

Evolution génétique dans les prairies semées en fonction des pratiques et des modes de culture

C. Straub, M. Betin, Y. Hébert, C. Huyghe

La pérennité des prairies est recherchée pour réduire les coûts de production. Cependant, la production et la qualité des prairies semées évolue. A ce titre, il est intéressant d'étudier l'évolution des caractères phénotypiques et génétiques d'une prairie de ray-grass anglais sous différents régimes d'exploitation.

RÉSUMÉ

Les variétés synthétiques de ray-grass anglais présentant une grande variation génétique intravariétale, au cours des cycles de croissance, des changements génétiques peuvent apparaître, avec des conséquences possibles sur la valeur agronomique. Les changements phénotypiques et génétiques qui se sont produits dans 12 populations prélevées dans 12 prairies de ray-grass anglais diploïde (variété Herbie) ont été étudiés à l'aide de 13 marqueurs microsatellites et comparés aux lots initiaux de graines servant de témoin. Les caractères phénotypiques montrent un large éventail de variation à l'intérieur de la variété contrôle et à l'intérieur de chaque prairie, avec des différences significatives pour le nombre de talles et la date d'épiaison. Ceci est principalement dû au recrutement dans les prairies de nouveaux morphotypes.

MOTS CLÉS

Composition morphologique, cultivar, évolution, prairie temporaire, ray-grass anglais, sélection variétale, variabilité génétique.

KEY-WORDS

Cultivar, cultivar breeding, evolution, genetic variation, ley, morphological composition, Perennial Ryegrass.

AUTEURS

Unité de Génétique et d'Amélioration des Plantes Fourragères, INRA, F-86600 Lusignan ; straub@lusignan.inra.fr



Introduction

Le ray-grass anglais (*Lolium perenne*) est une graminée fourragère pérenne de région tempérée. C'est une espèce allogame anémophile. **Les variétés développées** sont diploïdes ou tétraploïdes et sont toujours des variétés synthétiques. De ce fait, elles **présentent une grande variation intravariétale** pour la plupart des caractères morphologiques ou pour des marqueurs neutres comme peuvent l'être certains marqueurs moléculaires.

L'amélioration de la productivité des prairies est, depuis l'origine de l'amélioration variétale sur cette espèce, un enjeu économique majeur. Cependant, afin de concilier production et préservation de l'environnement, la pérennité des prairies semées semble être un objectif critique. En effet, les principaux impacts environnementaux négatifs liés aux prairies se situent lors de leur retournement puisque d'une part une masse importante de carbone et d'azote issue des chaumes et des racines est enfouie et est susceptible de générer des lessivages et, d'autre part, l'écosystème que constituent le couvert végétal et l'ensemble des organismes végétaux et animaux qu'il héberge se trouve très profondément perturbé. L'accroissement de la pérennité devient donc un objectif important, ce qui signifie le maintien d'une productivité et d'une qualité de fourrage élevées au cours des cycles d'exploitation et des années.

En fonction du régime d'exploitation et des contraintes du sol et du climat, **la production et la qualité du fourrage produit par des prairies semées varient**. Dans les prairies semées multi-spécifiques, ces changements sont associés aux changements de la composition botanique (MOSIMANN, 2002). Cette évolution de la production et de la composition botanique peut également être observée sur des prairies permanentes en réponse aux changements de modes et de régimes d'exploitation (LOUAULT et al., 2002).

Dans les prairies implantées avec une seule espèce et une seule variété, de tels changements des valeurs agronomiques ont pu être observés mais leurs causes sont encore à identifier. Ils peuvent être **associés à la mort aléatoire des plantes** en tant qu'effet du vieillissement, **à la réponse plastique** des plantes aux contraintes subies, **à la sélection adaptative** des plantes, **au recrutement** d'individus génétiquement nouveaux ou aux combinaisons de ces mécanismes. La sélection adaptative des plantes signifierait que les changements génétiques sont non aléatoires. Ainsi, les relations entre changements de valeur agronomique d'un couvert, changements démographiques de la population de talles et de plantes, et changements génétiques sont à ce jour totalement inconnues.

Les éventuels changements génétiques dans une prairie monovariétale n'ont encore jamais été étudiés et quantifiés. Aussi, notre objectif de recherche est d'**analyser les changements phénotypiques et génétiques qui pourraient se produire dans une variété cultivée dans divers lieux, sous différents régimes d'exploitation et pendant un nombre d'années variable**. Cette étude a été réalisée avec des caractères phénotypiques liés à la morphologie et à la phénologie, et à l'aide de marqueurs moléculaires neutres. Cet article traitera principalement des caractères morphologiques et phénologiques.

1. Matériels et méthodes

La variété de ray-grass anglais diploïde Herbie a été utilisée dans cette étude. Cette variété, créée par Van Der Have (NL) et inscrite en 1990, est classée dans le Catalogue officiel français comme demi-tardive pour la date d'épiaison. **Douze prairies et couverts différents ont été étudiés.** Ils proviennent de 5 lieux différents en France ; leur âge varie de 2 à 7 ans et le mode d'exploitation prédominant est soit la pâture, soit la fauche (tableau 2).

Au printemps 2003, dans chacune des douze prairies de notre étude, 100 talles ont été prélevées avec une distance minimum de 20 centimètres entre deux talles prélevées. Ainsi, nous pouvons considérer que cela correspond à 100 génotypes différents. Toutes les talles ont été transplantées dans un même site (Lusignan) et multipliées par voie végétative tout au long du printemps et de l'été 2003. Les 100 génotypes collectés dans une même prairie seront considérés comme une population. En parallèle, **un lot commercial de cette variété a été semé et représentera la population témoin** ; elle a également été multipliée par voie végétative. Cette période de multiplication végétative en un même lieu permet d'éviter les biais liés à l'histoire des talles mères.

En automne 2003, deux expérimentations ont été mises en place.

Dans la **première expérimentation**, un éclat comportant 2 à 3 talles pour chaque génotype a été transplanté dans des plateaux profonds de 20 centimètres, en serre froide. La distance entre les éclats est de 10 centimètres dans les deux directions. Ce dispositif présente 2 répétitions, les populations étant randomisées au sein des blocs et les individus au sein des populations. Plusieurs coupes ont eu lieu pendant l'hiver afin d'assurer une bonne implantation des plantes. Les plateaux ont été transférés à l'extérieur en mars 2004. Le nombre de talles par plante a été compté 4 fois pendant l'année (en mars, mai, septembre et octobre). Aux mêmes dates, les longueurs de limbe et de gaine ont été mesurées sur 3 talles par plante. La teneur en matière sèche et la composition biochimique (azote, teneur en sucres solubles, cendres, parois et solubilité enzymatique) de chaque plante ont également été mesurées.

La **deuxième expérimentation** a été conduite dans une pépinière en plein champ. Chaque génotype a été transplanté dans trois répétitions dans un dispositif en bloc, les populations étant randomisées au sein des blocs et les individus au sein des populations. La distance entre les plantes adjacentes est de 70 centimètres dans les deux directions. Au printemps 2004, la date d'épiaison (en jours depuis le 1^{er} janvier) et la hauteur de la plante à l'épiaison ont été mesurées. La longueur de la feuille culmaire a été également mesurée sur 3 talles par plante. La sensibilité à la rouille a été notée de 1 à 9 pour chaque plante en juillet, la note 1 étant attribuée pour une absence de symptôme.

2. Résultats

■ Différences phénotypiques entre populations

Comme nous pouvons le voir dans le tableau 1, **des différences faibles mais significatives** ont été observées pour les caractères phénotypiques entre les plantes des populations collectées et la population témoin. Nous montrons seulement ici les données pour la date d'épiaison, la longueur du limbe et le nombre de talles en mars, mais cela est vrai pour la plupart des caractères. La majeure partie de la variation est intrapopulation.

Populations	Date d'épiaison (nombre de jours depuis le 1 ^{er} janvier)	Longueur du limbe (mm) en septembre	Nombre de talles (en bacs en mars 2004)
1	148,5 *	153	27,2
2	148,8 *	141 *	29,7 *
3	151,2 *	162 *	32,6 *
4	149,9	151	27,7
5	144,9 *	157 *	29,4 *
6	149,5	143	26,7
7	150,8 *	144	36,8 *
8	150,2 *	144	31,4 *
9	149,0 *	135 *	27,6
10	150,6 *	132 *	32,6 *
11	152,0 *	131 *	47,5 *
12	148,6 *	147	29,7 *
Témoin	149,6	147	25,7

* p < 0,05 : différences significatives entre populations collectées et témoin

TABLEAU 1 : Différences entre les populations de ray-grass anglais collectées et les témoins pour 3 caractères phénotypiques.

TABLE 1 : Differences between the sampled populations of Perennial Ryegrass and the corresponding controls for 3 phenotypical characters.

■ Analyse multivariée

Afin d'étudier la structure intra et interpopulations, une analyse multivariée (ACP : analyse en composantes principales) a été réalisée. La population témoin obtenue à partir d'un lot commercial a été employée en tant qu'individus actifs et les populations collectées en tant qu'individus supplémentaires. L'utilisation de la population témoin comme population "active" permet de mesurer les différences entre les populations semées et les populations collectées dans les différentes prairies étudiées. Les données utilisées pour cette analyse sont les moyennes des répétitions des deux expériences pour chaque génotype.

L'analyse des corrélations montre une corrélation négative significative entre la hauteur de la plante à l'épiaison et la date d'épiaison. Ainsi, les plantes ayant une épiaison tardive tendent à être plus courtes à l'épiaison. Les longueurs de limbe et de gaine sont fortement corrélées quelle que soit la date de notation. De même, les nombres de talles sont fortement corrélés entre eux. Aucune corrélation n'a été trouvée entre le nombre de talles et la longueur de feuille, alors que la longueur de feuille est fortement corrélée avec la hauteur de la plante. La sensibilité à la rouille apparaît corrélée positivement avec les hauteurs de plante et les longueurs de feuille. Ceci est en partie illustré par les cercles de corrélation de la figure 1.

Les 4 premiers facteurs expliquent à eux seuls 73% de l'information contenue dans toutes les variables. L'axe 1 est représentatif de la

Evolution génétique dans les prairies semées

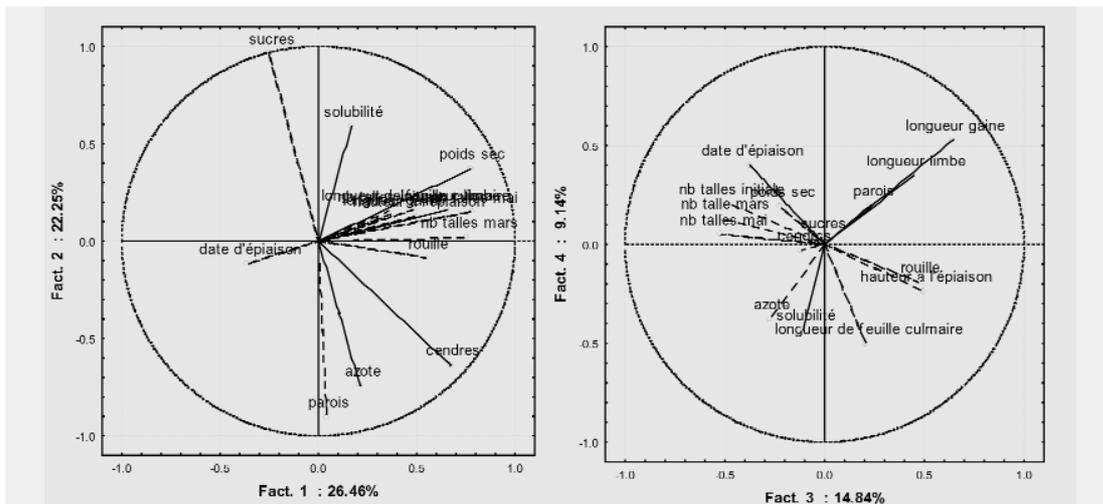


FIGURE 1 : Cercles de corrélation pour les axes 1 x 2 et 3 x 4 de l'ACP.

FIGURE 1 : Correlation circles for axes 1 x 2 and 3 x 4 of the Main Component Analysis.

morphogénèse aérienne (nombre de talles, longueurs de feuilles, hauteur de la plante) tandis que l'axe 2 est représentatif des caractères biochimiques (azote, cendres, solubilité, sucres, paroi). Ainsi, il semblerait que les caractères biochimiques soient indépendants de la morphologie de la plante. L'axe 3 permet de séparer deux caractères de morphogénèse aérienne : les nombres de talles et les longueurs de feuilles. Quant à l'axe 4, il est peu représentatif des caractères phénotypiques.

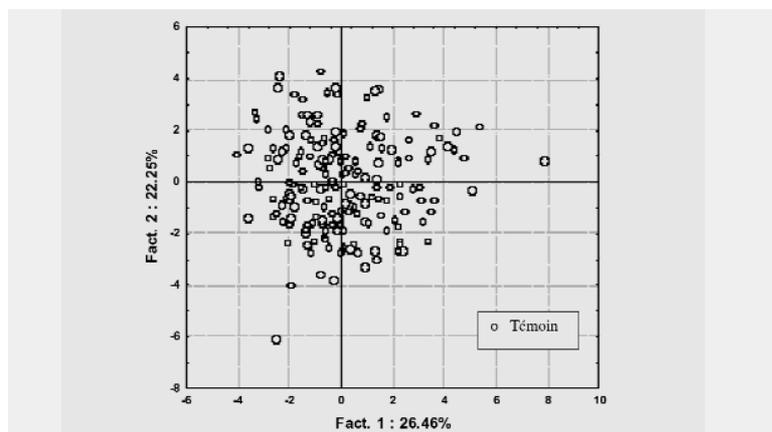
Comme nous pouvions le prévoir pour une variété synthétique, les différents génotypes de la population témoin ont montré un nuage de points non structuré (figure 2).

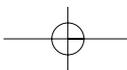
En ajoutant les différents génotypes des populations collectées, un certain nombre d'individus ont différé de manière significative de la population témoin. C'est le cas pour 8 populations. Trois d'entre elles (populations 5, 7 et 11) diffèrent beaucoup du témoin car elles présentent un déplacement de leur barycentre. A l'inverse, 4 populations ne présentent pas de différences phénotypiques avec le témoin.

Un nombre élevé de génotypes exprimant des **nouveaux morphotypes** a été identifié. Ceci est illustré sur la figure 3 pour la

FIGURE 2 : Distribution de la population témoin de ray-grass anglais sur les axes 1 et 2 de l'ACP.

FIGURE 2 : Distribution of the Perennial Rye-grass control population along axes 1 and 2 of the Main Component Analysis.





population 11. Un morphotype a été caractérisé : il présente un nombre plus élevé de talles, avec en moyenne des limbes et des gaines légèrement plus courts et une date d'épiaison tardive. Sur le diagramme de l'ACP, ces individus sont localisés en haut et à gauche du nuage défini par les populations d'origine. On le retrouve également dans la population 7. Par contre, ce morphotype n'est pas présent dans les lots témoin. Un autre groupe de plantes avec des feuilles plus longues que les témoins a été également détecté en haut à droite du nuage de points. On le retrouve également dans la population 5.

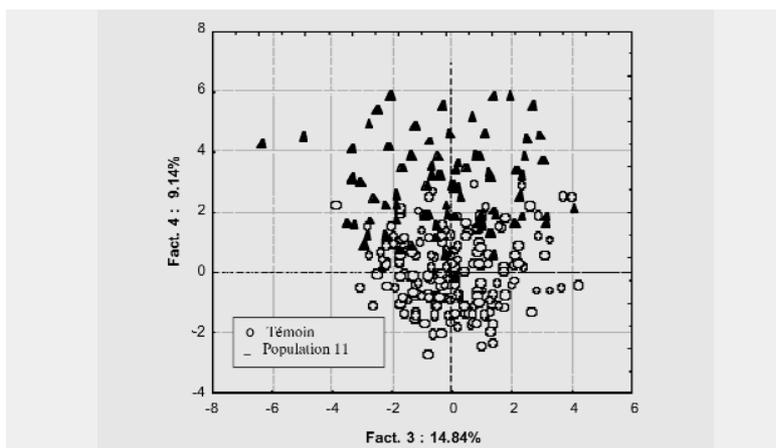


FIGURE 3 : Distribution des témoins et de la population 11 de ray-grass anglais sur les axes 3 et 4 de l'ACP.

FIGURE 3 : Distribution of the controls and of Perennial Ryegrass 11 population along axes 3 and 4 to the Main Component Analysis .

On peut également noter qu'une frange importante de la population initiale n'est plus représentée. Il s'agit en particulier des individus à épiaison précoce et présentant des feuilles culmaires longues.

Le morphotype très tallant a été détecté dans quelques populations seulement. Nous repérons visuellement les plantes appartenant à ce morphotype grâce à leur port dressé, un nombre de talles élevé, des limbes très fins et de couleur vert pâle. La fréquence de ce morphotype est particulièrement haute dans les prairies fauchées, alors que la fréquence est très basse, voire nulle, dans les prairies pâturées (tableau 2). Au stade actuel de l'analyse, aucun rapport entre l'âge de la prairie et la fréquence de ce nouveau morphotype n'a été établi, ni entre le lieu et la fréquence de ce morphotype.

Populations	Lieux	Age (année)	Exploitation	% du morphotype très tallant
1	Saint-Ferreol	2	Pâture	1
2	Ordarp	4	Pâture	2
3	Le Pin-au-Haras	2	Fauche	7
4	"	7	Pâture	0
5	"	2	Pâture	0
6	Theix	3	Fauche	0
7	Lusignan	4	Fauche	17
8	"	6	Pâture	1
9	"	3	Pâture	5
10	"	3	Pâture	4
11	"	2	Fauche	25
12	"	4	Pâture	0
Témoin				0

TABLEAU 2 : Pourcentage du morphotype très tallant dans chaque population de ray-grass anglais.

TABLE 2 : Percentage of the high-tillering morphotype in each population of Perennial Ryegrass.



3. Discussion

Une **grande variance génétique intraprairie** est observée dans tous les couverts échantillonnés ainsi que dans les lots initiaux. Cette situation est en totale cohérence avec la structure synthétique des variétés de ray-grass anglais.

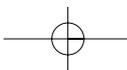
Cette étude sur les caractères phénologiques et morphologiques prouve clairement que des **changements des caractéristiques phénotypiques** des individus présents se produisent dans des prairies de ray-grass anglais. Ceci semble associé à une modification de leur composition génétique. L'utilisation de dispositifs comportant des répétitions permet de s'affranchir de variations aléatoires ou de conséquences de la structure et de l'état de l'éclat implanté dans les différents dispositifs.

Comme les 12 prairies étudiées ont été implantées avec des lots commerciaux différents, la question d'une différence uniquement ou essentiellement liée aux lots implantés a été posée. Même si les résultats ne sont pas présentés ici, une analyse morphologique et moléculaire de 8 lots commerciaux différents issus de la récolte 2003 a été réalisée (moyennes et variances). Comme attendu compte tenu des protocoles de multiplication et des procédures de contrôle et de certification, aucune différence significative entre les lots n'a été observée tant sur les caractères morphologiques que sur le marqueur moléculaire (microsatellite) étudié à ce jour.

Les changements observés sont notamment associés à l'apparition de nouveaux morphotypes. Ceci sera confirmé prochainement par l'analyse des marqueurs moléculaires (13 marqueurs microsatellites répartis sur l'ensemble du génome).

L'origine des morphotypes particuliers identifiés dans cette étude doit notamment être établie. Les mécanismes déterminant le recrutement du morphotype très tallant et son devenir dans la prairie ne sont pas clairs. Néanmoins, sa présence dans des proportions plus élevées dans les prairies fauchées est peut-être expliquée par le fait que ce régime d'exploitation offre plus d'emplacements pour l'établissement de jeunes plantes, comme décrit par ZOBEL *et al.* (2000) pour la richesse spécifique dans des prairies. Il a été démontré, au niveau interspécifique dans des prairies, que la banque de graines du sol et le flux de graines ont une importance cruciale dans le maintien ou même l'enrichissement des espèces ainsi que pour la richesse génétique des prairies (PARTEL *et al.*, 1996 ; TILMAN, 1997 ; FOSTER, 2001). Dans notre cas, cette origine des graines doit être analysée. L'utilisation de marqueurs moléculaires contribuera à déterminer si ce sont des individus exogènes. Par ailleurs, il ne faut pas négliger les maladies qui ont des répercussions sur la morphologie des plantes et pourraient ainsi être responsables de l'apparition du morphotype très tallant. **Les conséquences agronomiques de la présence de tels morphotypes sur la production et la composition agronomiques du fourrage doivent également être analysées.**

Ce nouveau morphotype, et probablement d'autres morphotypes qui pourraient être recrutés dans d'autres conditions, pourraient être considérés comme **différents groupes fonctionnels** (LAVOREL *et*



C. Straub et al.

al., 1998). Ainsi, les concepts issus de l'écologie fonctionnelle pourraient être mobilisés pour comprendre le fonctionnement des peuplements étudiés ici et la structure phénotypique observée.

Conclusion

La poursuite de l'exploitation des données morphologiques, phénologiques et moléculaires, ainsi qu'une analyse complémentaire de la valeur agronomique des plantes de chaque prairie de l'étude, permettra une meilleure compréhension de l'évolution démographique et génétique des prairies.

Cette première étude montre clairement que des changements phénotypiques se sont produits dans des prairies de ray-grass anglais. Si l'étude des marqueurs génétiques démontre l'apparition de nouveaux génotypes, donc un changement dans la composition génétique des prairies, cela offrira de nouvelles perspectives pour la recherche. En effet, les populations de plantes dans des prairies, même des prairies temporaires semées, ne pourront plus être considérées comme stables mais comme des systèmes dynamiques. Ceci constituera un point de rupture par rapport aux concepts qui sous-tendent encore aujourd'hui l'étude de la génétique des prairies et l'élaboration des variétés.

Intervention présentée aux Journées de l'A.F.P.F.,
"Génétique et prairies",
les 15 et 16 mars 2005.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- FOSTER B.L. (2001) : "Constraints on colonization and species richness along a grassland productivity gradient : the role of propagule availability", *Ecology Letters*, 4, 530-535.
- LAVOREL S., TOUZARD B., LEBRETON J. D., CLEMENT B. (1998) : "Identifying functional groups for response to disturbance in an abandoned pasture", *Acta Oecologica*, 19 (3) : 227-240.
- LOUVAULT F., SOUSSANA J.F., PERRODIN M. (2002) : "Long-term effects of a reduced herbage use in a semi-natural grassland. I. Plant functional traits and plant response groups", *Multi-function grasslands*, J.L Durand et al eds., *Grassland Science in Europe*, 7, 338-339.
- MOSIMANN E. (2002) : "Mélanges fourragers pour une durée de trois ans. 1. Facteurs influençant la proportion de légumineuses", *Revue suisse d'agriculture*, 34 (3), 99-106.
- PARTEL M., ZOBEL M., ZOBEL K., MAAREL E. VAN DER (1996) : "The species pool and its relation to species richness: evidence from Estonian plant communities", *Oikos*, 75 (1), 111-117.
- TILMAN D. (1997) : "Community invasibility, recruitment limitation, and grassland biodiversity", *Ecology*, 78, 81-92.
- ZOBEL M., OTSUS M., LIIRA J., MOORA M., MOLS T. (2000) : "Is small-scale species richness limited by seed availability or microsite availability", *Ecology*, 81, 3274-3282.



SUMMARY

Genetic changes in sown pastures according to cultivation practices and to methods of management

Pastures should be long-lived if the production costs are to be reduced. The productivity and the quality of the sown pastures changes however over time. It is therefore of interest to study how the morphological, phenological and genetic features of a Perennial Ryegrass ley evolve when subjected to different systems of management.

There exists a considerable genetic variation within a given synthetic cultivar of Perennial Ryegrass (*Lolium perenne*). During the succeeding growth cycles, genetic variations may thus occur in a ley sown with a single cultivar, leading possibly to changes in the agricultural value. Phenotypical (regarding leaf lengthening, tillering, heading date) and genetic changes were observed in a cultivar (Herbie) grown in 12 leys under different systems of management ; they were compared with the help of 13 microsatellite markers. The 12 populations sampled in the 12 leys were transplanted to a single site and compared to the initial seed lots serving as controls. Large phenotypical variations occurred within the control cultivar and within each ley. There were significant differences among the means of certain phenotypical features in certain leys, particularly tiller number and heading date. This is mostly due to the appearance of new morphotypes in the pastures.