

Les promesses de l'apomixie

Selon un article récemment publié par la FAO "À l'aube du 21ème siècle, le terme apomixie*, au son étrange, est sur le point de devenir le nouveau mot de passe de l'agriculture internationale". Depuis 30 ans, à la pointe des recherches mondiales sur l'apomixie, l'Orstom mène depuis 1989 au Mexique un programme devant conduire à l'obtention de la première céréale apomictique : un maïs dont les agriculteurs pourront maintenir les caractéristiques, de productivité et d'adaptabilité, génération après génération, sans avoir chaque année à racher la semence. Le transfert de cette caractéristique biologique unique - l'apomixie, ou reproduction asexuée par voie de graines - depuis la plante sauvage qui la possède, jusque dans une variété de maïs, posait un certain nombre de problèmes que la génétique classique ne savait résoudre. Les outils moléculaires commencent à apporter des réponses et l'espoir d'un succès proche.

Préparation de l'épi du maïs pour le croisement

Collection Orstom de Panicum (l'herbe de Guinée) en cours d'évaluation agronomique au Brésil



Photo : L. Linares - E. Bouchard



Photo : C. Mery

Tripsacum



Photo : Y. M. S. S. S.

Il y a juste trente ans, les chercheurs de l'Orstom entament un programme d'amélioration génétique de l'herbe de Guinée (*Panicum maximum* Jacq.), cela tenait du défi : comment améliorer, par voie de croisements, une plante qui ne se croisait apparemment jamais dans la nature. L'herbe de Guinée est aposporique*. Ce type d'apomixie, comme le type diplosporique* rencontré chez les *Tripsacum*, cousins du maïs, fait que la plante produit des descendance par graines qui sont des copies parfaites de leur plante-mère. Un clonage, par voie de graines.

LA MAUVAISE HERBE QUI OUVRE LA VOIE...

Considérée comme l'une des adventices* les plus difficiles à éradiquer, l'herbe de Guinée s'avère rapidement un choix heureux, pour ne pas dire exceptionnel. L'extraordinaire diversité de ses populations naturelles ne peut s'expliquer sans présence de sexualité et les collectes organisées en Afrique de l'Est permettent de découvrir les premières formes sexuées connues et l'étroite relation avec le niveau de ploïdie* : les plantes sexuées sont toutes diploïdes, les apomictiques sont toutes polyploïdes*, surtout tétraploïdes*. Les croisements entre formes sexuées



et apomictiques conduisent à un résultat surprenant, qui aura une répercussion considérable : l'apomixie paraît contrôlée par un gène unique. La simplicité de ce contrôle génétique sera ensuite confirmée sur d'autres espèces, comme une petite renouée des régions tempérées et deux autres graminées tropicales. Sur la base de ce résultat, divers programmes sont lancés, comme le programme d'amélioration des *Brachiaria*. La plus importante plante fourragère tropicale, présente dans la majorité des pays d'Amérique latine et d'Afrique, représentait jusqu'alors un cas unique de monoculture : plus de 30 millions d'hectares sont cultivés seulement au Brésil, avec une seule variété apomictique, appartenant à l'espèce *B.decumbens*, pour laquelle on ne connaissait aucune forme sexuée et donc aucune possibilité d'amélioration. Le nouveau programme *Brachiaria* de l'Embrapa (équivalent brésilien de l'Inra), que nous avons lancé en 1986, est aujourd'hui l'ossature d'un projet STD3 auquel l'Orstom continue de collaborer. Le même centre de l'Embrapa continue des recherches sur l'herbe de Guinée, et deux variétés ont été lancées : Tanzania-1 en 1990 et Mombaça en 1993.

Les résultats du programme sur l'herbe de Guinée conduisent également une équipe américaine à lan-

cer, en 1985, un nouveau programme visant au transfert de l'apomixie chez le blé. Deux équipes, en Australie et en Nouvelle-Zélande, se basent sur l'existence du gène unique pour essayer des expériences de mutagenèse, dont une sur la plante-modèle de la génétique moderne : l'*Arabidopsis*. Surtout, l'Orstom relève le défi du maïs apomictique, signant en 1986 une convention avec le Cimmyt (Centre International d'Amélioration du Maïs et du Blé au Mexique) qui permettra le démarrage au Mexique, trois ans plus tard, d'un projet de transfert à partir des apparentés sauvages du genre *Tripsacum*.

LES AVANTAGES DE L'APOMIXIE POUR UNE AGRICULTURE DURABLE

La grande majorité des petits agriculteurs qui vivent de la culture du maïs, en Amérique latine, du sorgho et du mil en Afrique, utilisent année après année, la semence issue de leur production. Ces variétés traditionnelles représentent un extrême de durabilité, mais aussi, le plus souvent, un minimum de productivité.



Détail
de l'inflorescence :
on est loin du maïs,
et pourtant...

La apomixis, nueva promesa para la agricultura

Algunas especies de plantas pueden reproducirse por apomixis, reproducción asexual por vía de granos. Los investigadores esperan reforzar esta calidad en la producción de plantas. La mayoría de los pequeños agricultores en el mundo utilizan semillas resistentes aunque de poca productividad que seleccionan de la cosecha de cada año -pero en muchas especies la siguiente generación no reproduce la misma calidad. La semilla híbrida, apesar de que asegura una alta producción bajo condiciones adecuadas, necesita fertilizantes y pesticidas para expresar su potencial y además produce semillas estériles; la mayoría de los agricultores no tiene los medios económicos para adquirir fertilizantes ni semillas híbridas nuevas cada año. Sin embargo, si un cierto porcentaje de apomixis se introdujera en un terreno resistente, se mejoraría la producción sin disminuir la resistencia. En estado natural, las especies apomicticas son polimórficas, se reproducen sexualmente y tienen la ventaja de reproducir características híbridas. Orstom ha trabajado en la apomixis durante treinta años; sus primeros estudios sobre la hierba de Guinea revelaron que la apomixis es controlada por un solo gene. Desde 1986, en colaboración con

Embrapa en Brasil, se estudia la *Brachiaria*, la planta forrajera tropical más importante (un programa que es ahora el eje de un proyecto europeo) y la hierba de Guinea, de la cual se han lanzado dos variedades nuevas. En México, Orstom y el Cimmyt colaboran para producir maiz apomictico transfiriendo el gene apomictico de una *Tripsacum silvestre*; así, el maiz híbrido podrá producirse mucho más fácilmente y a menor precio que con los métodos existentes. En otros países, se están investigando el trigo y la *Arabidopsis*, planta modelo de la genética moderna. Aquí, la genética molecular es vital: desde mapas genéticos de especies de cultivo y marcadores que indican la presencia o ausencia del gene en las primeras etapas, hasta transposones para aislar el gene apomictico en la *Tripsacum*. Orstom ha comenzado una red internacional de investigación sobre la apomixis; este año, con la ayuda de la Fundación Rockefeller, un boletín ha circulado entre 300 investigadores, y del 25 al 27 de septiembre, Orstom y la Universidad de Texas A&M sostendrán la primera conferencia internacional sobre el tema, para fomentar la cooperación entre los expertos en apomixis y en genética molecular.



Photo: Fern Sandgren

Après la préparation de l'épi du maïs pour le croisement, le résultat : quelques grains sur l'épi.

La recherche propose généralement un autre extrême, la variété hybride*, qui requiert l'achat de fertilisants et pesticides pour exprimer son potentiel, et dont les caractéristiques ne peuvent être maintenues d'année en année, si bien que l'agriculteur qui réutilise sa semence voit sa production diminuer.

La situation socio-économique de ces petits agriculteurs ne leur permet généralement pas d'acheter des engrais, les semences améliorées sont souvent inexistantes, ou importées et chères : C. Rosell, responsable du secteur semences à la FAO estime que "le kilo de semence hybride peut aller jusqu'à 20 FF quand 20 à 30 kilos sont nécessaires pour planter un hectare, alors que le revenu annuel d'un agriculteur africain peut n'être que de 500 FF/an". Pas question d'acheter des semences améliorées dans ces conditions.

Pour en savoir plus

Helen Gillman. (1994) The small farmers' friend. CERES (FAO) 149 (v.26, No.5) : 17-22 .

D. Combes & J. Pernès. (1970) Variations dans les nombres chromosomiques du *Panicum maximum* Jacq. en relation avec le mode de reproduction. C.R.Acad. Sci.Paris, 270:782-785 .

Y. Savidan. (1982) Nature et hérédité de l'apomixie chez *Panicum maximum* Jacq. Travaux et Documents Orstom 153, 159p.

G. Nogler. (1984) Genetics of apospory in apomictic *Ranunculus auricomus*. V. conclusion.

Bot.Helv.94 : 411-422.

R.T. Sherwood, C.C. Berg & B.A. Young. (1994) Inheritance of apospory in buffelgrass. Crop Sci. 34:1490-1494.

Cacilda B. do Valle & J.W. Miles. (1994) Melhoramento de gramíneas do genero *Brachiaria*. Simp.Manejo Pastagens, Fund.Estud.Agrar.Luiz de Queiroz, Piracicaba, Brésil, p.1-23

O. Leblanc, M. Peel, J.G. Carman & Y. Savidan.

Megasporogenesis and megagametogenesis in several *Tripsacum* species (Poaceae). Amer.J.Bot,82: 57-63.



Et l'agriculteur continue, en conséquence, de sélectionner ses plus beaux épis pour fournir la semence qu'il utilisera au prochain cycle de culture. Mais dans le cas de plantes comme le maïs ou le mil, la reproduction sexuée produit des descendants qui ne ressemblent pas à leurs parents: un bel épi donnera des plantes de production hétérogène, donc une moyenne faible.

L'introduction d'un certain niveau (ou pourcentage) d'apomixie dans la variété traditionnelle permettrait à l'agriculteur d'améliorer sa production et donc son revenu, sans mettre en péril la rusticité et donc la durabilité de sa variété. Un certain pourcentage d'apomixie ferait, en effet, qu'une partie des beaux épis sélectionnés ne produisent que de beaux épis à la récolte - donc une augmentation de production - alors que le pourcentage non-apomictique continuerait de donner de la diversité comme dans le système traditionnel, maintenant à la variété sa capacité d'évolution (à l'agriculteur la capacité de sélectionner encore de meilleures semences au prochain cycle) et donc de durabilité. Tout ceci au conditionnel : des



Photo : Gene Hélie - Cimmyt

études seront nécessaires pour établir comment l'apomixie devra être introduite dans la variété traditionnelle (par contamination à partir d'une variété apomictique voisine, par exemple) et quel pourcentage d'apomixie permettra d'arriver à la situation de stabilité désirée. Des études en milieu paysan s'attachent donc à suivre celles qui devraient conduire à l'introduction du caractère dans la plante cultivée.

Bien sûr, cette approche ne ressemble en rien à l'utilisation de l'apomixie dont rêvent ceux qui travaillent et s'enrichissent de l'agriculture moderne. Les semences hybrides seront beaucoup moins chères à produire, après introduction de l'apomixie, qu'aujourd'hui : toutes les opérations manuelles requises pour produire un maïs hybride seront supprimées, l'apomixie faisant que la semence se produit et se ramasse comme la récolte elle-même. Il appartiendra aux biotechnologistes de trouver l'interrupteur à accrocher au gène d'apomixie pour que l'agriculteur ne puisse ensuite reproduire lui-même sa variété. L'apomixie simplifierait aussi radicalement le schéma d'amélioration, puisqu'aujourd'hui des

lignées sont produites après une longue série d'auto-fécondations, puis croisées entre elles. L'hybride apomictique, obtenu à partir d'un unique croisement entre une plante sexuée et une plante apomictique (dont on utilise le pollen) serait immédiatement fixé. Cette simplification aurait pour principal résultat, dans les pays en développement, d'ouvrir la voie à des sélections locales, produisant des variétés améliorées, mieux adaptées que celles aujourd'hui sélectionnées dans un seul centre de recherches, pour toute une région, sinon un continent. Et des désavantages ? A l'apomixie est associée l'idée de clonage, donc celle de la monoculture et d'un risque pour la diversité. Mais l'apomixie, dans la nature, produit exactement le contraire d'une perte de diversité : non seulement les espèces apomictiques montrent un polymorphisme équivalent à celui des plantes sexuées, mais elles conservent aussi des formes hybrides, intermédiaires entre espèces par exemple, que la sexualité éliminerait. Encore une fois, des études restent nécessaires après obtention du maïs apomictique, pour savoir reproduire et maintenir au niveau agricole ce qui s'est fait dans la nature.

**Population sauvage
de *Tripsacum*,
Etat de Jalisco,
Mexique.**

Schéma n°1
La situation du transfert de l'apomixie dans le programme au Mexique. La taille des rectangles est proportionnelle à la quantité d'ADN de chacune des espèces. Le maïs a 20 chromosomes, le *Tripsacum* apomictique 72. Les nombres chromosomiques et structures génétiques apparaissent sous chaque hybride. F1 : hybride initial, RC = recroisement.

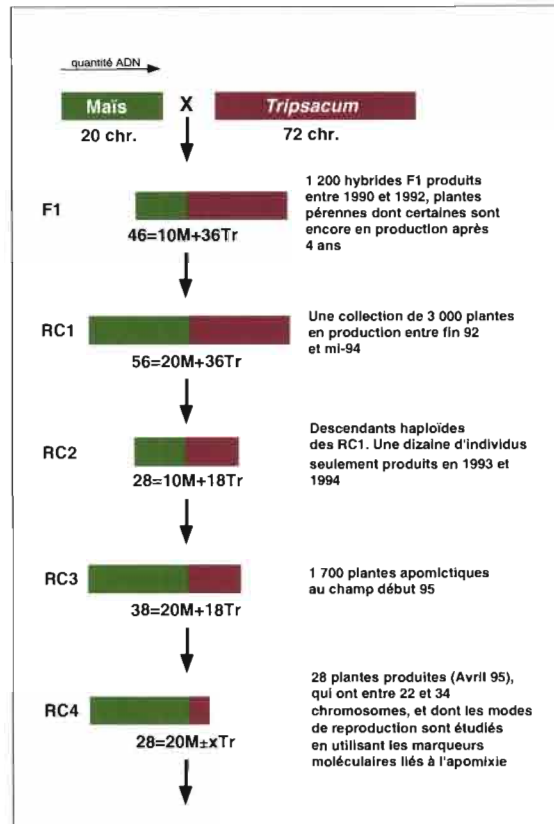
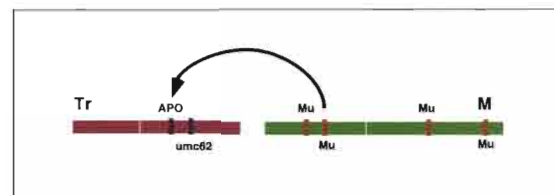


Schéma n°2
Marquage du gène d'apomixie APO par transposon : l'insertion de Mu sur le gène fait que l'hybride apomictique se reproduit sexuellement, cette insertion étant différenciée des autres par sa co-ségrégation avec les marqueurs liés à l'apomixie, comme *umc62*. M : chromosome de maïs, Tr : chromosome de *Tripsacum*, dans la même cellule d'un hybride RC3



Mais l'apomixie, indiscutablement, ouvre la porte à une nouvelle conception de variété durable, où "l'arrogance des savants-généralistes" se limiterait à l'introduction d'une toute petite modification au génome de la plante, les agriculteurs restant maîtres de leurs choix, comme ils l'ont toujours été, sans se voir imposer des pratiques nouvelles, coûteuses sinon inabornables.

TRIPSACUM ET MAÏS : LE COUPLE IDÉAL POUR UNE TENTATIVE DE TRANSFERT

Blé, sorgho, mil et maïs ont des apparentés apomictiques, mais c'est chez le maïs que l'expérience des hybrides entre plante cultivée et cousins sauvages est la plus grande : depuis 1931, on a produit de nombreux hybrides entre maïs et *Tripsacum*, surtout pour essayer d'élucider le mystère de l'origine du maïs. Mais nous bénéficierons de cette expérience. Les autres avantages viennent de la plante cultivée d'une part, du type d'apomixie trouvé chez *Tripsacum* d'autre part. Dans les conditions du Mexique, il est en effet possible de cultiver le maïs toute l'année. Nous ne respecterons aucun cycle et nos recroisements s'effectueront douze mois sur douze. L'apomixie des *Tripsacum* s'avère facile à identifier, et chez les plantes sauvages et chez les hybrides avec le maïs.

Le transfert s'initie de façon classique en amélioration des plantes : maïs et *Tripsacum* sont croisés, utilisant le pollen de la plante apomictique.

Une série de recroisements (RC) par le maïs est ensuite initiée, qui vise à éliminer peu à peu tous les chromosomes de l'espèce sauvage pour ne garder fina-

Glossaire

Adventice : espèce spontanée, apparentée à l'espèce cultivée et qui pousse avec elle dans le champ. Ex : téosinte, adventice du maïs.

Apomixie : reproduction asexuée par graines ; les graines de la plante apomictique produisent des plantes qui sont des copies parfaites de leur plante-mère (comme un clonage). Noter cependant que l'apomixie ne fonctionne jamais à 100 % (= elle n'est pas obligatoire), ce qui laisse une place pour l'évolution et la conservation de la diversité.

Apomixie/Clonage : on définit souvent l'apomixie comme un clonage

par voie de graines mais, contrairement au clonage, l'apomixie ne reproduit pas 100% des caractéristiques de la plante originale, ce qui permet de conserver des possibilités d'évolution.

Aposporie : apomixie dans laquelle la nouvelle plantule est issue d'une cellule non reproductrice (une cellule du tissu nourricier de l'ovule, ou nucelle).

Diplosporie : apomixie dans laquelle la nouvelle plantule est issue d'une cellule reproductrice qui "rate" sa division sexuée normale.

Ploïdie, diploïdie, polyplôïdie, tétraploïdie : les espèces animales,

comme l'homme, ont deux jeux de chromosomes identiques : on dit qu'elles sont diploïdes (2x), mais beaucoup de plantes sont polyploïdes, tétraploïdes quand elles ont quatre copies de chaque chromosome, ce qui est le cas de la plupart des espèces apomictiques.

RFLP : "Polymorphisme de Longueur des Fragments de Restriction" - Méthode moléculaire qui permet de révéler des différences entre individus, qui porte sur la séquence des acides nucléiques qui forment l'ADN. Le polymorphisme mis en évidence est indépendant

de l'environnement et de l'expression des gènes.

Transposon : petite unité de matériel génétique qui a la particularité de pouvoir se déplacer d'une zone d'un chromosome à une autre, provoquant le non fonctionnement du gène sur lequel elle s'insère (donc une mutation).

Variété hybride : les variétés modernes de maïs sont issues du croisement entre deux lignées de maïs ayant une très bonne "aptitude à la combinaison" (que l'on apprécie en faisant une série de croisements tout azimuts).

lement qu'un petit secteur, celui qui porte le déterminisme du caractère désiré, l'apomixie (cf. schéma n°1). Des milliers de descendants sont analysés, à chaque génération, pour leur contenu d'ADN, en utilisant la cytométrie en flux. Le contenu d'ADN est très étroitement corrélé au nombre de chromosomes, donc représente un bon indicateur du nombre de chromosomes étrangers encore présents dans la plante RC étudiée.

L'APPORT DES OUTILS MOLÉCULAIRES : DU MARQUAGE À L'ISOLATION DU GÈNE

La génétique appliquée à l'amélioration des plantes a fait des progrès considérables au cours des dernières années, dus à l'introduction de nouvelles techniques moléculaires. Les progrès sont particulièrement évidents chez quelques "plantes-modèles", comme le riz ou le maïs. Les cartes génétiques construites avec les marqueurs RFLP* sur les principales céréales montrent une grande homologie génétique entre ces espèces. La recherche de marqueurs liés, chez *Tripsacum*, à un caractère comme le maïs, peut donc utiliser la carte existante chez le maïs: quatre marqueurs sont déjà identifiés, liés à l'apomixie. Ils nous permettent, à un stade de développement très jeune de nos hybrides RC4 (cf. schéma n°1), de savoir si la plante contient encore le chromosome de *Tripsacum* porteur du caractère. L'identification de marqueurs spécifiques pour chacun des 18 chromosomes du *Tripsacum* nous permet de préciser, dans chaque forme d'addition RC4, ceux qui sont présents.

Combinant cette technique de marquage à l'hybridation *in situ*, on peut reconnaître, dans une forme à 21 chromosomes, le chromosome additionnel puis, dans la descendance de cette plante, voir si des formes recombinées apparaissent. Il devient possible, ce que les techniques cytologiques classiques ne permettaient pas, de qualifier et quantifier les possibilités d'échanges entre les chromosomes des deux génomes, sauvage et cultivé.

Une autre technique, propre au maïs, mais qu'on cherche à transférer à d'autres espèces, utilise les éléments transposables du groupe "Mu", pour marquer et isoler les gènes d'intérêt, au sein de l'espèce cultivée. Une centaine de gènes ont déjà été isolés de cette manière (Freeling, comm. pers.). La particularité de cette famille de transposons* est de s'insérer sur tout le génome, même loin du point d'origine. Nous fondant sur l'homologie entre maïs et *Tripsacum*, nous essayons à présent de faire sauter ces transposons des chromosomes du maïs sur les chromosomes de *Tripsacum*, en recherchant l'insertion sur le(s) gène(s) d'apomixie qui fera que nos hybrides apomictiques changeront de mode de reproduction (cf. schéma n°2). Cette "mutagenèse" par transposon doit permettre d'isoler le fragment d'ADN sur lequel le transposon s'est inséré, donc d'isoler le gène d'apomixie.

PREMIERE CONFÉRENCE INTERNATIONALE UNIVERSITÉ DU TEXAS-ORSTOM

Les progrès réalisés au cours des dernières années, notamment par l'Orstom, mais aussi par le groupe travaillant au transfert chez le mil aux Etats-Unis, ou le programme *Bracharia* au Brésil et au CIAT (Colombie), ont eu pour conséquence de voir croître l'intérêt international pour les recherches sur l'apomixie. Un réseau international s'est mis en place, à l'initiative de l'Orstom, qui édite une lettre scientifique distribuée en 1995 à 300 chercheurs, avec le soutien de la Fondation Rockefeller. La première conférence internationale sur l'apomixie a lieu, du 25 au 27 septembre au Texas, co-organisée par l'Université du Texas A&M et l'Orstom. Son objectif est de créer de nouvelles collaborations entre spécialistes de l'apomixie et des approches moléculaires, pour accélérer l'isolation des gènes d'apomixie chez diverses espèces et leur transfert aux principales espèces cultivées. Fort de son expérience, l'Orstom doit jouer un rôle central dans ces futures recherches ■

Yves Savidan

Département "Milieux et activité agricole" UR
"Diversité génétique et amélioration des plantes"



Photo: C. V. V. / Comm. F.

Culture du maïs
en Amérique centrale

.....

Apomixis: new promise for agriculture

Some plant species can reproduce by apomixis, producing daughter plants that are identical clones of the parent from unfertilized seeds. Researchers now hope to harness this quality for plant breeding.

Most of the world's small farmers use low-yield, hardy landraces, selecting the best ears from each crop as seed for the next year - but in many species, the next generation does not reproduce the same high quality. Hybrid seed from the plant breeders, though it does ensure high yields under the right conditions, requires heavy inputs to perform well and produces sterile seed; most farmers cannot afford to buy fertilizer, pesticides and fresh hybrid seed each year.

However, if a certain percentage of apomixis could be introduced into a hardy landrace, yield would be improved without compromising hardiness or sustainability. In the wild, apomictic species are just as polymorphic as sexually-reproducing species, and have the further advantage of reproducing hybrid strains.

Orstom has been working on apomixis for thirty years; its early work on Guinea grass revealed that apomixis is governed by a single gene. Since 1986, joint

research with Embrapa in Brazil has focused on the wholly apomictic forage crop *Bracharia* (work which is now the core of an European project) and on Guinea grass, of which two new varieties have been launched.

In Mexico, Orstom and CIMMYT are working to produce apomictic maize by transferring the apomixis gene from a wild *Tripsacum*. Hybrid maize could be produced far more quickly and cheaply with apomictic maize than by existing methods.

Researchers in other countries are focusing on wheat and on *Arabidopsis*, a model plant in modern genetics.

Molecular genetics plays a vital part in this work, from gene maps of crop species and markers that can ascertain the presence or absence of the gene at an early stage, to transposons for isolating the apomixis gene in *Tripsacum*. Orstom has initiated an international apomixis research network; this year, with help from the Rockefeller Foundation, a newsletter has been circulated to 300 researchers. On September 25-27, Orstom and the University of Texas A&M are holding the first international conference on the question, to further cooperation among apomixis experts and molecular geneticists.

Savidan Yves

Les promesses de l'apomixie

ORSTOM Actualités, 1995, (47), p. 2-7. ISSN 0758-833X