

Recherche de QTL chez les espèces fourragères pérennes des régions tempérées

P. Barre, B. Julier

Depuis 15 ans, le développement d'un grand nombre de marqueurs moléculaires permet de localiser sur le génome les QTL impliqués dans les variations d'un caractère donné. Cet article recense l'ensemble des travaux disponibles actuellement sur la recherche de QTL chez les plantes fourragères pérennes.

RÉSUMÉ

Les résultats chez les espèces fourragères tempérées pérennes commencent juste à être publiés. Les caractères étudiés sont des caractères de résistance ou tolérance à des stress biotiques (maladies fongiques ou bactériennes) et abiotiques (froid, sécheresse, faible nutrition azotée), des caractères de la morphogenèse (croissance foliaire et caulinare, ramification, tallage, rendement, phénologie) et de la valeur alimentaire (digestibilité, teneur en sucres solubles et en protéines). Des QTL ont été identifiés en plus ou moins grand nombre, avec des effets plus ou moins importants, pour l'ensemble des caractères quantitatifs étudiés dans une ou plusieurs populations de cartographie. L'utilisation de ces QTL comme aide à la sélection chez les espèces fourragères pérennes reste à étudier.

MOTS CLÉS

Facteur milieu, féтуque des prés, génomique, luzerne, marqueur moléculaire, *Puccinia coronata*, QTL, ray-grass anglais, ray-grass d'Italie, sélection variétale.

KEY-WORDS

Cultivar breeding, environment factor, genomics, Italian Ryegrass, Lucerne, Meadow Fescue, molecular marker, *Puccinia coronata*, Perennial Ryegrass, QTL.

AUTEURS

INRA - UGAPF, F-86600 Lusignan ; barre@lusignan.inra.fr

Introduction

Les caractères étudiés dans les populations sont soit à variation discontinue et les individus peuvent être classés sans ambiguïté (par exemple les formes lisses et ridées des petits pois), soit à variation continue ; dans ce cas, les individus ne peuvent être classés et sont mesurés (par exemple la hauteur des plantes) ; on parle alors de caractères quantitatifs. La variation continue de ces caractères peut être expliquée en supposant qu'elle est due à l'effet de plusieurs locus et à l'effet du milieu. **Ces locus qui expliquent une part de la variation d'un caractère quantitatif sont appelés QTL** pour *Quantitative Trait Locus*.

La génétique quantitative cherche, pour un caractère quantitatif, à séparer la part de la variation due au génotype de celle due au milieu, afin de prédire et d'optimiser le processus de sélection. Bien qu'ayant prouvé son efficacité, cette discipline ne permet pas d'estimer les effets individuels des locus, leur nombre, leur position et leurs interactions, et ne permet pas d'envisager le clonage des gènes impliqués dans la variation du caractère. Avec le développement d'un grand nombre de marqueurs, il est devenu possible de faire une recherche systématique sur l'ensemble du génome des QTL expliquant la variation d'un caractère quantitatif. Ceci permet de décomposer la variation observée au niveau d'une population en variations expliquées par tel ou tel locus. Ainsi, il est possible de se focaliser sur les régions du génome dont les effets sont les plus importants, de séparer dans une même région des locus à effets opposés et d'analyser les corrélations génétiques entre caractères en repérant les QTL influençant plusieurs caractères.

Des résultats sur l'identification de QTL chez les espèces fourragères tempérées pérennes commencent juste à être publiés. Ce retard par rapport à des espèces économiquement plus importantes s'explique par un développement tardif et lent de marqueurs moléculaires nécessaires à la cartographie de QTL ainsi que par l'absence de publication par les entreprises privées de résultats valorisables en sélection. Les caractères étudiés sont des **résistances ou tolérances à des stress biotiques** (maladies fongiques ou bactériennes) **et abiotiques** (froid, sécheresse, faible nutrition azotée), des caractères de **la morphogenèse** (croissance foliaire et caulinaire, ramification, tallage, rendement, phénologie) **et de la valeur alimentaire** (digestibilité, teneur en sucres solubles et en protéines).

Quelques généralités sur les QTL

Une revue en français sur la cartographie et la caractérisation des QTL peut être trouvée dans DE VIENNE et CAUSSE (1998).

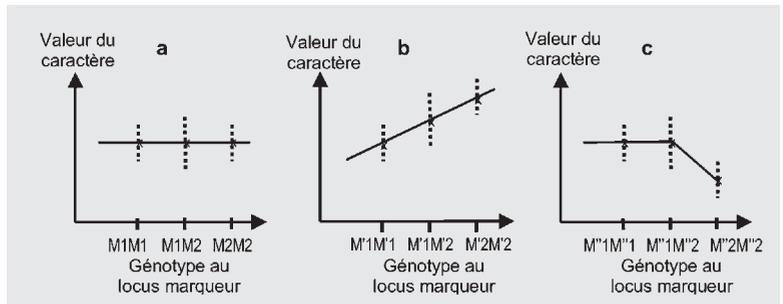
Le principe de la recherche de QTL repose sur l'identification de marqueurs dont la variation discrète explique une partie de la variation d'un caractère quantitatif dans une population. Pour être informatifs, ces marqueurs doivent être liés physiquement à des gènes impliqués dans la variation du caractère. Plus la liaison

FIGURE 1 : Principe de la mise en évidence de QTL dans une descendance F2 avec une recherche sur marqueurs individuels. M, M' et M'' sont trois locus marqueurs non liés. Les indices 1 et 2 désignent les allèles. L'abscisse indique le nombre de doses de l'allèle 2 dans les trois génotypes ; a : pas de différence entre moyennes, b : différence entre moyennes avec additivité, c : différence entre moyennes avec dominance : la moyenne des hétérozygotes est égale à la moyenne de l'un des homozygotes (figure tirée de DE VIENNE et CAUSSE, 1998).

FIGURE 1 : Method of spotting QTLs in a F2 progeny with the help of individual markers. M, M', M'' are 3 unlinked marker loci. Indices 1 and 2 are for alleles. On the x-axis, the number of times allele 2 is present is shown for the 3 genotypes ; a : no difference between means, b : difference between means with additivity, c : difference between means with dominance : the mean of the heterozygotes equals that of one of the homozygotes (figure from DE VIENNE and CAUSSE, 1998).

physique est importante, moins la densité de marqueurs sur le génome a besoin d'être importante pour identifier des marqueurs liés aux gènes impliqués. Pour être sûr que la corrélation entre deux locus (déséquilibre de liaison) soit uniquement due à une liaison physique et que cette liaison soit suffisamment importante, des populations particulières sont construites pour la cartographie de QTL (voir JULIER et BARRE, article précédent). Chez les espèces fourragères, essentiellement allogames, on utilise des descendance F1 d'hétérozygotes, F2 et backcross. Pour évaluer les caractères, des répétitions des génotypes ne peuvent être obtenues que par multiplication végétative. Les parents sont choisis en fonction de leur polymorphisme pour les caractères étudiés.

Une fois le type de population défini, il est nécessaire d'obtenir des informations pour chaque individu sur chaque marqueur (génotypage) et sur chaque caractère quantitatif (phénotypage) pour faire une recherche de QTL avec les méthodes biométriques adéquates. **Il existe deux grands types de méthodes pour rechercher les marqueurs corrélés aux caractères quantitatifs : d'une part des méthodes qui testent la relation entre le génotype pour chaque marqueur et la valeur du caractère quantitatif** (analyse de variance ou test de Student (figure 1) et régression linéaire multiple si on prend en compte plusieurs marqueurs à la fois) **et, d'autre part, des méthodes qui testent la présence d'un QTL tout au long du génome en se servant de l'information aux marqueurs flanquants** (*interval mapping* et *multiple* ou *composite interval mapping* en considérant plusieurs régions du génome à la fois). La comparaison de la puissance de détection de QTL entre les deux types de méthodes indique que celle basée sur marqueurs flanquants n'est guère supérieure à la première (5%) pour des intervalles entre marqueurs inférieurs à 20 cM mais qu'au-delà l'avantage augmente rapidement. Quelle que soit la méthode utilisée, de nombreuses analyses statistiques sont nécessaires (par exemple des analyses de variance ou des calculs de maximum de vraisemblance) et pour ce faire des logiciels ont été développés. Chez les plantes fourragères, le logiciel MapQTL (VAN OOLJEN, 2004) est largement utilisé car c'est le seul pour l'instant qui traite les marqueurs co-dominants dans des populations F1 entre plantes hétérozygotes diploïdes. Il travaille à la suite du logiciel de cartographie JoinMap (VAN OOLJEN et VOORRIPS, 2001). Ces deux logiciels sont très conviviaux mais sont payants. Cependant, pour les espèces polyploïdes, aucun logiciel de recherche de QTL n'est actuellement disponible. Dans ce cas, des analyses de variance sont réalisées pour chaque marqueur.



Afin de mesurer l'effet d'un QTL, deux types de paramètres sont utilisés :

- **L'effet additif d'un QTL correspond à une différence d'effet entre les deux allèles parentaux** et peut se calculer en divisant par deux la différence des valeurs du caractère pour les homozygotes au locus. De plus, selon la population utilisée, il est possible de calculer un effet de dominance comme étant l'écart entre la moyenne des hétérozygotes et la moyenne des deux classes homozygotes. Ces effets peuvent être exprimés en unités d'écarts types en les divisant par l'écart type phénotypique de la population.

- **La part de variance phénotypique expliquée par le QTL est quantifiée par le R^2** , qui est le rapport de la somme des carrés des écarts liés au QTL à la somme des carrés des écarts totaux.

Recherche de QTL chez les graminées fourragères pérennes

Chez les graminées, les principaux résultats sont trouvés chez le ray-grass anglais qui apparaît comme étant l'espèce modèle des graminées fourragères pérennes. Quelques données existent pour le ray-grass d'Italie et la fétuque des prés. Une revue sur les marqueurs moléculaires et leurs utilisations chez les graminées fourragères peut être trouvée dans FORSTER *et al.* (2004).

1. Chez les ray-grass

Des recherches de QTL ont été réalisées ou sont en cours de réalisation par de nombreuses équipes dans le monde. Les organismes "publics" impliqués sont : University of Hohenheim en Allemagne, Institute of Grassland and Environmental Research en Angleterre, Agriculture Victoria en Australie, Department of Plant Genetics and Breeding, CLO-Gent en Belgique, Danish Institute of Agricultural Research au Danemark, USDA National Forage Seed Production Research Center aux Etats-Unis, Institut National de Recherche Agronomique à Lusignan en France, Hokkaido National Agricultural Research Center, National Institute of Livestock and Grassland Science et Japan Grassland Farming and Forage Seed Association au Japon, Lituianian Institute of Agriculture en Lituanie, AgResearch Grasslands en Nouvelle-Zélande, Plant Research International aux Pays-Bas et Swiss Federal Research Station of Agroecology and Agriculture en Suisse. De nombreuses populations de cartographie ont été utilisées selon les équipes et les caractères étudiés.

■ QTL de tolérance à des stress biotiques

La rouille couronnée (*Puccinia coronata* f. sp. *loli*) est la maladie foliaire provoquant le plus de dommages par une diminution de la quantité et la qualité de l'herbe. A ce titre, c'est la maladie la plus étudiée pour la recherche de QTL.

Chez le **ray-grass anglais**, des recherches de QTL sont publiées chez quatre populations :

- Une population F2 entre une plante d'une variété modérément résistante (Perma) et une plante d'une variété sensible (Aurora) a été notée pour la tolérance à la rouille couronnée en utilisant un isolat de rouille et deux températures (10 et 25°C ; THOROGOOD *et al.*, 2001). Cinq QTL ont été identifiés sur les groupes de liaison 2, 5 et 7. L'effet individuel des QTL varie de 3,3 à 13,4% de la variance phénotypique. Tous les allèles de résistance proviennent de Perma. Les QTL identifiés à 10°C sont aussi des QTL à 25°C mais l'infection est moins importante à 10°C qu'à 25°C. La même population a été notée pour la tolérance à deux isolats très virulents et deux isolats peu virulents (RODERICK *et al.*, 2003). Des QTL différents ont été obtenus selon le type de virulence des isolats. Face aux isolats peu virulents, peu de QTL ont été identifiés et les allèles de résistance ne proviennent que de la plante la plus tolérante ; face aux isolats très virulents, ces allèles se révèlent inefficaces. Avec des isolats très virulents, de nombreux QTL ont été identifiés et les allèles de résistance proviennent des deux parents.

- Sur une population F1 entre un écotype du Maroc et une plante de la variété Aurora (NA6 x AU6), un seul QTL de résistance à la rouille couronnée a été identifié sur le groupe de liaison 1 avec des notations au champ à Hamilton (Victoria, Australie) (FORSTER *et al.*, 2004). Ce QTL explique 7,6% de la variance phénotypique.

- Sur une population F1 issue d'une plante résistante et d'une plante sensible, trois QTL sur le groupe de liaison 1 et un QTL sur le groupe de liaison 2 ont été identifiés (MUYLLE *et al.*, 2003a). Ensemble, ils expliquent 45% de la variation phénotypique (MUYLLE *et al.*, 2003b). Ces QTL ne sont présents que chez le parent résistant.

- Une population F1 issue de deux plantes de résistance intermédiaire à la rouille, une plante de la variété Vedette et une plante de la variété Victorian, a été utilisée, avec un mélange de trois isolats de rouille de provenances différentes, pour identifier un QTL à effet majeur sur le groupe de liaison 2 (DUMSDAY *et al.*, 2003). Ce QTL explique 80% de la variance phénotypique en considérant les allèles de Vedette et 26% en considérant les allèles de Victorian. Des individus associant des allèles de résistance des deux parents sont apparus complètement résistants.

Chez le **ray-grass d'Italie**, une population F1 issue d'une plante du cultivar résistant à la rouille (Yamaiku 130) et d'une plante du cultivar sensible (Yamaiku 131) a été utilisée pour mettre en évidence un QTL à effet majeur sur le groupe de liaison 4. D'autres QTL sont recherchés dans d'autres populations afin de les combiner dans des variétés (FUJIMORI *et al.*, 2003).

Au travers de ces études sur la résistance à la rouille couronnée, on peut se rendre compte de la complexité du déterminisme génétique de ce caractère. Il implique à la fois des gènes majeurs et des gènes à effet mineur et dépend des races de rouille. **La recherche de QTL dans différentes plantes à l'aide de nombreuses races de rouille devrait permettre d'identifier des gènes de résistance et de les accumuler dans des variétés.**

Une recherche de QTL sur **la résistance au Gray leaf spot causé par le champignon *Magnaporthe grisea*** a été réalisée sur une population pseudo-F2 (MFA x MFB) entre la variété Manhattan de ray-grass anglais et la variété Floregon de ray-grass d'Italie (CURLEY *et al.*, 2003). Au moins deux régions chromosomiques intervenant dans la résistance ont été identifiées.

Une étude sur les bases génétiques de la **résistance à *Xanthomonas translucens pv. graminis*** est en cours (FORSTER *et al.*, 2004).

■ QTL de tolérance à des stress abiotiques

On trouve dans la littérature encore très peu d'études sur les QTL de tolérance à des stress abiotiques et seulement chez le ray-grass anglais, bien que de nombreux travaux sur la tolérance à la sécheresse et au froid soient réalisés sur des hybrides entre les ray-grass et les fétuques (HUMPHREYS *et al.*, 2003b).

La population F1 entre un écotype marocain et une plante de la variété Aurora (NA6 x AU6) a été largement étudiée pour la **tolérance à la sécheresse** à l'aide de caractères sur le développement racinaire, la photosynthèse et la teneur en sucres solubles (FORSTER *et al.*, 2004). Les résultats n'ont pas encore été publiés de manière intégrale.

Une recherche de QTL de **tolérance au froid** a été réalisée sur la population de la carte de référence (p150/112, voir JULIER et BARRE, article précédent) à Sapporo au Japon (YAMADA *et al.*, 2004). Aucun QTL de tolérance au froid mesurée au champ n'a été détecté. Un QTL lié à la tolérance au gel (mesure indirecte) a été identifié en haut du groupe de liaison 4 et explique environ 10% de la variance phénotypique.

Dans le cadre de la recherche de tolérances à une faible nutrition azotée, une population entre une plante hétérozygote et un haploïde doublé a été étudiée pour **l'efficacité d'utilisation de l'azote** (DOLSTRA *et al.*, 2003). Les auteurs ont identifiés cinq régions chromosomiques contenant des QTL impliqués dans l'efficacité d'utilisation de l'azote et ont commencé une sélection assistée par marqueurs.

■ QTL de morphogénèse

Les premiers QTL identifiés chez les plantes fourragères pérennes concernent la phénologie du ray-grass anglais dans une population de type (*L. perenne* x *L. multiflorum*) x *L. perenne* (HAYWARD *et al.*, 1994). Sur une carte génétique faiblement saturée, neuf QTL impliqués dans la phénologie ont été détectés dont trois QTL qui expliquent 40% de la variance de la date d'émergence de l'épi et un QTL qui explique 80% de la variance du nombre d'inflorescences produites l'année du semis.

Chez le **ray-grass anglais**, des QTL de morphogénèse ont été recherchés spécifiquement dans quatre populations :

- La population de la carte de référence (p150/112) a été étudiée pour de nombreux caractères morphologiques tels que la hauteur de la plante, le nombre de talles, le port de la plante, le diamètre

des tiges, la longueur et largeur des feuilles, le poids frais à maturité, le nombre d'épillets par épi, la longueur de l'épi, la date de montaison (YAMADA *et al.*, 2004). De nombreux QTL ont été détectés sur l'ensemble des groupes de liaison sauf le groupe de liaison 2. Des co-localisations de QTL ont été notées pour de nombreux caractères corrélés entre eux.

- La population F2 (Aurora x Perma) a été mesurée pour la taille de la plante, l'élongation foliaire et la vitesse de repousse. Des QTL expliquant de 23 à 40% de la variance phénotypique ont été détectés sur l'ensemble des groupes de liaison (HUMPHREYS *et al.*, 2003a).

- La population F1 (NA6 x AU6) a été mesurée pour des caractères morphologiques des parties aériennes et racinaires dans des colonnes de sable (GUTHRIDGE *et al.*, 2003). Sur le parent marocain (NA6), 25 QTL ont été détectés, principalement sur les groupes de liaison 2 et 7. Ils expliquent de 6,5 à 16,7% de la variance phénotypique. Sur le parent de la variété Aurora (AU6), 22 QTL ont été identifiés, principalement sur les groupes de liaison 1 et 7. Ils expliquent de 6,2 à 22% de la variance phénotypique.

- La longueur de limbe a été étudiée dans une population F1 entre une plante à feuilles longues et une plante à feuilles courtes issue du troisième cycle d'une sélection divergente pour la longueur de limbe (BARRE *et al.*, 2002). Trois QTL majeurs expliquent 50% des variations observées.

- Les besoins en vernalisation ont été mesurés sur une population F2 entre la variété italienne Veyo et l'écotype danois Falster (JENSEN *et al.*, 2005). Cinq QTL ont été identifiés sur les groupes de liaison 2, 4, 6 et 7. Le QTL sur le groupe de liaison 4 explique 28% de la variance phénotypique et co-localise avec le gène VRN1 du blé.

Chez le **ray-grass d'Italie**, des QTL de résistance à la verse ont été recherchés dans une population F1 entre une plante de la variété résistante Nioudachi et une plante de la variété sensible Nigatawase (INOUE *et al.*, 2004). En plus d'une notation de la résistance à la verse, des caractères quantitatifs pouvant expliquer la résistance comme la date de montaison, la hauteur de la plante, le nombre de talles, le poids, le diamètre, la force et la résistance à une poussée de la tige ont été mesurés. Une trentaine de QTL pour les caractères quantitatifs ont été identifiés chez les deux parents.

La population pseudo-F2 (MFA x MFB) entre ray-grass anglais et ray-grass d'Italie a été étudiée pour la phénologie (WARNKE *et al.*, 2003). Une région chromosomique associée aux besoins photopériodiques a été détectée sur le groupe de liaison 4 et deux QTL de besoins en vernalisation ont été détectés sur les groupes de liaison 2 et 7.

■ QTL de valeur alimentaire

Les recherches de QTL de la valeur nutritive concernent essentiellement trois populations de **ray-grass anglais** :

- La population de la carte de référence (p150/112) a été étudiée en utilisant la spectrométrie en proche infrarouge pour mesurer les teneurs en matière sèche, en parois, en sucres solubles et en protéines,

et la digestibilité de la matière sèche *in vivo*. Des interactions importantes génotype x environnement ont été notées sur deux années de mesure et aucun QTL stable n'a été identifié (FORSTER *et al.*, 2004 ; COGAN *et al.*, 2005). Par année, un QTL par caractère a été détecté sauf pour la matière sèche où trois QTL ont été détectés. Les QTL expliquent de 9,2 à 21,2% de la variance phénotypique. Des co-localisations de QTL de différents caractères ont été notées sur les groupes de liaison 3 et 7, et pour une moindre mesure 5.

- La population F2 (Aurora x Perma) a été mesurée pour les teneurs en sucres solubles, en parois et en protéines (HUMPHREYS *et al.*, 2003a). Des QTL ont été identifiés sur quatre groupes de liaison et ils expliquent individuellement de 20 à 25% de la variance phénotypique. Cette population impliquant un génotype de la variété Aurora, particulièrement riche en sucres solubles, est utilisée pour mieux comprendre les relations entre croissance (pousse et repousse) et stockage de réserves glucidiques solubles (fructanes).

- La population F1 (NA6 x AU6) a été mesurée pour la teneur en sucres solubles des gaines (FORSTER *et al.*, 2004). Aucun QTL n'a été détecté sur le parent marocain (NA6) et trois QTL ont été détectés sur le parent de la variété Aurora sur les groupes de liaison 1, 2 et 3. Ces QTL expliquent individuellement de 7 à 7,5% de la variance phénotypique.

2. Chez la fétuque des prés

Des recherches de QTL ont été réalisées par l'équipe de Odd Arne Rogneli, de l'Université d'agriculture de Norvège, sur une population F1 issue du croisement d'une plante d'une variété norvégienne et d'une plante d'une variété yougoslave. Les caractères étudiés sont de trois types : la production grainière, la valeur alimentaire et la tolérance à des stress abiotiques.

En ce qui concerne **la production grainière** (FANG, 2003), 57 QTL ont été trouvés pour 10 caractères mesurés : 6 pour la hauteur de la plante, 9 pour la date de montaison, 10 pour le poids de graines par plante, 4 pour le nombre de talles fertiles, 7 pour le poids de 1 000 graines, 3 pour la longueur de la panicule, 4 pour le poids des graines par panicule, 6 pour la fertilité des panicules, 3 pour la longueur de la feuille culminante et 5 pour la largeur de la feuille culminante. La variation expliquée par les QTL pris individuellement varie de 5% à 58,5% de la variance phénotypique.

En ce qui concerne **la valeur alimentaire** (FORSTER *et al.*, 2004), la spectrométrie en proche infrarouge a été utilisée pour prédire des caractères comme les teneurs en parois cellulaires, sucres solubles, protéines, phosphore, magnésium, calcium et potassium. 58 QTL ont été trouvés dont les principaux se situent sur les groupes de liaison 3, 4, 5 et 6.

En ce qui concerne **la tolérance aux stress abiotiques** (ALM, 2001), la tolérance au gel, la survie au champ après l'hiver et la tolérance à la sécheresse ont été étudiés. Deux QTL majeurs ont été

trouvés pour la tolérance au gel sur les groupes de liaison 4 et 5. Ils expliquent, respectivement, 8,4% et 29,5% de la variance phénotypique. Quatre QTL ont été détectés pour la survie au champ après l'hiver sur les groupes de liaison 1, 2, 5 et 6. Ils expliquent, respectivement, 10,4%, 19,7%, 12,3% et 14,9% de la variance phénotypique. Un seul QTL ayant un faible effet a été détecté pour la tolérance à la sécheresse.

Recherche de QTL chez les légumineuses fourragères pérennes

Chez les légumineuses, le déficit en publications est encore plus frappant que chez les graminées et des résultats sont trouvés essentiellement dans le genre *Medicago*.

Parmi les stress abiotiques, la résistance à l'hiver, à l'aluminium et à la sécheresse a été étudiée chez la luzerne. La résistance à l'hiver et deux de ses composantes (la résistance au gel et la croissance automnale) ont été étudiées dans deux populations en backcross issues des deux mêmes parents, l'un résistant au froid et dormant, l'autre sensible et non dormant (BROUWER *et al.*, 2000). Des QTL expliquant au total plus de 30% de la variation ont été obtenus. De façon similaire, la résistance à l'hiver et au gel, la composition en métabolites connus pour être impliqués dans la résistance au froid et la croissance automnale ont été étudiés dans un croisement F1 entre une plante de la sous-espèce *sativa* (non dormante, sensible au froid) et une plante de la sous-espèce *falcata* (dormante, résistante au froid). De nombreux QTL ont été identifiés sur différents chromosomes expliquant chacun de 3,6 à 11% de la variation phénotypique (ALARCON-ZUNIGA *et al.*, 2004). Les cartes de ces deux publications n'étant pas ancrées avec la carte de référence de *M. sativa* diploïde (KALÓ *et al.*, 2000), il est difficile de comparer les positions des QTL. La résistance à l'aluminium du sol a été étudiée dans trois populations de backcross dans des populations diploïdes (SLEDGE *et al.*, 2002). Deux QTL majeurs ont été identifiés et peuvent être utilisés pour créer des variétés améliorées. La résistance à la sécheresse est en cours d'étude dans une population en backcross chez la luzerne tétraploïde (SLEDGE *et al.*, 2004).

L'identification de QTL de résistance à des maladies n'a pas fait l'objet de publication sur la luzerne ni sur *M. truncatula*. Les descriptions de tests de matériel génétique ont été effectuées aux Etats-Unis (O'NEILL *et al.*, 2003 ; SAMAC *et al.*, 2002) et en France (non publié). Les travaux ont certainement progressé dans certaines équipes qui préfèrent ne pas publier les résultats obtenus, de façon à conserver l'exclusivité des marqueurs liés à des résistances pour la sélection. Cependant, des marqueurs liés à la résistance au mildiou ont été identifiés mais non cartographiés (OBERT *et al.*, 2000). Chez la gesse, deux QTL de résistance à *Mycosphaerella pinodes* ont été décrits (SKIBA *et al.*, 2004).

Les caractères de la morphogénèse ont été analysés chez la luzerne tétraploïde (JULIER *et al.*, 2002a) et chez *M. truncatula*

(JULIER *et al.*, 2002b). Chez la luzerne, des QTL sont trouvés sur tous les chromosomes, alors que chez *M. truncatula*, dans le croisement étudié, un QTL majeur a été identifié sur le chromosome 7 pour la date de floraison et la longueur des tiges. D'autres QTL ont été localisés sur le chromosome 2 (longueur des tiges) et le chromosome 5 (diamètre des tiges) (non publié). Des QTL de rendement en fourrage ont été annoncés mais non décrits précisément (ROBINS *et al.*, 2003). De plus, des marqueurs liés à une mutation développementale chez la luzerne tétraploïde ont été isolés (BROUWER et OSBORN, 1997). Chez le trèfle blanc, un marqueur lié à la présence de rhizomes a été identifié dans un croisement entre *T. ambiguum* et *T. repens*, sans développer une carte génétique (ABBERTON *et al.*, 2003).

Des marqueurs impliqués dans des caractères liés à la reproduction sexuée ont été identifiés. En particulier, la production de gamètes diploïdes (non réduits) chez la luzerne diploïde (BARCACCIA *et al.*, 2000 et 2003 ; TAVOLETTI *et al.*, 2000) a été cartographiée.

Enfin, un marqueur RAPD lié à l'aptitude à l'embryogenèse somatique a été identifié (YU et PAULS, 1993).

Les études sont donc restreintes chez les légumineuses, probablement pour deux raisons :

- les cartes génétiques sont récentes, en particulier à cause de la polyploïdie des deux espèces les plus cultivées, la luzerne et le trèfle blanc ;

- les efforts menés sur les légumineuses modèles ont plus porté sur la génomique ou le séquençage que sur la génétique, et initialement surtout sur la symbiose. Il est fort probable que des résultats soient prochainement publiés sur *M. truncatula*, espèce pour laquelle des inventaires de diversité génétique ont été réalisés, des populations de cartographie obtenues, et où la recherche de QTL sera particulièrement précise du fait de la génétique de l'espèce (diploïde, autogame).

Conclusion

Que ce soit chez les graminées ou les légumineuses fourragères pérennes, les outils nécessaires à la cartographie de QTL ne sont disponibles que depuis très peu de temps. Ceci vient de la complexité des espèces fourragères au niveau génétique, que ce soit l'hétérozygotie ou la polyploïdie.

Ceci explique, en partie, le faible nombre d'études publiées dans des revues sur l'identification de QTL. Une autre explication vient du fait que certaines études ont été réalisées avec des fonds privés et ne sont pas publiées. En tout cas, on peut s'attendre à ce que soient publiés, **dans les années à venir, un grand nombre d'articles sur l'identification de QTL chez les espèces fourragères pérennes.**

Pour les caractères quantitatifs, des QTL en nombre plus ou moins important ont été identifiés pour chaque population étudiée. Ces QTL peuvent être ou non différents selon les populations.

Il est important de pouvoir comparer les cartes génétiques entre elles afin d'identifier les régions différentes potentiellement intéressantes pour un caractère. Ensuite, **à l'aide de marqueurs, il est possible de cumuler dans une variété les différents allèles favorables pour chaque région.** Cette stratégie peut être étendue entre espèces proches, par exemple entre la fétuque des prés et le ray-grass anglais. De plus, il est possible d'utiliser les nombreuses données obtenues chez les plantes modèles comme *Medicago truncatula* et le riz. Une stratégie envisageable pour les espèces fourragères à génome complexe ou peu étudié est d'identifier les gènes chez des espèces modèles puis de rechercher dans l'espèce cultivée les relations entre le polymorphisme de ces gènes et le polymorphisme phénotypique.

L'utilisation des QTL en sélection pose un certain nombre de problèmes :

- Si les marqueurs sont éloignés des gènes, des recombinaisons entre le marqueur et le gène sont possibles. La sélection pour un allèle au marqueur risque de ne pas "entraîner" l'allèle favorable au gène.

- Seuls deux génotypes parentaux sont analysés par étude. On peut avoir au maximum quatre allèles différents, ce qui limite la variabilité étudiée.

- Il faut introduire les allèles favorables dans un grand nombre de plantes pour créer une variété améliorée, ce qui nécessite une sélection assistée par marqueurs pour augmenter la fréquence des plantes portant les allèles favorables.

- Le coût du marquage reste élevé et doit être comparé au coût des mesures phénotypiques.

Pour palier à ces problèmes, **il peut être judicieux de rechercher les gènes impliqués dans les variations phénotypiques** (et non de se limiter à des marqueurs associés à des caractères) **et d'étudier leur polymorphisme en relation avec le polymorphisme phénotypique.** Ce sont ensuite les allèles favorables des gènes qui seront introduits dans les variétés. **Actuellement, des sélections utilisant des marqueurs moléculaires et/ou des gènes sont en cours.** Ces études devraient nous donner des informations concrètes sur l'intérêt de l'utilisation de marqueurs pour la sélection des plantes fourragères pérennes.

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

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ABBERTON M.T., MICHAELSON-YEATES T.P.T., BOWEN C., MARSHALL A.H., PREWER W., CARLILE E. (2003) : "Bulked segregant AFLP analysis to identify markers for the introduction of the rhizomatous habit from *Trifolium ambiguum* into *T. repens* (white clover)", *Euphytica*, 134, 217-222.

- ALARCON-ZUNIGA B., SCOTT P., MOORE K.J., LUTH D., BRUMMER E.C. (2004) : "Quantitative trait locus mapping of winter hardiness metabolites in autotetraploid alfalfa (*M. sativa*)", Hopkins A., Wang Z.-Y., Mian R., Sledge M. et Barker R.E. eds., *Developments in plant breeding. Molecular breeding of Forage and turf*, Kluwer Academic Publishers, pp 97-104.
- ALM V. (2001) : *Comparative genome analyses of meadow fescue (Festuca pratensis Huds.): genetic linkage mapping and QTL analyses of frost and drought tolerance*, Ph.D.thesis, Agricultural University of Norway.
- BARCACCIA G., ALBERTINI E., ROSELLINI D., TAVOLETTI S., VERONESI F. (2000) : "Inheritance and mapping of 2n-egg production in diploid alfalfa", *Genome*, 43, 528-537.
- BARCACCIA G., TAVOLETTI S., MARIANI A., VERONESI F. (2003) : "Occurrence, inheritance and use of reproductive mutants in alfalfa improvement", *Euphytica*, 133, 37-56.
- BARRE P., MI F., BALFOURIER F., GHESQUIERE M. (2002) : "QTLs of lamina length in *Lolium perenne*", *Multi-function grasslands: quality forages, animal products and landscapes, Proc. of the 19th Gen. Meet. Europ. Grassland Fed.*, La Rochelle, France, 27-30 May 2002, pp 278-279.
- BROUWER D.J., OSBORN T.C. (1997) : "Identification of RFLP markers linked to the unifoliated leaf, cauliflower head mutation of alfalfa", *The Journal of Heredity*, 88, 150-152.
- BROUWER D.J., DUKE S.H., OSBORN T.C. (2000) : "Mapping genetic factors associated with winter hardiness, fall growth, and freezing injury in autotetraploid alfalfa", *Crop Sci.*, 40, 1387-1398.
- COGAN N.O.I., SMITH K.F., YAMADA T., FRANCKI M.G., VECCHIES A.C., JONES E.S., SPANGENBERG G.C., FORSTER J.W. (2005) : "QTL analysis and comparative genomics of herbage quality traits in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.)", *Theor. Appl. Genet.*, 110, 364-380.
- CURLEY J., SIM S.-C., JUNG G., LEONG S., WARNKE S.E., BARKER R.E. (2003) : "QTL mapping of gray leaf spot resistance in ryegrass, and synteny-based comparison with rice blast resistance genes in rice", Hopkins A., Wang Z.-Y., Mian R., Sledge M. et Barker R.E. eds., *Developments in plant breeding. Molecular breeding of Forage and turf*, Kluwer Academic Publishers, pp 37-46.
- DE VIENNE D., CAUSSE M. (1998) : "La cartographie et la caractérisation des locus contrôlant la variation des caractères quantitatifs", De Vienne éd., *Les marqueurs moléculaires en génétique et biotechnologies végétales*, Edition INRA, pp 89-118.
- DOLSTRA O., BOUICOIRAN C.F.S., DEES D., DENNEBOOM C., GROOT P.J., DE VOS A.L.F., VAN LOO E.N. (2003) : "Genome-wide search of genes relevant to nitrogen-use-efficiency in perennial ryegrass", *Résumés de Plant and Animal Genome XI Conference*, January 11-15, San Diego, USA, W208.
- DUMSDAY J.L., SMITH K.F., FORSTER J.W., JONES E.S. (2003) : "SSR-based genetic linkage analysis of resistance to crown rust (*Puccinia coronata* f. sp. *lolii*) in perennial ryegrass (*Lolium perenne*)", *Plant Pathology*, 52, 628-637.
- FANG C. (2003) : *Comparative genome analyses, QTL mapping and genetic analyses of seed yield and related traits in meadow fescue (Festuca pratensis Huds.)*, Ph.D.thesis, Agricultural University of Norway.
- FORSTER J.W., JONES E.S., BATLEY J., SMITH K.F. (2004) : "Molecular marker-based genetic analysis of pasture and turf grasses", Hopkins A., Wang Z.-Y., Mian R., Sledge M. et Barker R.E. eds., *Developments in plant breeding. Molecular breeding of Forage and turf*, Kluwer Academic Publishers, pp 197-238.
- FUJIMORI M., HAYASHI K., HIRATA M., MIZUNO K., FUJIWARA T., AKIYAMA F., MANO Y., KOMATSU S., TAKAMIZO T. (2003) : "Linkage analysis of crown rust resistance gene in Italian ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.)", *Résumés de Plant and Animal Genome XI Conference*, January 11-15, San Diego, USA, W203.
- GUTHRIDGE K.M., MCFARLAND K.C., CIAVARELLA T.A., BATLEY J., JONES E.S., SMITH K.F., FORSTER J.W. (2003) : "Molecular marker-based analysis of morphological traits in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.)", *Résumés de Molecular breeding of forage and turf*, Third Int. Symp., May 18-22, Dallas, Texas et Ardmore, Oklahoma, USA. p 58.

- HAYWARD M.D., McADAM N.J., JONES J., EVANS C., EVANS G.M., FORSTER J.W., USTIN A., HOSSAIN K.G., QUADER B., STAMMER M., WILL J.K. (1994) : "Genetic markers and selection of quantitative traits in forage grasses", *Euphytica*, 77, 269-275.
- HUMPHREYS M., TURNER L., ARMSTEAD I. (2003a) : "QTL mapping in *Lolium perenne*", *Résumés de Plant and Animal Genome XI Conference*, January 11-15, San Diego, USA, W207.
- HUMPHREYS M.W., HUMPHREYS J., DONNISON I., KING I.P., THOMAS H.M., GHESQUIÈRE M., DURAND J., ROGNLI O.A., ZWIERZYKOWSKI Z., RAPACZ M. (2003b) : "Molecular breeding and functional genomics for tolerance to abiotic stress", Hopkins A., Wang Z.-Y., Mian R., Sledge M. et Barker R.E. édés., *Developments in plant breeding. Molecular breeding of Forage and turf*, Kluwer Academic Publishers, pp 61-80.
- INOUE M., GAO Z., CAI H. (2004) : "QTL analysis of lodging resistance and related traits in Italian ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.)", *Theor.Appl.Genet.*, 109, 1576-1585.
- JENSEN L.B., ANDERSEN J.R., FREI U., XING Y., TAYLOR C., HOLM P.B., LÜBBERSTEDT T. (2005) : "QTL mapping of vernalisation response in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) reveals co-localisation with an orthologue of wheat VRN1", *Theor.Appl.Genet.*, 110, 527-536.
- JULIER B., GUINES F., HACKETT C.A., HUGUET T., HUYGHE C. (2002a) : "Genetic mapping and identification of QTL for stem morphogenesis in tetraploid alfalfa", *North American Alfalfa Improvement Conference*, Sacramento.
- JULIER B., GUINES F., PROSPERI J.M., ECALLE C., HUYGHE C. (2002b) : "Variation for morphology and histology of the stems in the model legume species *M. truncatula*", *Proc. 7th Europ.Grassland Fed. Congr., Multi-function grasslands. Quality forages, animal products and landscapes*, AFPP, Versailles, pp 316-317.
- KALÓ P., ENDRE G., ZIMÁNYI L., CSANÁDI G., KISS G.B. (2000) : "Construction of an improved linkage map of diploid alfalfa (*Medicago sativa*)", *Theor.Appl.Genet.*, 100, 641-657.
- MUYLLE H., VAN BOCKSTAELE E., ROLDAN-RUIZ I. (2003a) : "Genetic dissection of crown rust resistance in a *Lolium perenne* mapping population", *Proc. 24th EUCARPIA Fodder Crops and Amenity Grasses Section Meeting*, September 22-26, Braunschweig, Germany, pp 217-224.
- MUYLLE H., VAN BOCKSTAELE E., ROLDAN-RUIZ I. (2003b) : "Identification of four genomic regions involved in crown rust resistance in a *L.perenne* population", *Résumés de Molecular breeding of forage and turf*, Third Int. Symp., May 18-22, Dallas, Texas et Ardmore, Oklahoma, USA. p 9.
- OBERT D.E., SKINNER D.Z., STUTEVILLE D.L. (2000) : "Association of AFLP markers with downy mildew resistance in autotetraploid alfalfa", *Molecular Breeding*, 6, 287-294.
- O'NEILL N.R., BAUCHAN G.R., SAMAC D.A. (2003) : "Reactions in the annual *Medicago* spp. core germ plasm collection to *Phoma medicaginis*", *Plant Disease*, 87, 557-562.
- ROBINS J.G., VIANDS D.R., CAMPBELL T.A., LUTH D., BRUMMER E.C. (2003) : "Mapping biomass yield in an intersubspecific cross of alfalfa", *Résumés de Molecular breeding of forage and turf*, Third Int. Symp., May 18-22, Dallas, Texas et Ardmore, Oklahoma, USA. p 133.
- RODERICK H., HUMPHREYS M.O., TURNER L., ARMSTEAD I., THOROGOOD D. (2003) : "Isolate specific trait loci for resistance to crown rust in perennial ryegrass", *Proc. 24th EUCARPIA Fodder Crops and Amenity Grasses Section Meeting*, September 22-26, Braunschweig, Germany, pp 244-247.
- SAMAC D.A., DANESH D., YOUNG N.D. (2002) : "Pathosystem development in the model legume *Medicago truncatula*", *Int. Conf. on Legume enomics and Genetics: translation to crop improvement*, Minneapolis-St. Paul, pp 82-
- SKIBA B., FORD R., PANG E. (2004) : "Construction of a linkage map based on a *Lathyrus sativus* backcross population and preliminary investigation of QTLs associated with resistance to *Ascochyta blight*", *Theor. Appl. Genet.*, 109, 1726-1735.

- SLEDGE M.K., BOUTON J.H., DALL'AGNOLL M., PARROTT W.A., KOCHERT G. (2002) : "Identification and confirmation of aluminum tolerance QTL in diploid *Medicago sativa subsp coerulea*", *Crop Sci.*, 42, 1121-1128.
- SLEDGE M.K., RAY I.M., JIANG G. (2004) : "*Medicago truncatula* EST-SSRs for genetic mapping in alfalfa", *5th European Conf. on Grain Legumes - ICLGG 2004*, Conference handbook, AEP - INRA, Dijon, pp 182-
- TAVOLETTI S., PESARESI P., BARCACCIA G., ALBERTINI E., VERONESI F. (2000) : "Mapping the *jp* (jumbo pollen) gene and QTLs involved in multinucleate microspore formation in diploid alfalfa", *Theor.Appl.Genet.*, 101, 372-378.
- THOROGOOD D., PAGET M., HUMPHREYS M., TURNER L., ARMSTEAD I., RODERICK H. (2001) : "QTL analysis of crown rust resistance in perennial ryegrass - implications for breeding", *Int. Turfgrass Soc. Reseach J.*, 9, 218-223.
- VAN OOIJEN J.W. (2004) : *MapQTL 5, Software for the mapping of quantitative trait loci in experimental populations*, Kyazma B.V., Wageningen, Netherlands.
- VAN OOIJEN J.W., VOORRIPS R.E. (2001) : *JoinMap 3.0 Software for the calculation of genetic linkage maps*, Plant Research International, Wageningen, the Netherlands.
- WARNKE S.E., BARKER R.E., SIM S.-C., JUNG G., MIAN R. (2003) : "Identification of flowering time QTLs in an *annual x perennial ryegrass* mapping population", *Résumés de Molecular breeding of forage and turf*, Third Int. Symp., May 18-22, Dallas, Texas et Ardmore, Oklahoma, USA. p 43.
- YAMADA T., JONES E.S., COGAN N.O.I., VECCHIES A.C., NOMURA T., HISANO H., SHIMAMOTO Y., SMITH K.F., HAYWARD M.D., FORSTER J.W. (2004) : "QTL analysis of morphological, developmental, and winter hardiness-associated traits in *perennial ryegrass*", *Crop Sci.*, 44, 925-935.
- YU K., PAULS K.P. (1993) : "Identification of a RAPD marker associated with somatic embryogenesis in alfalfa", *Plant Mol. Biol.*, 22, 269-277.

SUMMARY

The detection of QTLs in the perennial forage species of temperate countries

For some fifteen years, it has been possible, thanks to the development of a large number of markers, especially molecular markers, to locate on the genome the QTLs responsible for the variations of a given quantitative character. The variation observed at the level of a population can thus be partitioned among variations due to individual loci. The utilization of the QTLs in a breeding programme in order to accumulate favourable alleles at various loci can then be contemplated. This paper gives the list of all results presently available regarding the detection of QTLs in perennial forage plants. These are only now beginning to be published, since the genetics of forage species is complex (heterozygosity and polyploidy) and the financial investments are relatively limited, while the results of many works undertaken by private groups remain unpublished.

The characters studied relate to resistance or tolerance to biotic stress (fungal or bacterial diseases), abiotic stress (cold, drought, short nitrogen supply), morphogenetic features (leaf and stem growth, branching, tillering, output, phenology), and nutritional ones (digestibility, soluble carbohydrate content, protein content). For all the quantitative characters studied in one or several mapped populations, QTLs have been identified, in smaller or larger numbers, and with more or less important effects. The utilization of these QTLs in the breeding programmes of perennial forage species remains to be studied.