

Thèse EPFZ No 10729.

**Contribution à l'amélioration génétique du soja
[*Glycine max (L.) Merr.*] pour la tolérance au
froid en phase reproductive.**

Thèse présentée à
L'ECOLE POLYTECHNIQUE FEDERALE DE ZURICH
pour l'obtention du titre de
docteur ès sciences techniques

par

Arnold Schori

Ing.agr. dipl. EPFZ

Né le 2 juillet 1957

de Rapperswil (BE)

Acceptée sur proposition des
Prof. Dr. P. Stamp, rapporteur.
Dr. A. Soldati, co-rapporteur.
Dr. A. Fossati, co-rapporteur.

Zürich, 1994

6. Résumé-Summary-Zusammenfassung.

6.1. Résumé.

L'Institut des sciences végétales de l'Ecole polytechnique fédérale de Zurich et la Station fédérale de recherches agronomiques de Changins considèrent la tolérance au froid du soja [*Glycine max* (L.) Merr.] en phase reproductive comme un important critère de sélection, une sensibilité à ce stade étant l'une des causes de l'instabilité du rendement de cette espèce en climat tempéré frais. Ce travail avait pour objectif de comprendre quels mécanismes contribuent à expliquer le meilleur comportement sous conditions fraîches (températures ponctuellement inférieures à 12°C) de certains génotypes de soja. Il était également de chercher un éventuel critère indirect de sélection facilitant l'amélioration variétale de la tolérance au froid en phase reproductive. Dans le programme suisse de sélection, nous définissons la tolérance au froid en phase reproductive comme l'aptitude de certains génotypes à maintenir sous conditions fraîches une répartition régulière de leurs gousses sur la tige principale. Ils présentent à maturité moins de noeuds non fructifères et leurs gousses contiennent en moyenne davantage de grains.

Mécanisme de la tolérance et critère indirect de sélection.

La meilleure régularité de la distribution des gousses sur génotypes tolérants a pu être partiellement expliquée par des essais implantés en parallèle en conditions de plaine (Changins, Nyon, Suisse, 436 m alt.) et en conditions plus fraîches d'altitude (Longirod, Suisse, 844 m alt.) en 1990 et 1991. Sur dix génotypes de différents niveaux de tolérance au froid la totalité des fleurs présentes sur deux noeuds a été supprimée pour simuler une abscission due au froid et étudier la compensation permise par les fleurs latérales.

Le nombre de fleurs par racème central était peu variable dans notre matériel précoce et sub-sessile. En revanche, le nombre

de fleurs latérales présentait une large variabilité génotypique pouvant être mise en relation avec le niveau de tolérance : les géotypes jugés tolérants avaient, pour la plupart, une floraison latérale abondante, les sensibles présentaient au contraire soit une floraison peu abondante, soit une floraison latérale presque simultanée à celle du racème central, les rendant peu aptes à compenser un accident survenant à la floraison centrale. Le nombre de gousses matures produites en compensation sur les racèmes latéraux était, en deux environnements sans stress hydrique important, d'autant plus élevé que le nombre de fleurs latérales était élevé ($r=0,85^{**}$ et $r=0,62_{ns}$). Sous stress hydrique plus important, cette même relation existait pour la formation des gousses de compensation ($r=0,89^{**}$), mais beaucoup d'entre elles avortaient avant maturité. La forte héritabilité du nombre de fleurs des racèmes latéraux, et le fait que ce nombre détermine étroitement l'abondance de la fructification compensatoire en conditions favorables, nous font considérer ce caractère comme un bon critère indirect de sélection. Ce critère, qui doit inclure une observation de la chronologie du développement, est particulièrement intéressant car observable dans divers environnements, en présence ou absence de stress. Une sélection pour une abscission réduite nécessite néanmoins toujours l'utilisation d'une pépinière à climat frais. Ce travail a montré que la compensation survenant sur d'autres noeuds (sommets de la tige ou ramifications) était moins intéressante en amélioration variétale car de faible intérêt agronomique et présentant peu ou pas de différences génotypiques (autre que celle concernant la durée de végétation). Le stade "jeune bouton", soit le stade précédant de 4-5 jours (53-67 degrés.-jours) l'anthèse, a été particulièrement affecté par le froid dans un essai en conditions contrôlées portant sur la lignée sensible 'CH20951'.

Le second but majeur de ce travail était de juger des possibilités pratiques de sélection pour la tolérance au froid.

Efficacité d'une pression de sélection pour la tolérance au froid exercée sur générations ségrégant en altitude.

Il s'agissait de voir dans quelle mesure une sélection massale exercée en conditions climatiques fraîches d'altitude sur générations F3 et F4 était apte à augmenter la fréquence des géotypes tolérants. Il fallait de plus vérifier si cette sélection, exercée en un milieu atypique de la zone de culture de l'espèce, entraînait une dérive vers du matériel génétique non souhaité pour la plaine. Pour ce faire, 26 populations ont été présélectionnées parallèlement en plaine (Changins) et en altitude (Longirod) en 1987 et 1988. La comparaison portait, de 1990 à 1992 à Changins et à Longirod sur un nombre important de lignées quasi-homozygotes (F5:6 à F5:8) extraites de ces populations. Il apparaît, tant sur échantillonnage aléatoire que sur lignées sélectionnées, que les critères "profil fructifère régulier", et faible nombre de noeuds non-fructifères répondent particulièrement bien à la sélection visuelle. Nous expliquons cette bonne réponse par les héritabilités élevées du type de floraison. Le matériel issu des populations présélectionnées en altitude était à la fois plus tolérant, plus productif et plus stable que le matériel issu de la présélection plaine. Cet avantage était d'autant plus net que l'environnement d'expérimentation était frais ou à faible potentiel de rendement. En conditions favorables (permettant un rendement élevé) ce matériel avait les mêmes performances que le matériel issu de la sélection plaine. Il apparaît donc que dans les conditions moyennes de culture, l'incorporation de la tolérance au froid s'est faite sans effet dépressif sur le potentiel de la plante, sans "coût génétique". Aucune dérive ou sélection induite de caractères défavorables n'a été mise en évidence. Les conditions marginales de Longirod, déficitaires en cumul de température, mais de bilan hydrique plus régulier ont permis une meilleure révélation de la variabilité génétique pour la productivité (rdt.j^{-1}). Les stress thermiques (températures ponctuellement inférieures à 12 °C durant la

floraison), plus fréquents en altitude, ont permis de sélectionner sur un caractère mal révélé en plaine : la présence de noeuds sans gousses. Nous supposons qu'outre la sélection pour des génotypes à abscission réduite en présence de stress, cette sélection massale a retenu indirectement les génotypes à floraison latérale abondante et décalée.

Nous concluons que le meilleur environnement de sélection n'est pas obligatoirement celui dans lequel l'organisme devra vivre, mais bien celui permettant la meilleure expression du caractère sélectionné. Notre schéma de sélection est modifié en conséquence.

Influence de la provenance et du poids de mille grains (PMG) de la semence sur la morphologie de la plante.

La totalité des essais résumés ci-dessus a été effectuée sur des semences de même provenance géographique. En effet, un premier essai implanté à Changins en 1989 et incluant 16 génotypes homozygotes dont la semence provenait de deux lieux à climat très différent (Changins et Longirod) a montré un effet significatif de la provenance sur la vigueur (masse sèche) des plantes. Cet effet s'est maintenu jusqu'à maturité (nombre de grains et poids moyen d'un grain). L'interaction entre la provenance de la semence et les génotypes était significative pour le nombre de grains et de gousses. Un autre essai comparait en 1989 à Changins des lots de même provenance de 4 génotypes subdivisés en trois calibres (PMG) différents. Les plantes issues du gros calibre se distinguaient à maturité par un nombre de gousses significativement supérieur. Nous concluons que toute comparaison génétique portant sur la fertilité par plante doit, pour cette espèce, utiliser de la semence de même provenance et en évitant de choisir un calibre particulier.

6.2. Summary.

The Institute of Plant Sciences of the Swiss Federal Institute of Technology Zurich and the Federal Agricultural Research Station Changins consider the cold tolerance of soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] during its reproductive phase as an important selection criterion. Cold sensitivity during this development stage is one of the causes of the species' yield instability in cool temperate climates. This work had the objective to assess the mechanisms contributing to the superior performance of certain genotypes under cool conditions (momentary temperatures inferior to 12°C). The objective was equally to search for an indirect selection criterion to assist breeding for cold tolerance during the reproductive phase.

In the Swiss Breeding Programme, we define cold tolerance during the reproductive phase as the aptitude of certain genotypes to retain a regular pod distribution along the main stem despite cool conditions. These genotypes have less barren or poorly yielding nodes at harvest and their mean seed per pod yield is higher.

Tolerance mechanism and indirect selection criterion.

The superior regularity of the pod distribution of certain tolerant genotypes could partially be explained by trials conducted simultaneously in the plain (Changins, Nyon, Switzerland, 436 m altitude) and in cooler high elevation (Longirod, Switzerland, 844 m altitude) during 1990 and 1991. Of 10 genotypes differing in cold tolerance, all flowers present on 2 nodes were removed to simulate abscission due to cold and study the compensation made possible by the lateral racemes. The number of flowers on the central raceme showed little variation in our sub-sessile flowering and early maturing genotypes. However, the number of lateral flowers produced differed greatly between genotypes and was related to the tolerance level. The genotypes considered as tolerant

mostly had abundant lateral flowering, while the sensitive ones had either a low number of lateral flowers or a near synchronous blooming of central and lateral flowers and consequently a low aptitude to compensate a loss of flowers occurring on the central raceme. The number of mature pods produced as compensation on lateral racemes in 2 environments with favourable water household, was related to the number of lateral flowers ($r=0,85^{**}$ and $r=0,62ns$). Under drought stress the same relation existed for developing pods ($r=0,89^{**}$), but many of these abscised before maturity. The high heritability of the number of flowers on lateral racemes and the fact that this number is closely related to the abundance of compensatory pods under favourable conditions, move us to consider this trait as a suited criterion for indirect selection. This criterion which must include an observation of the timing of flower development, is particularly interesting as it can be observed in different environments, in presence or absence of stress. Breeding for reduced abscission, however still requires selection under cool conditions.

This work has shown that compensation occurring at other nodes (top of the stem or side stems) is less interesting to breeders as it presents little practical use and little or no genotypic variability (other than earliness). The "young bud" stage, that is the stage 4 to 5 days before anthesis (53-67 degree.days) was particularly affected by cold in an experiment conducted under controlled conditions with the sensitive line 'CH20951'. The second major objective of this work was to evaluate practical possibilities to select for cold tolerance.

Efficiency of selection for cold tolerance applied on segregating populations at a higher altitude.

The purpose was to assess to what extent a mass selection of F3 and F4 generations under cool conditions at high altitudes brings about a higher frequency of tolerant genotypes. It was also necessary to check whether selection in an environment

differing from the culture zone would bring about a genetic drift from the traits desirable in the plain. To implement this, 26 populations were preselected simultaneously in the plain (Changins) and at high elevation (Longirod) in 1987 and 1988. The comparison of a high number of near-homozygous lines (F5:6 to F5:8) extracted from these populations was then made from 1990 to 1992 in Changins and Longirod.

It appears both on randomly selected and best lines, that the criteria "regular pod distribution" and low number of barren nodes respond particularly well to visual selection. This high response is explained by the high heritability of the flowering type. The material derived from the populations preselected at high altitude showed higher tolerance and productivity and a better stability than the material derived from the populations preselected in the plain. This advantage was more distinct in cooler environments or conditions limiting yield potential. Under favourable conditions (permitting a high yield) the performance was not related to the preselection site.

Under normal cropping conditions it consequently appears that the incorporation of cold tolerance could be achieved without depressing effect on yield, that is, without "genetic expense". No drift or induced selection of undesirable traits could be demonstrated. The marginal growing conditions at Longirod, deficient in heat cumulation but more regular in water household enabled a better distinction of genetic variability for productivity (yield per day of vegetation). The cold stresses (momentary temperatures inferior to 12°C during flowering), more frequent at higher altitude, have allowed for the selection of a trait poorly revealed in the plain: the presence of barren nodes.

We suppose that this mass selection not only retained genotypes with reduced abscission in the presence of stress, but also indirectly, genotypes with higher and asynchronous production of lateral flowers.

We conclude that the best environment for selection is not always the one in which the organism will have to thrive, but

the environment permitting the best expression of the trait to be selected. Our breeding scheme is modified accordingly.

Influence of the origin and weight of the seed on plant morphology.

Whereas all trials previously mentioned were conducted with seed from the same geographic origin, an experiment planted in Changins in 1989 and including 16 homozygous genotypes was conducted with seed coming from 2 climatically very distinct sites (Changins and Longirod). Plant vigour (dry matter production) was significantly influenced by the seed origin. This effect was maintained up to maturity (seed number and mean seed weight). The interaction between seed origin and genotype was significant for seed and pod number.

Another trial planted in Changins in 1989 compared seed of 4 genotypes of the same origin but grouped in 3 size classes. Plants from the largest seeds had significantly more pods at harvest. We conclude that any genetic comparison related to fertility must be done, for this species, with seed from the same origin and avoiding the choice of a particular seed size.

6.3. Zusammenfassung.

Das Institut für Pflanzenwissenschaften der Eidgenössischen Technischen Hochschule Zürich und die Eidgenössische Landwirtschaftliche Forschungsanstalt Changins betrachten die Kältetoleranz der Sojabohne [*Glycine max* (L.) Merr.] während der Reproduktionsphase als wichtiges Zuchtziel, da die Kälteempfindlichkeit in diesem Stadium für die großen Ertragsschwankungen in kühlen, temperierten Klimagebieten verantwortlich ist.

Ziel dieser Arbeit war es, die Mechanismen des besseren Verhaltens gewisser Genotypen unter kühlen Bedingungen (Temperaturschwankungen bis unter 12°C) zu verstehen. Es ging auch darum, ein eventuelles indirektes Auslesekriterium zu suchen, welches bei der Züchtung von Sorten mit guter Kältetoleranz verwendet werden kann.

Im schweizerischen Zuchtprogramm definieren wir die Kältetoleranz während der Reproduktionsphase als die Fähigkeit gewisser Genotypen, unter kühlen Bedingungen eine regelmäßige Verteilung der Hülsen am Haupttrieb auszubilden. Bei der Ernte weisen sie weniger unfruchtbare Knoten auf und enthalten im Durchschnitt mehr Samen pro Hülse.

Mechanismen der Toleranz und indirektes Auslesekriterium.

Die bessere Regelmäßigkeit der Hülsenverteilung toleranter Genotypen konnte teilweise erklärt werden durch Parallelversuche im Unterland (Changins, Nyon, Schweiz, 436 m ü. M.) und in einer kühleren Höhenlage (Longirod, Schweiz, 844 m ü. M.) während der Jahre 1990 und 1991. Es wurden an zehn Genotypen mit unterschiedlicher Kältetoleranz an zwei Knoten alle anwesenden Blüten entfernt, um die Wirkung des Blütenfalls durch Kälte zu simulieren und die Kompensationsfähigkeit der lateralen Blütenstände zu studieren. Die Blütenzahl des zentralen Blütenstandes war in unserem frühreifen Pflanzenmaterial mit kurzgestielten Blüten ziemlich konstant.

Dagegen erwies sich die Anzahl Nebenblüten zwischen den Genotypen als sehr variabel, was auf die Kältetoleranz zurückzuführen war : die als tolerant eingestuften Genotypen zeigten meistens eine starke Nebenblütenbildung, die kälteanfälligen besaßen dagegen entweder eine geringe Zahl von Nebenblüten oder diese blühten mehr oder weniger gleichzeitig mit denjenigen des Zentralblütenstandes, was ihre Befähigung zur Kompensation eines umweltbedingten Ausfalles der Zentralblüten verringert. Die Anzahl reifer Hülsen, die zur Kompensation auf den Nebenblüten gebildet wurden war an zwei Orten mit geringem Trockenheitsstress umso höher, als die Nebenblütenzahl höher war ($r=0,85^{**}$ und $r= 0,62$ ns). Unter stärkerem Trockenheitsstress bestand diese Korrelation auch für die kompensative Hülsenbildung ($r=0,89^{**}$), aber viele der neugeformten Hülsen fielen vor der Reife ab. Die gute Heritabilität der Anzahl Nebenblüten ($H=0,69$), sowie die Tatsache, daß ihre Zahl unter günstigen Bedingungen eng mit der Kompensierung verbunden ist, lassen uns dieses Merkmal als gutes Auslesekriterium einstufen. Unter Einbezug des chronologischen Ablaufes der Nebenblütenentwicklung ist dieses Kriterium für die Züchtung besonders wertvoll, denn es kann unter den verschiedenartigsten Umweltbedingungen (mit oder ohne Stress) beobachtet werden. Immerhin bleibt, zur Auslese auf geringen Blütenfall, ein Zuchtgarten in Höhenlagen unentbehrlich. Diese Arbeit zeigt, daß die Kompensation durch andere Knoten (Triebspitze oder Verzweigungen) weniger interessant ist, da ihr agronomischer Vorteil zweifelhaft ist und da wenig genetische Unterschiede bestehen (außer bezüglich der Vegetationsdauer selbst). In einem Versuch mit experimenteller Kältbehandlung erwies sich im Zuchtstamm 'CH20951' das Stadium "junge Knospe" (d.h 4-5 Tage vor der Anthese), als besonders kälteempfindlich.

Das zweite Hauptanliegen dieser Arbeit war die Beurteilung der praktischen Möglichkeiten für die Züchtung von kältetoleranten Sorten.

Wirkung eines Selektionsdruckes für Kältetoleranz auf aufspaltende Generationen in höheren Lagen.

Es wurde untersucht, inwiefern eine Massenselektion in den Filialgenerationen F3 und F4 an einem kühleren Höhenstandort (Longirod) die Häufigkeit kältetoleranter Genotypen erhöhen könnte. Es sollte gleichzeitig geprüft werden, ob eine solche Selektion unter atypischen Bedingungen (nicht repräsentativ für Sojakulturstandorte) eine genetische Verschiebung gegen unerwünschte Merkmale bewirken könnte. Zu diesem Zweck wurden 26 Populationen gleichzeitig in niederen (Changins) und in höheren Lagen (Longirod) während der Jahre 1987 und 1988 vorselektioniert. Der Vergleich fand 1990-1992 in Changins und Longirod statt. Er umfaßte eine große Anzahl beinahe homozygoter (F5:6 bis F5:8) Linien aus diesen Populationen. Es ergab sich, begründet sowohl auf zufälligen Stichproben von Linien als auch auf selektionierten Zuchtlinien, daß für beide Merkmale, "regelmäßige Hülsenverteilung" und "geringe Anzahl unfruchtbarer Knoten", die Züchtung in Longirod besonders effizient war. Wir erklären diesen guten Erfolg durch die hohe Heritabilität des obenerwähnten Blütentyps. Das Material, das aus in Höhenlage vorselektierten Populationen stammte, war sowohl kältetoleranter als auch produktiver (Ertrag pro Tag) und stabiler als dasjenige aus der Vorselektion in den Niederungen. Dieser Vorteil war umso ausgeprägter, als die Umweltbedingungen der Versuchslage kühler und unproduktiver waren. Unter günstigen Bedingungen (bei hohem Ertrag) ergab dieses Material ebenso gute Ergebnisse wie das in niederen Lagen gezüchtete. Es scheint also, daß sich der Einbau der Kältetoleranz ohne negativen Einfluß auf das Ertragspotential der Pflanze verwirklichen läßt, d.h. ohne "genetische Kosten". Es konnte keine unerwünschte genetische Verschiebung nachgewiesen werden. Die marginalen Bedingungen von Longirod mit defizitären Temperatursummen, jedoch ausgeglichenerem Wasserhaushalt, haben eine bessere Ausprägung der genetischen Variabilität der Produktivität ermöglicht. Der häufiger

auftretende Kältestress erlaubte die Auslese für ein in den Niederungen schlecht ausgeprägtes Merkmal, nämlich das Auftreten von Knoten ohne Hülsen. Wir vermuten, daß diese Massenselektion außer der Auslese von Genotypen mit reduziertem Blütenfall indirekt auch Genotypen mit starker und zeitlich verschobener Nebenblütenbildung bevorzugt hat. Wir ziehen die Schlußfolgerung, daß der beste Auslesestandort nicht mit dem besten Kulturstandort übereinstimmen muß, sondern daß er sich dort befindet, wo die erwünschte Eigenschaft am besten zum Ausdruck kommt. Unser Selektionsschema wurde in diesem Sinn umorganisiert.

Einfluß der Herkunft der Samen und ihres Tausendkorngewichtes (TKG)

Die oben vorgestellten Versuche wurden alle mit Samen derselben geographischen Herkunft durchgeführt. Es hatte sich nämlich in einem Versuch in Changins 1989 gezeigt, daß die Herkunft der Samen von 16 homozygoten Genotypen, die an zwei klimatisch unterschiedlichen Standorten (Changins und Longirod) vermehrt worden waren, signifikante Einflüsse auf die Wuchskraft (Trockenmasse) der Pflanze ausübte. Diese Wirkung war bis zur Reife sichtbar (Kornzahl und Einzelkorngewicht). Für Anzahl Hülsen und Körner wurden signifikante Interaktionen zwischen Herkunft der Samen und der Genotypen festgestellt. In einem anderen Versuch wurden auf 4 Genotypen in Changins Samenposten gleicher Herkunft in drei Kaliber (TKG) unterteilt. Die Pflanzen, die aus dem größten Kaliber hervorgingen, unterschieden sich bei der Reife durch eine erhöhte Hülsenzahl. Wir schließen daraus, daß für jeden Vergleich der genetisch bedingten Fertilität nur Samen gleicher Herkunft und ähnlicher Kalibrierung verwendet werden sollten.