S1 S2) et Folfer Cov (S6 S9) ;
- deux variétés sont semi-compatibles, lorsqu'elles ont un seul allèle S commun, comme FolferC Cov (S6 S9) et Bellise® Bedel Cov (S1 S9) ;
- deux variétés sont incompatibles, lorsqu'elles ont les mêmes allèles S, comme Belge (S3 S12) et Badacsony (S3 S12).

Deux variétés semi-compatibles sont capables de se polliniser mais il semble qu'elle le soit dans une moindre mesure que deux variétés compatibles. Dans le cas de variétés très productives, il pourrait donc être conseillé de les polliniser avec des variétés plutôt semi-compatibles. Par exemple, polliniser de préférence la variété très productive Bellise® Bedel Cov par Folfer Cov semi-compatible plutôt que par Sweetheart® Sumtare Cov compatible.

À l'inverse, dans le cas de variétés peu productives, il pourrait être conseillé de les pol-



liniser avec des variétés plutôt compatibles. Par exemple, polliniser de préférence la variété peu productive Techlovan Cov par Stark Hardy Giant, variété compatible plutôt que par Satin® Sumele Cov semi-compatible.

Il existe depuis plusieurs années des variétés autofertiles (SC, voir plus haut), la majorité de ces variétés sont aussi des pollinisateurs universels (O), pouvant fertiliser toutes les autres variétés à condition que

les périodes de floraison concordent. La caractérisation plus poussée de ces variétés autocompatibles fera l'objet de nouvelles études dans les années à venir avec l'Inra de Bordeaux.

Ainsi, seules les variétés dont la caractérisation moléculaire de l'auto fertilité (SC/O) a fait l'objet d'une publication bibliographique sont mentionnées comme telle dans les **TABLEAUX 1 ET 2**. ■

## Bibliographies

- Bošković R, Tobutt KR, 1996. Correlation of stilar ribonuclease zymograms with incompatibility alleles in sweet cherry, *Euphytica*, 90, 245-250.
- Bošković R, Russel K, Tobutt KR, 1997. Inheritance of stilar ribonucleases in cherry progenies, and reassignment of incompatibility alleles to two compatibility groups, *Euphytica*, 95, 221-228.
- Bošković R, Tobutt KR, 2001. Genotyping cherry cultivars assigned to incompatibility groups, by analysing stilar ribonucleases, *Theor Appl Genet*, 103, 475-485.
- Crane MB, Brown AG, 1937. Incompatibility and sterility in the sweet cherry, *Prunus avium* L., *J Pomol Hort Sci*, 15, 86-116.
- De Cuyper B, Sonneveld T, Tobutt KR, 2005. Determining self-incompatibility genotypes in Belgian wild cherries, *Mol Ecol*, 14, 945-955.
- Franklin-Tong VE, Franklin FCH, 2003. The different mechanisms of gametophytic self-incompatibility, *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B*, 1025-1032.
- Matthews P, Dow KP, 1969. Incompatibility groups: sweet cherry (*Prunus avium*), In: Knight RL (ed), *Abstract bibliography of fruit breeding and genetics to 1965*, Prunus. Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, 540-544.
- Sonneveld T, Robbins TP, Bošković R, Tobutt KR, 2001. Cloning of six cherry self-incompatibility alleles and development of allele-specific detection, *Theor Appl Genet*, 102, 1046-1055.
- Sonneveld T, Tobutt KR, Robbins TP, 2003. Allele specific detection of sweet cherry self-incompatibility (S) alleles S1 to S16 using consensus and allele-specific primers. *Theor Appl Genet*, 107, 1059-1070.
- Sonneveld T, Robbins TP, Tobutt KR, 2006. Improved discrimination of self-incompatibility S-RNase alleles in cherry and high throughput genotyping by automated sizing of first intron polymerase chain reaction products. *Plant Breeding*, 125, 305-307.
- Schuster M, Fruh S, 2005. Bestimmung Der S-Allel in Brennkirschensorten (*Prunus Avium* L.) *Erwerbsobstbau*, 47(2/3), 40-45.
- Vaughan SP, Russell K, Sargent DJ, Tobutt KR, 2006. Isolation of S-locus F-box alleles in *Prunus avium* and their application in a novel method to determine self-incompatibility genotype, *Theor Appl Genet*, 112, 856-866.

TABLEAU 2 - Compatibilité pollinique des principales variétés de Cerisier

VARIÉTÉS	Primulat® Ferprime*	Earlise® Rivedel*	Bellise® Bedel*	Early Red, Maraly*	Folfer*	Ferdouce*	Black Star*	New Moon® Sumini	Samba® Sumste*	Lapins	Sweet Early® Panaro 1*	Sweetheart® Sumtare*	Vanda®	Giant Red, Mariant*	Bigalise® Enjidel*	Fertille*	Burlat	Coralise® Gardel*	Satin® Sumele*	Arcina® Fercer	
Primulat® Ferprime*	■																				
Earlise® Rivedel*		■																			
Bellise® Bedel*			■																		
Early Red, Maraly*				■																	
Folfer*					■																
Ferdouce*						■															
Black Star*							■														
New Moon® Sumini								■													
Samba® Sumste*									■												
Lapins										■											
Sweet Early® Panaro 1*				■							■										
Sweetheart® Sumtare*												■									
Vanda®													■								
Giant Red, Mariant*														■							
Bigalise® Enjidel*															■						
Fertille*																■					
Burlat																	■				
Coralise® Gardel*																		■			
Satin® Sumele*																			■		
Arcina® Fercer																				■	
Fermina*																					■
Stark Hardy Giant																					
Van																					
Tieton®*																					
Staccato*																					
Grace Star*																					
Techlovan*																					
Selah®*																					
Fernier																					
Rainier																					
Hedelfingen																					
Sumbola																					
Sunburst																					
Kordia																					
Karina																					
Ferdiva*																					
Firm Red, Marim*																					
Summit																					
Noire de Meched																					
Badacsony																					
Belge																					
Skeena*																					
Fertard*																					
Regina																					
Duroni 3																					

■ Variété autofertile et pollinisateur universel

■ Variété autofertile

■ Floraison non concordante

■ Variétés non compatibles

