

Le réseau de conservation des ressources génétiques

des plantes fourragères et à gazon :

quelle diversité génétique au sein des collections d'espèces pérennes ?

J.M. Prosperi ¹ et J.P. Sempoux ²

1 : UMR Diversité et Génome des Plantes Cultivées, Centre INRA Montpellier, Domaine de Melgueil, F-34130 Mauguio ; jean-marie.prosperi@ensam.inra.fr

2 : Unité Génétique et Amélioration des Plantes Fourragères, Centre INRA Poitou Charentes, F-86600 Lusignan

Résumé

La caractérisation et l'étude de la structuration de la diversité génétique des espèces végétales imposent le recours à des expérimentations planifiées. Afin de mener à bien de telles investigations, il est nécessaire de constituer des collections de ressources génétiques et d'organiser leur conservation (conservation *ex situ* de la diversité génétique). La mise en place de collections est aussi pour les sélectionneurs le moyen de disposer de "réservoirs" de variabilité génétique pour les programmes de création variétale. Le maintien de collections ne doit cependant pas être considéré comme le seul moyen efficace de conservation à long terme de la diversité génétique. Dans le cas des espèces prairiales et des espèces sauvages apparentées, le développement d'actions de préservation des sites naturels, exploités ou non, où ces espèces sont spontanées (conservation *in situ*), ainsi que des programmes de gestion dynamique de la variabilité doivent être envisagés.

La gestion des ressources génétiques des espèces fourragères et à gazon s'inscrit dans le cadre d'une politique nationale des ressources génétiques, mise en place sous l'impulsion du Bureau des Ressources Génétiques. Une Collection nationale a été constituée ; elle rassemble des variétés radiées des catalogues français, d'anciennes variétés de pays et des populations naturelles issues de prospections sur le territoire français. D'autres collections plus vastes font l'objet d'une gestion commune entre l'INRA et les obtenteurs privés, ou bien sont détenues par l'INRA. La conservation des accessions d'une collection doit s'accompagner de l'enregistrement de données de passeport (origine, taxinomie, informations géographiques et écologiques), ces informations étant le plus souvent complétées de données d'évaluation phénotypique, voire de données de marquage génétique.

Durant la décennie passée, des actions importantes ont été entreprises par l'INRA pour la prospection et l'étude de populations naturelles françaises de ray-grass anglais et de populations spontanées espagnoles de luzerne pérenne. Ces études ont permis d'analyser la structuration de la diversité génétique collectionnée, de préciser les relations entre compartiment cultivé et sauvage dans le cas de la luzerne, et d'initier des actions de conservation et de sélection. La conservation à long terme de collections d'effectif important peut se heurter à des difficultés techniques, qui rendent souhaitable une réduction du nombre d'entités à conserver. Ceci peut se réaliser en ne conservant qu'un nombre limité d'accessions ('core collection'), ou bien en regroupant les accessions sous forme de pools ; dans les deux cas, il est nécessaire de représenter au mieux la diversité de la collection initiale en s'appuyant sur une étude préalable de sa structuration.

Introduction

Le progrès génétique spectaculaire des espèces végétales cultivées, au cours du vingtième siècle, a été le fruit de la mise en place de méthodes de sélection efficaces à partir des connaissances acquises en génétique, mais aussi d'un effort inédit de rassemblement de diversité génétique spontanée et domestiquée. Afin de planifier l'étude et la conservation de la diversité ainsi recueillie, celle-ci a été organisée en collections regroupant des accessions faisant l'objet de procédures de gestion communes. Parallèlement à leur valorisation dans les programmes de création variétale, les collections sont aussi devenues plus récemment un outil privilégié de l'étude de la diversité interspécifique et de la variabilité génétique intraspécifique. Le recours aux collections connaît même aujourd'hui un regain d'intérêt avec les travaux de séquençage des génomes végétaux ; en effet, celles-ci constituent un matériel de choix pour étudier le polymorphisme des gènes séquencés, voire pour des recherches d'association entre certaines formes alléliques et leur valeur phénotypique.

Dans le cas des espèces fourragères, les recherches en génétique et la création variétale ont pris leur essor à partir des années 1950. Comme le relate Paul MANSAT (1995), la gestion des ressources génétiques de ces espèces par les chercheurs et les sélectionneurs s'est organisée progressivement. Dans les décennies 1950 et 1960, de nombreuses prospections ponctuelles ont été réalisées dans les milieux naturels et sur des prairies exploitées. Elles ont été suivies d'une valorisation rapide en création variétale, mais sans intégrer un réel souci de conservation à long terme. C'est seulement à partir des années 1970 que des prospections se sont organisées avec l'objectif affirmé de constituer des collections destinées certes à être étudiées et valorisées, mais aussi à être conservées de façon systématique pour les générations futures.

Ces prospections pouvaient répondre à la nécessité d'une recherche de variabilité pour un objectif de sélection précis, comme les prospections de dactyle réalisées par Claude MOUSSET en Bretagne ou en Espagne (MOUSSET, 1995). Elles pouvaient également être motivées par une volonté d'échantillonnage aussi exhaustif que possible à l'intérieur d'un territoire ou d'une gamme de milieux définis, comme les prospections françaises de ray-grass anglais (CHARMET *et al.*, 1996a) ou de luzernes spontanées en Espagne (PROSPERI, 1989). Parallèlement, à partir des années 1990, la gestion des collections de ressources génétiques des espèces fourragères s'est organisée à l'échelon national et s'est intégrée aux réseaux européens et internationaux de ressources génétiques végétales (GUY, 1995).

1. Les différentes formes de conservation de la diversité génétique et leur intérêt

1.1. Les collections ou la conservation *ex situ*

Les collections sont constituées d'échantillons prélevés dans des populations naturelles, des variétés de pays, ou des cultivars récents. Étudiées et conservées sur des sites de recherche ou d'expérimentation, elles représentent par définition le mode de conservation *ex situ* de la diversité génétique, que l'on oppose parfois à un mode de conservation *in situ* ou en milieu naturel. Elles ont vocation à réunir une large variabilité génétique intraspécifique, mais la nature du matériel génétique collecté peut varier selon les espèces, en fonction du statut et des disponibilités des compartiments sauvages et domestiqués.

Selon les espèces et l'objectif recherché, les collections peuvent être monospécifiques ou plurispécifiques. Des collections monospécifiques peuvent être rassemblées pour des espèces à large aire de répartition, d'identification botanique peu ambiguë, et faisant l'objet d'enjeux semenciers conséquents (dactyle, luzerne ou ray grass anglais). La gestion des accessions sous une seule collection plurispécifique peut également se concevoir lorsque l'intérêt se porte sur un complexe d'espèces botaniquement proches (une même section botanique) ou lorsque les objectifs requièrent une base de diversité assez large. Il en est ainsi de la collection rassemblée par l'ACVF (Association des Créateurs de Variétés Fourragères) et l'INRA pour le complexe des fétuques à feuilles fines, constitué d'espèces dont les contours botaniques sont imprécis, mais qui font l'objet d'un même type d'utilisation agronomique en gazon.

A l'origine de la constitution des collections, on trouve le souci des sélectionneurs de disposer de "réservoirs" de variabilité génétique pour la création variétale. Après plusieurs décennies de sélection, les ressources génétiques non sélectionnées ont-elles encore un intérêt pour cet objectif ? Oui, sans équivoque. L'histoire de la création variétale est ainsi remplie d'exemples où un gène de tolérance à un pathogène, ou encore un gène de stérilité, issus du compartiment sauvage, ont été transférés dans des fonds agronomiques performants.

Plus récemment, les études de "néo-domestication", c'est-à-dire d'enrichissement de la variabilité disponible du compartiment cultivé en mimant les étapes de domestications initiales par l'homme à partir du compartiment sauvage, montrent tout l'intérêt de la diversification des sources de variabilité utilisées en sélection classique.

Pour les espèces fourragères, le hiatus entre populations naturelles et variétés cultivées est plus ténu encore que pour les espèces de grande cultures, en raison de l'histoire relativement récente de la création variétale dans ces espèces, mais aussi du fait de la multiplicité des objectifs poursuivis (production grainière et fourragère, qualité, tolérance aux pathogènes, forte plasticité...) et des pratiques culturales.

Deux exemples récents, chez les espèces fourragères, montrent assez largement l'intérêt des matériels issus de la diversité naturelle. Les travaux de Gilles CHARMET et François BALFOURIER en ray-grass anglais ont montré qu'il était possible de créer du matériel sélectionné de bon niveau agronomique à partir de sélections dirigées dans des populations issues de la prospection française INRA – ACVF (CHARMET *et al.*, 1996b). De la même façon, les prospections de fétuques à feuilles fines réalisées en France au début des années 1990 par l'ACVF et l'INRA ont contribué à la création de plusieurs variétés récemment inscrites ou en dépôt au catalogue national gazon.

Au-delà de leur intérêt pour la création variétale, les collections sont de toute évidence nécessaires pour caractériser et analyser la variabilité génétique des espèces. En particulier, l'étude en milieux contrôlés d'une large variabilité génétique peut être nécessaire afin de déterminer certains paramètres génétiques qui permettront d'optimiser des démarches de conservation *in situ*. En revanche, ces collections *ex situ* ne constituent pas, en elles-mêmes, un moyen efficace et durable de conservation à long terme de la diversité. En effet, lors des régénérations périodiques rares (mais indispensables) des collections, le nombre de plantes installées par accession est nécessairement limité (quelques centaines au mieux) et une dérive génétique des accessions, plus ou moins importante, devient inévitable. Par ailleurs, ces accessions, isolées de leur environnement naturel, n'évoluent plus en interaction avec la sphère biotique et pourraient se trouver, au bout de quelques années, particulièrement sensibles à tel ou tel pathogène.

1.2. La conservation *in situ*

La conservation à long terme de la diversité génétique des espèces prairiales et des espèces sauvages apparentées peut aussi être assurée dans les milieux où ces espèces sont spontanées : prairies permanentes, parcours, et milieux naturels non exploités. Ce mode de conservation offre l'avantage de maintenir une dynamique évolutive entre les ressources et leurs environnements. Cette conservation *in situ* dépend en premier lieu de la préservation des milieux, et du maintien, le cas échéant, de leur mode d'exploitation (pâturage, fauche). Des réglementations existent pour la protection de zones naturelles. En ce qui concerne les prairies naturelles exploitées et les parcours, la conservation *in situ* pourrait ainsi être organisée autour d'un réseau de sites à protéger, en s'appuyant sur une bonne connaissance de la structuration écologique et géographique de la diversité des espèces visées, ainsi que des mécanismes d'évolution de cette diversité.

1.3. La gestion dynamique de la variabilité

La gestion dynamique de la variabilité génétique peut offrir un compromis intéressant entre une conservation statique (*ex situ*) et la conservation *in situ*. Elle a pour objectif de soumettre des populations de base génétique large à des pressions de sélection faible sur des pas de temps longs, afin de favoriser l'apparition de nouvelles combinaisons alléliques adaptées à l'évolution des conditions environnementales. Cette méthode pourrait être un préalable à la création variétale en préparant des ressources plus rapidement exploitables pour des besoins futurs. Plusieurs types de pression de sélection peuvent être imposés simultanément en implantant une même population dans plusieurs sites contrastés pour leurs conditions environnementales (climat, maladies...) et

éventuellement soumis à des conditions d'exploitation différentes (fauche, pâturage...). Des alternances de phases d'exposition à la sélection dans différents sites et de brassage des populations sélectionnées peuvent aussi être envisagées. Les accessions des collections, dans la mesure où elles sont bien caractérisées, représentent un matériel de choix pour la constitution de telles populations synthétiques destinées à une gestion dynamique de la variabilité.

2. Les collections de ressources génétiques des espèces fourragères et à gazon en France

2.1. Cadre général national et international de la gestion des ressources génétiques

La gestion des ressources génétiques des espèces fourragères et à gazon s'inscrit dans le cadre d'une politique nationale des ressources génétiques, mise en place sous l'impulsion du Bureau des Ressources Génétiques (BRG), en cohérence avec les traités internationaux ratifiés par la France. En effet, la convention sur la diversité biologique, ratifiée en 1992 à Rio, reconnaît aux Etats un droit souverain sur leurs ressources biologiques, mais elle affirme également leurs responsabilités face à la conservation et à l'utilisation durable de ces ressources. Le Plan d'Action Mondial pour la conservation et l'utilisation durable des ressources phytogénétiques pour l'alimentation et l'agriculture (FAO, 1996) engage les pays signataires, dont la France, à favoriser le développement d'actions concrètes de conservation, d'évaluation et de diffusion des ressources génétiques.

Afin de répondre à ces engagements internationaux, le BRG a établi en 1997 une Charte Nationale pour la gestion des ressources génétiques qui a été adoptée par ses ministères de tutelle, les établissements publics de recherche concernés (dont l'INRA) et le GEVES. Cette charte concerne la diversité génétique des espèces domestiquées et des espèces sauvages apparentées dont la responsabilité incombe à la France. Elle établit des recommandations et propose un programme d'actions concernant la conservation *ex situ* et *in situ* des ressources génétiques, ainsi que la gestion dynamique de la variabilité. En ce qui concerne la conservation *ex situ*, elle définit le principe de Collections Nationales rassemblant pour les espèces d'intérêt agronomique, et pour leurs espèces apparentées cultivées ou sauvages, un échantillon aussi exhaustif que possible de la diversité naturelle présente sur le territoire français, et de la diversité ayant été cultivée (anciennes variétés de pays et cultivars issus de la sélection radiés du catalogue national). Les Collections Nationales ont vocation à être la ressource privilégiée que la France met à disposition de la communauté mondiale au sein de réseaux d'échanges internationaux, et ont une valeur patrimoniale. Par ailleurs, l'INRA a désigné la préservation et la valorisation des ressources génétiques comme un axe prioritaire dans son document d'orientation 2001 – 2004, et entrepris des travaux importants d'identification des collections prioritaires.

2.2. L'organisation de la gestion des collections d'espèces fourragères et à gazon

La Collection Nationale concernant les espèces fourragères et à gazon a été mise en place à partir de 1997. Elle est gérée par un réseau coopératif "Espèces fourragères et à gazon" impliquant l'INRA, le GEVES, et l'ACVF (association regroupant les obtenteurs privés opérant sur les espèces concernées). L'animation de ce réseau est assurée par le GEVES et l'INRA. La conservation et la diffusion du matériel génétique sont mises en œuvre selon les règles établies par la charte et le règlement intérieur de ce réseau. La Collection nationale comprend à ce jour 585 accessions appartenant à 31 espèces (TABLEAU 1, Collection nationale) ; elle est constituée de cultivars radiés des catalogues français fourrages et gazon (20%), d'anciennes variétés de pays d'origine française (5%), et de matériel issu de prospections sur le territoire national (75%). La grande majorité de ces matériels provient des collections rassemblées et conservées par l'INRA depuis les années 1950.

Trois banques de semences ont été mises en place pour la conservation de la Collection nationale. La station GEVES du Magneraud détient la banque active (conservation à 5°C et 30% d'humidité) dont la qualité des lots est régulièrement contrôlée, ainsi qu'une banque de conservation à long terme en congélation (-18°C). Une troisième banque de sécurité est localisée soit dans une des stations INRA (Lusignan, Clermont-Ferrand, Montpellier), soit chez un obtenteur privé selon la nature et l'origine du matériel. Les données de passeport des accessions sont regroupées dans une base de données centralisée.

TABLEAU 1 : Collections du réseau coopératif « Espèces fourragères et à gazon » et collections INRA.

Espèce agronomique	Collection nationale		Accessions réseau complémentaires		Collections INRA	
	Nature	n*	Nature	n*	Nature	n*
Ray-grass anglais	Populations naturelles françaises (dont core collection)	192			Populations naturelles	905
	Variétés radiées	8			Matériel scientifique, sélections	1 105
Ray-grass d'Italie	Variétés radiées	9			Populations naturelles	300
					Matériel scientifique, sélections	783
Autres <i>Lolium</i>					Populations naturelles	500
Dactyle	Populations naturelles françaises	68	Populations naturelles françaises et autres pays	131	Populations naturelles françaises et autres pays	411
	Variétés radiées	8			Sélections	4 000
Fétuque élevée	Populations naturelles françaises	51	Populations naturelles méditerranéennes	70	Populations naturelles	249
	Variétés radiées	15			Sélections	700
Fétuques rouge et ovine	Variétés radiées	16			Populations françaises	540
Autres graminées	Variétés radiées	13				
Luzerne cultivée	Populations (variétés) de pays	28	Populations naturelles espagnoles	103	Populations semi-sauvages françaises	60
	Variétés radiées	23			Introductions et sélections	265
Luzernes annuelles	Populations naturelles françaises	73	Populations naturelles françaises et autres pays	774	Populations naturelles	1 453
					Collection scientifique <i>M. truncatula</i>	2 500
<i>Lathyrus</i> (gesse)	Populations naturelles françaises	53				
Trèfles, sainfoin, vesce	Variétés radiées	28			Populations naturelles de trèfle (Dijon)	non connu

* n : effectif

En complément de la Collection nationale, les participants au réseau ont mis en place une gestion commune de ressources génétiques non incluses dans la Collection nationale, mais ayant néanmoins un intérêt pour leur originalité ou leur valeur patrimoniale (TABLEAU 1, Accessions réseau complémentaires). C'est le cas, par exemple, d'accessions de fétuque élevée, de dactyle, de ray-grass anglais, de luzernes pérennes et annuelles, originaires de pays du sud de l'Europe ou d'Afrique du Nord, qui ne sont pas aujourd'hui intégrées dans la Collection nationale, mais qui représentent des sources de variabilité originales, parfois menacées d'extinction dans leur milieu d'origine. Les semences de ces accessions complémentaires sont conservées par l'unité de recherche qui les a proposées pour une gestion collective, et un deuxième stock a de plus été déposé à la station GEVES du Magneraud pour certaines espèces (dactyle, fétuque élevée).

D'autres collections importantes (TABLEAU 1, Collections INRA) restent aujourd'hui sous la responsabilité des stations INRA de Lusignan, Clermont-Ferrand, et Montpellier. Il peut s'agir de matériels issus de prospections qui n'ont pas été inclus dans la Collection nationale ou la collection réseau, soit du fait de leur redondance avec d'autres matériels déjà présents dans ces collections, soit du fait d'une décision non encore prise les concernant, soit encore parce que le statut de ces matériels souvent d'origine étrangère doit être éclairci. Il peut s'agir également de matériel

scientifique créé en vue de répondre à des questions de recherche ou de matériel créé pour des objectifs de sélection.

2.3. Les principales collections disponibles

Les collections les plus importantes gérées par le réseau coopératif et par l'INRA concernent principalement les ray-grass, les dactyles, la fétuque élevée, les fétuques à feuilles fines, la luzerne cultivée et les luzernes annuelles.

– Ray-grass

En ce qui concerne le ray-grass anglais, le matériel disponible en Collection nationale est constitué pour l'essentiel de la core collection de populations naturelles françaises constituée à partir de prospections ; des populations naturelles françaises et d'origine étrangère sont d'autre part disponibles en collection INRA à Clermont-Ferrand, ainsi que des matériels de fin de sélection et une population de cartographie. La station INRA de Lusignan détient quant à elle une collection de ray-grass d'Italie comprenant 300 populations naturelles françaises ou étrangères, ainsi que de nombreux matériels issus de sélection. Des populations naturelles d'espèces apparentées aux ray-grass (autres *Lolium*, TABLEAU 1) sont également disponibles en collection INRA à Clermont-Ferrand.

– Dactyles

Les populations naturelles en collection sont issues de prospections réalisées par la station INRA de Lusignan. Il s'agit de populations à dormance hivernale des régions tempérées de l'arc atlantique, et de populations à dormance estivale du bassin méditerranéen occidental. Les 600 accessions disponibles se décomposent en 300 accessions de la sous-espèce *glomerata*, 240 de la sous-espèce *hispanica*, et 60 d'autres sous-espèces mineures. L'INRA conserve également à Lusignan une large variabilité issue de programmes de sélection.

– Fétuque élevée

La collection de populations naturelles de fétuques élevées comprend des populations françaises et des populations issues de prospections dans les pays du bassin Méditerranéen. Les accessions INRA sont conservées principalement à Lusignan (populations naturelles et sélections), et dans une moindre mesure à Clermont-Ferrand (populations naturelles).

– Fétuques à feuilles fines

L'INRA conserve à Lusignan une collection de 540 accessions de fétuques à feuilles fines résultant d'une prospection de populations naturelles réalisée sur le territoire Français (collaboration INRA – ACVF). Une étude de cette collection, en cours à Lusignan, permettra d'identifier une core collection qui pourra être proposée en Collection nationale dans les prochaines années. Cette collection présente un intérêt comme ressource pour des créations variétales en matière de gazon et d'enherbements (vergers, talus routiers...).

– Luzernes

Les populations (ou variétés) de pays cultivées en France jusqu'à la fin des années 1960 ont été intégrées en Collection nationale. A Montpellier, l'INRA détient une collection de luzernes pérennes spontanées comprenant des populations sauvages espagnoles (incorporées à la collection réseau) et des populations spontanées françaises ou issues d'autres pays méditerranéens. Une vaste collection de luzernes annuelles spontanées existe également à Montpellier ; elle comprend des accessions issues de prospections dans les pays du bassin Méditerranéen occidental (France continentale et Corse, Espagne, Portugal, Grèce) appartenant à diverses espèces annuelles du genre *Medicago*.

Par ailleurs, la collection de l'espèce modèle *Medicago truncatula* utilisée internationalement pour des études en génomique est basée à l'INRA de Montpellier. Elle n'est pas intégrée au réseau de gestion des ressources génétiques des espèces fourragères et à gazon car l'essentiel des matériels conservés est destiné à des travaux de recherche scientifique.

3. Quelle diversité dans les collections d'espèces fourragères ?

3.1. Comment mesurer la diversité contenue dans les collections ?

La diversité contenue dans les collections peut s'apprécier à différents niveaux. Le plus naturel est bien évidemment sa représentativité taxonomique, le plus généralement estimée au niveau d'un genre ou d'une espèce. Historiquement, c'était d'ailleurs la mission des premiers collectionneurs et conservateurs de jardins botaniques dont l'objectif était le rassemblement le plus large possible d'espèces ou de sous-espèces sans volonté réelle d'appréciation de la différenciation écotypique. De façon assez naturelle, ces gestionnaires se sont ensuite très vite intéressés aux variations morphologiques des échantillons rapportés (fruits, fleurs, organes végétatifs...), ne serait-ce que parce que ces caractères servaient de base aux critères de différenciation taxonomique et permettaient à ces auteurs de décrire des niveaux complémentaires de classification.

Au cours du 20^e siècle, avec l'émergence des collections destinées aux programmes de création variétale, les gestionnaires ont cherché à décrire de façon de plus en plus complexe la diversité contenue dans leurs collections, tout d'abord à l'aide de caractères agronomiques (rendement, qualité, tolérance aux stress biotiques ou abiotiques...), puis plus récemment avec des marqueurs génétiques (isozymes, puis moléculaires). On parle aussi souvent de diversité sélectionnée pour les caractères agronomiques dont le résultat agit sur la 'fitness' ou la valeur sélective des matériels testés et de diversité neutre pour les marqueurs génétiques qui ne sont pas reliés, ou très indirectement, à l'expression visible de caractères.

Les collections d'espèces fourragères, à l'instar des espèces de grandes cultures, ont suivi la même évolution. Ainsi, les principales collections disponibles au sein du réseau (dactyle, fétuques, ray-grass anglais ou luzernes) réalisées à l'initiative des scientifiques de l'INRA et avec, pour certaines, l'appui des sélectionneurs privés ont été très largement documentées et fait l'objet de nombreuses publications ; elles renferment une diversité particulièrement importante.

3.2. Deux exemples de travaux réalisés sur des collections de ressources génétiques d'espèces fourragères

– Prospection et valorisation des collections de ray-grass anglais réalisées en France

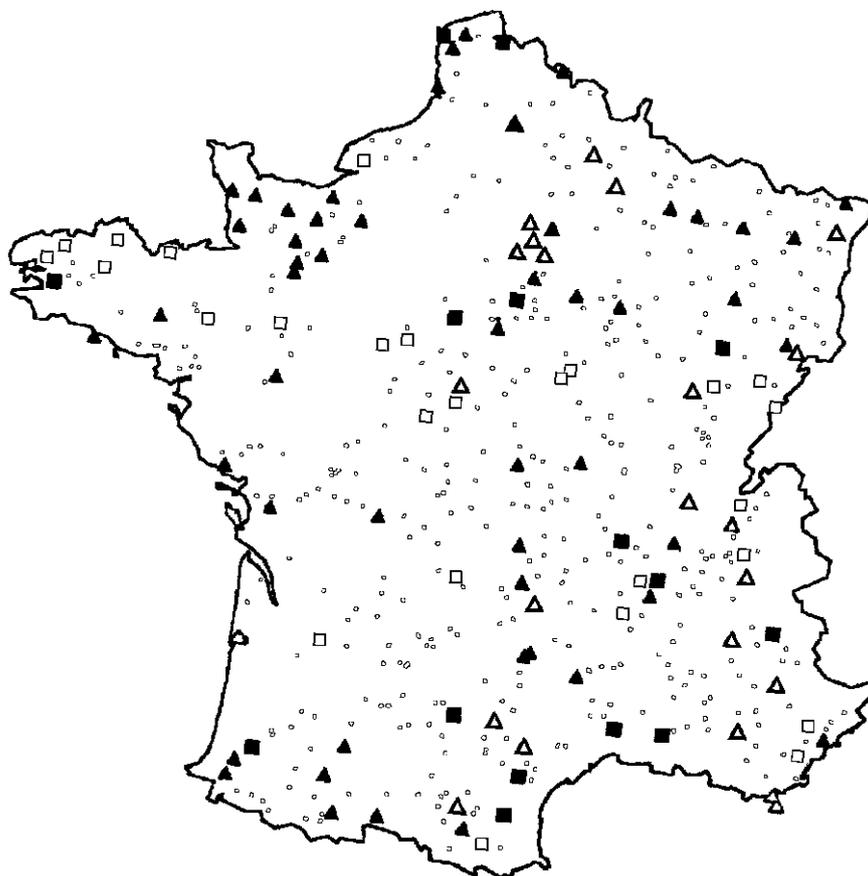
Dans les années 1980, la diversité disponible dans le cadre des programmes de création variétale sur le ray-grass anglais reste faible et la grande majorité des variétés disponibles à cette période sont originaires d'Europe du Nord. Pour pallier ce déficit et afin de favoriser le redémarrage des programmes de sélection, un programme ambitieux de collecte et d'analyse de la diversité des matériels français est entrepris par l'INRA et les établissements privés de sélection membres de l'ACVF. En deux années, 1983 et 1984, 547 populations sont ainsi rassemblées sur l'ensemble du territoire français et de nombreux descripteurs des sites d'origine sont notés (CHARMET *et al.*, 1996a).

Dès l'année suivante, l'ensemble de ces matériels est évalué au sein d'un réseau multilocal constitué de 12 sites soit sous forme de pépinières de plantes isolées, soit sous forme de microparcelles. Dix caractères d'intérêt agronomique ont été ainsi notés sur 3 années portant sur l'apparition de stades phénologiques, le développement végétatif, le port et la tolérance aux stress biotiques (froid) ou abiotiques (rouilles). Grâce à la richesse du dispositif d'évaluation, l'examen des données, à l'aide d'analyses uni et multivariées, a permis de mettre en évidence des caractères peu sensibles à l'environnement (alternativité, port des plantes, remontaison et date d'épiaison), qu'il est intéressant de renseigner directement dans une collection de ressources génétiques, et des caractères présentant une plus forte interaction génotype x milieu (sensibilité aux rouilles, rythme de croissance, vigueur...) qui sont plus importants pour réaliser une typologie immédiate des matériels que pour leurs valeurs intrinsèques (CHARMET *et al.*, 1990).

A l'issue de ce travail, 110 populations naturelles ont été choisies pour représenter au mieux la diversité récoltée au sein de la collection nationale des ray-grass anglais (FIGURE 1) ; 9 pools typés ont été aussi constitués et sont mis à disposition des sélectionneurs. Par ailleurs, plusieurs

populations, suivies dans un schéma de sélection récurrente multilocale (CHARMET *et al.*, 1996b), ont abouti à l'inscription récente au catalogue français de variétés améliorées.

Figure 1 : Répartition et habitat des 110 populations retenues dans la core-collection issue de la prospection française. Carré vide = bord de route, triangle vide = chemin, carré plein = friche, triangle plein = prairie. (tirée de CHARMET *et al.*, 1996a).



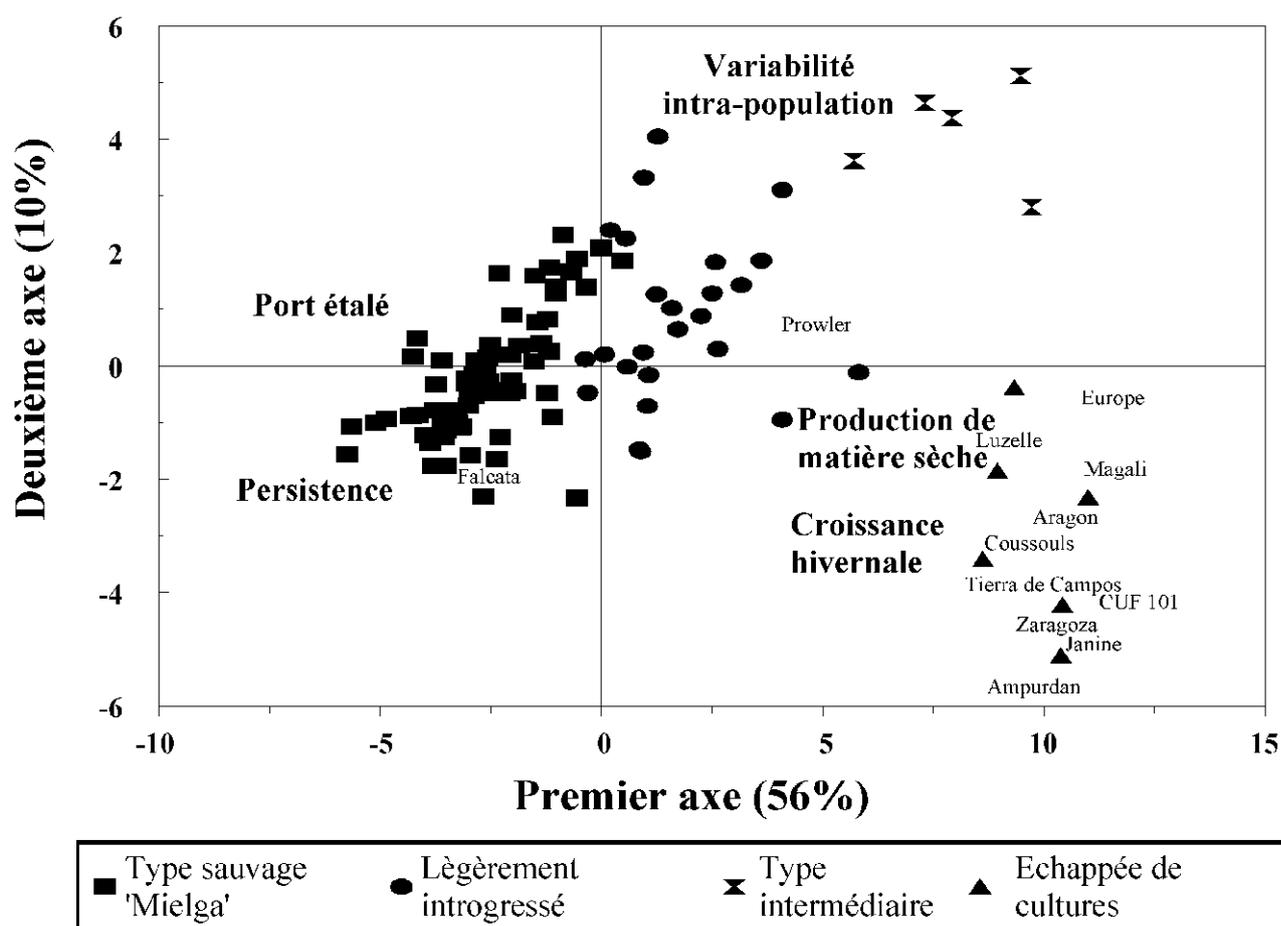
– Caractérisation des populations naturelles de luzerne cultivée collectées en Espagne

A peu près à la même période, les scientifiques de l'INRA Montpellier s'interrogent sur la possibilité de diversifier les sources de variabilité génétique disponibles pour l'amélioration de la luzerne cultivée afin de répondre à de nouveaux objectifs de sélection : utilisation extensive, meilleure tolérance au pâturage et à la sécheresse, plus grande pérennité... C'est ainsi que plusieurs campagnes de prospection sont engagées sur l'ensemble de la zone méditerranéenne occidentale, notamment en Espagne où la présence importante de populations naturelles de *Medicago sativa* est mentionnée. En deux ans, 103 populations naturelles sont ainsi échantillonnées (PROSPERI *et al.*, 1989).

Évaluées au champ pendant plus de 5 années et caractérisées à l'aide de marqueurs moléculaires à la fois au niveau inter et intrapopulation, ces ressources génétiques ont permis de préciser le fonctionnement des populations naturelles, leurs intérêts par rapport aux variétés cultivées et les relations existant entre les compartiments sauvages et cultivés au sein de cette espèce. Comme précédemment, ces travaux se sont basés sur des méthodologies faisant appel soit à des analyses mono ou multivariées (JENCZEWSKI *et al.*, 1998 ; PROSPERI *et al.*, 1999), soit à des études reposant sur des calculs d'indices de diversité (JENCZEWSKI *et al.*, 1999a et b).

L'analyse conjointe des données de diversité neutre et sélectionnée a permis de confirmer l'originalité génétique de la plupart des populations collectées qui présentent une morphologie très particulière (port rampant, nombreux rhizomes, forte pérennité et croissance majoritairement printanière), mais aussi d'identifier des populations résultant manifestement d'hybridations entre les compartiments sauvage et cultivé (FIGURE 2). La typologie des matériels ainsi réalisée a servi de base à la constitution de 3 pools typés répondant à des caractéristiques particulières : type gazon, rampant et intermédiaire (PROSPERI *et al.*, 2005).

Figure 2 : Représentation des deux premiers axes de l'analyse en composantes principales réalisée sur les données agronomiques et position des 102 populations naturelles de *Medicago sativa* collectées en Espagne, de 12 cultivars et d'un écotype de *Medicago sativa* subsp. *falcata*.

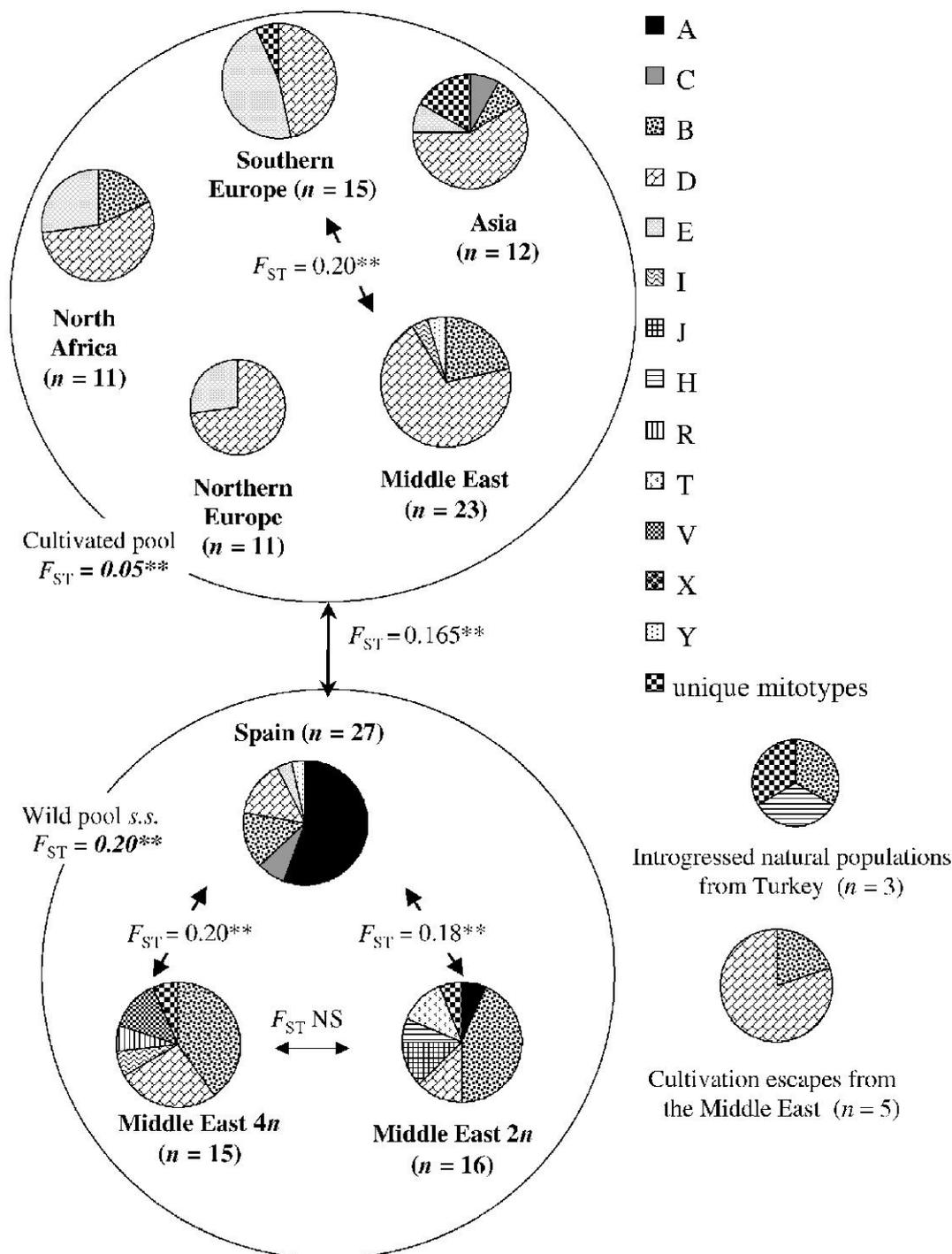


3.3. Place des formes sauvages et des espèces apparentées dans les collections

De nombreux travaux témoignent de la réduction de la diversité qui a eu lieu lors des processus de domestication par l'homme de la majorité des espèces agricoles. Chez nos espèces fourragères pérennes tempérées (luzerne cultivée, dactyle, fétuques ou ray-grass), cette réduction de diversité est moins visible sans doute en raison de leur système de reproduction souvent allogame, de leur polyploïdie et de la structure des variétés, généralement des variétés synthétiques à base large.

Néanmoins, comme le montrent les travaux de Marie-Hélène MULLER *et al.* (2001, 2003), s'il est difficile de trouver des différences significatives au niveau des marqueurs nucléaires entre les formes cultivées et sauvages de *Medicago sativa*, des marqueurs spécifiques de l'ADN mitochondrial soulignent bien la base génétique plus étroite du pool cultivé, témoin du goulot d'étranglement survenu lors de la domestication de cette espèce (FIGURE 3).

Figure 3 : Composition des deux pools (cultivé et sauvage) de *Medicago sativa* (sensus lato) et niveaux de différenciation entre les différents groupes. Seules les valeurs significatives des F_{ST} sont indiquées. Les différents motifs représentent la proportion des différents cytotypes au sein des groupes. (tirée de MULLER *et al.*, 2003).



Ces éléments confirment bien l'intérêt de maintenir au sein des collections de ressources génétiques, à coté de la diversité des formes cultivées représentée par un panel choisi de variétés radiées des catalogues, une part importante de la diversité des formes sauvages et des espèces apparentées. Ceci est particulièrement intéressant pour les espèces fourragères car l'écart qui sépare une population naturelle de bonne facture d'une variété synthétique reste plus réduit que sur des espèces de grande culture, à la fois en raison des espèces travaillées, de leurs structures génétiques et des objectifs multiples de sélection intégrant notamment une très grande plasticité. Ceci permet donc d'espérer une valorisation rapide de ces formes spontanées dans les programmes de sélection, comme cela a été montré dans le cas de la prospection française de ray-grass anglais.

3.4. Quelles données associer aux ressources génétiques d'espèces fourragères ?

D'une façon générale, l'importance et la qualité d'une collection sont autant dues aux données rattachées aux matériels qu'à la nature et au nombre des ressources génétiques gérées. En effet, en l'absence d'informations fiables, les ressources génétiques conservées n'offrent qu'un intérêt limité. Pour les espèces fourragères, on s'attachera donc en priorité à documenter au mieux les données de passeport, c'est-à-dire celles qui permettent de tracer l'histoire de l'accession, de préciser sa position taxonomique et de décrire, dans le cas de matériels d'origine spontanée, les conditions environnementales des sites de collecte. Pour les données issues d'évaluation, on se limitera aux caractères présentant une forte héritabilité (alternativité, précocité, port...) ou aux caractères mesurés dans des conditions fiables et répétables (tolérance aux maladies en milieu artificiel, par exemple).

En ce qui concerne des caractères plus complexes (rendement, vigueur, qualités technologiques...), soumis généralement à de fortes interactions 'génotype x milieu', plutôt que de fournir des données de base guère exploitables en l'absence des protocoles expérimentaux et des conditions environnementales, il semble plus intéressant de situer les ressources génétiques de la collection par rapport à un panel de variétés témoins judicieusement choisies. Cette information n'est néanmoins disponible que si le gestionnaire de la collection peut confronter des résultats issus de plusieurs séries d'essais multilocaux et/ou pluriannuels.

Aujourd'hui, les données rattachées aux Collections nationales ou aux collections réseau et disponibles en ligne à l'adresse : http://www.brg.prd.fr/brg/ecrans/rgvBd_fourrageres_consulter.htm restent très fragmentaires. Elles se limitent exclusivement à certaines données passeport : position taxonomique, nom, identifiant et des données de sites de collecte pour les écotypes. Dans le cadre de la mise en place des Centres de Ressources Biologiques, un accès plus large aux informations disponibles est envisagé. La construction d'une base de données plus complète intégrant notamment certaines données d'évaluation morphologique, agronomique ou moléculaire est en cours d'élaboration au sein du Département de Génétique et d'Amélioration des Plantes de l'INRA pour l'ensemble des espèces dont il a la charge.

4. La gestion et la conservation de la diversité génétique des collections

4.1. Contraintes liées à la conservation de collections de grande taille

Les collections ont par nature vocation à rassembler un large effectif d'accessions afin de représenter au mieux la variabilité génétique des espèces concernées. Les connaissances *a priori* de la structuration de la variabilité génétique ne sont pas toujours suffisantes pour orienter des choix de collecte. Le rassemblement de grands effectifs d'origines diverses est souvent une première étape nécessaire. Toutefois, une collection ne présente un réel intérêt que si ses accessions peuvent être mises à disposition d'éventuels utilisateurs en quantité et qualité suffisante, avec des informations fiables et pertinentes sur leur comportement agronomique. Cela implique la mise en oeuvre de moyens de conservation et de régénération périodique des accessions, et de moyens expérimentaux permettant de les caractériser de façon détaillée. Un tel travail n'est guère réalisable sur la totalité des accessions dans le cas de grandes collections ; il est alors nécessaire d'adopter une solution qui permette de gérer un nombre d'entités compatibles avec les moyens disponibles.

C'est le principe qui a prévalu dans la mise en place du réseau de conservation des ressources génétiques des espèces fourragères et à gazon (paragraphe 2.2.). La Collection nationale et la collection complémentaire gérée par le réseau ne sont qu'un sous-ensemble des collections des membres du réseau, les accessions retenues ayant été choisies pour leur représentativité au sein des espèces conservées. Une grande partie de ces espèces sont allogames (presque toutes les graminées et légumineuses fourragères cultivées) ; ce mode de reproduction implique une régénération des semences en conditions d'isolement pollinique, ce qui est une contrainte forte sur les effectifs à gérer.

4.2. Les core collections

Une façon de limiter l'effort de conservation, et éventuellement d'évaluation, d'une collection consiste à définir un sous-ensemble d'accessions sur lequel se concentreront les moyens, le reste de la collection ne faisant l'objet que d'une procédure de conservation à moindre coût. Ce principe fut

proposé par FRANKEL et BROWN en 1984, sous le nom de 'core collection' (ou collection noyau en français). Un sous-ensemble de taille relativement réduite peut en effet permettre de retenir une part assez importante de la diversité initiale d'une collection ; ainsi, selon BROWN (1989a), un tirage aléatoire de 10% des accessions peut permettre de rassembler 70% de la diversité des allèles neutres rares présents dans une collection. En vue d'améliorer la représentativité de la diversité de la collection initiale sur des caractéristiques majeures, BROWN (1989b) suggère que les accessions de la core collection soient tirées aléatoirement au sein de groupes déterminés par une stratification évidente de la collection initiale (taxonomique, géographique...). Il a proposé différentes stratégies d'échantillonnage dans ce cadre : nombre de tirages identique pour tous les groupes, nombre de tirages proportionnel à l'effectif des groupes ou à leur logarithme.

Dans le cas d'une collection de populations naturelles, la stratification peut reposer sur une classification établie à partir des données passeport. En effet, il est attendu que la variabilité naturelle d'une espèce soit structurée spatialement par des effets de dérive locale, par la portée restreinte des flux de gènes ou par des variations géographiques des pressions de sélection environnementales ; ceci a été constaté expérimentalement sur ray-grass anglais et sur luzernes (BALFOURIER *et al.*, 1998). Une classification hiérarchique établie, par exemple, dans un premier temps sur un classement en zones géographiques, puis sur des critères d'habitat, structure partiellement la diversité génétique de la collection et permet d'améliorer l'échantillonnage. Cette stratégie reste toutefois difficile à appliquer en l'absence de réelles études sur la structuration spatiale de la variabilité génétique de l'espèce concernée.

Il arrive aussi que les accessions d'une collection soient caractérisées par un certain nombre de variables morphologiques ou d'intérêt agronomique. La typologie de la collection peut alors s'appuyer sur différentes méthodes de classification à partir de ces caractéristiques. Toutefois, le regroupement d'accessions dans un même groupe, s'il traduit une similarité phénotypique n'implique pas nécessairement une proximité génétique.

Il est aussi possible de combiner des approches multiples. C'est ainsi que CHARMET *et al.* (1994) ont procédé à l'échantillonnage de la core collection des populations françaises de ray-grass anglais de la Collection nationale à partir d'une classification ascendante hiérarchique prenant en compte une contrainte de contiguïté territoriale. Par ailleurs, BALFOURIER *et al.* (1998) ont proposé de baser l'échantillonnage des collections sur une décomposition de la variabilité phénotypique en structures spatiales, déterminées à l'aide de méthodes géostatistiques ; sur une collection de ray-grass anglais et une collection de *Medicago truncatula*, ils ont ainsi vérifié l'intérêt de cette stratégie pour capturer la diversité phénotypique et pour restituer la structuration spatiale de la collection initiale.

Le choix des accessions d'une core collection peut également reposer sur des données de polymorphisme neutre. Un déséquilibre de liaison entre marqueurs neutres et gènes d'intérêt est en effet attendu, plus ou moins important selon l'histoire des populations et le mode de reproduction de l'espèce considérée. L'échantillonnage de la core collection' peut alors être basé sur une maximisation du nombre d'allèles capturés (ou "richesse parcelles" de l'échantillon). BATAILLON *et al.* (1996) ont ainsi montré par simulation que cette stratégie était particulièrement efficace pour maximiser la diversité non neutre d'espèces présentant des flux de gènes restreints ou préférentiellement autogames. Mais ceci a aussi été vérifié expérimentalement sur des espèces allogames telles que le maïs (GOUESNARD *et al.*, 2002).

Enfin, la représentativité d'une collection repose aussi sur la facilité à en extraire des génotypes connus et typés, notamment pour des espèces à multiplication végétative. On s'intéresse ici, non plus à la "richesse parcelles" globale de la core collection, mais à la diversité des combinaisons d'allèles qu'elle renferme, ces génotypes pouvant avoir été sélectionnés par les pressions environnementales ou par une activité humaine inconsciente ou délibérée. Il est donc important d'adjoindre à toute core collection, une liste de ces génotypes référents. Le logiciel Mstrat (GOUESNARD *et al.*, 2001) permet d'ailleurs de définir cet échantillon de référence, puis d'agréger ensuite les accessions les plus complémentaires afin de maximiser la richesse parcelles générale de la core collection.

4.3. La conservation de la diversité sous forme de "pools"

La conservation de la diversité intrapopulation des accessions d'une collection devient incertaine lorsque les effectifs individuels disponibles par accession sont faibles. En effet, le risque de dérive

génétique, et tout particulièrement le risque de perte d'allèles rares, augmente lorsque la taille des populations diminue. On peut de plus craindre, pour des espèces allogames, que la régénération de populations à partir de faibles effectifs engendre une situation de consanguinité qui dépréciera la vigueur des plantes et accentuera le risque de dérive.

Dans le cas d'espèces allogames, l'intercroisement d'accessions génétiquement proches peut être envisagé comme un moyen d'éviter les risques liés aux faibles effectifs. Sur la base de marqueurs isoenzymatiques, BALFOURIER *et al.* (1994) ont en effet constaté que l'intercroisement de quatre ou cinq populations naturelles de ray-grass anglais, avec des fréquences alléliques assez proches, à partir d'un nombre réduit de plantes mères (20 à 25 plantes) par population permettait de conserver tous les allèles rares de fréquence comprise entre 1% et 10% dans le pool résultant. Ils constatent de plus que, d'une façon générale, les fréquences alléliques des pools sont proches de celles attendues sur la base des fréquences alléliques des populations originales. Lorsque les effectifs individuels des accessions d'une collection sont faibles, la conservation de la collection peut donc se concevoir par le maintien d'un nombre limité de pools issus de l'intercroisement d'accessions regroupées par un critère de similarité génétique ou sur des critères phénologiques ou agronomiques. Dans le cas de populations naturelles, l'intercroisement de populations de phénotypes similaires et issues de conditions éco-géographiques proches peut permettre de conserver la fréquence de combinaisons alléliques favorables à ces conditions environnementales, conférant ainsi dans une certaine mesure une valeur d'écotype aux pools ainsi constitués.

Conclusion et perspectives

L'amélioration des espèces fourragères est basée depuis longtemps sur l'utilisation de la diversité naturelle. D'importants programmes de prospections et de collectes de matériels spontanés ou cultivés ont été ainsi entrepris dès les années 1960 ; mais ce n'est qu'à partir des années 1980 qu'à l'initiative de l'INRA, ces programmes se sont généralisés et ont permis l'étude précise de la variabilité disponible au sein des compartiments sauvages et cultivés de genres majeurs comme les genres *Lolium*, *Festuca* ou *Medicago*.

La gestion des Ressources Génétiques des espèces fourragères est aujourd'hui centrée autour du réseau national regroupant l'INRA, l'ACVF et le GEVES. Ce fut l'un des premiers réseaux à se mettre en place à partir des années 1990 et à faire signer la charte nationale élaborée par le Bureau des Ressources Génétiques engageant concrètement l'ensemble des partenaires. Ses premières actions furent de préciser le contenu et les contours des collections nationales et réseau et d'engager des procédures de gestion des matériels conservés. Par ailleurs, à l'initiative de la France, la majorité des genres importants d'espèces fourragères des zones tempérées est incluse dans la liste des espèces gérées par le Traité International de la FAO sur les Ressources Phytogénétiques pour l'Alimentation et l'Agriculture.

Depuis 2000, sous l'impulsion de l'OCDE (Organisation de Coopération et de Développement Economiques), une démarche importante de renouveau des dispositifs de gestion des collections et de leur professionnalisation est en cours afin d'accompagner les nouvelles règles de droit international qui se mettent progressivement en place. Les Centres de Ressources Biologiques (CRB) qui seront ainsi accrédités auront pour mission d'assurer la gestion et la distribution des ressources et des données associées, en satisfaisant à des règles d'assurance qualité et de déontologie précises. Cette étape ne pourra se faire sans une réflexion approfondie sur l'organisation du réseau actuel, la participation des différents acteurs, le contenu des collections et les modalités de multiplication et de conservation des ressources génétiques des espèces fourragères. L'INRA apporte un soutien actif à cette démarche, l'unité de Génétique et d'Amélioration des Plantes Fourragères de Lusignan ayant la responsabilité de l'ensemble des collections INRA d'espèces fourragères pérennes.

Par ailleurs, associée à cette politique plus volontariste de conservation *ex situ* des ressources, il conviendra aussi de s'interroger sur l'importance de voies alternatives, notamment en privilégiant la conservation *in situ* des ressources spontanées et en engageant des programmes de recherche sur les possibilités de gestion dynamique de cette diversité génétique, de façon à simplifier les procédures de multiplication et de conservation utilisées aujourd'hui, qui restent particulièrement lourdes en raison du statut polyploïde et du régime de reproduction allogame de la plupart de nos espèces fourragères pérennes.

Références bibliographiques

- BALFOURIER F., CHARMET G., RAVEL C. (1994): "Conservation of allelic multiplicity and genotypic frequency by pooling wild populations of perennial ryegrass populations", *Heredity*, 73:386-396.
- BALFOURIER F., CHARMET G., PROSPERI J.M., GOULARD M., MONESTIEZ P. (1998) : "Comparison of different spatial sampling strategies of a core collection among natural populations of fodder crops", *Genet. Sel. Evol.*, 30:s215-s235.
- BATAILLON T.M., DAVID J.L., SCHOEN D.J. (1996): "Neutral genetic markers and conservation genetics: simulated germplasm collections", *Genetics*, 144:409-417.
- BROWN A.H.D. (1989a): "Core collection: a practical approach to genetic resources management", *Genome*, 31:818-824
- BROWN A.H.D. (1989b): "A case for core collections", in: *The use of plant genetic resources* (Brown AHD, Frankel OH, Marshall DR, and Williams JT, eds). Cambridge: Cambridge University Press, 136-156.
- CHARMET G., BALFOURIER F., BION A. (1990): Agronomic evaluation of a collection of French perennial ryegrass populations: multivariate classification using genotype x environment interactions. *Agronomie*, 10:807-823
- CHARMET G., BALFOURIER F., MONESTIEZ P. (1994): "Hierarchical clustering of perennial ryegrass populations with geographical contiguity constraint", *Theor. Appl. Genet.*, 88:42-48.
- CHARMET G., BALFOURIER F., RAVEL C., LECONTE D., DEBOTE B., VEZINE J.C., ASTIER C., LEAU G. (1996a) : "Etude d'une collection française de populations naturelles de ray-grass anglais", *Fourrages*, 146:107-120.
- CHARMET G., BALFOURIER F., RAVEL C., LECONTE D., DEBOTE B., VEZINE J.C., ASTIER C., LEAU G. (1996b) : "Valorisation des ressources génétiques chez le ray-grass anglais", *Fourrages*, 146:121-130.
- FRANKEL O.H., BROWN A.D.H. (1984): "Current plant genetic resources – a critical appraisal", in: *Genetics New Frontiers, Proceedings of the 15th International Congress of Genetics*, vol. 4, Oxford and IBH Publishing Co, 3-13.
- GOUESNARD B., BATAILLON T.M., DECOUX G., ROZALE C., SCHOEN D.J., DAVID J.L. (2001) - MSTRAT: An algorithm for building germplasm core collections by maximizing allelic or phenotypic richness. *J. Heredity*, 92:93-94.
- GOUESNARD B., RAKOTOMAMONJY S., DALLARD J., BOYAT A. (2002) - Structuration de la variabilité génétique d'une collection de populations de maïs du piedmont pyrénéen et stratégies d'échantillonnage de core collection. In : *Résumés des Communications et Posters du 4ème Colloque National du BRG sur "Le Patrimoine génétique : la Diversité et la Ressource"* (14-16 Octobre 2002, La Châtre, France), p.76.
- GUY P. (1995): "Le réseau des ressources génétiques des plantes fourragères et à gazon", in *Ressources génétiques des plantes fourragères et à gazon*, (Prosperi J.M., Guy P., Balfourier F. eds), BRG-INRA, 13-17.
- JENCZEWSKI E., ANGEVAIN M., CHARRIER A., GÉNIER G., RONFORT J. , PROSPERI J.M., 1998. Constrating patterns of genetic diversity in neutral markers and agro-morphological traits in wild and cultivated populations of *Medicago sativa* from Spain. *Genetic Selection and Evolution* 30:s103-s119.
- JENCZEWSKI E., PROSPERI J.M., , RONFORT J. 1999a. Evidence for gene flow between wild and cultivated *Medicago sativa* (Leguminosae) based on allozyme markers and quantitative traits. *American Journal of Botany*. 86(5):677-687.
- JENCZEWSKI E., PROSPERI J.M., , RONFORT J. 1999b. Differentiation between natural and cultivated populations of *Medicago sativa* (Leguminosae) from Spain: analysis with random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers and comparison to allozymes. *Molecular Ecology*. 8:1317-1330.
- MANSAT P. (1995) : "Préface" : in *Ressources génétiques des plantes fourragères et à gazon*, (Prosperi JM, Guy P., Balfourier F. eds), BRG-INRA, 9-12.
- MOUSSET C. (1995): "Les dactyles ou le genre *dactylis*", in *Ressources génétiques des plantes fourragères et à gazon*, (Prosperi JM, Guy P., Balfourier F. eds), BRG-INRA, 28-52.
- MULLER M.H., PROSPERI J.M., SANTONI S. , RONFORT J. 2001: How mitochondrial DNA diversity can help to understand the dynamics of wild-cultivated complexes. The case of *Medicago sativa* in Spain. *Molecular Ecology* 10:2753-2763.
- MULLER, M. H.; PROSPERI, J. M.; SANTONI, S.; RONFORT, J. 2003: Inferences from mitochondrial DNA patterns on the domestication history of alfalfa (*Medicago sativa*). *Molecular Ecology* 12 (8):2187-2199.
- PROSPERI J.M., DELGADO ENGUITA I., ANGEVAIN M., 1989: Prospection du genre *Medicago* en Espagne et au Portugal. *Plant Genetic Resources Newsletter* 78/79:27-29.
- PROSPERI J.M., JENCZEWSKI E. , RONFORT J., 1999: The Mielgas: Wild Spanish Populations of Alfalfa. Results of ten years of researches. Invited Paper. *Proceeding of XIII Eucarpia Medicago spp.*, 1- 10, Perugia, Italy, September 13-16, 1999.
- PROSPERI J.M., JENCZEWSKI E, ANGEVAIN M , RONFORT J, 2005. Morphologic and agronomic diversity of wild genetic resources of *Medicago sativa* L. collected in Spain. *Genetic Resources and Crop Evolution* (sous presse).