

Variétés de pâturin des prés d'Agroscope: performances accrues par la reproduction sexuée

Christoph Grieder, Peter Tanner, Franz Xaver Schubiger et Beat Boller

Agroscope, Institut des sciences en durabilité agronomique IDU, 8046 Zurich, Suisse

Renseignements: Christoph Grieder, e-mail: christoph.grieder@agroscope.admin.ch



Figure 1 | Plantes de pâturin des prés en semis en ligne, tel qu'il est pratiqué avec les variétés sexuées pour la première multiplication de semences à partir de plantes individuelles. (Photo: Franz Xaver Schubiger, Agroscope)

Introduction

Pâturin des prés: importance et sélection

Le pâturin des prés (*Poa pratensis* L.) fait partie des espèces les plus persistantes en utilisation intensive. Avec le ray-grass anglais (*Lolium perenne* L.), c'est l'herbe typique des pâturages et des prairies de fauche à haut rendement (Suter et al. 2013). Bien que le pâturin des prés se développe de manière très lente après la germination, il possède des stolons souterrains (rhizomes) qui lui permettent de bien s'étendre par la suite et de combler rapidement les lacunes qui surviennent dans le peuplement, suite à la disparition d'espèces moins persistantes.

Afin que la qualité et le rendement des peuplements mixtes ne chutent pas trop au fil des ans, suite à une pré-

sence accrue du pâturin des prés et le recul du ray-grass, les variétés de pâturin des prés doivent avoir une bonne qualité fourragère et un bon rendement en biomasse. La digestibilité et l'appétence du fourrage sont diminuées par l'apparition de maladies comme la rouille (*Puccinia striiformis* f. sp. *poae*, *P. poae-nemoralis* et *P. graminis* f. sp. *graminicola*) et les taches foliaires (*Drechslera poae* et autres). La résistance à ces maladies est donc un objectif crucial de la sélection. La surface foliaire étant la principale composante du rendement, un rendement élevé peut essentiellement être atteint en sélectionnant des types très feuillus. Les plantes qui ont un rendement élevé en biomasse sont également plus digestes, en raison du fort pourcentage de feuilles; en revanche leur potentiel de rendement en grains est plus réduit, dû au nombre inférieur de tiges porte-graines. La mission et l'art de la sélection consistent donc à combiner au mieux tous ces critères dans les nouvelles variétés.

Apomixie chez les végétaux

Pour se multiplier via des graines, les plantes fleuries ont généralement recours à la reproduction sexuée. Au cours de ce processus (fig. 2, à gauche), une cellule-mère de mégaspores portant deux représentants de chaque chromosome (diploïde, $2n$) donne naissance, par division de réduction (méiose), à quatre mégaspores qui ne comportent qu'un exemplaire de chaque chromosome (haploïde, n), dont trois dégénèrent (fig. 2B, à gauche). La mégaspore survivante subit ensuite trois séries de division mitotique sans véritable délimitation des nouvelles cellules, donnant naissance à un sac cellulaire de huit noyaux. Ces huit noyaux cellulaires se répartissent sur les cellules formant le gamétophyte femelle: trois antipodes, deux synergides et l'ovule (chacun n) ainsi que la cellule centrale ($2n$) (pour plus de détails voir Liu et al. 2010; fig. 2C, à gauche). Via la fécondation dite double, d'une part de l'ovule haploïde et d'autre part, de la cellule centrale diploïde, chacun par un pollen haploïde, on obtient un embryon diploïde ($n+n=2n$) ainsi qu'un endosperme triploïde ($2n+n=3n$; fig. 2D, à gauche).

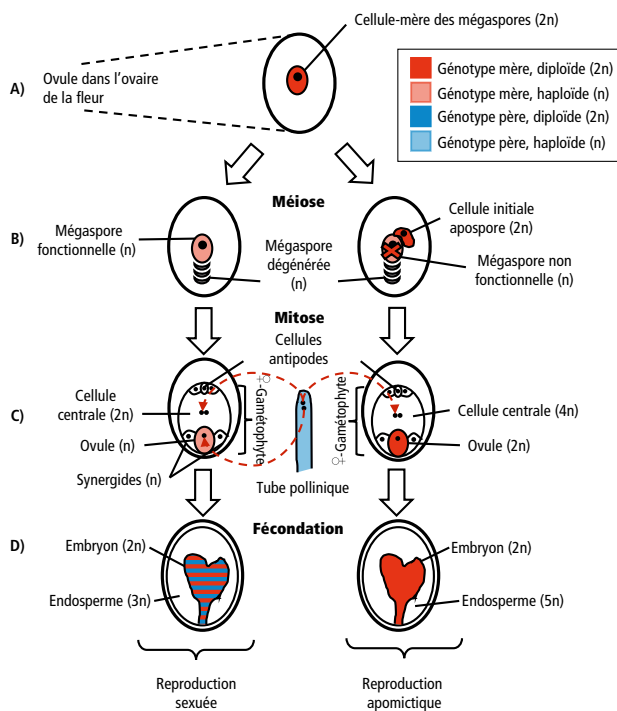


Figure 2 | Reproduction sexuée (à gauche): à partir de la cellule-mère diploïde ($2n$) des mégaspores qui se trouve dans l'ovule (A), une mégaspore fonctionnelle (B) se développe par méiose, qui donnera ensuite naissance à deux cellules antipodes (n), la cellule centrale ($2n$) et l'ovule (n) du gamétophyte femelle (C). La double fécondation de la cellule centrale et de l'ovule donne l'endosperme triploïde (tissu nutritif) ainsi que l'embryon diploïde, sexuellement recombinant (D). Reproduction apomictique (à droite): au lieu de la mégaspore (n), une autre cellule initiale dite apospore ($2n$) assume la fonction de production du gamétophyte (B). Par conséquent, la cellule centrale ($4n$) comme l'ovule ($2n$) ont le double de chromosomes par rapport au cas de la reproduction sexuée (C). Une fécondation simple de la cellule centrale a lieu et donne un endosperme pentaploïde ($5n$). L'ovule se transforme en embryon sans fécondation (= parthénogénèse). Ce dernier contient toutes les caractéristiques génétiques de sa mère (C, D). Schéma d'après Hand et Koltunov (2014).

L'embryon à partir duquel la nouvelle plante se développera plus tard a donc un patrimoine génétique issu pour moitié de la plante maternelle (ovule) et pour l'autre de celui de la plante paternelle (pollen). Par conséquent, il est sexuellement recombinant. Chez les graminées, l'endosperme triploïde devient un corps farineux. Il sert à l'approvisionnement de la semence en germination.

La reproduction asexuée (= apomixie) est un processus complexe qui est probablement issu de plusieurs modifications de la reproduction sexuée (Matzk *et al.* 2005). Dans le cas du pâturin des prés, aucune des mégaspores (n) issues de la méiose n'est fonctionnelle, contrairement à une autre cellule diploïde, la cellule initiale dite apospo-

Résumé ■ Selista et Sepia sont les deux premières variétés de pâturin des prés (*Poa pratensis*) issues du programme de sélection d'Agroscope à avoir été admises dans la Liste suisse des variétés recommandées de plantes fourragères en 2014. Au lieu de la reproduction asexuée typique du pâturin des prés (apomixie), Selista et Sepia ont un mode de reproduction essentiellement sexué, comme Lato, une variété bien connue. Ces deux nouvelles variétés ont été développées à partir de matériel du programme de sélection d'Agroscope et d'écotypes, systématiquement sélectionnés en vue d'une reproduction sexuée. Sepia a notamment convaincu par sa meilleure vitalité au départ, sa persistance et un meilleur rendement en matière sèche. Les deux nouvelles variétés se sont en outre avérées très résistantes à la rouille (*Puccinia* spp.) et aux maladies des taches foliaires (*Drechslera poae* et autres). La stratégie qui se concentre sur le matériel de sélection dont la reproduction est essentiellement sexuée, vaut donc la peine. Les deux variétés issues d'une première génération de souches sexuées ont réussi l'examen variétal d'emblée. Enfin, un progrès de sélection continu a été observé avec les nouvelles souches sexuées, ce qui n'est pas le cas avec les souches apomictiques.

rique, qui reprend la fonction de former le gamétophyte femelle (fig. 2B, à droite). Comme dans la reproduction sexuée, il s'ensuit trois séries de division cellulaire mitotique et la formation du gamétophyte femelle. Ce processus étant parti d'une cellule diploïde, toutes les structures au sein du gamétophyte possèdent un nombre de chromosomes deux fois plus élevé que dans le cas de la reproduction sexuée (fig. 2C, à droite). L'ovule déjà diploïde ($2n$) peut ensuite se développer sans fécondation pour aboutir à un embryon viable (= parthénogénèse). Dans le cas du pâturin des prés, une fécondation simple de la cellule centrale a lieu, donnant un endosperme pentaploïde ($4n + n = 5n$) (fig. 2D, à droite). Il existe différentes variantes pour arriver à l'apomixie chez les végétaux (Hand et Koltunov 2014). Toutes ont en commun le développement d'un embryon donnant une nouvelle plante 100% identique à la plante mère.

Chez les plantes d'espèces apomictiques, l'apomixie et la reproduction sexuée ne s'excluent souvent pas totalement l'une l'autre. On parle alors d'apomictiques facultatifs. C'est le cas du pâturin des prés, pour lequel on estime qu'au moins cinq gènes sont responsables de l'apomixie (Matzk *et al.* 2005). Suivant l'expression de chacun de ces cinq gènes, la reproduction d'une plante peut varier d'essentiellement sexuée à essentiellement asexuée.

Sélection de plantes sexuées et apomictiques

Avec la sélection entre populations, telle que pratiquée habituellement avec la plupart des espèces de plantes fourragères, la recombinaison sexuelle est utilisée pour améliorer les performances de génération en génération. Les meilleures plantes d'une population initiale sont sélectionnées et recombinaison entre elles (p. ex. par pollinisation ouverte). Dans la mesure où le critère est héréditaire, la fréquence des allèles positifs (variantes d'un gène) augmente dans la population des descendants, de même que leur performance.

Comme chaque descendant d'apomictique (obligatoire) est génétiquement identique à sa mère, les allèles positifs ne peuvent pas être accumulés. Chaque plante apomictique représente potentiellement une variété homogène, car son matériel génétique peut être reproduit à volonté via les semences. L'enjeu consiste donc à trouver des plantes apomictiques avec de bonnes qualités (rendement, qualité et résistance). Pour y parvenir, on étudie l'homogénéité des descendants d'une plante en pépinière. Si elle est suffisante, cette souche apomictique est alors multipliée et ses performances sont testées dans le cadre d'essais aux champs.

La sélection de variétés apomictiques de pâturin des prés n'est donc pas basée sur l'amélioration successive de populations, mais ressemble plutôt à la recherche d'une aiguille dans une botte de foin, soit, dans le cas présent, d'une souche performante. Cette méthode a donné peu de résultats jusqu'ici dans le programme de sélection d'Agroscope. Sur six souches de sélection apomictiques annoncées depuis 1993 à l'examen officiel en Suisse, quatre ont échoué à cause de leurs performances agronomiques insuffisantes. La candidate Prisma (testée en 1993–1995) a été rejetée par manque d'homogénéité, la dernière candidate Varenzo 5 (testée en 2010–2012) par manque de distinction. Le pâturin des prés étant une apomictique facultative, une sélection systématique a été entreprise à partir de ressources génétiques nouvelles et existantes afin de mettre en place un programme de sélection sexuée. En 2014, les premières variétés sexuées de pâturin des prés issues de ce programme ont été ad-

mises sur la Liste des variétés recommandées de plantes fourragères. Elles ont pour nom Selista et Sepia.

Matériel et méthodes

Origine des nouvelles variétés

Selista est issue de matériel provenant de collections d'écotypes suisses de 1998 ainsi que de matériel plus ancien, provenant également d'écotypes suisses du programme de sélection d'Agroscope à Changins. Tout ceci a été mis en place en 1999 dans trois essais différents avec des plantes individuelles en pépinière. Le matériel a été sélectionné dans l'objectif de la reproduction sexuée et les descendants ont à nouveau été cultivés en pépinière en 2001 sous forme de plantes individuelles. Puis, les chercheurs-euses ont laissé les onze meilleures plantes (clonées) se féconder mutuellement en 2003. Les semences récoltées en 2004 ont ensuite servi à la production des semences de prébase de la variété Selista et ont été semées en lignes (fig. 1). Sepia a la même origine que Selista, mais a été sélectionnée après une génération supplémentaire en pépinière (installation 2003). Dans cet essai, les 37 meilleures plantes ont été sélectionnées pour une pollinisation ouverte. Les semences récoltées en 2005 ont servi à la production des semences de prébase de la variété Sepia qui ont été semées en lignes (fig. 1).

Base de données et évaluation

Les résultats présentés sont basés sur des essais parcelnaires qui ont eu lieu de 2000 à 2013. Les parcelles ont été semées au printemps sur les trois sites d'Oensingen, de Zurich-Reckenholz et d'Ellighausen, puis étudiées pendant trois ans (année de semis, années d'exploitation principale 1 et 2). Le rendement en matière sèche (MS) a été mesuré à chacune des cinq coupes de chaque année d'exploitation principale, de même que – à partir de 2008 – la teneur en matière organique digestible (MOD), qui a été déterminée par spectroscopie proche infra-rouge sur des échantillons de récolte séchés. Le développement des peuplements (vigueur) a été évalué de manière visuelle à chaque coupe sur une échelle de 1 (très bon) à 9 (très mauvais). La moyenne de toutes les notes de vigueur de l'année de semis a servi de référence pour le développement initial, la moyenne de la première note de vigueur des deux premières années d'exploitation principale a servi de référence pour la croissance précoce, tandis que la dernière note de vigueur de la deuxième année d'exploitation principale a servi de référence pour la persistance. Toutes les maladies ont également été évaluées visuellement sur une échelle de 1 (aucune infestation) à 9 (forte infestation).

Les deux variétés ont été mises en place avec d'autres matériels à tester (constellations parfois différentes) durant les différentes années d'essai. Cela explique que la variété de référence Lato (témoin) a pu être testée dans 35 environnements (environnement = combinaison entre année et site), Selista dans 18 et Sepia dans 12. Entre deux années d'essai consécutives, une série contenant souches sélectionnées et variétés témoins a été mise en place. Les données ont été évaluées à l'aide de modèles linéaires dans l'environnement R (R Core Team 2013). Les moyennes de variétés ont quant à elles été établies via *Least Square Means*.

Résultats et discussion

Amélioration des propriétés agronomiques

Par rapport à la variété de référence Lato, qui figure déjà depuis 1996 sur la Liste suisse des variétés recommandées de plantes fourragères et obtient depuis régulièrement les meilleurs résultats de l'examen des variétés, Selista a fourni un rendement en MS qui n'est que légèrement inférieur, aussi bien la première que la deuxième année d'exploitation principale (tabl. 1). La

variété Sepia, qui compte une génération supplémentaire en pépinière par rapport à Selista et dont la sélection visait à améliorer la vigueur, présentait un rendement en MS nettement supérieur à celui de Lato, surtout la première année d'exploitation principale. La dernière et meilleure variété candidate apomictique (Varenzo 5, tabl. 1) a affiché les deux années un potentiel de rendement inférieur à ses concurrentes sexuées. En ce qui concerne l'évaluation de la vigueur, Sepia présentait de loin les meilleurs résultats, quel que soit le critère: le développement durant l'année de semis, la croissance précoce ainsi que la persistance. Que Sepia ait de loin obtenu les meilleurs résultats à l'examen variétal officiel de 2010–2012 (Suter et al. 2013) le souligne. Les performances de Selista étaient un peu en deçà de celles de Sepia sur ces trois critères, mais nettement meilleures que celles de Lato pour la croissance précoce et la persistance.

Avec des valeurs comprises entre 646 et 663 g/kg de MS, la teneur en matière organique digestible variait relativement peu, Selista ayant obtenu le meilleur résultat. La faible variation pour ce critère vient probablement du fait que toutes les variétés présentées ici ont déjà été

Tableau 1 | Epiaison et indice de maturité précoce, ainsi que différents critères agronomiques, de qualité et de résistance (pour les évaluations: note la plus basse = expression plus avantageuse du critère).

| | Variété | | | |
|---|----------|---------|-------|-------------------------------|
| | Lato (T) | Selista | Sepia | Meilleure variété apomictique |
| Maturité précoce | | | | |
| Epiaison ¹ | 33,2 | 29,4 | 32,6 | 30,4 |
| Indice de maturité précoce BSA ² | 7 | 5 | 6 | 5 |
| Critères agronomiques et de qualité | | | | |
| Rendement en MS A1 (dt ha ⁻¹) | 119,7 | 117,1 | 129 | 116,5 |
| Rendement en MS A2 (dt ha ⁻¹) | 111,6 | 107,6 | 111,3 | 103,7 |
| MOD A1 (g kg de MS ⁻¹) | 659 | 663 | 651 | 646 |
| Développement année de semis | 3,7 | 3,7 | 3,3 | 4,9 |
| Croissance précoce | 4,1 | 3,4 | 2,5 | 3 |
| Persistance | 2,8 | 2 | 1,6 | 2,8 |
| Sensibilité aux maladies | | | | |
| Moisissure des neiges | 3,3 | 3,7 | 3,3 | 4 |
| Rouille | 4,4 | 2,3 | 2,5 | 2,6 |
| Maladies foliaires | 2,6 | 2,5 | 2,2 | 2,1 |

A1, A2 = année d'exploitation principale 1, 2
T = témoin
MS = matière sèche

MOD = matière organique digestible

¹ Jours après le 1^{er} avril, propres essais

² Selon la description des variétés UPOV, établie par l'Office fédéral des obtentions végétales (Bundessortenamt, BSA) Allemagne

sélectionnées en vue d'obtenir un type feuillu. En outre, Sepia et Selista n'ont pas encore été spécialement sélectionnées pour obtenir une digestibilité élevée de la matière organique.

Les quatre variétés étaient comparables en ce qui concerne la résistance à la moisissure des neiges, Sepia étant la moins sensible des quatre. Selista était la variété la moins sensible à la rouille avec une note de 2,3. Sepia et la variété apomictique (Varenzo 5) se sont avérées un peu plus sensibles, mais toujours nettement moins sensibles que Lato, la variété témoin déjà un peu plus ancienne. Toutes les variétés présentées ici présentaient le même niveau de résistance aux maladies de taches foliaires.

Sélection prometteuse de variétés sexuées

Si l'on considère les performances des différentes souches de sélection apomictiques en fonction de leur année de développement, on constate que la droite de régression de l'indice global de performance présente une pente proche de 0 (fig. 3). La sélection des apomictiques ayant, comme décrit plus haut, uniquement pour but d'identifier la meilleure souche, elle n'apporte aucun progrès de sélection en général. Les premières souches de sélection sexuées développées en 2004 et 2005 affichaient dès le départ un niveau de performance comparable à celui des souches apomictiques, voire supérieur (fig. 3). Selista et Sepia, qui font partie de cette première génération de souches de sélection sexuées, ont donc d'emblée réussi les tests officiels des variétés. Contrairement aux souches apomictiques, on constate une amélioration graduelle avec les souches sexuées conduisant à un progrès de sélection. La droite de régression présente ici une pente de $-0,076 \text{ y}^{-1}$. Les performances selon l'indice global s'améliorent donc en moyenne de 0,076 points chaque année. Cela vient du fait que le pourcentage d'allèles positifs dans la population de sélection augmente à chaque cycle de sélection, ce qui explique que le critère soit davantage présent dans la génération suivante (p. ex. accumulation des allèles de résistance contre la rouille jaune). Ce progrès continu de la sélection permet donc d'espérer une constante amélioration des variétés à l'avenir.

Contrairement aux variétés apomictiques, où toutes les plantes sont identiques, les variétés à reproduction sexuée représentent une population qui comprend plusieurs plantes génétiquement différentes. Il faut donc s'attendre à ce que l'expression des différents critères soit moins homogène avec une variété sexuée. Cependant, pour qu'une nouvelle variété puisse être autorisée, elle doit obligatoirement passer le test des caractères

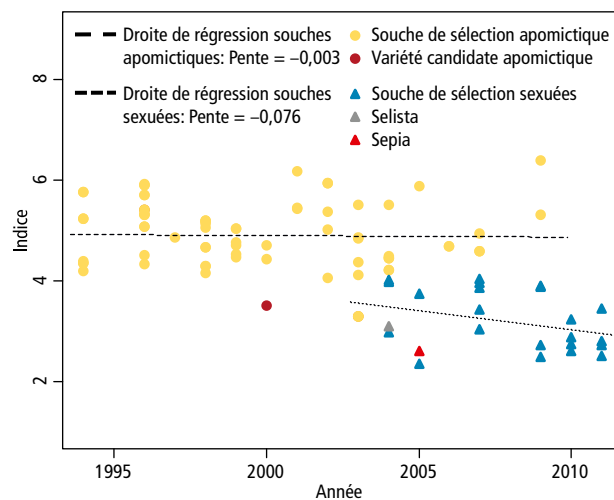


Figure 3 | Performances agronomiques de différentes souches de sélection selon l'indice global, qui a été calculé comme pour l'examen variétal officiel suisse (Suter *et al.* 2013) en ne tenant pas compte de la matière organique digestible (MOD) (note la plus basse = meilleure performance).

distinctifs (*Distinctness*), de l'uniformité (*Uniformity*) et de la stabilité (*Stability*). Contrairement à ce que l'on aurait pu craindre, les deux variétés se sont cependant avérées suffisamment homogènes pour tous les critères importants des tests DUS. Ceci s'explique entre autres par le fait que les centres d'évaluation ont des exigences moins strictes en ce qui concerne l'homogénéité pour les variétés sexuées que pour les variétés apomictiques.

Conclusions

Utilisation en mélanges et disponibilité des semences

Selista a été sélectionnée pour une maturité précoce et Sepia pour une maturité tardive à partir du même matériel initial. En dépit de cette sélection opposée, seuls trois jours séparent la date d'épiaison des deux variétés, selon des mesures effectuées par Agroscope (tabl. 1). La faible différence entre les deux périodes d'épiaison reflète la variation relativement limitée de ce critère avec le pâturin des prés par rapport au ray-grass anglais. Sepia et Selista peuvent donc être toutes les deux utilisées dans des mélanges longue durée.

La multiplication des semences des deux variétés est actuellement en cours de démarrage. Les premières quantités significatives de semences de prébase ont été ou sont actuellement produites. Après multiplication des semences de base, on peut donc espérer disposer, au plus tôt à partir de 2019, de quantités significatives de semences Z en Suisse. ■

Riassunto ■ **Maggiore prestazione grazie al genere sessuale: le nuove varietà di erba fienarola di Agroscope**
 Nel 2014 con Selista e Sepia per la prima volta sono state inserite nella Lista svizzera delle varietà di piante foraggere raccomandate due varietà di erba fienarola (*Poa pratensis*) provenienti dal programma di selezione Agroscope. Invece della formazione dei semi asessuale (apomissia), normalmente consueta per l'erba fienarola, Selista e Sepia presentano, come la nota varietà Lato, una riproduzione sostanzialmente sessuale. Le due nuove varietà risalgono al materiale del programma di selezione d'Agroscope e di ecotipi selezionato in seguito a una formazione di semi sessuale. Sepia ha convinto soprattutto con la miglior crescita nello sviluppo iniziale, la resistenza nonché la miglior resa in sostanza secca. Entrambe le varietà hanno mostrato, inoltre, un'ottima resistenza nei confronti di malattie come macchie sulle foglie (tra cui *Drechslera poae*) e ruggine (*Puccinia* spp.). È risultato che è opportuna la strategia che si concentra sul materiale di selezione con riproduzione essenzialmente sessuale. Le due varietà di una prima generazione di ceppi sessuali sono state subito oggetto dell'esame delle varietà. Inoltre per i nuovi ceppi sessuali si può osservare un continuo progresso di selezione non presente per i ceppi apomittici.

Summary ■ **Improved performance thanks to sex: Agroscope's new Kentucky bluegrass varieties**
 The year 2014 marked the first occasion when two varieties of Kentucky bluegrass (*Poa pratensis*) from Agroscope's breeding programme, Selista and Sepia, were included in the Swiss List of Recommended Varieties for Forage Plants. Instead of exhibiting the otherwise usual asexual seed formation ('apomixis'), Selista and Sepia primarily reproduce sexually, like the known variety Lato. Both new varieties can be traced back to breeding and ecotype material systematically selected for sexual seed formation. Sepia particularly impressed with the best vigour during initial development, persistence, and the best dry-matter yield. Both new varieties also exhibited very good resistance to rust (*Puccinia* spp.) and leaf-spot (e.g. *Drechslera poae*) diseases. The strategy of focusing on breeding material that primarily reproduces sexually was shown to be eminently worthwhile. Both varieties of a first generation of breeding material reproducing sexually passed the variety testing straightaway. Moreover, a continuous improvement not present in the apomictic breeding material can be observed in the newer sexually reproducing breeding material.

Key words: *Poa pratensis*, Kentucky bluegrass, breeding, sexual reproduction, apomixis.

Bibliographie

- Hand M. L. & Koltunow A. M. G., 2014. The genetic control of Apomixis: asexual seed formation. *Genetics* **197** (2), 441–450.
- Liu Y., Zhiqiang Y., Chen N., Xiaotang D., Huang J. & Guo G., 2010. Development and function of central cell in angiosperm female gametophyte. *Genesis* **48**, 466–478.
- Matzk F., Prodanovic S., Bäumlein H. & Schubert I., 2005. The inheritance of apomixis in *Poa pratensis* confirms a five locus model with differences in gene expressivity and penetrance. *The Plant Cell* **17**, 13–24.
- R Core Team, 2014. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for statistical computing, Vienna.
- Suter D., Hirschi H., Frick R. & Aebi P., 2013. Nouveaux essais sur le trèfle blanc et le pâturin des prés. *Recherche Agronomique Suisse* **4** (10), 416–423.
- Suter D., Hirschi H., Frick R. & Bertossa M., 2014. Liste des variétés recommandées de plantes fourragères 2015–2016. *Recherche Agronomique Suisse* **5** (10), 1–16.