

Evolution génétique dans les prairies semées

en fonction des pratiques et des modes de culture

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

Unité de Génétique et d'Amélioration des Plantes Fourragères, INRA, 86600 Lusignan

Résumé

Les variétés synthétiques de ray-grass anglais (*Lolium perenne*) présentent une grande variation génétique intra-variétale. Ainsi, au cours des cycles de croissance, des changements génétiques dans des prairies mono-variétales peuvent apparaître, ce qui aura des conséquences possibles sur la valeur agronomique (pérennité, valeur alimentaire et productivité). Nous avons analysé les changements phénotypiques et génétiques qui se sont produits dans une variété présente dans divers lieux sous différents régimes d'exploitation. Douze prairies de ray-grass anglais diploïde, de variété Herbie, ont été prélevées au stade végétatif. Les douze populations prélevées ont été transplantées dans un même site selon un dispositif avec répétitions et comparées aux lots initiaux de graines servant de témoin. Elles ont été évaluées pour des caractères phénotypiques (élongation de feuille, tallage, date d'épiaison) et genotypées à l'aide de 13 marqueurs microsatellites. Les caractères phénotypiques ont montré un large éventail de variation à l'intérieur de la variété contrôle et à l'intérieur de chaque prairie. Des différences significatives dans les moyennes pour certaines prairies ont été démontrées pour quelques caractères phénotypiques, particulièrement le nombre de talles et la date d'épiaison. Ceci est principalement dû au recrutement dans les prairies de fauche d'un nouveau morphotype présentant des feuilles plus courtes, un nombre de talles plus élevé et une épiaison tardive. Les conséquences agronomiques de la présence d'un tel morphotype sur la production et la composition agronomiques du fourrage doivent être étudiées.

Introduction

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

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

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

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

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

1. Matériels et méthodes

La variété de ray-grass anglais diploïde Herbie a été utilisée dans cette étude. Cette variété, créée par Van Der Have (NL) et inscrite en 1990, est classée dans le catalogue officiel français comme intermédiaire pour la date d'épiaison. **Douze prairies et couverts différents ont été étudiés**. Ils proviennent de 5 lieux différents en France ; leur âge varie de 2 à 7 ans et le mode d'exploitation prédominant est soit la pâture, soit la fauche (TABLEAU 3).

Au printemps 2003, dans chacune des douze prairies de notre étude, 100 talles ont été prélevées avec une distance minimum de 20 centimètres entre deux talles prélevées. Ainsi, nous pouvons considérer que cela correspond à 100 génotypes différents. Toutes les talles ont été transplantées dans un même site (Lusignan) et multipliées par voie végétative tout au long du printemps et de l'été 2003. Les 100 génotypes collectés dans une même prairie seront considérés comme une population. En parallèle, deux lots commerciaux de cette variété ont été semés à raison de 100 plantes par lot qui représenteront la population témoin ; elles ont également été multipliées par voie végétative.

Cette période de multiplication végétative en un même lieu permet d'éviter les biais liés à l'histoire des talles mères.

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

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

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

2. Résultats

– Différences phénotypiques entre populations

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

TABLEAU 1 – Différences entre les populations collectées et les témoins pour 3 caractères phénotypiques

Populations	Date d'épiaison (nb de jours depuis le 1 ^{er} janvier)	Longueur de la feuille culmaire (mm)	Nombre de talles (en bacs en mai 2004)
1	148,5	162 **	55,2
2	148,8	151	65,9
3	151,2	150	61,6
4	149,9	150	63,4
5	144,9 **	145	60,5
6	149,5	147	60,5
7	150,8	144	73,5
8	150,2	147	75,6 **
9	149,0	145	68,2
10	150,6	143	67,0
11	152,0 **	138	72,6
12	148,6	149	61,0
Lot graines 1 témoin	150,5	145	54,4
Lot graines 2 témoin	148,7	152	64,5

** p<0,01 : différences significatives entre populations collectées et témoins

– Analyse multivariée

Afin d'étudier la structure intra et inter-populations, une analyse multivariée (ACP : analyse en composantes principales) a été réalisée. Les deux populations obtenues à partir des lots de graines commerciaux ont été employées en tant qu'individus actifs et les populations collectées en tant qu'individus supplémentaires. L'utilisation de la population issue de lots commerciaux comme population 'active' permet de mesurer les différences entre les populations semées et les populations collectées dans les différentes prairies étudiées. Les données utilisées pour cette analyse sont les moyennes des répétitions des deux expériences pour chaque génotype.

TABEAU 2 – Corrélations entre les différents caractères morphologiques et phénologiques.

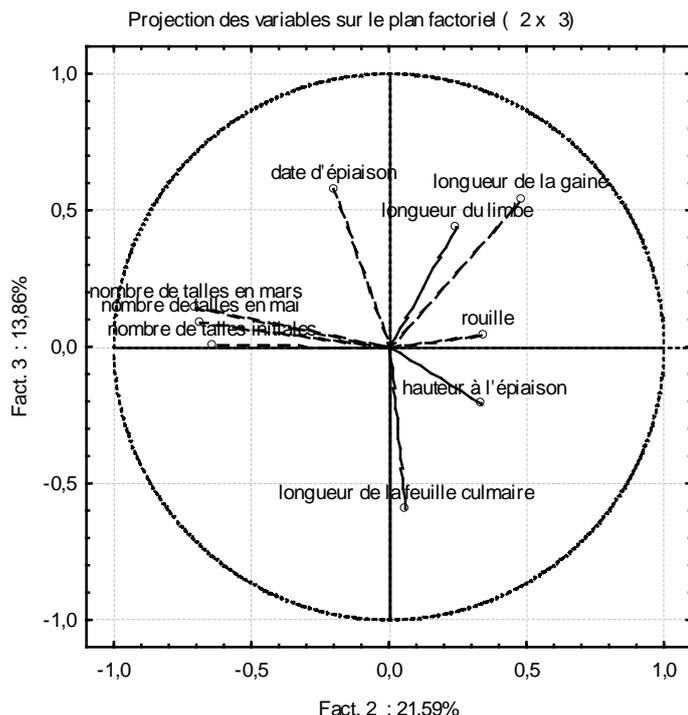
	Longueur feuille culmaire	Hauteur à l'épiaison	Rouille	Date d'épiaison	Nombre de talles initiales	Nombre de talles en mars	Nombre de talles en mai	Longueur du limbe
Hauteur à l'épiaison	0,39 **	1						
Rouille	0,28 **	0,44 **	1					
Date d'épiaison	- 0,48 **	- 0,40 **	- 0,27 **	1				
Nombre de talles initiales	0,09	- 0,06	- 0,08	- 0,12	1			
Nombre de talles en mars	0,19 **	0,15 *	0,16 *	- 0,10	0,44 **	1		
Nombre de talles en mai	0,26 **	0,19 **	0,16 *	- 0,09	0,41 **	0,88 **	1	
Longueur du limbe	0,26 **	0,42 **	0,42 **	- 0,23 **	0,08	0,29 **	0,32 **	1
Longueur de la gaine	0,07	0,32 **	0,37 **	- 0,18 *	-0,03	0,04	0	0,74 **

* p<0,05 ; ** p<0,01

L'analyse des corrélations (TABLEAU 2) montre une corrélation négative significative entre la hauteur de la plante à l'épiaison et la date d'épiaison. Ainsi, les plantes ayant une épiaison tardive tendent à être plus courtes à l'épiaison. Les longueurs de limbe et de gaine sont fortement corrélées quelle que soit la date de notation. De même, les nombres de talles sont fortement corrélés entre eux. Aucune corrélation n'a été trouvée entre le nombre de talles et la longueur de feuille, alors que la longueur de feuille est fortement corrélée avec la hauteur de la plante. La sensibilité à la rouille apparaît corrélée positivement avec les hauteurs de plante et les longueurs de feuille. Ceci est en partie illustré par le cercle de corrélation de la FIGURE 1 pour les axes 2 et 3 de l'ACP.

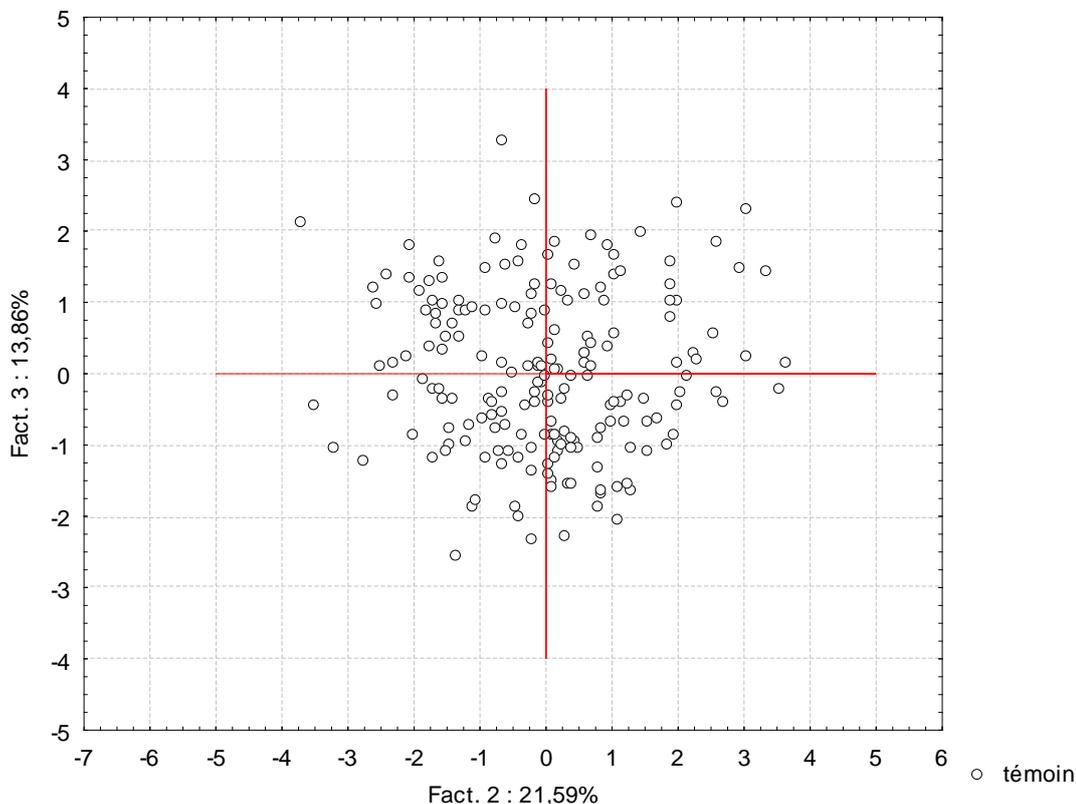
Le premier axe représente 31% de toute la variation tandis que les axes 2 et 3 représentent 21,5% et 13,8% respectivement. Comme nous pouvons le prévoir pour une variété synthétique, les différents génotypes de la population témoin ont montré un nuage non structuré (FIGURE 2).

FIGURE 1 – Cercle de corrélation pour les axes 2 et 3 de l'ACP.



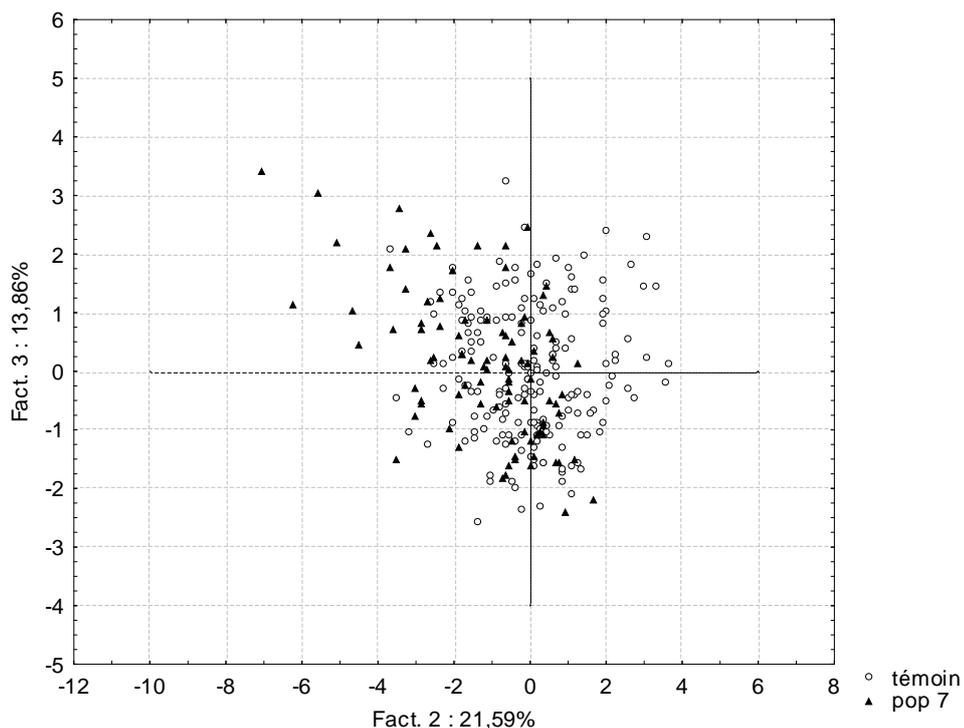
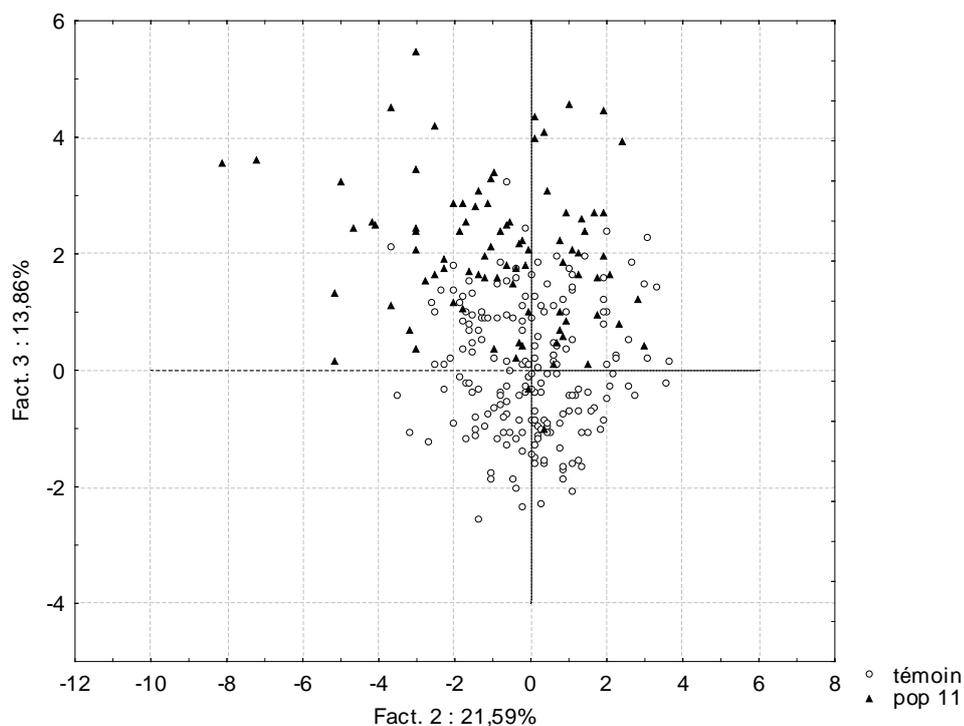
En ajoutant les différents géotypes des populations collectées, un certain nombre d'individus ont différé de manière significative de la population témoin. Ces différences ne sont pas observées sur le premier axe de l'analyse en composantes principales mais sur les axes suivants et notamment les axes 2 et 3. L'analyse de la structure des différentes populations collectées montre de grandes différences avec un déplacement pour certaines de ces populations de leur barycentre.

FIGURE 2 – Distribution de la population témoin sur les axes 2 et 3 de l'ACP.



Un nombre élevé de géotypes exprimant un **nouveau morphotype** a été identifié. Ceci est illustré sur la FIGURE 3 pour les populations 11 et 7. Ce nouveau morphotype a été caractérisé par un **nombre plus élevé de talles**, avec en moyenne des **limbes et des gaines légèrement plus courts** et une **date d'épiaison tardive**. Sur le diagramme 2-3 de l'ACP, ces individus sont localisés en haut et à gauche du nuage défini par les populations d'origine. Ce morphotype n'est pas présent dans les lots témoin. Dans la population 11, un autre groupe de plantes avec des feuilles plus longues que les témoins a été également détecté.

FIGURE 3 – Distribution des témoins et de 2 populations collectées (11 et 7) sur les axes 2 et 3 de l'ACP.



On peut également noter, et ceci est particulièrement visible pour la population 11, qu'une frange importante de la population initiale n'est plus représentée. Il s'agit en particulier des individus à épiaison précoce et présentant des feuilles culmaires longues.

Le morphotype très tallant a été détecté dans quelques populations seulement. Nous repérons visuellement les plantes appartenant à ce morphotype grâce à leur port dressé, un nombre de talles élevé, des limbes très fins et de couleur vert pâle. La fréquence de ce morphotype est particulièrement haute dans les prairies fauchées, alors que la fréquence est très basse voire nulle dans les prairies pâturées (TABLEAU 3). Au stade actuel de l'analyse, aucun rapport entre l'âge de la prairie et la fréquence de ce nouveau morphotype n'a été établi, ni entre le lieu et la fréquence de ce morphotype.

TABLEAU 3 – Pourcentage du morphotype très tallant dans chaque population.

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

3. Discussion

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

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

Comme les 12 prairies étudiées ont été implantées avec des lots commerciaux différents, et que des différences certes faibles existent entre les deux lots témoins utilisées dans la présente étude, la question d'une différence uniquement ou essentiellement liée aux lots implantés a été posée. Même si les résultats ne sont pas présentés ici, l'analyse morphologique et moléculaire de 8 lots commerciaux différents issus de la récolte 2003 ont été étudiés pour leur moyenne et leur variance, et ceci pour des caractères morphologiques et moléculaires. Comme attendu compte tenu des protocoles de multiplication et des procédures de contrôle et de certification, aucune différence significative entre les lots n'a été observée tant sur les caractères morphologiques que sur le marqueur moléculaire (micro-satellite) étudié à ce jour.

Les changements observés sont notamment associés à l'apparition d'un morphotype très tallant. Ceci sera confirmé prochainement par l'analyse d'autres caractères morphologiques et physiologiques (teneur en matière sèche et composition biochimique) et des marqueurs moléculaires (13 marqueurs micro-satellites répartis sur l'ensemble du génome) sont en cours d'analyse.

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

Ce nouveau morphotype, et probablement d'autres morphotypes qui pourraient être recrutés dans d'autres conditions, pourraient être considérés comme **différents groupes fonctionnels** (LAVOREL *et al.*, 1998). Ainsi, les concepts issus de l'écologie fonctionnelle pourraient être mobilisés pour comprendre le fonctionnement des peuplements étudiés ici et la structure phénotypique observée.

Conclusions

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

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

Références bibliographiques

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