

Vers une révision des objectifs et méthodes de sélection de la luzerne

B. Julier¹, P. Barre¹, V. Béguier², F. Debellé³, J. Gouzy³, M.-C. Gras⁴,
S. Hamey⁵, P. Lonnet⁵, G. Louarn¹, D. Noël⁶, B. Tharel⁶, J.-P. Sampoux¹, F. Surault¹

1 : INRA, UR4, F-86600 Lusignan ; Bernadette.Julier@lusignan.inra.fr

2 : GIE Grass, F-86600 Saint-Sauvant

3 : INRA, UMR CNRS-INRA 2594-441, F-31326 Castanet-Tolosan cedex

4 : RAGT, F-12000 Rodez

5 : Florimond Desprez, F-59242 Cappelle-en-Pévèle

6 : Barenbrug Tourneur Recherches, F-82600 Mas-Grenier

La recherche d'une autonomie protéique, la réduction des dépenses énergétiques et des sources de pollution, en premier lieu celles engendrées par la fabrication d'engrais azotés, et la prise en compte de tous les services écosystémiques favorisent l'introduction de légumineuses fourragères pérennes dans la plupart des agroécosystèmes, en culture pure et en culture associée. Parallèlement, le changement climatique nécessite des variétés adaptées à des épisodes de sécheresse et de chaleur. L'accroissement (en surface et par diversification des systèmes fourragers ou de culture) de la culture de légumineuses et le changement climatique conduisent aussi à étendre les zones de culture des espèces, et par exemple de considérer la culture de la luzerne beaucoup plus largement dans la moitié nord de la France (bassin parisien, ouest) en plus des zones traditionnelles (moitié sud de la France, Champagne). La sélection de nouvelles variétés vise à assurer le maintien de la production et de la qualité dans des situations de stress hydrique et thermique, et à promouvoir l'adaptation de l'espèce à de plus larges zones de culture. Les nouvelles techniques de séquençage et de génotypage offrent des outils prometteurs pour faciliter cette sélection et ainsi accélérer le progrès génétique. Nous développerons les perspectives de sélection, en ce qui concerne la luzerne.

1. Quels sont les nouveaux objectifs de sélection ?

Les sélectionneurs mettent déjà en œuvre de nombreux critères de sélection pour garantir production (potentiel de rendement tout au long de la culture, résistances aux maladies et à la verse) et qualité (teneur en protéines, digestibilité). Ces caractères sont évalués en culture pure et ont permis de nombreux progrès génétiques. Cependant, la culture de la luzerne en association avec des graminées fourragères (dactyle ou fétuque principalement) est une modalité qui permet de produire un fourrage équilibré en protéines et en énergie, sans fourniture d'engrais azotés (LOUARN *et al.*, 2010, 2016). Des études récentes ont montré que le classement des variétés ou des génotypes en culture pure ou en association n'était pas exactement conservé, certaines variétés ou génotypes étant plus performants dans l'un ou dans l'autre des modes de culture (JULIER *et al.*, 2014 ; MAAMOURI, 2014). Ces résultats indiquent que la valeur des variétés en culture associée devrait être prise en compte pour ajuster la création variétale à l'utilisation effective des variétés. Cette prise en compte ne serait pas forcément très compliquée puisque nous avons trouvé dans ces études que, en association, le classement des variétés de luzerne ne dépend pas de la variété de la graminée compagne, autrement dit, l'aptitude générale à l'association est bien supérieure à l'aptitude spécifique à l'association (MAAMOURI *et al.*, 2015 ; JULIER *et al.*, 2014). L'évaluation des variétés de luzerne pour leur valeur en association peut donc être réalisée en utilisant une variété quelconque de graminée fourragère pérenne. Cette valeur en association de la luzerne peut être étendue à la luzerne plante de service, servant à la fourniture d'azote en association avec des espèces annuelles non fixatrices (céréales, colza).

Le changement climatique n'est actuellement pas directement intégré à la sélection des variétés. En effet, sur la plupart du territoire français, les variétés de luzerne utilisées sont de type Nord, avec une dormance automnale entre 4 et 5. Pourtant, les variétés de type Sud, sélectionnées pour une large zone Sud et de dormance 6, peuvent désormais être produites en zone Nord sans risque important de destruction par le gel. L'extension de l'usage des variétés de type Sud permettrait d'assouplir le calendrier des coupes de la luzerne, que ce soit chez un éleveur ou en déshydratation. En effet, le rythme de végétation est sensiblement plus précoce et plus rapide chez les variétés Sud que chez les variétés Nord. Nous supposons que la culture de différents types variétaux à l'échelle d'une exploitation ou d'un territoire géré par une usine de déshydratation permettrait de maximiser la production fourragère et sa qualité. Cette hypothèse sera testée dans un projet qui cherchera à inclure la diversité génétique dans un modèle STICS de production, d'élaboration de la qualité et d'impacts environnementaux de la luzerne. En conséquence, des efforts de sélection plus importants devront être apportés pour les luzernes Sud, en insistant sur la production de semences, actuellement non compétitive sur ce matériel, mais aussi sur la valeur alimentaire ou la résistance aux maladies.

2. Quelles nouvelles méthodes de sélection ?

La sélection est basée sur l'observation des phénotypes de plantes individuelles ou des descendance de ces plantes. Elle consiste à mesurer le rendement ou des caractères liés au rendement (hauteur, vitesse de repousse, résistance aux maladies, résistance à la verse) et à la qualité (teneur en protéines, digestibilité). Elle a montré toute son efficacité mais elle reste longue et coûteuse, en particulier sur la luzerne, espèce allogame hétérozygote dont les variétés sont des populations synthétiques et autotétraploïdes. Si on connaissait les principaux gènes qui gouvernent les caractères phénotypiques, on pourrait sélectionner directement les allèles favorables. Dans l'état des connaissances actuelles, il est possible de trouver, si ce n'est des gènes, des marqueurs moléculaires (ADN) dont la présence est liée à des caractères. Les progrès techniques sont notables dans le domaine depuis quelques années. En particulier, les nouvelles techniques de séquençage de l'ADN et de génotypage (description du génome à l'aide de marqueurs) ouvrent désormais des perspectives concrètes. La première tâche est d'obtenir la séquence de référence du génome de la luzerne, ressource indispensable aux études mettant en œuvre des techniques de génotypage. La première version de la séquence du génome de la luzerne, obtenue avec de courts fragments d'ADN (DEBELLE *et al.*, 2012), pourrait maintenant être remplacée par une séquence obtenue à partir de grands fragments qui faciliteront l'assemblage du génome. Cette séquence du génome de la luzerne servira de référence pour savoir la position et la séquence des gènes. De plus, le génotypage d'un grand nombre d'individus ou de familles devient possible avec le GBS (*Genotyping By Sequencing*) pour un coût raisonnable, ce qui permet d'obtenir plusieurs milliers de marqueurs répartis sur tout le génome (BYRNE *et al.*, 2013). En combinant des données de phénotypage (rendement, qualité, résistances, *etc.*) et de génotypage (marqueurs) obtenues sur plusieurs centaines d'individus ou de populations, nous pouvons obtenir des données utilisables en sélection : i) des marqueurs qui expliquent une partie de la variabilité génétique (génétique d'association, FLINT-GARCIA *et al.*, 2003) et qui peuvent être utilisés pour sélectionner les individus qui portent des allèles favorables, ii) des équations permettant de prédire la valeur phénotypique d'individus d'après leur génotype obtenu sur des milliers de marqueurs, sans avoir procédé à leur évaluation phénotypique (sélection génomique, HAYES *et al.*, 2013). La complexité génétique de la luzerne n'est désormais plus une barrière au développement d'outils méthodologiques de sélection assistée par des marqueurs génétiques. Il n'en reste pas moins que ces travaux requièrent des moyens techniques et des mises au point méthodologiques d'envergure.

L'activité de sélection des légumineuses fourragères, particulièrement active en France, reste indispensable pour que l'agriculture s'adapte aux changements d'objectifs (plus d'autonomie protéique, moins d'intrants) et de climat. Les acteurs de la sélection sont mobilisés pour faire face à ces enjeux en acceptant de revoir objectifs et outils de sélection.

Remerciements : Nous remercions Nicolas Baudoin (INRA Laon) et François Gastal (INRA Lusignan) pour des discussions sur la place de types variétaux contrastés dans les systèmes agricoles et Amel Maamouri pour sa contribution aux travaux sur les associations. Les travaux mentionnés ont reçu des soutiens de la Région Poitou-Charentes (projet Expoleg-AV 2011–2015), du Ministère de l'Agriculture (projet Aglaé, Casdar C-2011-07, 2012–2015; projet Variluz, Casdar 2015-2019) et du programme européen ARIMNET (projet Reforma, 2012-2016). Nous remercions aussi l'ACVF (Association des Créateurs de Variétés Fourragères) pour son soutien.

Références bibliographiques

- BYRNE S., CZABAN A., STUDER B., PANITZ F., BENDIXEN C., ASP T. (2013) : "Genome Wide Allele Frequency Fingerprints (GWAFFs) of populations via genotyping by sequencing", *Plos One* 8, DOI: 10.1371/journal.pone.0057438.
- DEBELLÉ F., BELSER C., AURY J., LABADIE K., ROUX B., SALLET E., CARRERE S., WINCKER P., SCHIEX T., JULIER B., GAMAS P., GOUZY J. (2012) : "Genomic resources for functional analysis in *Medicago truncatula* and related crop species". 6th International Conference on Legume Genetics and Genomics, Hyderabad, India.
- FLINT-GARCIA S.A., THORNSBERRY J.M., BUCKLER IV E.S. (2003) : "Structure of linkage disequilibrium in plants", *Ann. Rev. Plant Biol.* 54, 357-374.
- HAYES B.J., COGAN N.O.I., PEMBLETON L.W., GODDARD M.E., WANG J.P., SPANGENBERG G.C., FORSTER J.W. 2013 "Prospects for genomic selection in forage plant species", *Plant Breed.*, 132, 133-143.
- JULIER B., LOUARN G., GASTAL F., SURAULT F., SAMPOUX J.P., MAAMOURI A., FERNANDEZ L. (2014). Les associations graminées – légumineuses prairiales. Comment sélectionner des variétés pour accroître leur productivité et faciliter leur conduite ? *Innovations Agronomiques* 40, 61-72.
- LOUARN G., FAVERJON L., BIJEIĆ Z., JULIER B. (2016) : « Dynamique de l'azote dans les associations graminées-légumineuses : quels leviers pour valoriser l'azote fixé ? », *Fourrages*, à paraître.
- LOUARN G., CORRE-HELLOU G., FUSTEC J., LÔ-PELZER E., JULIER B., LITRICO I., HINSINGER P., LECOMTE C. (2010) « Déterminants écologiques et physiologiques de la productivité et de la stabilité des associations graminées-légumineuses », *Innovations Agronomiques* 11, 79-99.
- MAAMOURI A. (2014) : « Variabilité génétique de la luzerne cultivée en association avec une graminée fourragère », Thèse de Doctorat de l'Université de Poitiers.
- MAAMOURI A., LOUARN G., GASTAL F., BÉGUIER V., JULIER B. (2015) : "In mixtures, lucerne genotype affects morphology, biomass production and nitrogen content of both lucerne and tall fescue. *Crop Past. Sci.*, 66, 192 - 204.