

Amélioration génétique et tolérance à la sécheresse des productions fourragères

M. Ghesquière¹, Y. Barrière¹

1 : UGAPF/INRA - UR889 86600 Lusignan ; Marc.Ghesquiere@lusignan.inra.fr

Résumé

Les événements climatiques des dernières années interpellent sur les moyens pour sécuriser la production fourragère face à la sécheresse, en particulier le rôle de l'amélioration génétique.

Les espèces majeures que sont le maïs et les graminées pérennes des prairies semées illustrent qu'il n'y a pas de spécificités à l'amélioration de la tolérance à la sécheresse mais que c'est la biologie des espèces qui reste déterminante, en termes de stratégie, des réponses susceptibles d'être apportées par la génétique. Chez le maïs, la sélection conventionnelle, appuyée par les outils de la génomique, permet d'être confiant sur les marges de progrès et l'efficacité de l'amélioration, quitte à ce que l'idéotype des nouvelles variétés soit en partie remodelé et/ou que la hiérarchie des objectifs de sélection soit réexaminée globalement. A l'inverse, le saut de l'espèce reste le premier levier, et sans doute pour longtemps encore, pour améliorer la tolérance à la sécheresse des prairies semées. Là aussi, c'est une nouvelle orientation des objectifs de la sélection, espèce par espèce, qui devrait en découler s'il fallait préconiser par exemple de substituer fétuque élevée ou dactyle aux ray-grass. La place du sorgho dans le cadre d'une production fourragère de stock contrainte en irrigation n'est pas forcément évidente ; elle s'inscrit dans une réflexion d'amélioration s'appuyant sur le potentiel génétique du maïs en conditions sèches, encore peu évalué en France. L'hybridation interspécifique est toujours un moyen de réponse à relativement court terme mais qui déplace les questions d'amélioration sur des points spécifiques et sans nécessairement de rapports directs avec la tolérance à la sécheresse elle-même : productivité semencière, stabilisation de *Festulolium* tétraploïdes chez les graminées, transfert de caractères d'intérêt, effet des gènes, dans le cas de croisements maïs x teosinte. La transformation génétique apparaît enfin comme une alternative, notamment à l'hybridation interspécifique, mais certainement de façon plus réaliste chez le maïs que chez les graminées pérennes.

Il est prévisible qu'en sortant des schémas classiques recourant à la variabilité génétique intraspécifique, l'efficacité de l'amélioration ait à passer par l'identification de plus en plus précise des processus physiologiques de la tolérance mise en jeu au cas par cas, et de leur contrôle génétique.

1. Introduction

Les exposés présentés dans le cadre de ces Journées ont souligné à diverses reprises les caractéristiques de la productivité fourragère soumise à la sécheresse :

- l'aspect à la fois très général et global des effets du déficit hydrique en tant que stress abiotique sur le phénotype des plantes ;
- la complexité, en revanche, des processus physiologiques sous-jacents, notamment pour en démêler les relations de cause à effet ;
- l'antagonisme étroit entre la productivité et les mécanismes que tendent à déployer naturellement les plantes pour résister au stress hydrique.

La production fourragère dépend non seulement des données biologiques intrinsèques des espèces mais interagit aussi avec les multiples aspects techniques et économiques de la filière. Dans ce contexte, l'amélioration génétique n'est qu'un élément d'une réflexion globale qu'il convient de mener en termes de stratégie et d'optimisation. A cet effet, il est nécessaire d'organiser la réflexion au plan de l'amélioration génétique autour de deux points essentiels :

- Intensité du stress : suivant que la sécheresse sera faible (aléatoire) ou forte (régulière), ou que l'irrigation sera plus ou moins soumise à des restrictions, les stratégies d'amélioration ne pourront être les mêmes ni engager les mêmes échéances.
- Biologie des espèces cibles, notamment quand elle peut être aussi contrastée qu'entre graminées annuelles à métabolisme *C4* (maïs, sorgho) et graminées pérennes utilisées pour les prairies temporaires ; sous cet aspect, il est intéressant aussi d'examiner en quoi la génomique et les biotechnologies en général sont susceptibles de renouveler les stratégies d'amélioration.

2. Déficit hydrique modéré :

les ressources de la variabilité génétique intraspécifique

Sous ces conditions, la survie de la culture fourragère n'est jamais engagée, aussi bien pour les espèces annuelles que pérennes, et le déficit hydrique ne se traduit que par une perte de productivité comme dans le cas des autres stress, abiotiques (fertilisation) ou biotiques (ravageurs et pathogènes). Du point de vue de l'amélioration, l'approche de la génétique quantitative reste pertinente au sens où de nombreux gènes à faible effet étant impliqués, il n'est pas forcément nécessaire de les identifier précisément. **La variabilité génétique au sein des espèces cibles est jugée suffisante pour que les méthodes de sélection conventionnelles restent opérationnelles par une lente accumulation "en aveugle" des gènes favorables à la productivité.** Deux conditions restent néanmoins impératives :

2.1. Disposer d'une variabilité génétique suffisante

Il est nécessaire en effet de partir de croisements où un (ou des) géniteurs apportent une tolérance avérée même si le mécanisme physiologique n'en est pas parfaitement identifié. L'existence de "ressources génétiques" bien caractérisées est alors indispensable et introduit une différence fondamentale entre maïs et graminées pérennes ; chez le maïs, une organisation des collections en lignées consanguines homogènes facilite autant l'évaluation de la tolérance de géniteurs potentiels que leur maintien et leur disponibilité pour des croisements. Chez les secondes, une organisation en populations et/ou variétés synthétiques ne permet pratiquement jamais ce choix. **En revanche, l'existence d'écotypes chez les graminées pérennes permet de recourir à une variabilité génétique spontanée d'origine adaptative. Les mécanismes de tolérance par évitement sont ainsi souvent privilégiés : précocité de floraison, dormance estivale des populations méditerranéennes par exemple.** La méthode atteint cependant ses limites quand des caractères défavorables sont étroitement corrélés à la tolérance à la sécheresse : sensibilité au froid, remontaison, tendance à l'annualité, faible productivité... Sans remettre en cause une démarche de sélection conventionnelle, prendre en compte la tolérance à la sécheresse peut amener ainsi à réviser la hiérarchie des objectifs de sélection, à revoir par exemple la pondération des différents traits dans un index de sélection multicaractères.

Le recul dont on dispose sur le progrès génétique par sélection conventionnelle permet d'évaluer la part de l'amélioration des phénomènes de tolérance dans l'augmentation de la productivité. Chez les graminées pérennes où l'augmentation du rendement annuel reste toujours sujette à discussion (TABEL ET ALLERIT, 2005), **c'est souvent sur les rendements d'été et d'automne que le progrès génétique a été le plus significatif même si, dans l'absolu, l'augmentation n'a guère dépassé 0,5 à 1 t MS/ha depuis les débuts de la création variétale.** Chez le maïs, on montre aussi, mais de façon bien plus nette, qu'une part de l'augmentation de la productivité des hybrides modernes a été obtenue par une amélioration de la tolérance à la sécheresse, tous mécanismes confondus, et non à ses dépens.

2.2. Disposer de réseaux d'expérimentation multilocaux

C'est en effet par un "*screening*" statistique, aussi bien entre années qu'entre lieux, que les effets du déficit hydrique sur la productivité peuvent être évalués et que des génotypes "élites" peuvent être sélectionnés au travers d'analyses classiques de l'interaction génotype x milieu. La caractérisation entre lieux de génotypes-témoins par quelques critères physiologiques simples (potentiel hydrique de base, indice de nutrition azotée...) peut aider à interpréter ces interactions en termes de tolérance à la sécheresse et rendre plus efficace la sélection. Néanmoins, la démarche expérimentale reste lourde et à renouveler constamment au rythme de la production de nouveaux croisements. **Alléger la sélection conventionnelle tout en augmentant son efficacité sont les justifications du développement des biotechnologies en amélioration des plantes.** Leur impact dans le cadre de la tolérance à la sécheresse est brièvement décrit ci-après dans deux grands domaines d'applications.

2.3. La sélection assistée par marqueurs (SAM)

Le principe est de baser le choix de géniteurs non pas seulement sur le résultat d'essais, aussi bien conduits soient-ils, mais sur la présence de marqueurs moléculaires parmi lesquels on a préalablement établi une relation étroite avec le caractère agronomique qu'on cherche à accroître. Pour cela, on procède en trois étapes :

- un croisement entre deux géniteurs les plus contrastés possible pour le caractère est réalisé ;
- les descendants du croisement sont ensuite évalués individuellement en essai, en même temps qu'ils sont décrits ("génotypés") pour plusieurs centaines de marqueurs moléculaires répartis le plus régulièrement possible le long des chromosomes ;
- enfin, on recherche des associations statistiques entre la présence des marqueurs, un à un, et la valeur du caractère ; on identifie ainsi des secteurs chromosomiques (ou *QTLs*, pour *Quantitative Trait Loci*) susceptibles de contenir un ou plusieurs gènes contrôlant directement l'expression du caractère. En s'approchant ainsi le plus près possible des gènes, même si ceux-ci restent non identifiés, les *QTLs* présentent un caractère indiscutablement opérationnel pour la sélection et susceptible d'améliorer son efficacité. Disposer de marqueurs moléculaires flanquant des *QTLs* permet en effet de valider le choix d'individus sur leur valeur en essai mais dont une part résulte toujours d'effets aléatoires du milieu.

Une approche originale dans le cadre de la tolérance à la sécheresse a été réalisée par TARDIEU *et al.* (2005) chez le maïs. Dans cette expérience, ce n'est pas tant la valeur moyenne du caractère qui a été associée aux marqueurs que sa réponse lorsque les variables d'état du milieu changent. Ainsi, des *QTLs* de réponse de la vitesse d'élongation foliaire à trois variables de stress hydrique (température du méristème, déficit de pression de vapeur atmosphérique et potentiel hydrique de base) ont pu être mis en évidence, simultanément en conditions de champ et de serre. Des idéotypes de maïs peuvent être ainsi définis pour diverses combinaisons de niveau des trois variables, c'est-à-dire d'intensité du stress hydrique, et faire l'objet de sélection par *SAM*.

Dans son principe, la stratégie *QTL-SAM* est directement transposable aux graminées pérennes mais se heurte à de nombreuses difficultés de différentes natures ; le retard pris dans le développement de marqueurs moléculaires chez ces espèces fait que l'étape de cartographie génétique de marqueurs moléculaires n'est encore qu'imparfaitement accomplie. Surtout, le fait de ne pas pouvoir disposer de lignées recombinantes comme chez le maïs handicape considérablement

l'identification de *QTLs* et l'estimation de leurs effets sous différentes conditions de milieu. L'alternative a consisté à utiliser des populations *pseudo-F2* ou *-backcross* chez les pérennes mais où jusqu'à quatre allèles par locus peuvent être en ségrégation contre deux seulement pour des lignées recombinantes. De plus, chaque génotype ne peut être représenté que par une plante unique et non un ensemble de plantes comme c'est le cas pour une lignée de maïs. Même si le clonage, aisé chez les graminées pérennes, améliore l'estimation des effets des allèles, celui-ci conduit dans la pratique à des dispositifs de pépinière de plantes isolées, c'est-à-dire loin des conditions de stress hydrique propres aux peuplements denses. En l'état actuel, des données non publiées ont montré des *QTLs* de survie racinaire localisés sur le groupe de liaison 5 chez le ray-grass anglais ; des *QTLs* de caractères de floraison/remontaison sur le groupe de liaison 1 ont été aussi associés à une meilleure tolérance au déficit hydrique à partir de croisements ray-grass x fétuque.

2.4. La transformation génétique

Dans le domaine des biotechnologies, la transformation génétique rompt plus nettement avec la sélection conventionnelle que l'utilisation de la *SAM*. En effet, les étapes de sélection phénotypique sont court-circuitées au profit de l'introduction de gènes dont la fonction est déjà avérée. L'enjeu consiste plus à préciser l'effet de la transformation sur le phénotype du caractère-cible (génétique inverse). La transformation génétique comporte nécessairement une étape de régénération *in vitro*, le plus souvent après bombardement de cals cellulaires à l'aide de particules imprégnées de l'ADN du gène, mais qui est bien maîtrisée désormais chez le maïs et au moins le ray-grass anglais et la fétuque élevée pour les espèces de graminées pérennes. En fait, la difficulté réside plus dans l'identification du ou des gènes à transférer, ce qui implique de bien connaître le contrôle génétique d'au moins un mécanisme physiologique essentiel de tolérance. Cela explique que la démarche relève encore de compromis entre faisabilité et *a priori* fonctionnels. Ainsi, des travaux visent à introduire des gènes sur exprimant la production d'anti-oxydants pour éliminer les radicaux libres issus du stress hydrique (et thermique) mais sans savoir précisément l'efficacité du mécanisme sur la tolérance.

A titre d'exemple également, un effet de tolérance a été obtenu chez la tomate par surexpression d'un gène codant pour l'enzyme (H^+ -PyroPhosphatase) qui augmente le transport des auxines dans la plante (PARK *et al.*, 2005). Bien que l'effet du gène ait été mis en évidence chez *A. thaliana*, la surexpression du (même) gène présent chez la tomate induit une croissance racinaire plus importante se traduisant par une meilleure tolérance (par évitement dans le cas présent) lors d'épisodes de stress hydrique. Chez *A. thaliana*, on observe inversement une situation assez révélatrice des difficultés posées par la transformation ; il est possible de modifier considérablement l'expression d'un gène (*SDD1*) codant pour la densité et la distribution des stomates, de 40 à 300% par rapport au type sauvage ; on note cependant une exacte compensation entre temps d'ouverture des stomates et leur densité de sorte que taux d'assimilation du CO_2 et conductance stomatique restent inchangés (BÜSSIS *et al.*, 2006). Ainsi, un gène contrôlant une composante physiologique majeure des mouvements d'eau dans la plante, l'ouverture des stomates, n'induit pas nécessairement un effet phénotypique massif sur le comportement au stress hydrique. De plus, les auteurs révèlent une interaction complexe de l'effet du gène avec l'intensité de la lumière. Si celle-ci augmente, et même en conditions de pression partielle de CO_2 élevées, la photosynthèse finit par être altérée chez le mutant à faible densité stomatique. A l'évidence, le gène modifie aussi le parenchyme foliaire dans ses caractéristiques de diffusion latérale du CO_2 .

Devant les difficultés à comprendre l'ensemble d'un processus de tolérance au stress hydrique et à en maîtriser la variabilité génétique, l'empirisme peut rester une démarche, en particulier chez les espèces pérennes où les connaissances sont encore peu avancées. **Dans la mesure où la régénération est maîtrisée et où le transgène présente un effet massif sur la croissance et/ou le développement de la plante, l'impact sur la tolérance à la sécheresse peut être évalué même si cela ne constitue pas l'objectif primaire de la transformation.** Chez le ray-grass anglais, la répression de la floraison à l'aide du gène *terminal flower1* (JENSEN *et al.*, 2004), initialement entreprise pour limiter les flux de transgène vers les populations spontanées, serait un excellent modèle, malheureusement non public pour l'instant, pour tester le rôle de la floraison sur la sensibilité au déficit hydrique *via* le développement racinaire.

3. Déficit hydrique élevé : la question du choix de l'espèce

Sous ce titre, le déficit hydrique apparaît comme la contrainte abiotique majeure, régulière dans sa fréquence, élevée et prolongée dans son intensité et sa durée, et qui ne peut être palliée par des interventions extérieures comme l'irrigation. Le risque d'une productivité nulle devient élevé ; s'y ajoute chez les espèces pérennes celui d'avoir à réinstaller des prairies profondément dégradées après l'épisode de sécheresse. La culture habituelle peut être remise en cause en concluant implicitement que la variabilité génétique disponible chez l'espèce ne permet pas de répondre à court terme à la contrainte. Se pose alors la question de définir quelle espèce substituer, schématiquement, au maïs et au ray-grass anglais dans les systèmes fourragers intensifs. Le choix d'espèce n'est pas à proprement parler une stratégie d'amélioration au sens où c'est la variabilité génétique au sein des espèces qui est exploitée par sélection. **Cependant, le remplacement d'une espèce par une autre pose des questions d'amélioration très directes sur le potentiel génétique que l'on pourra exploiter chez l'espèce remplaçante, en particulier celle de retrouver un niveau proche de celui de l'espèce remplacée pour tous les autres caractères non directement affectés par la sécheresse comme la résistance aux pathogènes ou la valeur alimentaire.**

Vis-à-vis du remplacement maïs/sorgho, celui d'une espèce de graminée par une autre est perçu comme moins radical en prairies temporaires tant l'usage a répandu les mélanges d'espèces de graminées et/ou légumineuses. De fait, il est relativement admis que les limites de la variabilité génétique intraspécifique sont vite atteintes chez les espèces fourragères et que la seule solution "génétique" est d'en changer au profit d'une espèce réputée tolérante. Dactyle et fétuque élevée, par des mécanismes différents, sont sans doute les espèces candidates les plus intéressantes au remplacement du ray-grass anglais, après en avoir épuisé les solutions de la précocité d'épiaison. Ce constat n'irait pas sans modifier profondément les critères de sélection actuels chez des espèces dont les perspectives de progrès peuvent être très variables suivant les caractères. Renoncer au ray-grass serait sans doute perdre de façon irrémédiable les avantages propres à cette espèce en vitesse d'installation, caractère pour lequel dactyle et fétuque ne montrent pas de variabilité génétique significative. Ce serait également perdre en vitesse d'ingestion au pâturage et en digestibilité.

Si le changement d'espèces s'accompagne aussi d'une évolution des usages (foin, stock sur pied...), il est prévisible que la qualité devienne un objectif plus nettement affiché de l'amélioration des graminées pérennes. Le rapport aux biotechnologies pourrait s'en trouver également modifié vis-à-vis des méthodes de sélection conventionnelles ; il pourrait être justifié, par exemple, d'investir plus systématiquement dans les stratégies de transformation dont certaines ont déjà fait leur preuve, notamment chez la fétuque élevée par répression de gènes de la voie de biosynthèse des lignines (CHEN *et al.*, 2004, CHEN *et al.*, 2003). L'apport des espèces-modèles aux graminées pérennes pourrait être exemplaire sous ce rapport ; rechercher, par génétique d'association par exemple, si des formes alléliques de gènes-candidats de digestibilité isolés chez le maïs sont susceptibles aussi de modifier significativement la valeur alimentaire des espèces pérennes (MURIGNEUX *et al.*, 2006).

En dernier recours, la diversité au sein des graminées est telle que l'usage d'espèces non cultivées en Europe, ou déclarées inadaptées dans le contexte de la *Révolution Fourragère* des années 50, pourrait être reconsidéré : espèces indigènes mais écartées en raison d'une productivité récoltable insuffisante en conditions intensives ; graminées annuelles ou pérennes en C4 de la transition tempéré/tropical utilisées par exemple aux USA (*Paspalum*, *Pennisetum*, *Panicum* sp. ...) avec, comme alternative, l'ensilage de céréales immatures. Si le potentiel de diversification spécifique ne fait pas de doute, une contrainte restera de garantir une production de semences au moins aussi performante, en qualité et en coût, que chez les espèces actuelles dont les itinéraires techniques sont maintenant très bien maîtrisés.

4. Le compromis de l'hybridation interspécifique

Par rapport aux situations précédentes un peu extrêmes, la voie de l'hybridation interspécifique est une alternative intéressante sous deux aspects :

- recours à une variabilité génétique élargie (nouveaux gènes et/ou à effets plus forts) mais d'origine naturelle, et sans perdre tous les acquis de l'amélioration de l'espèce cible comme le maïs ou le ray-grass en général ;

- besoin réduit de connaissances sur le contrôle génétique des mécanismes de tolérance dans la mesure où les espèces parentales sont contrastées pour le caractère d'intérêt et où celui-ci fait preuve d'un contrôle génétique approximativement additif dans les générations d'hybrides.

En revanche, le développement d'hybrides interspécifiques soulève d'autres contraintes, parfois antagonistes :

- compatibilité / interfertilité élevée des espèces parentales, dans l'optique de réaliser, à terme, une production de semences commerciales viable économiquement ;

- contrôle strict de l'appariement entre chromosomes homéologues ou, au contraire, faible limitation à la recombinaison interspécifique, ceci déterminant directement la stratégie d'amélioration optimale : stabilisation des deux génomes parentaux chez un hybride de phénotype intermédiaire (amphiploïdisation) ; transfert ciblé d'un caractère unique, depuis une espèce (donneuse) vers une espèce receveuse jugée déficiente (introgression) ;

- nature du contrôle génétique du caractère : plus celle-ci sera complexe (nombreux gènes, fortes relations épistatiques et/ou physiologiques), plus l'amphiploïdisation sera recommandée, quitte à ce que le caractère d'intérêt mais aussi tous ceux qui lui sont associés restent à un niveau inférieur à celui du meilleur parent ; à l'inverse, l'introgression se justifiera d'autant plus que le caractère est contrôlé par un seul gène à effet marqué (gène majeur).

L'existence de complexes d'espèces apparentées, de couplages entre formes spontanées et cultivées, devient alors un atout pour expérimenter l'hybridation interspécifique et en particulier au sein de la famille des graminées très richement structurée sur ce plan.

4.1. Modèle Maïs x Téosite

Chez le maïs, le potentiel de l'hybridation interspécifique a surtout été exploré au travers de croisements avec les 6 sous espèces de teosite (*Zea mays* ssp.). Deux formes annuelles, *Z. m. mexicana* et *Z. m. parviglumis*, et une forme pérenne, *Z. m. diploperennis*, sont particulièrement intéressantes. Les hybrides directs sont fertiles ; il n'est pas nécessaire en particulier de doubler les sets chromosomiques des espèces parentales, ce qui confirme d'ailleurs la nature déjà allopolyploïde du maïs ($2n = 20$). Une autre espèce, *Tripsacum dactyloides*, dont la participation à l'origine du maïs a été réexaminée récemment (TAKAHASHI *et al.*, 1999 ; POGGIO *et al.*, 2005) présente aussi un intérêt potentiel en matière de tolérance à la sécheresse mais reste peu compatible directement avec le maïs. Cependant, EUBANKS (2006) montre que des croisements préalables *T. dactyloides* x *Z. m. diploperennis* sont suffisamment compatibles avec le maïs pour envisager le transfert de gènes d'intérêt d'origine *Tripsacum* vers le maïs. Les croisements entre forme annuelle et pérenne ont permis de progresser sur le contrôle génétique des caractères de pérennité comme le tallage, la morphologie racinaire et le développement de rhizomes (WESTERBERGH et DOEBLEY, 2004). Les auteurs soulignent cependant le nombre important de *QTLs* (38) pour des effets individuels faibles ($r^2 < 0,087$) avec des effets d'épistasie (interaction entre *QTLs*) élevés ainsi que de dominance, liés pour partie à la divergence des parents.

Une approche particulièrement intéressante dans les hybrides maïs x teosite concerne la recherche de l'espèce ancestrale du maïs et combien de gènes la domestication a pu impliquer pour avoir eu un impact phénotypique aussi fort sur l'architecture de la plante et de l'inflorescence. Il est intéressant de voir combien l'appréhension du contrôle génétique de ces caractères a évolué depuis les premiers travaux de BEADLE (1939) et MANGESLDORF & REEVES (1939). Quelques gènes ou blocs géniques à hérédité mendélienne semblaient alors suffisants pour expliquer, dans une *F2*, comment un maïs ancestral pouvait avoir émergé d'un teosite. La réalité paraît actuellement beaucoup plus complexe dans la synthèse de DOEBLEY (2004) : *QTLs* de nature quantitative, nombreuses interactions épistatiques avec intervention de gènes de développement très en amont de l'expression finale du phénotype : taille et orientation des méristèmes, transition végétatif/reproducteur... Au total, le nombre de gènes ayant été affectés par la domestication puis par l'amélioration qui en a suivi, est actuellement estimé à 1200 (WRIGHT *et al.*, 2005). Une conséquence, sans doute très générale à l'hybridation interspécifique, est que l'expression de caractères divergents pouvant avoir un intérêt en amélioration reste très dépendante du fond génétique dans lequel ils sont observés ; en particulier, on peut s'attendre à ce que le transfert à l'identique des effets d'un *QTL* (ou d'un gène), vu comme majeur dans une *F2*, vers l'une ou l'autre espèce parentale reste exceptionnel.

4.2. Modèle *Festuca x Lolium*

Le complexe des fétuques/ray-grass, avec 2 espèces de ray-grass (*L. multiflorum* et *L. perenne*) et deux espèces de fétuque cultivées (*F. pratensis* et *F. arundinacea*) est sans doute celui qui a été le plus tôt exploité tant les croisements sont faciles et les espèces contrastées sur de nombreux traits en relation avec la qualité et/ou la tolérance aux stress abiotiques d'une façon générale (ZWIERZYKOWSKI, 1996). L'ensemble des hybrides entre ray-grass et fétuque est rassemblé désormais sous le nom de *Festulolium* (GHESQUIERE & MOUSSET, 2003) ; cette dénomination unique recouvre en réalité une grande diversité de comportements agronomiques en particulier de pérennité et de tolérance à la sécheresse qui restent pour l'essentiel dépendantes de l'espèce de fétuque utilisée comme parent.

Initialement, la fétuque élevée paraissait un géniteur idéal ; de premières variétés de *Festulolium* ont été ainsi tirées de croisements entre fétuque élevée et ray-grass d'Italie dans les années 1970 aux USA. Il s'agissait alors de corriger la qualité, au moins l'appétence au pâturage, de la fétuque élevée à pérennité maintenue. Dans la réalité, ces « *Festulolium* » ne se démarquent pas d'une fétuque élevée pure ; le principe de corriger la qualité par hybridation interspécifique paraît même de plus en plus discutable devant les progrès accomplis chez la fétuque élevée par sélection conventionnelle et les perspectives de la transformation génétique par les gènes de la lignification soulignées plus haut.

Un autre type de *Festulolium* concerne les croisements entre ray-grass et fétuque des prés ; ce sont de loin les variétés les plus nombreuses actuellement même si elles ne sont pas toutes disponibles en France. Leur comportement vis-à-vis de la sécheresse ne pouvant être supérieur à celui de leur parent fétuque des prés, espèce réputée déjà sensible, ces variétés ne présentent pas d'intérêt particulier sur ce plan ; dans le meilleur des cas, leur pérennité est comparable à celle d'un ray-grass hybride. Concernant la tolérance au froid, en revanche, ce type de *Festulolium* présente bien une amélioration vis-à-vis du ray-grass d'Italie permettant, par exemple, de remplacer la fétuque des prés dans les mélanges prairiaux recommandés dans les pays à hivers marqués (RAPACZ *et al.*, 2004).

Outre leur peu d'intérêt en matière de tolérance à la sécheresse, un inconvénient majeur de ces *Festulolium* à base de fétuque des prés est leur instabilité génomique (KOPECKY *et al.*, 2006). On y observe en effet une lente, mais apparemment inexorable, évolution en faveur du génome de ray-grass au cours des générations ; certains de ces *Festulolium* allant jusqu'à présenter une gamiture chromosomique indiscernable de celle d'un ray-grass d'Italie tétraploïde pur. Sachant que la fétuque élevée, espèce hexaploïde, dérive déjà d'une hybridation entre des formes ancestrales de fétuque des prés, diploïde, et de l'espèce tétraploïde *F. glaucescens*, une alternative consistait à utiliser cette dernière espèce en croisement direct avec le ray-grass d'Italie. Initiée par l'INRA à Lusignan, cette démarche a conduit en 2007 à l'inscription de la première variété de ce type, certainement la plus tolérante au déficit hydrique parmi les « *Festulolium* » créés à ce jour. Au plan de la stabilité entre générations, les résultats de KOPECKY *et al.*, (2006) confirment également le caractère nettement plus « amphiploïde » de ce type de *Festulolium* que celui tiré de la fétuque des prés, résultant vraisemblablement d'une divergence plus marquée de *F. glaucescens* vis-à-vis du ray-grass d'Italie.

Les travaux de Lusignan en écophysiologie ont montré qu'entre un contrôle stomatique en faveur de l'espèce ray-grass d'Italie et une profondeur d'enracinement favorable à l'espèce *F. glaucescens*, c'est par ce dernier trait qu'un *Festulolium*, entre ces deux espèces, tire l'amélioration de sa tolérance à la sécheresse. Délicate à mesurer au champ et sur de grands effectifs, la profondeur d'enracinement peut être estimée par la signature isotopique en ¹⁸O de l'eau dans la plante (DURAND *et al.*, 2007) ouvrant ainsi sur un « phénotypage » fonctionnel et prédictif de la variabilité génétique de la pérennité très prometteur. Au plan des bases génétiques, rien n'empêche une approche classique du contrôle génétique de ce caractère par recherche de *QTLs* au sein d'une population de cartographie *F2*. En fait, c'est une stratégie d'introgession qui a été préférée car il est possible de recombiner à un taux élevé chacun des chromosomes de fétuque dans un ray-grass diploïde pour évaluer ensuite leurs effets individuellement (HUMPHREYS *et al.*, 2003). Jusqu'à présent, celle-ci s'avère décevante quand, après deux générations de multiplication, les populations issues d'introgession assistée par marqueurs sont finalement évaluées en parcelles denses. On ne dispose pas d'hypothèses fortes analogues au nombre de gènes et à leurs effets comme chez le couple teosinte/maïs mais le rôle prépondérant d'épistasie peut être également avancé, repoussant pour l'instant la perspective d'identifier facilement des gènes majeurs de tolérance que l'on pourrait transférer « à façon » de la fétuque vers le ray-grass.

L'avenir variétal des *Festulolium*, toutes origines confondues, devrait donc concerner pour longtemps encore des structures tétraploïdes et les plus « amphiploïdes » possibles ; cela n'exclut pas pour autant l'intérêt de manipuler et suivre l'équilibre génomique de populations de *Festulolium* dans différents contextes et pour différents objectifs. Une expérimentation en cours à l'INRA de Lusignan vise à montrer que, sous déficit hydrique marqué au champ, c'est vers une composition génomique de fétuque que devraient évoluer, ou au moins se stabiliser, des populations de *Festulolium* (*L. multiflorum* x *F. glaucescens*). Parallèlement, des populations peuvent être également constituées par sélection assistée par Hybridation génomique *In-Situ* (HIS) ; l'ensemble devrait permettre d'évaluer, entre sélection "conventionnelle" et "moléculaire", l'intérêt de systèmes de "gestion dynamique" de la variabilité génétique appliquée à des populations de *Festulolium* pour améliorer la tolérance à la sécheresse des graminées fourragères.

Conclusions

L'amélioration de l'adaptation à la sécheresse chez les espèces fourragères constitue un véritable défi scientifique où physiologie et génétique sont étroitement liées :

- Au plan physiologique, il y a un besoin en modèles globaux de fonctionnement de la plante qui permettent par exemple de quantifier l'efficacité de mécanismes (évitement vs tolérance s.s.) sur les variables agronomiques de sortie (productivité vs survie). D'une part, c'est une condition pour mieux pallier le caractère aléatoire du stress hydrique suivant les années en évaluant les effets en termes de risques ; d'autre part, c'est aussi la condition pour identifier et exploiter de façon pertinente la variabilité génétique en amélioration. A ce plan conceptuel, s'ajoute le besoin d'outils de caractérisation fonctionnelle des plantes qui puissent prendre en compte la variation micro environnementale, identifier, par exemple, des génotypes entretenant un meilleur statut hydrique au sein d'une population dense globalement soumise à la sécheresse.

- Au plan génétique, il s'agit de comprendre, dans une régulation forcément complexe à toutes les échelles, quelle en est la composante majeure (idéalement un gène unique !) sur laquelle la sélection pourra avoir un effet appréciable sur le phénotype. De ce point de vue, les biotechnologies risquent d'avoir plus d'apports, lorsqu'elles comparent combien de *QTLs* sont présents au sein de populations et évaluent leurs effets et leurs relations épistatiques, que la transformation génétique qui requiert soit des *a priori*, soit un niveau de connaissance déjà très élaboré sur l'effet des gènes et/ou de leur système de régulation.

Chez les graminées pérennes, la tolérance à la sécheresse présente à l'évidence une forte dimension adaptative ; elle est sans doute responsable pour l'essentiel de leur organisation génétique en grands complexes dont les espèces actuelles constituent autant de "solutions" mises en place au cours de l'évolution devant de multiples contextes environnementaux. En l'état actuel, ce niveau reste donc le plus pertinent au plan génétique ; il souligne l'intérêt de l'hybridation interspécifique lorsque celle-ci est possible et qu'un mécanisme de tolérance majeur a été identifié.

Faut-il pour autant recenser l'ensemble de la diversité des mécanismes de tolérance à la sécheresse au sein des *Poaceae* ? Pas nécessairement ; il est possible que, dans un ensemble forcément limité de mécanismes physiologiques très contraints, la variabilité génétique résulte plus de la diversité de systèmes de régulation, certes complexes, mais entre gènes hautement conservés entre espèces, notamment l'ensemble des gènes de développement contrôlant la morphogenèse. L'apport en connaissances d'espèces-modèles reste alors irremplaçable pour les espèces dont la biologie est contraignante au niveau expérimental. Il semble ainsi y avoir d'intéressants parallèles à faire au plan génétique : fétuque vs ray-grass, sorgho vs maïs, teosinte vs maïs ... ou quand on considère que les espèces de graminées constituent autant de "lignées" pour des hybrides interspécifiques, "lignées" dont on a souligné combien elles font défaut actuellement à la sélection conventionnelle au niveau "intraspécifique".

Expérimenter alors la variabilité de la pérennité au travers d'un continuum comme celui des *Festuca/Lolium*, c'est contribuer à savoir quel système de gènes du développement s'est mis en place au cours de l'évolution. C'est, à terme, disposer d'une vision à la fois beaucoup plus globale du fonctionnement des graminées et plus précise pour raisonner l'amélioration des graminées fourragères.

Références bibliographiques

- BEADLE G.W. (1939) : "Teosinte and the origin of maize", *J. Hered.*, 30, 245-247.
- BÜSSIS D., VON GROLL U., FISAHN J., ALTMANN T. (2006) : "Stomatal aperture can compensate altered stomatal density in *Arabidopsis thaliana* at growth light conditions", *Functionnal Plant Biology*, 33 (11), 1037-1043.
- CHEN L., AUH C., DOWLING P., BELL J., CHEN F., HOPKINS A., DIXON R., WANG Z. (2003) : "Improved forage digestibility of tall fescue (*Festuca arundinacea*) by transgenic down-regulation of cinnamyl alcohol dehydrogenase", *Plant Biotechnology J.*, 1, 437-449.
- CHEN L., AUH C., DOWLING P., BELL J., LEHMANN D., WANG Z. (2004) : "Transgenic down-regulation of caffeic acid O-methyltransferase (COMT) led to improved digestibility in tall fescue (*Festuca arundinacea*)", *Functionnal Plant Biology*, 31, 235-245.
- DOEBLEY J. F. (2004) : "The genetics of maize evolution", *Annu. Rev. Genet.*, 38, 37-59.
- DURAND J-L., BARIAC T., GHESQUIERE M., BIRON P., RICHARD P., HUMPHREYS M.W., ZWIERZYKOWSKI Z. (2007) : "Ranking of the depth of water extraction by individual grass plants, using natural ¹⁸O isotope abundance", *Environnemental and Experimental Botany*, 60, 137-144.
- EUBANKS M.W. (2006) : "A genetic bridge to utilize *Tripsacum* germplasm in maize improvement", *Maydica*, 51(2), 315-327.
- GHESQUIÈRE M., MOUSSET C. (2003) : "*Festulolium*: définitions et perspectives...", *Fourrages* 176, 479-492.
- HUMPHREYS M.W., CANTER J.P., THOMAS H.M. (2003) : "Advances in introgression technologies for precision breeding within the *Lolium – Festuca* complex", *Annals of Applied Biology*, 143, 1-10.
- JENSEN C., SALCHERT K., GAO C., ANDERSEN C., DIDION T., NIELSEN K. (2004) : "Floral inhibition in red fescue (*Festuca rubra*) through expression of a heterologous flowering repressor from *Lolium*", *Molecular breeding*, 13, 37-48.
- KOPECKY D., LOUREIRO J., ZWIERZYKOWSKI Z., GHESQUIERE M., DOLEZEL J. (2006) : "Genome constitution and evolution in *Lolium x Festuca* hybrid cultivars (*Festulolium*)", *Theor. Appl. Genet.*, 113 (4), 731-742.
- MANGESLDORF P.C., REEVES R.G. (1939) : "The origin of indian corn and its relatives", *Texas Agric. Exp. Stn. Bull.*, 574.
- MURIGNEUX A., MARTINANT J-P., BARRIÈRE Y. (2006) : "Apports de la génomique à l'exemple du maïs fourrage", *Biofutur*, 266, 34-41.
- PARK S., LI J.S., PITTMAN J.K., BERKOWITZ G.A., YANG H.B., UNDURRAGA S., MORRIS J., HIRSCHI K.D. & GAXIOLA R.A. (2005) : "Up-regulation of a H⁺-Pyrophosphatase (H⁺-Ppase) as a strategy to engineer drought-resistant crop plants", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102 (52), 18830-18835.
- POGGIO L., GONZALES G., CONFALONIERI V., COMAS C., NARANIO C.A. (2006) : "The genome organization and diversification of maize and its allied species revisited: evidences from classical and FISH-GISH cytogenetic analysis", *Cytogenetic and Genome Research*, 109 (1-3), 259-267.
- RAPACZ M., GASIOR D., ZWIERZYKOWSKI Z., LESNIEWSKA-BOCIANOWSKA A., HUMPHREYS M. W., GAY A. (2004) : "Changes in cold tolerance and the mechanisms of acclimation of photosystem II to cold hardening generated by anther culture of *Festuca pratensis x Lolium multiflorum* cultivars", *New Phytologist*, 162 (1), 105-114.
- TABEL C., ALLERIT R. (2005) : "Bilan du progrès génétique obtenu pour différents caractères et différentes espèces", *Génétique & Prairies, Actes des Journées de l'AFPP, 15-16 Mars 2005, Paris*, Association Française pour la Production Fourragère éd., 101-111.
- TAKAHASHI C., MARSHALL J.A., BENETT M.D., LEITCH I.J. (1999) : "Genomic relationship between maize and its wild relatives", *Genome*, 42(6), 1201-1207.
- TARDIEU F., REYMOND M., MULLER B., GRANIER C., SIMONNEAU T., SADOK W., WELKER C. (2005) : "Linking physiological and genetic analyses of the control of leaf growth under changing environmental conditions", *Australian Journal of Agricultural Research*, 56 (9), 937-946.
- WESTERBERGH A., DOEBLEY J.F. (2004) : "Quantitative trait loci controlling phenotypes related to the perennial versus annual habit in wild relatives of maize", *Theor. Appl. Genet.*, 109, 1544-1553.
- WRIGHT S.I., BI I.V., SCHROEDER S.G., YAMASAKI M., DOEBLEY J.F., McMullen M.D., GAUT B.S. (2005) : "The effects of artificial selection on the maize genome", *Science*, 308, 1310-1314.
- ZWIERZYKOWSKI Z. (1996) : "Interspecific and intergeneric hybrids of the *Lolium-Festuca* complex obtained in Poland in the Years 1964-1994 and maintained in the collection at the Institute of Plant Genetics in Poznan", *Journal of Applied Genetics*, 37, 79-100.