

L'apomixie appliquée: la sélection des graminées fourragères tropicales

Yves Savidan,¹ John Miles² et Cacilda B. do Valle³

L'apomixie, ou le clonage naturel par la graine, semblait exclure la possibilité de perfectionner à l'aide de la phytogénétique les herbes à fourrage qui empruntent ce mode asexué de reproduction. Or, l'existence d'une diversité très importante entre espèces a encouragé les chercheurs qui ont découvert que quelques individus provenant d'espèces apomictiques conservaient la faculté de se reproduire par voie sexuée. Les chercheurs sont parvenus à croiser et à sélectionner des graminées fourragères tropicales qui promettent à l'apomixie appliquée à un bel avenir dans les élevages de bétail, de petites et de grandes tailles.

L'apomixie, que l'on peut définir simplement comme un clonage via les semences, existe dans plus de 500 espèces appartenant à quelque 40-45 familles de plantes supérieures. Apparemment, elle peut se produire dans la plupart des taxa, mais le phénomène n'est relativement fréquent que dans trois familles: les *Compositae*, les *Rosaceae* et les *Panicoideae*. Cette dernière famille inclut la plupart des graminées tropicales sauvages, ainsi que certaines cultures telles que le sorgho et le mil africains. Si les cultures céréalières ne se reproduisent que de manière sexuelle, de nombreuses plantes sauvages de la famille des *Panicoideae* se reproduisent essentiellement par apomixie.

Les principales variétés cultivées de plantes fourragères qui poussent en Amérique latine et en Asie proviennent des collections d'herbe de Guinée (*Panicum maximum* Jacq.) constituées par l'Office de la recherche scientifique et technique outre mer (ORSTOM), qui a pris le nom d'Institut de recherche pour le développement (IRD), en Afrique de l'est dans les années 60 et des collections de *Brachiaria* spp. constituées par le CIAT dans les années 80.

Le projet IRD a démarré en 1965 en Côte d'Ivoire et il relevait de la gageure à de nombreux égards: comment les sélectionneurs pouvaient-ils améliorer une graminée fourragère dont on pensait qu'elle se reproduisait exclusivement par clonage? L'herbe de Guinée (*Panicum maximum* Jacq.) avait été décrite comme une plante apomictique obligatoire, ce qui signifie que sa descendance était exclusivement maternelle et qu'il n'y avait pas de croisement possible, et donc pas de sélection possible. Mais cette observation ne concordait pas avec l'existence d'une très grande diversité intraspécifique observée dans les spécimens d'herbiers et dans les régions de l'Afrique de l'est d'où provenait l'espèce. Les responsables du projet ont constaté que si la plupart des plantes étaient apomictiques, quelques unes avaient conservé la possibilité de se reproduire sexuellement. Il y avait donc, dans la nature, une capacité préservée de produire de nouveaux types, qui pouvaient ensuite être fixés par apomixie.

La présence de la reproduction sexuée et de l'apomixie au sein d'une même espèce a permis aux généticiens de faire des croisements en utilisant les plantes sexuées comme plantes femelles et les apomictiques comme pollinisatrices. Le résultat de ces croisements fut une surprise: la moitié des hybrides se reproduisaient sexuellement et la moitié d'entre eux étaient des apomictiques. Après de nombreux croisements, et de recroisements de tous les types possibles, la conclusion était simple et évidente: l'apomixie et la sexualité séparent comme un gène unique, l'apomixie étant la caractéristique dominante par rapport à la reproduction sexuée. Cette hérédité simple, qui est mise au défi aujourd'hui par les biologistes moléculaires (voir l'article « Exprimer l'apomixie chez les plantes cultivées », p 62), a été ultérieurement confirmée pour plusieurs autres espèces, et en particulier les espèces de *Brachiaria* étudiées à l'EMBRAPA et au CIAT (Savidan 2000).

La sélection a permis d'améliorer les cultivars de *Brachiaria*

La diversité naturelle de l'herbe de Guinée semblait suffisante pour identifier de nouveaux cultivars potentiels sans trop investir dans l'amélioration génétique, mais les espèces de *Brachiaria* apomictiques avaient à la fois des avantages spécifiques et des facteurs limitants qui justifiaient un investissement dans l'hybridation et la sélection. De nombreux clones de *Brachiaria* peuvent pousser dans des sols acides peu fertiles, mais ils sont très sensibles aux insectes (Cercopi-

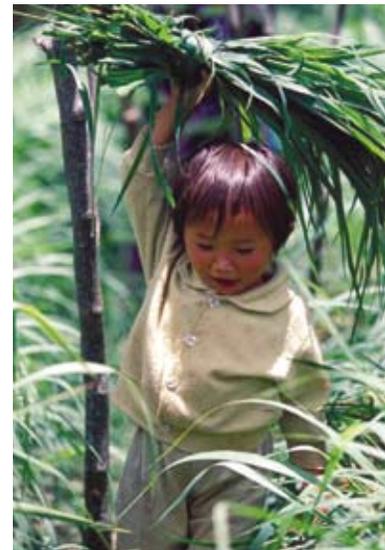


Figure 1. Gee Her, fillette du nord de la République démocratique populaire Lao, porte une brassée d'un clone de *Panicum maximum* (ORSTOM T58), connu aussi sous le nom de « Tanzania-1 » provenant de l'EMBRAPA (photo CIAT).

nés) et leur production de semences, essentielle pour une propagation rapide de nouveaux cultivars, est souvent faible. L'EMBRAPA comme le CIAT ont réussi à reproduire et à sélectionner des hybrides qui sont testés en Amérique latine et en Asie du sud-est. Une information plus détaillée peut être trouvée dans Miles et al. (2004). L'apomixie est désormais utilisée pour divers élevages de bétail, depuis les systèmes extensifs que l'on trouve dans les cerrados (savanes) du Brésil jusqu'aux petits systèmes intégrés de culture et d'élevage que l'on trouve au nord de la République démocratique populaire Lao (RDP Lao) ou au Viet Nam.

Un projet mené dans la RDP Lao, auquel participe le CIAT en collaboration avec l'Institut national lao de recherche sur l'agriculture et la foresterie (NAFRI), peut servir à illustrer la valeur des partenariats avec les Centres du CGIAR pour les instituts français spécialisés dans la recherche en amont et les organismes de recherche agricole dont les activités sont centrées sur la recherche appliquée dans les régions. Les cultivars de *Brachiaria* qui sont aujourd'hui aux mains des petits paysans de l'Asie du sud-est sont les produits de collections antérieures constituées en Afrique de l'est, d'études génétiques effectuées d'abord par l'IRD et confirmées plus tard à l'EMBRAPA et au CIAT avec différents matériels, et des essais agronomiques effectués sur trois continents par divers organismes. Le projet exécuté sous l'égide du CIAT pour intensifier la production animale dans les systèmes d'exploitation à petite échelle a eu l'impact souhaité sur la pauvreté: les animaux qui étaient auparavant utilisés comme une assurance sont devenus une source de revenus (figure 1, page précédente).

L'apomixie dans d'autres espèces

Le succès des travaux effectués sur les graminées fourragères contraste avec la tentative infructueuse jusqu'à présent de transférer l'apomixie au maïs dans le cadre d'un projet lancé par l'IRD en collaboration avec le CIMMYT.

La figure 2 montre les deux principaux types d'apomixie qui étaient utilisés dans les différents projets. Dans les projets concernant les graminées fourragères, l'apomixie est de type dit aposporie. Avec une apomixie aposporique, l'embryon provient d'une cellule somatique de l'ovaire. Dans la tentative faite pour transférer l'apomixie des *Tripsacum dactyloides* au maïs, l'apomixie provient d'une cellule reproductrice qui n'arrive pas à suivre une voie sexuelle normale. Ce type d'apomixie est appelé diplosporie. La figure 2 montre que les deux voies donnent des semences très différentes. Dans le cas de l'aposporie (figure 2a), la cellule somatique se divise deux fois pour former un sac embryonnaire à quatre noyaux. Chacun de ces noyaux est maternel et non-réduit (il comporte $2n$ chromosomes). L'un, dans la cellule œuf ou oosphère, donnera naissance à un embryon sans fertilisation, donc un embryon purement maternel. Un autre, dans la cellule centrale, sera fertilisé par un noyau du pollen. Les cellules du tissu qui en résulte, l'albumen (tissu de réserve) de la semence, comporteront un noyau à $3n$ chromosomes, i.e. $2n$ provenant du noyau cellulaire central maternel non-réduit, plus n provenant du grain de pollen réduit. Dans le cas de la diplosporie (figure 2b), la cellule reproductrice se divise trois fois, et par conséquent la cellule centrale contient deux noyaux, non-réduits (avec $2n$ chromosomes). Lorsqu'il est formé, l'albumen de la semence contient des cellules comportant $5n$ chromosomes, i.e. $2n + 2n$ provenant des deux noyaux cellulaires centraux, plus n provenant du grain de pollen réduit. Le tissu qui en résulte est pentaploïde. La figure 2c montre que les plantes sexuées forment un albumen $3n$. Et l'expérience avec le maïs montre clairement que les cultures céréalières sexuées ne peuvent pas former des albumens normaux qui ne sont pas $3n$ ($2n$ maternel + n paternel). Le transfert de l'aposporie au maïs pourrait marcher. Le transfert de la diplosporie ne peut pas marcher. La fréquence de l'apomixie dans un nombre restreint de familles de plantes est liée à leur aptitude à accepter différents équilibres génomiques dans l'albumen de leurs semences — équilibres différents du ratio $2n+n$ ratio trouvé dans la plupart des plantes sexuées —, ou à respecter ce ratio. La sous-famille des

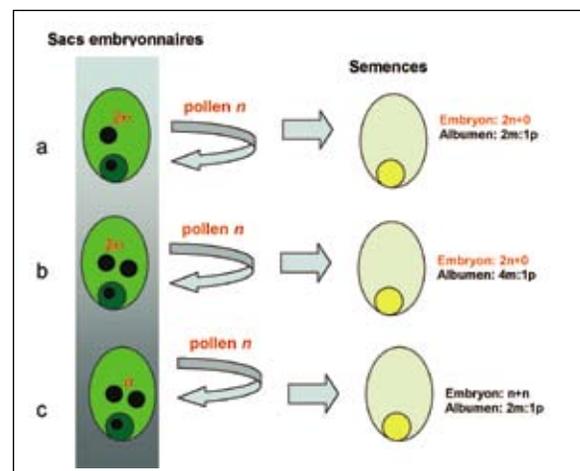


Figure 2. Origine et structures génomiques de l'embryon et de l'albumen de semences apomictiques et sexuelles. 2a. aposporie: le sac embryonnaire non-réduit produit une semence dans laquelle l'embryon est maternel ($2n$ chromosomes provenant de la plante mère + 0 du pollen) tandis que l'albumen est hybride ($2n$ de la plante mère + n provenant du pollen). 2b. diplosporie: l'embryon est $2n$ maternel + 0 paternel tandis que l'albumen est $4n$ maternel + n paternel. 2c: la semence 'sexuelle' a des embryons hybrides avec des n chromosomes provenant de la plante mère et n provenant du pollen, tandis que l'albumen est hybride, avec $2n$ ($n+n$) provenant de la plante mère et n provenant du pollen.

graminées *Panicoideae* a expérimenté une solution très réussie, qui imite ce que l'on trouve dans les plantes sexuées, et l'utilisation de ce type d'apomixie dans la sélection des plantes a un avenir évident, tout au moins pour la sélection des plantes fourragères et l'intensification de la production animale.

¹ Yves Savidan, généticien de l'IRD, est un spécialiste de la biologie reproductive des plantes. Il a travaillé en Côte d'Ivoire, à l'Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), au Brésil et au Centre international pour l'amélioration du maïs et du blé (CIMMYT), au Mexique. Ses activités sont centrées sur la biologie et la génétique de l'apomixie et son utilisation possible pour la sélection. Il est Président du Centre international d'agriculture tropicale (CIAT) et est chargé, par ailleurs, de renforcer les relations entre la recherche française pour le développement et les Centres du CGIAR à AGROPOLIS, à Montpellier.

² John Miles, sélectionneur de plantes au CIAT est responsable de la sélection des graminées fourragères tropicales du genre *Brachiaria*, après de longues années d'expérience dans la sélection des légumes fourragers du genre *Stylosanthes*.

³ Cacilda B. do Valle est sélectionneuse de plantes à l'EMBRAPA, au Centre national du bovin à viande (CNPGC) à Campo Grande, au Brésil. Elle est chargée du projet national de sélection des *Brachiaria*.

Références

Miles J.W., Valle C. B. do, Rao I. M., and Euclides V. P. B. 2004. *Brachiaria* grasses. In: L.E. Sollenberger, L. Moser, and B. Burson (eds), Warm-season (C4) grasses. Agronomy monograph, 45, p. 745-783. ASA-CSSA-SSSA, Madison.

Savidan Y. (2000). Apomixis: Genetics and breeding. *Plant Breed. Rev.* 18:13–86.

Apomixis at work: Breeding tropical forage grasses

Yves Savidan,¹ John Miles² and Cacilda B. do Valle³

Apomixis, or natural cloning through seeds, appeared to rule out improving forage grasses that reproduce this way through breeding. However, the existence of huge intraspecific diversity encouraged researchers, who found that a few individuals of apomict species retained the ability to reproduce sexually. Researchers have successfully bred and selected hybrids that promise to put apomixis to work in cattle-raising systems large and small.

Apomixis, simply defined as cloning through seeds, is found in over 500 species that belong to 40–45 families of higher plants. Although it seems that apomixis can occur in most taxa, it is quite frequent in only three families: *Compositae*, *Rosaceae* and *Panicoideae*. The last of these includes most of the tropical wild grasses and a few crops such as sorghum and pearl millet. While the grain crops reproduce only sexually, many wild *Panicoideae* reproduce mostly by apomixis.

The major cultivars of tropical forages grown in Latin America and Asia belong to two taxa that were extensively collected in the wild. Collections of guinea grass (*Panicum maximum* Jacq.) were made by the Office de la recherche scientifique et technique outre-mer (ORSTOM, now the Institut de recherche pour le développement [IRD]) in East Africa in the 1960s, and that of *Brachiaria* spp. were made by Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT by its Spanish acronym) in the 1980s.

The IRD project begun in 1965 in Côte d'Ivoire started very much as a challenge: How could breeders improve a forage grass that was known to reproduce clonally? Guinea grass had been described as an obligate apomict, meaning its progeny was exclusively maternal, which meant that no crossing, and hence no breeding was possible. This observation did not fit, however, with the existence of huge intraspecific diversity observed in herbarium specimens and in the wild in East Africa, where the species originated. The project found that, although most plants were apomict, a few had kept the ability to reproduce sexually. There was, therefore, a capacity maintained in the wild to generate new types that were then fixed by apomixis.

The presence of sexual reproduction and apomixis within the same species allowed geneticists to make crosses using the sexual plants as females and the apomicts as pollinators. The result of these crosses was a surprise: Half the hybrids reproduced sexually, and half of them were apomicts. After many crosses, test crosses and backcrosses of all possible types, the conclusion was simple and straightforward: Apomixis and sexual reproduction segregate like a single gene, with the apomixis trait being dominant over sexual reproduction. This simple inheritance, which is challenged today by molecular biologists (see Perotti and Leblanc, *Capturing apomixis for crops* on page 59 of this volume), was later confirmed in several other species, including the *Brachiaria* species studied at Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) and CIAT (Savidan 2000).

Breeding improved *Brachiaria* cultivars

While wild diversity in guinea grass seemed sufficient to identify new potential cultivars without investing too much in breeding efforts, the apomictic *Brachiaria* species had both specific advantages and serious limiting factors that justified a breeding investment. Many *Brachiaria* clones can grow in acid soils with low fertility, but they are very susceptible to insects (spittlebugs), and their seed production, essential for rapidly propagating new cultivars, is often low. Both EMBRAPA and CIAT have successfully bred and selected hybrids, which are being tested in Latin America and Southeast Asia. Further information on this subject can be found in Miles et al. (2004). Apomixis is now at work for an array of cattle raisers, from the extensive systems found in the Brazilian *cerrados* to the small crop-livestock systems found in northern Laos or Vietnam.

A project in Laos, involving CIAT in collaboration with the Lao National Agriculture and Forestry Research Institute, serves to illustrate the value of partnerships with the CGIAR Centers for French institutes focusing on upstream research, as well as for national agricultural research organizations focusing on applied research. The *Brachiaria* cultivars that are today in the hands of small farmers in Southeast Asia are the products of early collections made in East Africa, genetics

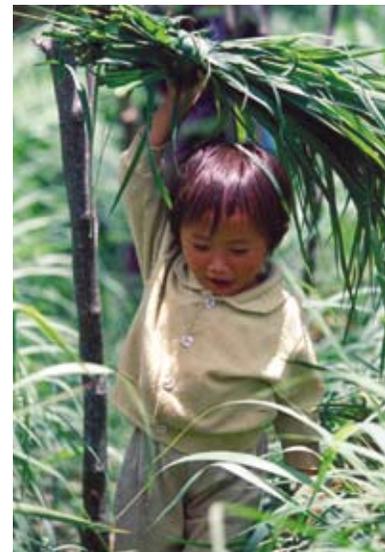


Figure 1. Gee Her, a little girl in northern Laos, carries fodder from a clone of *Panicum maximum* (ORSTOM T58), also known as cultivar *Tanzania-1* from EMBRAPA (photo CIAT).

studies first made by IRD and later confirmed at EMBRAPA and CIAT with different materials, and agronomic trials made on three continents by many organizations. A CIAT-led project to intensify animal production in small-scale farming systems has had a much-needed impact on poverty, as animals previously kept only as insurance have become a source of revenue (Figure 1 on page 61).

Apomixis in other species

The success of this work with forage grasses contrasts with the so-far unsuccessful attempt to transfer apomixis into maize in a project started by the Institut de recherche pour le développement (IRD) in collaboration with the International Maize and Wheat Improvement Center (CIMMYT by its Spanish acronym).

Figure 2 shows the two main types of apomixis that were used in the different projects. In the forage grass projects, apomixis is of the so-called apospory type. In aposporous apomixis, the embryo originates from a somatic cell in the ovary. In the attempt to transfer apomixis from *Tripsacum dactyloides* into maize, apomixis originates from a reproductive cell that fails to follow a normal sexual pathway. This type of apomixis is called diplospory. Figure 2 shows that the two pathways result in very different seeds.

In the case of aposporous apomixis (Figure 2a), the somatic cell divides twice to form a 4-nucleate embryo sac. Each of these nuclei is maternal and unreduced (containing $2n$ chromosomes). One, in the egg cell, will give rise to the embryo without fertilization — hence to a purely maternal embryo. Another one, in the central cell, will be fertilized by sperm from the pollen. The cells from the resulting tissue, the endosperm (reserve) tissue of the seed, will have $3n$ chromosomes — i.e., $2n$ from the maternal unreduced central cell nucleus, plus n from the reduced pollen grain.

In the case of diplosporous apomixis (Figure 2b), the reproductive cell divides three times, and therefore the central cell contains two nuclei, each unreduced (with $2n$ chromosomes). When formed, the endosperm tissue of the seed contains cells with $5n$ chromosomes — i.e., $2n + 2n$ from the two central cell nuclei, plus n from the reduced pollen grain. The resulting tissue is $5n$.

Figure 2c shows that sexual plants form $3n$ endosperm. The experience with maize clearly shows that sexual grain crops cannot form normal endosperms that are not $3n$ ($2n$ maternal + n paternal). Therefore, transferring aposporous apomixis to maize may work, but transferring diplosporous apomixis cannot. The frequency of apomixis in a limited number of plant families relates to their ability to either accept different genomic balances in their seed endosperm — different from the $2n + n$ ratio found in most sexual plants — or to respect this ratio. The *Panicoideae* grass family has a very successful solution that mimics what is found in sexual plants, and the application of this type of apomixis in plant breeding has an obvious future, at least for forage breeding and the intensification of animal production.

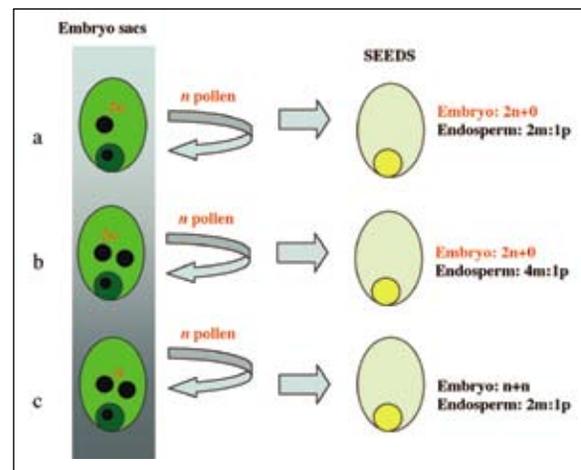


Figure 2. Origin and genomic structures of the embryo and endosperm in apomictic and sexual seeds. In 2a: apospory, the unreduced embryo sac produces a seed in which the embryo is maternal ($2n$ chromosomes from the mother plant + 0 from the pollen) while the endosperm is hybrid ($2n$ from the mother plant + n from the pollen). In 2b: diplospory, the embryo is $2n$ maternal + 0 paternal while the endosperm is $4n$ maternal + n paternal. In 2c, “sexual” seeds have hybrid embryos with n chromosomes from the mother plant and n from the pollen, while the endosperm is hybrid, with $2n$ ($n + n$) from the mother plant and n from the pollen.

¹Yves Savidan, a geneticist from the Institut de recherche pour le développement (IRD) and a specialist in plant reproductive biology, currently based at Agropolis in Montpellier, France, is responsible for strengthening ties between French research for development and the Centers of the CGIAR. He is Board Chair of the International Center for Tropical Agriculture (CIAT). He has worked in Côte d’Ivoire, at the Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) in Brazil, and at the International Maize and Wheat Improvement Center (CIMMYT) in Mexico. His work focused on the biology and genetics of apomixis and its potential use in breeding.

²John Miles is a plant breeder at CIAT responsible for breeding tropical forage grasses of the genus *Brachiaria*, after acquiring many years of experience in breeding forage legumes of the genus *Stylosanthes*.

³*Cacilda B. do Valle is a plant breeder in EMBRAPA's National Center for Research on Beef Cattle (CNPGC) in Campo Grande, Brazil. She is in charge of the national Brachiaria breeding project.*

Reference

Miles JW, do Valle CB, Rao IM, Euclides VPB. 2004. Brachiaria grasses. In: Sollenberger LE, Moser L, Burson B (eds.). Warm-season (C4) grasses. Agronomy monograph 45. ASA-CSSA-SSSA, Madison, USA. pp 746-783.

Savidan Y. 2000. Apomixis: Genetics and breeding. Plant Breed. Rev. 18:13-86.



LA FRANCE ET LE CGIAR:

DES RESULTATS SCIENTIFIQUES POUR LA RECHERCHE AGRICOLE INTERNATIONALE

La présente publication a été coordonnée par Daniel Rocchi et placée sous l'autorité scientifique d'un Comité de rédaction composé paritairement d'experts du CGIAR et français: Denis Despréaux,¹ Emile Frison,² Bernard Hubert³ et Manuel Lantin⁴.

Les articles signés sont de la responsabilité de leurs auteurs et les textes non signés sont de la responsabilité du Comité de rédaction.

Daniel Rocchi est officier de liaison au Secrétariat du CGIAR à Washington depuis 2005, mis à disposition par le ministère de l'Agriculture et de la Pêche. Titulaire d'un doctorat en sociologie rurale, il a occupé différentes responsabilités en matière d'aménagement et de développement de l'espace rural, notamment aux Antilles, avant de rejoindre, en 1999, la Direction générale de l'enseignement et de la recherche de ce ministère où il s'est spécialisé dans l'administration de la recherche.

¹ Denis Despréaux est sous directeur de la performance de l'enseignement supérieur, de la recherche et de l'innovation au ministère de l'Éducation nationale, de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche. Il est aussi secrétaire exécutif de la Commission de la recherche agricole internationale (CRAI). Titulaire d'un doctorat en phytopathologie, il a consacré sa carrière scientifique aux cultures pérennes tropicales.

² Emile Frison est directeur général de l'Institut international des ressources phytogénétiques (IPGRI) depuis août 2003. Titulaire d'un doctorat en pathologie des plantes, il a consacré une part importante de sa carrière à la recherche agricole internationale pour le développement.

³ Bernard Hubert, titulaire d'un doctorat en écologie, a étudié l'écologie des rongeurs en Afrique de l'ouest avant de rejoindre l'Institut national de la recherche agronomique (INRA) où il a dirigé le département de recherche «Systèmes agraires et développement ». Aujourd'hui, il est directeur scientifique de la division Société, Économie, Décision et responsable de la problématique de développement durable à l'INRA, où il est directeur de recherche. Il est aussi directeur d'études à l'École des hautes études en sciences sociales (EHESS) de Paris.

⁴ Manuel Lantin, conseiller scientifique au Secrétariat du CGIAR, est titulaire d'un doctorat de phytogénétique. Avant de rejoindre le Secrétariat du CGIAR, il a été responsable de la recherche et de la formation au ministère de l'Agriculture des Philippines, président du département d'agronomie et directeur adjoint de l'Institut d'amélioration des plantes de l'Université des Philippines à Los Bagnos.