APOMIXIE : LA

PARMI LES MULTIPLES CARACTÈRES QUE L'AGRONOMIE CHERCHE À SÉLECTIONNER CHEZ LES VÉGÉTAUX CULTIVÉS, IL EN EST UN QUI PRÉSENTE UN AVANTAGE EXCEPTIONNEL : CELUI DE POUVOIR CRÉER DES PLANTES ÉTROITEMENT ADAPTÉES AUX CONDITIONS DE L'ENVIRONNEMENT ET SE MULTIPLIANT TRÈS RAPIDEMENT. C'EST L'APOMIXIE, PROPRIÉTÉ DE PRODUIRE DES GRAINES SANS PASSER PAR LA REPRODUCTION SEXUÉE. CET ARTICLE EXPLIQUE COMMENT CETTE FACULTÉ NATURELLE DE CERTAINES PLANTES SAUVAGES PEUT ÊTRE TRANSMISE À DES CÉRÉALES COMME LE MIL OU LE MAÏS, ET POURQUOI LES RENDEMENTS AGRICOLES DES RÉGIONS PAUVRES DE LA PLANÈTE POURRAIENT EN ÊTRE CONSIDÉRABLEMENT AMÉLIORÉS.

PROCHAINE RÉVOLUTION VERTE ?

YVES SAVIDAN ET MICHEL DUJARDIN

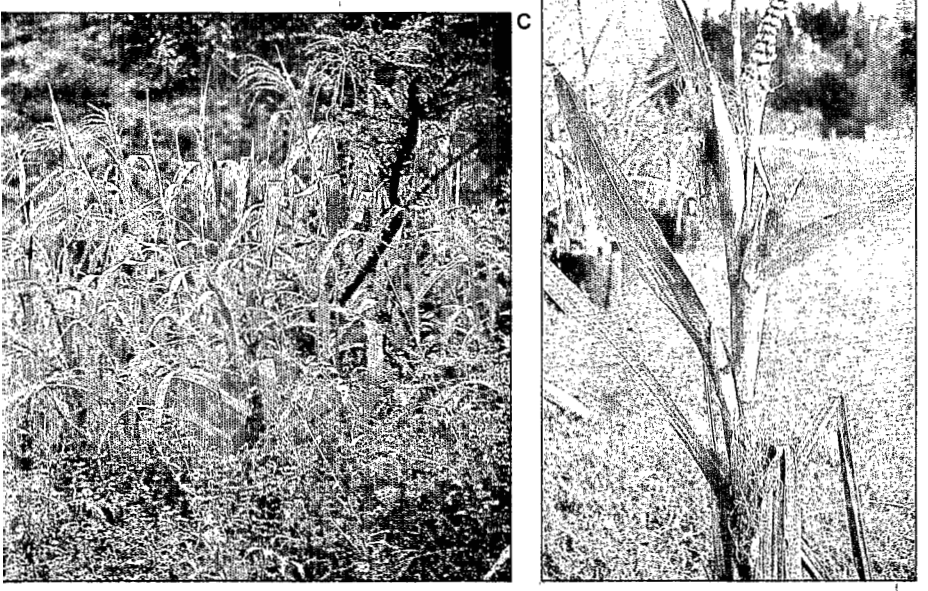


Figure 1. Dans la nature, certaines plantes sauvages sont capables de transmettre spontanément aux céréales, c'est-à-dire sans intervention humaine, des caractères qui peuvent se révéler utiles en agronomie. C'est le cas par exemple du mil sauvage (Pennisetum molissimum) (A) et du maïs sauvage, ou téosinte (Zea mays var. mexicana) (B). Ces caractères sont codés par des gènes que la plante sauvage échange par fécondation croisée avec la céréale. L'apomixie est un caractère de plantes sauvages. Il s'agit de la capacité pour une plante de produire sans reproduction sexuée un embryon inclus dans une graine. Toute plante apomictique peut se reproduire très rapidement et efficacement, grâce à ses graines. L'apomixie, une fois transférée à des céréales, pourrait donc permettre d'augmenter considérablement les rendements agricoles. Par exemple, le transfert de l'apomixie chez le maïs est fondé sur l'existence d'une plante sauvage apomictique (Tripsacum dactyloides, C) que l'on peut croiser avec cette céréale pour obtenir un hybride apomictique (D). Le programme de croisements successifs des hybrides obtenus et du maïs devrait permettre d'aboutir en l'an 2000 à un maïs possédant à la fois la propriété d'apomixie et les qualités des variétés cultivées actuelles. (Clichés A, Jean Clément ; B et C, Julien Berthaud ; D, Yves Savidan)

Quand on travaille au Mexique, au sein du CIMMYT (Centro Internacional de Mejoramiento de Maiz y Trigo ou Centre international d'amélioration du maïs et du blé), l'un des instituts internationaux nés de la célèbre révolution verte des années 1960 et des efforts de la Fondation Rockefeller, on doit manifester une courtoise approbation lorsque ses collègues font mention des progrès spectaculaires de l'agriculture indienne et, plus récemment, de l'explosion de la production de blé au Mexique. Quand on se retrouve, à l'occasion d'une réunion scientifique, au milieu de ses collègues français, on ne peut qu'opiner poliment du chef lorsque ceux-ci critiquent durement l'emploi du mot « révolution » pour quelque chose qui n'a rien changé au problème de la faim, particulièrement en Afrique, et qui, même au Mexique, se traduit par des productions de maïs égales, sinon inférieures, à ce qu'elles étaient il y a trente ans. Bien sûr, et sans être normand, tous ont raison et tous ont tort, dans la mesure où l'on ne peut considérer les politiques agricoles de type « révolution verte » comme miraculeuses, ni nier les résultats positifs qu'elles ont eus dans certains cas, dont l'Inde reste l'exemple le plus évident. Ce pays est effectivement passé, en peu d'années, d'une situation de famine chronique à l'autosuffisance en céréales, grâce à un doublement de ses productions.

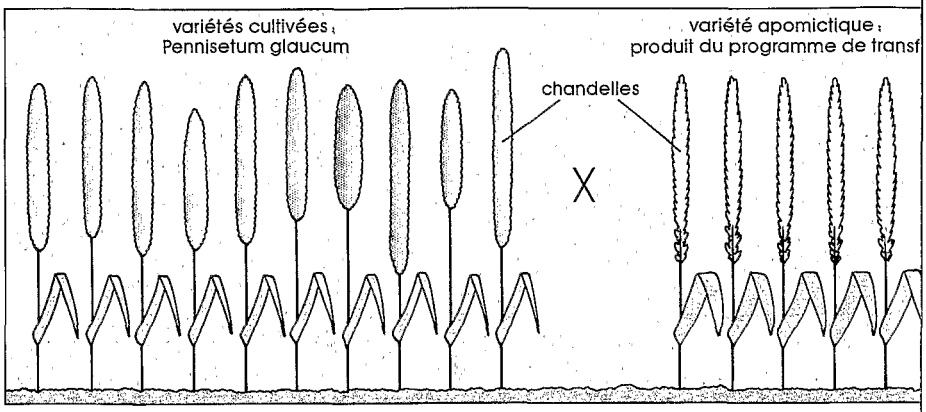
L'approche qui a permis la révolution verte consiste à utiliser des variétés sélectionnées très performantes mais nécessitant des « intrants » nombreux (engrais, pesticides, machines, capitaux). Elle est critiquée par beaucoup de chercheurs parce que, trop « à l'américaine », elle ne tient pas compte des particularités des pays où l'on veut l'appliquer. Pour les pays du tiers monde, c'est une approche élitiste, ou « du haut vers le bas », car le nombre des agriculteurs qui peuvent en profiter est toujours limité. Au cœur de l'Afrique, par exemple, l'infrastructure routière permet difficilement d'assurer la distribution des semences hybrides ou des engrais au moment opportun. Cette approche mérite surtout le nom de révolution en ce qu'elle bouleverse totalement le système agricole en vigueur. On passe d'un système qui vit en vase clos, autonome, à un système dans lequel tous les intrants sont importés à partir des pays industrialisés.

Le tiers monde n'a pas besoin de varié-

ORSTOM Fonds Documentaire
N° : 36.496 ex 1
Cote : B
03 AOUT 1992

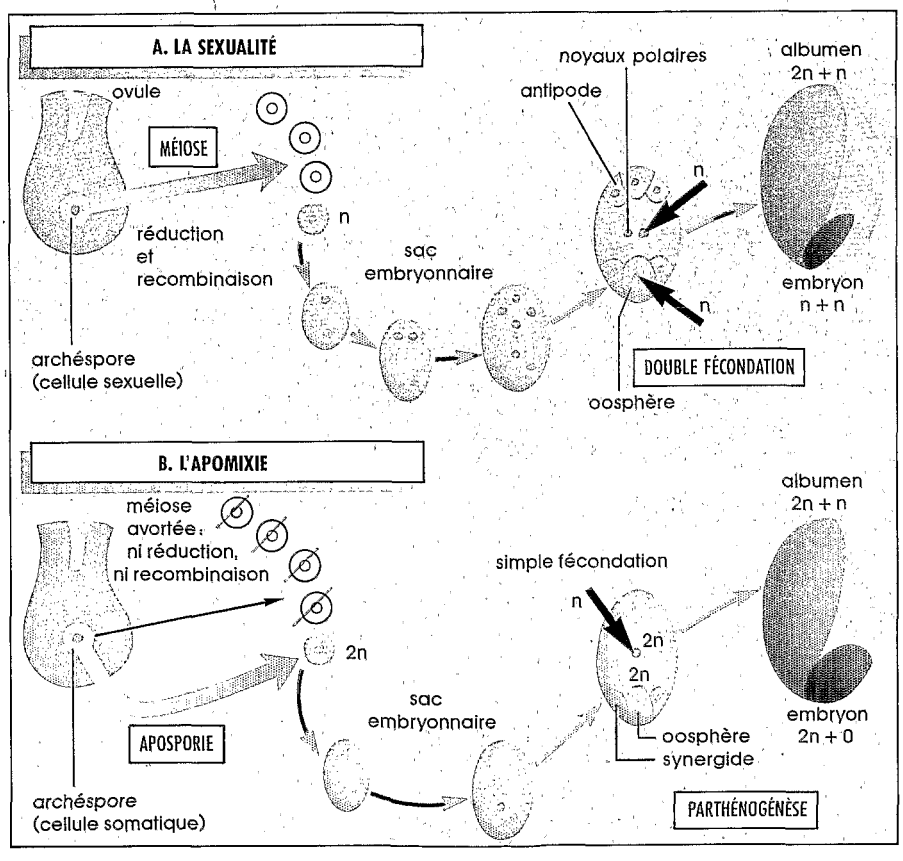
YVES SAVIDAN est directeur de recherches à l'ORSTOM (Institut français de recherche scientifique pour le développement en coopération). Il travaille depuis vingt ans sur l'apomixie, coordonne le réseau *international* de recherches sur cette question, APONET, et édite la lettre scientifique *Apomixis Newsletter*.
MICHEL DUJARDIN est ingénieur agronome et cytogénéticien rattaché à l'université de Louvain, en Belgique. Il a notamment travaillé de 1981 à 1989 aux Etats-Unis, au sein du programme de transfert de l'apomixie chez le mil.

tés miracles, parce qu'il n'y a pas de miracle en agriculture, et sur le continent africain moins qu'ailleurs. En effet, dans un milieu extrême, comme le Sahel, les variétés « hautement performantes », sélectionnées dans les centres nationaux et internationaux, sont soumises à des pressions parasitaires énormes, comme les pullulations d'insectes, et ne perdurent pas (la sécheresse n'est pas toujours le principal facteur limitant). Au contraire, l'hétérogénéité génétique des variétés traditionnelles, issues de millénaires de sélection empirique faite par les agriculteurs eux-mêmes, de pères en fils, est une assurance contre ces adversités. Plus le milieu est hostile, et plus il semble difficile de modifier la structure génétique de ces variétés sans les fragiliser dramatiquement. Leur rusticité et leurs capacités d'adaptation sont sans doute sous la dépendance de nombreux gènes, que la sélection ne sait pas sauvegarder dans leur intégrité. On ne sait donc pas plus introduire de nouvelles variétés que modifier les variétés existantes sans courir au désastre.



Les différents types d'apomixie

Depuis les travaux de Å. Gustafsson, en Suède, on admet l'existence de trois types d'apomixie. Le plus simple est connu chez les plantes apparentées aux citrons et oranges (genre *Citrus*) et chez les mangues : l'embryon se développe directement à partir d'une cellule non reproductrice de l'ovaire de la plante-mère. C'est l'embryonie adventive. Les deux autres types d'apomixie produisent des sacs embryonnaires non réduits, c'est-à-dire dont les cellules contiennent le même nombre de chromosomes que toutes les cellules de la plante-mère : 2n. Le gamète femelle, ou oosphère, de ces sacs se développe en embryon sans avoir été fécondé (parthénogenèse).
Chez la majorité des graminées tropicales, ce sac embryonnaire est produit par *aposporie* : une cellule (2n) du tissu central de l'ovule (le nucelle) se divise pour donner un sac embryonnaire à quatre noyaux, un noyau polaire et trois noyaux compris dans une oosphère et deux synergides.
Chez les plantes des genres *Elymus* (apparentés au blé) et *Tripsacum* (apparentés au maïs), le sac embryonnaire est produit par *diplosporie* : la cellule reproductive (ou archéspore, qui provient de la différenciation d'une cellule à 2n chromosomes) se divise, mais au lieu de subir la méiose (réduction du nombre de chromosomes) et de produire une tétrade de cellules réduites (n), elle donne deux cellules identiques (2n), dont l'une se divise pour donner le sac embryonnaire. Celui-ci a l'apparence d'un sac normal, avec huit noyaux : deux noyaux polaires et six noyaux compris dans une oosphère, deux synergides et trois antipodes.



L'histoire du mil en Afrique se répète au Mexique avec le maïs (fig. 1). Ici, comme de l'autre côté de l'Atlantique,

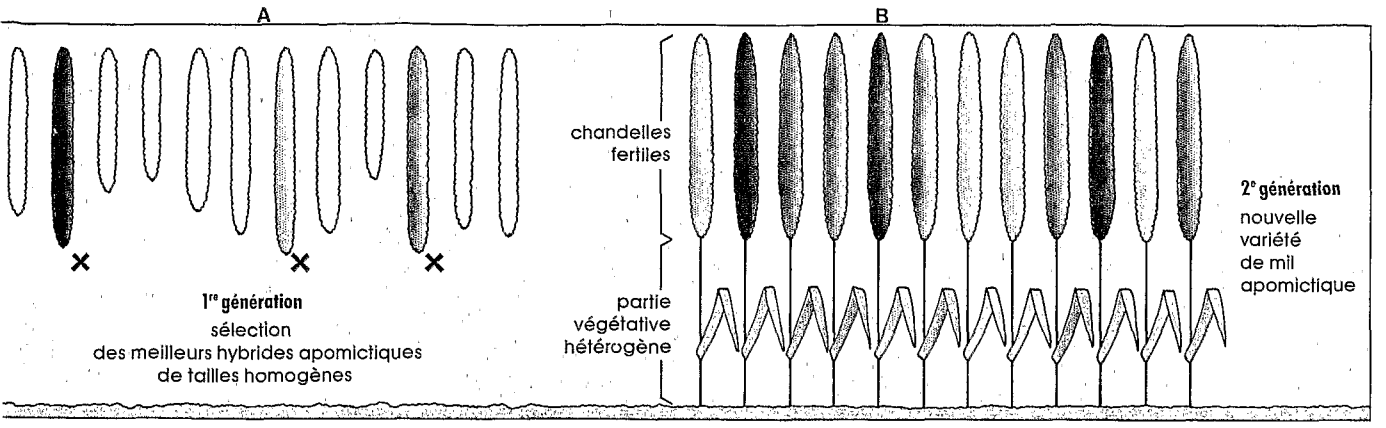


Figure 2. Une fois le caractère « apomixie » transféré chez une variété locale d'une plante cultivée, suite au croisement entre celle-ci et l'espèce apparentée apomictique (hybridation interspécifique), et à une série de recroisements par la variété, l'agriculteur peut continuer sa sélection, comme il l'a fait traditionnellement. Dans le cas du mil, par exemple, il choisit les inflorescences, ou chandelles, les plus grandes, qui sont un gage de fertilité (A). Les semences de ces chandelles sont apomictiques, et donnent alors à la deuxième génération une nouvelle variété de mil dont tous les individus possèdent de belles chandelles fertiles, mais qui conserve une hétérogénéité génétique pour ses autres caractères (résistance à la sécheresse, rusticité, etc.) (B).

certains agriculteurs conservent dans leurs champs les pieds de téosinte, depuis des générations, pour des raisons qui rejoignent celles des agriculteurs africains. L'expérience — des hybridations aux données plus récentes de la biologie moléculaire[3] — montre que ces téosintes sont des maïs sauvages (*Zea mays var. mexicana,* anciennement *Euchlena mexicana*), pouvant échanger librement des gènes avec l'espèce cultivée en se croisant avec elle (voir « Le maïs » dans *La Recherche* d'avril 1987). Leur pollen peut donc participer à la formation des graines du maïs cultivé, y compris de celles qui serviront de semences pour le cycle de culture suivant.

L'APOMIXIE OUVRE LA VOIE À UNE AMÉLIORATION DES CÉRÉALES QUI NE MODIFIE PAS LEUR VALEUR GÉNÉTIQUE ET LES PRATIQUES CULTURALES

■

Dans le cas des graminées africaines, comme le mil et le sorgho, et également dans le cas du maïs, les apparentées sauvages, dans leur majorité, ont une particularité biologique qui les rend précieuses pour l'amélioration des productions agricoles, bien qu'aucun programme d'amélioration n'en ait encore tiré profit. Cette particularité est l'apomixie, autrement dit la capacité de former un embryon, inclus dans une graine, à partir d'une cellule non sexuelle (aposporie) ou sexuelle (diplosporie), sans fécondation (parthénogenèse), c'est-à-dire sans fusion d'un gamète mâle avec un gamète femelle (voir l'encadré 1).

Les avantages de l'apomixie sont importants. C'est le seul mode de reproduction qui permette à la fois la conservation d'un génotype (ensemble des gènes de l'organisme ou des gènes correspondant à un caractère donné) à l'infini et sa multiplication grâce aux graines. En effet, comme dans les autres types de reproduction asexuée, toute combinaison de gènes est transmise intacte d'une génération à la suivante, puisqu'il n'y a pas de fécondation susceptible de la modifier. Mais, de plus, la reproduction par graines permet de multiplier rapidement le nombre d'individus identiques porteurs de cette combinaison.

L'apomixie simplifie à l'extrême les schémas de sélection. La révolution verte a exploité les progrès réalisés dans le domaine de l'hybridation et de la génétique des céréales. L'hybridation consiste à croiser des lignées d'une même espèce (hybridation intraspécifique) ou d'espèces proches (hybridation interspécifique) possédant des caractères particulièrement intéressants pour l'agriculture, par exemple une forte productivité en grains ou une capacité de résistance à certaines maladies, de manière à obtenir et à sélectionner au bout de plusieurs générations des individus, appelés hybrides, présentant l'ensemble de ces caractères.

Or l'apomixie se transmet, on va le voir, selon un mode génétique dominant. Cela signifie que le caractère dominant, l'apomixie, s'impose par rapport au caractère récessif, la sexualité, quand les deux coexistent chez un individu. Ainsi, une nouvelle formule hybride intéressante, issue d'un croisement de type (individu sexué x individu apomictique), peut être fixée dès la première génération (F1). L'apomixie simplifie enfin énormément la production des semences hybrides. Plus besoin, en effet, de maintenir, en parcelles isolées, deux ou trois parents, pour reproduire chaque année, en assurant en grande partie manuellement la fécondation, la formule hybride souhaitée, comme cela se fait pour de nombreuses plantes de grande culture (voir l'encadré 2). Une fois un hybride apomictique sélectionné, il se reproduit identique à lui-même ; les parents n'ont donc pas besoin d'être multipliés, et plusieurs hybrides apomictiques peuvent être reproduits dans des parcelles adjacentes, sans risque de contamination *via* une éventuelle fécondation.

Mais le principal avantage, pour tous les pays du tiers monde, qui jusqu'ici n'ont tiré que peu sinon aucun bénéfice des variétés hybrides, c'est que l'apomixie permettrait d'augmenter les productions sans modifier ni la pratique culturale en cours, ni l'hétérogénéité génétique nécessaire dans ces régions.

Prenons l'exemple d'une variété traditionnelle de mil. Le paysan qui choisit dans un champ cinquante plants pour en tirer la semence de la prochaine culture, sélectionne cinquante inflorescences génétiquement différentes, que l'on appelle des « chandelles » dans le cas du mil, et dont les grains, également, sont différents les uns des autres. Même s'il ne choisit que de belles chandelles, longues et très fertiles, il obtient à la culture suivante la même hétérogénéité génétique que dans la précédente, c'est-à-dire des inflorescences de tailles très variées, et donc une production moyenne peu élevée. Mais si l'on a pu introduire l'apomixie dans, par exemple, 50 % des plantes de cette variété (hybrides apomictiques) — nous allons voir ensuite comment — les plantes (50 %) de la génération suivante provenant de la reproduction par apomixie ne donneront que de belles

(1) J. Belliard *et al.*, *Ann. Amélior. Plantes*, 30, 229, 1980.
(2) J. Pernès *et al.*, *Ann. Amélior. Plantes*, 30, 253, 1980.
(3) J. Doebley, *Eco. Bot.*, 44, 6, 1990.

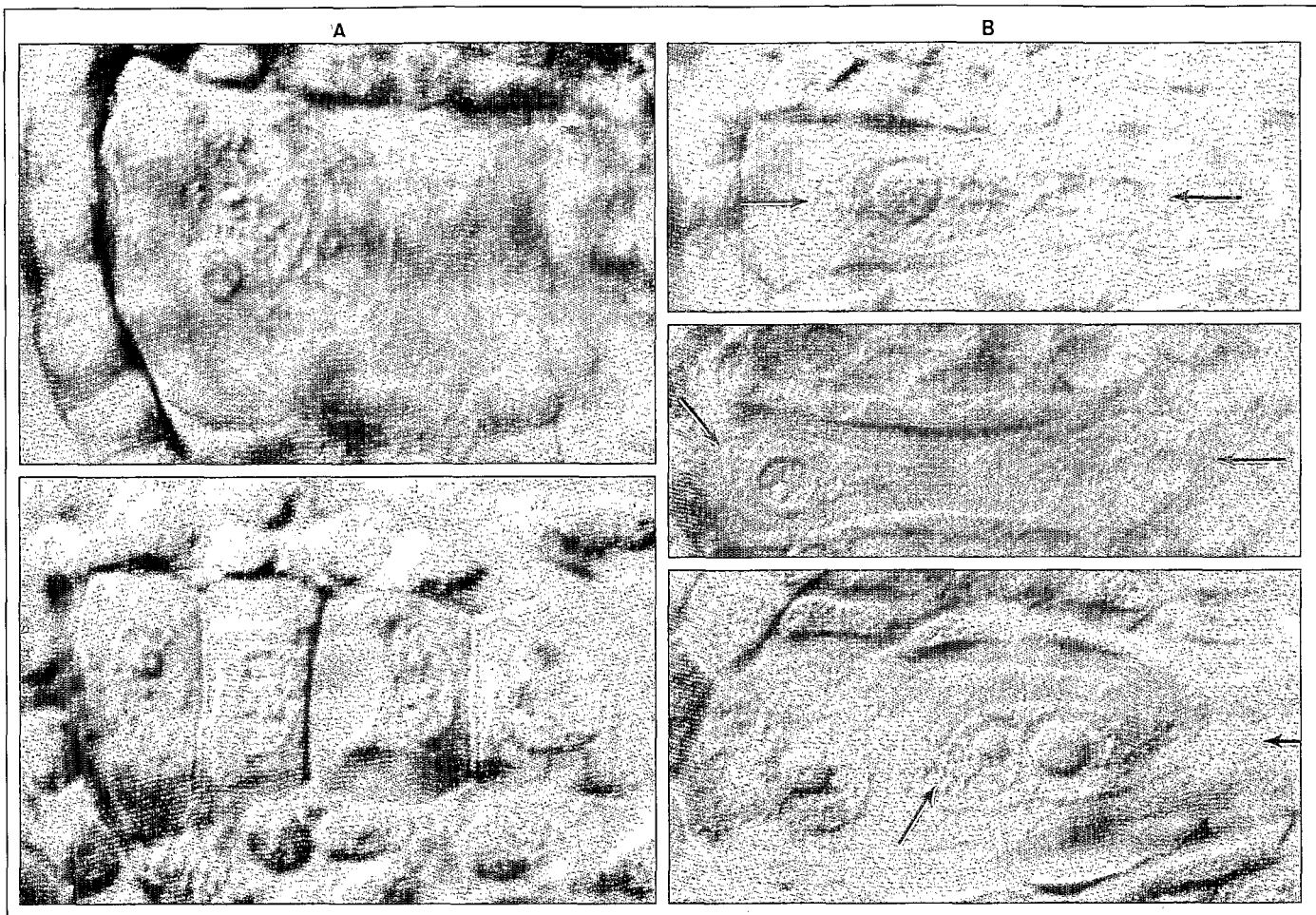


Figure 3. Jusqu'en 1970, les analyses embryologiques permettant de caractériser une variété végétale nécessitaient de longues préparations (inclusion des matériels à observer, après coloration, dans des blocs de paraffine, et coupes fines au microtome). Diverses techniques permettent aujourd'hui l'observation microscopique des structures sans coupe, sans écrasement et sans coloration : des faisceaux lumineux sont projetés sur les tissus, qui deviennent transparents à la lumière. En se reflétant sur les parois des cellules et des noyaux, ils mettent en évidence ces structures. On peut ainsi distinguer, à gauche, une division normale (méiose) de la cellule sexuelle primordiale (archéspore) de l'ovule : en A, la prophase, durant laquelle les chromosomes deviennent apparents, puis le produit final de la division, une tétrade de cellules, dont l'une évoluera en gamète femelle. En B, chez une plante apomictique, la division cellulaire peut concerner cette cellule sexuelle (diplosporie). Elle commence alors par un allongement du noyau et aboutit à deux cellules génétiquement identiques à la cellule de départ, dont l'une, sans avoir été préalablement fécondée, conduira à un embryon. (Clichés C.F. Crane)

chandelles et les 50 % restants, provenant de la fécondation croisée ou de l'autofécondation, continueront de donner des plants de toutes tailles (fig. 2). La production moyenne du champ augmenterait par là très significativement, sans que l'on ait perdu l'hétérogénéité génétique et sans que l'on ait eu besoin de modifier quoi que ce soit du système de culture en vigueur. Par comparaison, la sélection et la production de semences hybrides chez des plantes non apomictiques, comme le maïs, le sorgho ou le mil, supposent la création, la sélection et le maintien de plusieurs types de lignées dans des parcelles isolées (voir l'encadré 2).

Pour introduire l'apomixie dans les variétés traditionnelles de maïs ou de mil, il faut tout d'abord que l'apomixie existe chez une espèce capable d'échanger des gènes avec l'espèce cultivée. Ensuite, son contrôle génétique doit être extrêmement simple, parce qu'on ne peut espérer faire passer avec succès une caractéristique d'une espèce sauvage dans une espèce cultivée, au travers de l'hybridation interspécifique, que si elle est contrôlée par une toute petite portion de chromosome. Si le transfert concerne un matériel génétique de taille trop importante, on introduit en effet, en plus de la caractéristique souhaitée, beaucoup d'autres gènes étrangers qui ont un effet négatif sur la fertilité et la production de la plante obtenue.

Des recherches menées dans les années 1950, il reste une excellente classification des différents types d'apomixie[4] et un premier aperçu de son importance au sein des plantes supérieures (voir l'encadré 3). Mais les recherches ont pris un tournant décisif dans les années 1960, avec les premières études réalisées sur les graminées tropicales et intertropicales aux **Etats-Unis**[5, 6]. L'apomixie, élément clé de l'évolution de ces espèces[7], devenait un outil de l'amélioration des plantes. Le facteur principal de cette percée soudaine des recherches sur l'apomixie, à partir de 1970, a été la découverte de techniques cyto-embryologiques permettant des analyses génétiques, enfin convaincantes, fondées sur des descendances nombreuses, et des programmes de transfert d'espèces sauvages à espèces cultivées : en 1970, la technique d'éclaircissement des ovules de J.M. Herr, biologiste de l'université de Caroline du Sud, puis en 1978, celle de Charles Crane, de l'université de l'Utah (fig. 3). Alors qu'il fallait attendre de voir la descendance d'un hybride, c'est-à-dire la deuxième génération, pour savoir s'il était sexué ou apomictique, les techniques embryologiques permettent de le déceler sur l'hybride lui-même, sans perdre de temps.

C. Crane a proposé en 1987 une nouvelle technique qui, dans le cas de l'apparenté apomictique du blé, *Elymus rectisetus*, a donné des résultats remarquables[8] mettant en évidence, pour la première fois, une différence structu-

relle entre plantes apomictiques et plantes sexuées, repérable au microscope en fluorescence : l'absence d'isolement de la cellule reproductive, cellule qui donne naissance au sac embryonnaire. Cette absence est due à ce que l'élément clé de la structure des parois qui entourent les cellules reproductrices, la callose, n'est plus synthétisée. Plus récemment encore, une équipe de chercheurs japonais, travaillant sur la ciboulette (*Allium tuberosum*), a mis au point une méthode « biotechnologique » qui consiste à cultiver *in vitro* des ovules non fécondés[9]. Quand ces ovules proviennent d'une plante apomictique, ils peuvent développer des embryons sur le milieu de culture, sans avoir été pollinisés. Si la plante est sexuée, aucun embryon ne se développe, à l'exception de quelques très rares haploïdes (plantes ayant un seul lot de chromosomes), issus chacun d'une seule cellule sexuelle non fécondée.

L'ANALYSE GÉNÉTIQUE DES PLANTES APOMICTIQUES A D'ABORD PORTÉ SUR DES ESPÈCES FOURRAGÈRES, EN CÔTE-D'IVOIRE PUIS EN AMÉRIQUE LATINE

■

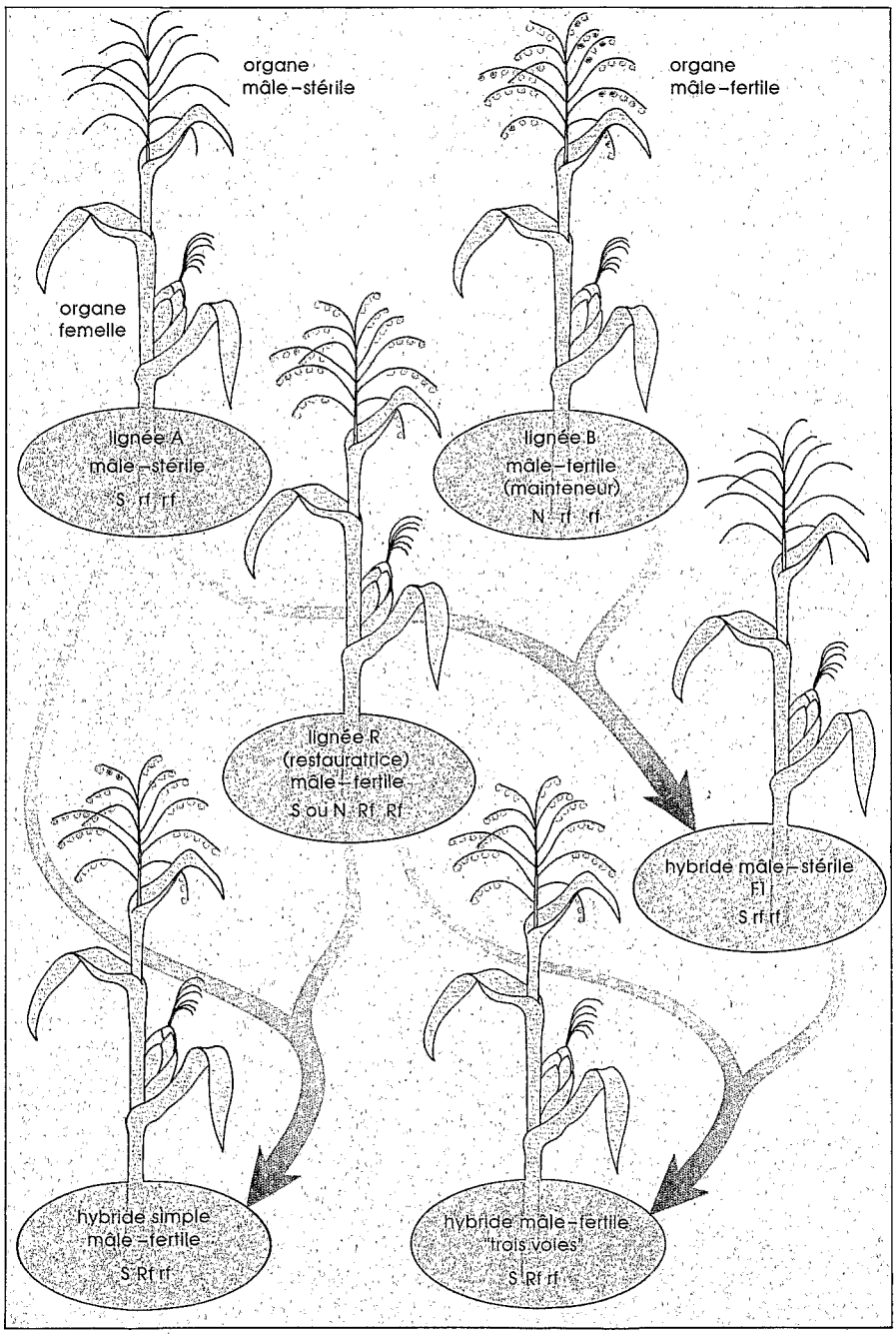
Le premier programme d'analyse génétique faisant usage de la technique de Herr, et utilisant des plantes sexuées et apomictiques naturelles, au même niveau de ploïdie (même nombre de paires de chromosomes), a été mené à l'ORSTOM à partir de 1965 sur l'herbe de Guinée (*Panicum maximum*) (voir l'encadré 3). Entrepris par Jean Pernès et Daniel Combes, en Côte d'Ivoire, ce programme a d'abord consisté en des collectes dans le centre géographique de diversité de l'espèce, en Afrique de l'Est. La constitution de la première grande collection monospécifique parmi les graminées fourragères africaines, avec près de cinq cents génotypes pour la seule herbe de Guinée, représentait alors une énorme variabilité morphologique. En 1981, l'analyse génétique aboutit à la publication par l'un d'entre nous (Y. Savidan) d'un résultat inespéré : l'apomixie est, chez cette espèce, contrôlée par un gène unique dominant[10].

Pour cela, plus de mille plantes ont été analysées, provenant de dix types de croisements différents. Les résultats de Gian Nogler, obtenus en 1984 à Zurich, sur une renoncule (*Ranunculus auricomus*), plante sans aucune relation phylogénétique avec les *Panicum*, s'accordent avec ce modèle du gène unique

2

La sélection traditionnelle des hybrides

Chez le maïs ou le mil, l'hybridation entre deux lignées pures A et B est obtenue en castrant manuellement les pieds mâles d'une lignée ou en utilisant des plantes dont les mâles sont stériles, de façon à éviter qu'ils ne fécondent les pieds femelles de cette lignée. Cette stérilité est due soit à la mutation de certains gènes des mitochondries, organites du cytoplasme, soit à celle de gènes du noyau cellulaire. On symbolise sur ce schéma l'information cytoplasmique permettant la fertilité mâle normale par N, et celle entraînant la stérilité mâle cytoplasmique par S. Chez toutes les plantes, le noyau de chaque cellule possède des gènes codant pour des « facteurs de restauration » de la fertilité cytoplasmique, existant sous deux formes (allèles) : Rf, dominante, permet de restaurer la fertilité des plantes mâles-stériles cytoplasmiques ; rf, forme récessive, permet de maintenir la stérilité mâle. Ainsi, les individus S rfrf sont mâles-stériles, tandis que les S RfRf, S Rfrf, N Rfrf ou N rfrf sont mâles-fertiles.
Pour pouvoir à la fois conserver le caractère mâle-stérile dans la descendance et restaurer la fertilité des hybrides obtenus, il est nécessaire de maintenir et d'isoler dans différentes parcelles (pour éviter toute pollinisation étrangère) au moins trois groupes de plantes : des mâles stériles S rfrf de la lignée A ; des mâles fertiles N rfrf (mainteneurs de la stérilité) de la lignée B ; des individus restaurateurs de la fertilité S Rfrf ou N Rfrf. On peut ainsi obtenir des hybrides simples, à partir de deux lignées, ou des hybrides « trois voies », à partir des trois lignées.



(4) Å. Gustafsson, *Apomixis in higher plants*, Lunds Univ. Arsskr., 1947.
(5) J.R. Harlan *et al.*, *Bot. Gaz.*, *125*, 41, 1964.
(6) C.M. Taliaferro et E.C. Bashaw, *Crop Science*, *6*, 473, 1966.
(7) J.R. Harlan, *Proc IX Int. Grassl. Congr.*, *191*, 1965.
(8) C.F. Crane et J.G. Carman, *Am. J. Bot.*, *74*, 477, 1987.
(9) A. Kojima et T. Kawaguchi, *Jap. J. Breed.*, *39*, 449, 1989.
(10) Y. Savidan, *Proc. XIV Int. Grassl. Congr.*, *182*, 1981.

Où trouve-t-on l'apomixie ?

A

B

A petits échantillons, les deux-tiers ou les trois-quarts sont généralement constitués de plantes apomictiques[19]. C'est surtout chez les Composées, les Rosacées et les Graminées que l'apomixie est la plus fréquente. Chez les Composées, elle contribue à la rapide colonisation réalisée par nombre de pissenlits. Chez les Rosacées, en plus d'une forte multiplication végétative, beaucoup de ronces (mûriers) se reproduisent par apomixie. Chez les Graminées, les pâturins des pelouses et des prairies (genre *Poa*) font figure d'exception en pays tempérés : l'apomixie est en effet une caractéristique des graminées tropicales. Tout comme de nombreuses espèces apparentées au mil et au sorgho, céréales essentielles des régions tropicales semi-arides, les plantes fourragères les plus importantes sont apomictiques. Par exemple, celles des genres *Panicum* et *Brachiaria*, comme *Panicum maximum*, ou herbe de Guinée (en A, le cultivar Tanzania-1 lancé en 1990 au Brésil), et *Brachiaria decumbens* (B), couvrent environ dix et trente millions d'hectares pour le seul Brésil ; celles du genre *Cenchrus* font partie des pâturages des régions semi-arides d'Afrique, d'Asie et d'Amérique. (Clichés A, Liana Jank ; B, Cacilda do Valle)

La synthèse la plus récente publiée sur l'apomixie[18] ne fait état que de quelques trois cents espèces apomictiques, pour l'ensemble des plantes supérieures. Mais ce nombre ne reflète pas la réalité. Chez les graminées intertropicales, les ressources génétiques aujourd'hui disponibles sont en effet bien loin d'être représentatives de la diversité des populations naturelles. Dans des genres où les botanistes reconnaissent cent, deux cents espèces, quelquefois plus, on ne dispose que de petites collections, avec au mieux quelques dizaines d'espèces. Et sur ces

dominant[11]. Les autres résultats publiés restent toutefois insuffisants pour conclure à la généralité de ce modèle chez les plantes apomictiques. Parmi les recherches en cours, les travaux de l'équipe de Camilo Quarin, à l'université du Nordeste, en Argentine, sur les graminées fourragères du genre *Paspalum*, et ceux Calcida do Valle, à l'Institut national brésilien de recherche agronomique (EMBRAPA), sur d'autres fourrages du genre *Brachiaria*, semblent aujourd'hui les plus prometteurs pour conclure définitivement.

Quelle est l'action du gène dominant mis en évidence chez *Panicum maximum* et *Ranunculus auricomus* ? Les travaux de Nogler et de l'un d'entre nous (Y.S.) ont montré qu'il induit le développement précoce de cellules du nucelle de l'ovule, cellules somatiques qui possèdent la même information génétique que toutes les cellules de la plante, et qui normalement n'ont aucune destinée reproductive[11, 12]. Elles se différencient pourtant en sacs embryonnaires, qui contiennent chacun un gamète femelle, l'oosphère, deux noyaux polaires (qui après fécondation produiront l'albumen de la graine) et des cellules accompagnatrices (synergides et antipodes) (voir l'encadré 1). L'oosphère de chaque sac se divise alors sans avoir été préalablement fécondé, pour donner un nouvel embryon. Quand la graine germe, cet embryon donne une plante en tous points identique à sa plante-mère. Ce qui est intéressant, c'est que ce développement est induit avant la mise en route du processus sexué normal. Il ne se substitue pas à lui directement ; autrement dit le gène de l'apomixie n'est pas une version (allèle) d'un gène de sexualité. Il se surajoute à la sexualité, en perturbe le déroulement ou entre en compétition avec ses produits. Chez des plantes aposporiques comme les *Panicum*, les ovules possèdent généralement plusieurs sacs embryonnaires, de tailles et positions variables. Mais il y a toujours un sac asexué plus précoce et plus grand qui gagne la compétition contre le sac d'origine méiotique (sexué). Celui-ci n'est généralement pas fécondé et dégénère. On n'observe d'embryon double (embryon apomictique et embryon provenant de la fécondation de l'oosphère du sac méiotique) que très exceptionnellement.

Quel est le mécanisme d'action du gène de l'apomixie ? Selon les premières observations faites à l'université de l'Utah chez *Elymus rectisetus*, l'apparenté apomictique du **blé**[8,13], il pourrait provoquer une altération dans la synthèse de la callose des parois cellulaires, ou sa dégénérescence précoce, permettant ainsi des échanges moléculaires normalement empêchés par ces parois. Des molécules inductrices de la division de ces cellules et de leur différenciation ultérieure en sac embryonnaire pourraient ainsi passer dans les cellules voisines du nucelle, somatiques, et provoquer dans celles-ci ce qu'elles étaient censées provoquer dans celles-là, et de façon plus précoce.

Ainsi, l'apomixie n'est plus une inconnue. Tout semble donc prêt pour que nous puissions voir bientôt la première céréale apomictique, et en conséquence un bond en avant des productions céréalières, surtout en Afrique. Les résultats acquis dans le programme mil, réalisé depuis 1980 à l'université de Géorgie, à Tifton[14], par Wayne Hanna et l'un d'entre nous (M. Dujardin), sont intéressants à double titre. D'abord parce qu'il s'agit du programme le plus avancé de transfert de l'apomixie dans une céréale ; ensuite, parce qu'en dépit d'une base génétique de départ très restreinte et d'une première hybridation très complexe, ce programme est arrivé, au quatrième recroisement avec le mil cultivé, à des plantes apomictiques qui lui ressemblent de plus en plus, tant par leur morphologie que dans leurs performances agronomiques.

La collection des apparentés sauvages du mil n'est cependant que de quelques dizaines de plantes. Or une étude préalable des relations entre espèces, de leur lien de parenté, afin de déterminer lesquelles ont le plus de chances de permettre un transfert de gène(s) chez le mil, ne peut être effectuée que sur une grande collection, qui reste tou-

jours à constituer. Alors, comme les géniaux jardiniers des siècles passés quand ils créaient de nouvelles variétés de fleurs, on se contente de croiser... ce qu'on a sous la main, en comptant sur la chance. Et ici, elle sourit, quand bien même l'hybride de départ est un hybride complexe issu de trois espèces : le mil, l'herbe à éléphant (*Pennisetum purpureum*) et une espèce apomictique, *Pennisetum squamulatum*. Après quatre recroisements de cet hybride avec un mil (*Pennisetum glaucum*) à vingt-huit chromosomes, on obtient des plantes apomictiques à vingt-neuf chromosomes, dans lesquelles l'essentiel du matériel génétique des deux espèces sauvages, *P. Purpureum* et *P. squamulatum*, est déjà éliminé[15]. Cela démontre ainsi que le gène d'apomixie peut s'exprimer normalement dans un contexte génétique différent de celui de la plante sauvage dont il est issu. Encore quelques recroisements complémentaires et l'on devrait, sans doute d'ici 1995, produire les premiers mils cultivés à reproduction apomictique.

Le schéma du transfert-type, de l'espèce sauvage vers l'espèce cultivée, pour une caractéristique comme l'apomixie, comprend différentes étapes (fig. 4). Tout d'abord, il faut, dès le premier croisement, pouvoir obtenir un grand nombre d'hybrides possédant le caractère d'apomixie. Les techniques de sauvetage des embryons *in vitro* sont une aide indispensable à ce stade. S'il est en effet possible de produire un embryon hybride, cela l'est au sein d'une graine généralement sans albumen, c'est-à-dire sans les réserves qui permettent à l'embryon de croître naturellement. Sa survie ne peut être assurée qu'artificiellement, l'embryon étant extrait et placé sur un milieu assurant son développement. De plus, puisque l'oosphère du parent apomictique n'est pas fécondable, l'hybride de première génération doit être produit en utilisant ce parent comme pollinisateur, le pollen des apomictiques n'étant pas affecté par l'apomixie et restant tout aussi fonctionnel que celui d'une plante sexuée. Si l'hybride résultant est apomictique, on ne peut ensuite le recroiser avec l'espèce cultivée que dans un seul sens, comme pollinisateur également. Or les hybrides interspécifiques, au moins dans les deux premières générations de ces programmes de transfert, montrent souvent une stérilité mâle totale, ce qui les rend inutilisables comme pollinisateurs. Cette stérilité peut être liée à la distance génétique entre les deux espèces, ou à des facteurs génétiques (gènes d'incompatibilité), et dans ce cas peut être contournée par un changement de parents et la découverte de combinaisons davantage compatibles.

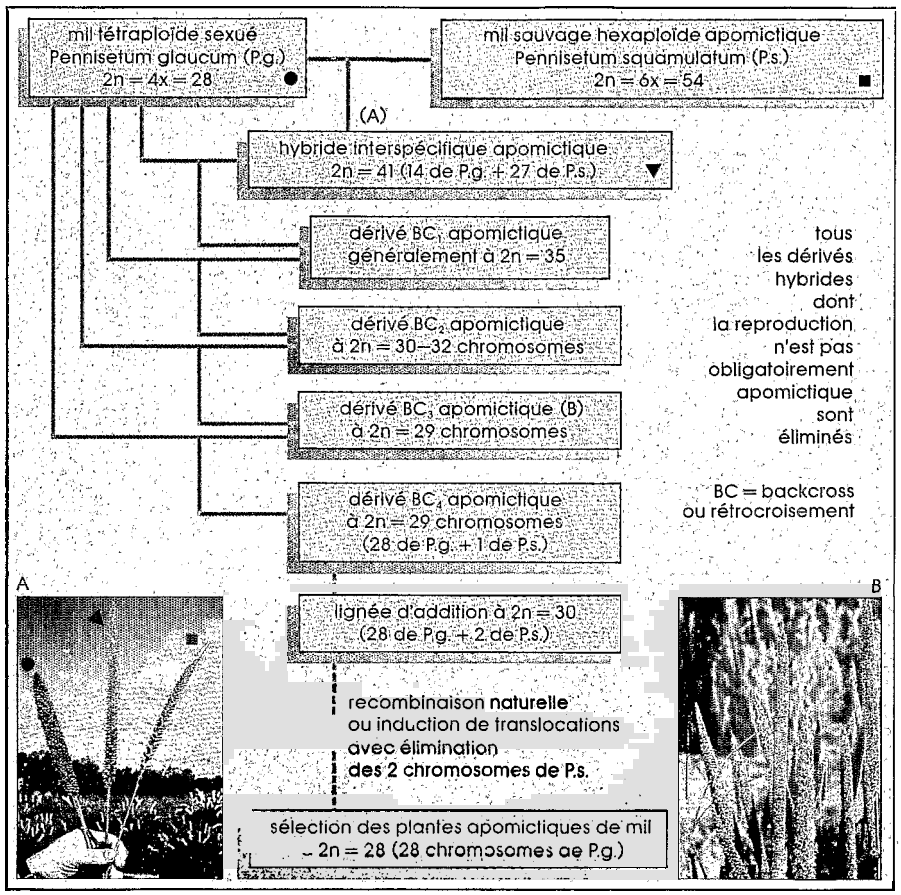


Figure 4. Chez le mil, l'hybride obtenu dans le premier croisement interspécifique et possédant le caractère désiré — l'apomixie dans notre cas — est une plante presque totalement stérile. Pour diminuer cette stérilité, il faut éliminer le plus possible de matériel chromosomique étranger, tout en sélectionnant les individus apomictiques. Cela est fait au travers d'une série de recroisements de l'hybride par l'espèce cultivée. On arrive ainsi généralement à produire des plantes ayant tous les chromosomes de la plante cultivée, plus une seule paire de l'espèce sauvage apomictique, paire porteuse des gènes que l'on cherche à transférer. Ce type de plantes est ce qu'on appelle une « lignée d'addition ». Il faut éliminer davantage encore, pour se rapprocher de la productivité de l'espèce cultivée, jusqu'à ne transférer sur un chromosome de cette espèce que le fragment de chromosome étranger — le gène — impliqué dans l'expression de l'apomixie. (Clichés M. Dujardin/W.W. Hanna)

PRODUIRE UNE CÉRÉALE APOMICTIQUE EXIGE PLUSIEURS CROISEMENTS DE CETTE ESPÈCE PAR LES HYBRIDES OBTENUS

■

L'exemple des hybridations [maïs x *Tripsacum*] illustre l'importance du choix des géniteurs. Ainsi, l'introduction de *Tripsacum* qui a produit jusqu'à présent le plus grand nombre d'hybrides de première génération, au CIMMYT, est originaire de Floride. Mais tous ces hybrides sont 100 % mâles-stériles. Une autre introduction de la même espèce (*T. dactyloides*), mais originaire du Mexique, que nous avons testée en 1990, a donné quinze embryons hybrides issus du maïs et de *Tripsacum*. Même si nous n'avons su sauver qu'un seul de ces embryons, pour des raisons techniques, la plante à laquelle il a donné naissance produit du pollen.

Quels que soient les parents sélectionnés, il faut éliminer au maximum les gènes étrangers provenant de l'hybridation interspécifique, qui réduisent la fertilité de l'hybride, tout en transférant le gène intéressant. Divers traitements peuvent induire des cassures au sein des chromosomes et des réarrangements chromosomiques appelés translocations. Mais, le plus souvent, l'hybride doit être recroisé un certain nombre de fois avec l'espèce cultivée (sélection par backcross ou recroisements). Cette phase de transfert, longue de plusieurs années et difficile, a déjà été réalisée d'innombrables fois, pour d'autres caractères, chez diverses espèces — au premier rang desquelles **le blé[16]. Par exemple, le programme** (maïs x *Tripsacum*) américain[17] a permis le transfert de résistances à diverses maladies fongiques, par des recombi-

(11) G.A. Nogler, « *Gametophytic apomixis* », *in Embryology of Angiosperms*, Springer-Verlag, Berlin, 1984.
(12) Y. Savidan, *Travaux et Documents ORSTOM*, *153*, 1982.
(13) J.G. Carman *et al.*, **Crop science**, *31*, 527, 1991.
(14) M. Dujardin **et W.W. Hanna, *Euphytica***, *38*, 229, 1988.
(15) M. Dujardin et W.W. Hanna, *Agron. Abstr.*, *80*, 1988.
(16) H.T. Stalker, *Advances in Agron.*, *33*, 111, 1980.
(17) J.M.J. De Wet, *Proc. Broadening Genet. Base Crops*, **Pudoc**, Wageningen, 1979.

naisons spontanées entre chromosomes des deux espèces. Cela est possible lorsque ces chromosomes ont des zones structurellement homologues, ce qui est le cas entre certains chromosomes de maïs et de plantes du genre *Tripsacum*[20,21] (fig. 1). On ignore encore si c'est le cas chez le mil. Six à huit recroisements par l'espèce cultivée sont généralement nécessaires à un tel transfert. Ce qui veut dire six à huit ans, car si l'on peut quelquefois réaliser deux générations par an, en conditions favorables, il est toujours difficile d'en étudier plus d'une, compte tenu du nombre de plantes à analyser. La production des hybrides a cependant beaucoup bénéficié des progrès techniques, notamment des cultures *in vitro*. Par exemple, la culture des embryons hybrides *in vitro* nous a permis de produire en 1990, en un seul mois, plusieurs centaines d'hybrides provenant du croisement entre le maïs et diverses espèces de *Tripsacum*.

D'ICI L'AN 2000, GRÂCE À UNE COLLABORATION INTERNATIONALE, LE MIL ET LE MAÏS DEVRAIENT POUVOIR SE REPRODUIRE PAR APOMIXIE

■

Le maïs semble de fait la plante pour laquelle un transfert de l'apomixie aurait les conséquences économiques les plus importantes. C'est en effet une céréale pour laquelle l'écart entre les rendements africains et le potentiel productif révélé dans les pays développés est l'un des plus grands : une tonne par hectare, en moyenne, en Afrique de l'Ouest ; quatre à cinq fois plus dans l'hémisphère Nord. Pour cette céréale, selon les données de l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO ou OAA), le passage à un rendement moyen de 1 500 kg/ha garantirait l'autosuffisance alimentaire de l'Afrique. L'évolution des rendements au cours des dernières années, observée chez le maïs et le riz, montre que la sélection traditionnelle dans les centres de recherche, c'est-à-dire l'application des recettes importées de pays développés, n'a guère eu d'impact. En effet, les rendements d'aujourd'hui ne sont pas significativement différents de ce qu'ils étaient, il y a dix ou quinze ans, et provoquent une augmentation considérable des importations et de l'aide alimentaire.

Le maïs est de plus une céréale idéale pour le transfert de l'apomixie, parce que l'on sait depuis longtemps la croiser avec *Tripsacum dactyloides*[22], et que des transferts entre ces deux espèces de gènes codant d'autres caractères ont déjà été réalisés dans les années 1970 par des chercheurs de l'université de l'Illinois[17, 23]. Tous les atouts semblent donc être réunis. Les résultats obtenus par l'équipe soviétique du professeur Petrov, à Novosibirsk, dans des conditions écologiques limitantes (seulement cent jours sans gel par an) et à partir d'une unique introduction apomictique de *Tripsacum*, sont très encourageants, même s'ils n'ont pas abouti totalement. Bien que le nombre de chromosomes des deux espèces soit très différent (vingt pour le maïs, soixante-douze pour les *Tripsacum* apomictiques), ces travaux ont en effet montré qu'il est possible de produire des hybrides apomictiques à partir d'un croisement entre elles, et de conserver l'apomixie, après un premier recroisement par le maïs, dans des formes à trente-huit chromosomes (vingt du maïs et dix-huit du *Tripsacum*). Plus récemment, un hybride de première génération, produit en 1990 par Antonella Furini et David Jewell, au CIMMYT, a pu être multiplié *in vitro* en plusieurs centaines de copies. Il devrait être possible de répéter ce processus pour les rares hybrides apomictiques de première génération au moins partiellement fertiles. Et les techniques de criblage, en embryologie, électrophorèse et/ou cultures d'ovules, ont fait des progrès spectaculaires. L'environnement technique, pour le lancement d'un nouveau programme de ce type, a donc très favorablement évolué. En ce qui concerne le maïs, l'ORSTOM et le CIMMYT ont signé en 1988 un accord pour la réalisation, au Mexique, des études préliminaires nécessaires dans le genre *Tripsacum*. Des collaborations avec diverses institutions mexicaines ont également été établies. L'objectif est de connaître les relations entre les seize espèces aujourd'hui identifiées dans le genre, et entre ces espèces et le maïs. Il s'agit aussi de savoir où est l'apomixie, de quel type d'apomixie il s'agit, et si son déterminisme génétique est aussi simple que celui observé jusqu'à présent chez les autres graminées intertropicales. Cette première étape doit durer environ cinq ans (1989-1994). Le transfert de l'apomixie apparaît comme une deuxième étape, mais en superposition partielle avec la première.

En outre, le Centre pour l'application de la biologie moléculaire à l'agriculture internationale (CAMBIA) a pour projet principal de mettre au point une méthode de transfert de l'apomixie chez plusieurs plantes grâce au génie génétique. Depuis peu, on sait en effet produire des céréales transgéniques, chez lesquelles le gène intéressant est introduit par plusieurs techniques, dont la plus récente, la biolistique, ou canon à particules, semble particulièrement prometteuse (voir « Vers une transformation universelle du vivant ? » dans *La Recherche* de février 1991).

Que ce soit par les voies conventionnelles de l'hybridation ou par génie génétique, la manipulation de gènes comme celui de l'apomixie impose au préalable de rassembler, préserver et surtout évaluer le patrimoine génétique végétal (voir « La conservation des ressources végétales » dans *La Recherche* d'octobre 1986). Si les plantes cultivées ont fait l'objet d'un louable effort de collecte au cours des vingt dernières années, leurs apparentées sauvages représentent à peine 1 % du matériel aujourd'hui disponible dans les collections mondiales[24]. Et pour cause : la plupart ne sont considérées que comme de « mauvaises herbes ». Pour les plantes africaines, l'ORSTOM et le CIRAD (Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement) ont déjà montré le chemin, avec la collecte des espèces apparentées aux céréales et à certaines cultures industrielles, comme les caféiers. Mais cet effort a été peu suivi à l'échelle internationale.

Pourtant, l'amélioration des plantes en milieu tropical, et particulièrement sur le continent africain, doit répondre à de multiples défis. Nous l'avons dit, introduire des variétés toutes faites venues d'ailleurs est rarement la meilleure solution. Dans le cas du Sahel, en particulier, il semble préférable de laisser l'agriculteur continuer ses sélections, comme son père, son grand-père et tous ses aïeux l'ont fait avant lui, notre aide se limitant à l'identification et au transfert dans la variété qu'il cultive, de quelques gènes qui peuvent faire la différence entre une assistance chronique et l'autosuffisance alimentaire. Que ce soient des gènes de tolérance à la sécheresse, de résistance aux maladies et aux parasites, de fixation de l'azote atmosphérique ou d'apomixie, tous peuvent contribuer à augmenter significativement les productions sans accroître leur coût, c'est-à-dire sans fragiliser davantage les économies et l'environnement. Et on reparlera peut-être de révolution verte, pour tous, cette fois. ■

POUR EN SAVOIR PLUS

■ W.W. Hanna et E.C. Bashaw, Apomixis : its identification and use in plant breeding, *Crop Science, 27,* 1136, 1987.

■ G.A. Nogler, Gametophytic apomixis, *in Embryology of Angiosperms,* Springer Verlag, Berlin, 1984.

■ Y. Savidan, Nature et hérédité de l'apomixie chez Panicum maximum Jacq., *Travaux et Documents* ORSTOM, 153, 1982.

■ Y. Savidan, Apomixis as a new tool to increase grain crop productions in semi-arid tropics, a research project, *Agriculture, Ecosystems & Environment, 16,* 285, 1986.

■ *Apomixis Newsletter,* lettre scientifique.

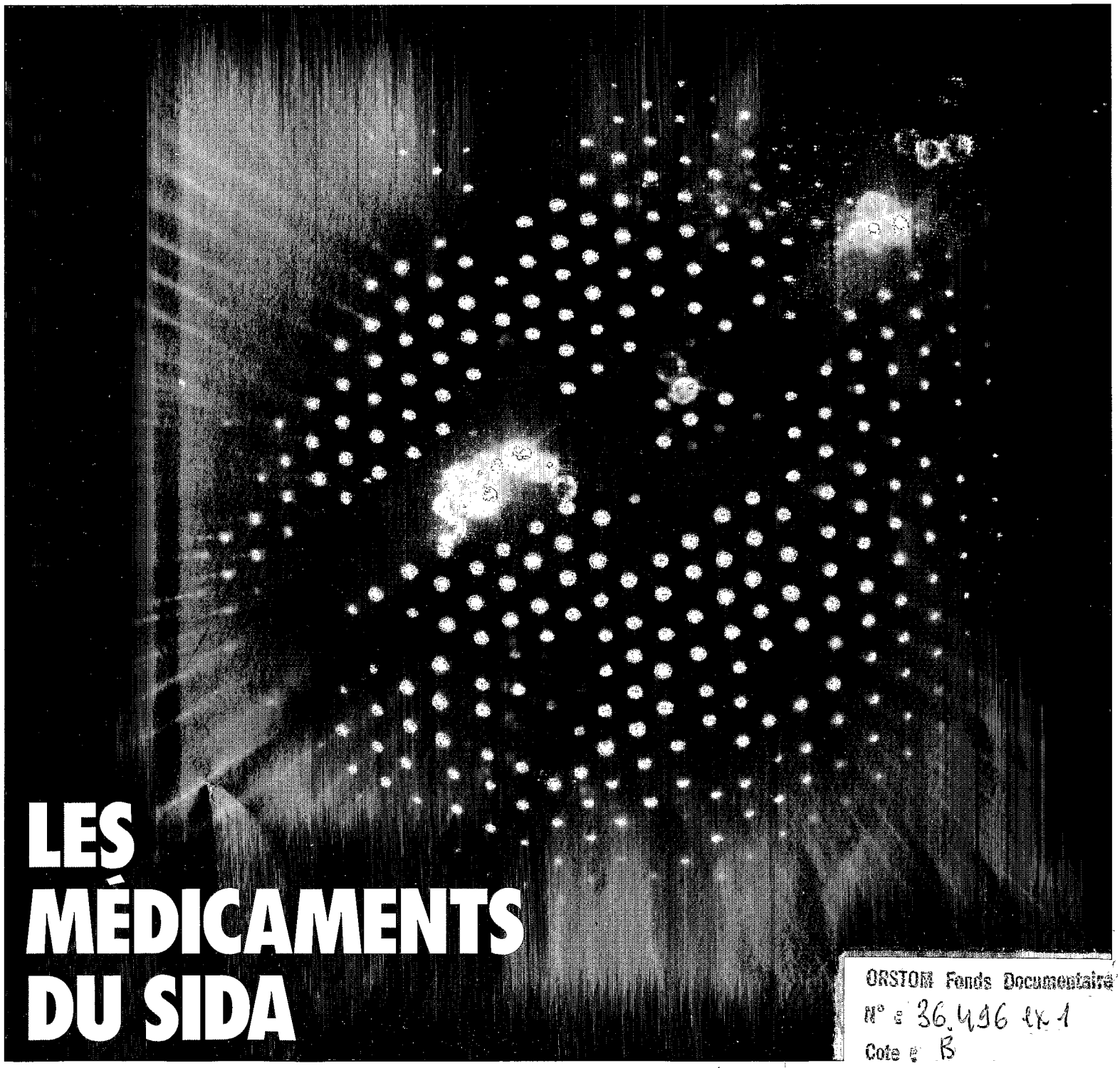
(18) W.W. Hanna et E.C. Bashaw, *Crop Sci.,* 27, 1136, 1987.
(19) C.L. Quarin et G.A. Normann, *Ann. IV Congr. Latinoamer. Bot., 3,* 25, 1987.
(20) M.P. Maguire, *Genetics, 45,* 651, 1960.
(21) B.G.S. Rao et W.C. Galinat, *J. Heredity, 65,* 335, 1974 ; *Ibid, 67,* 235, 1976.
(22) P.C. Mangelsdorf et R.G. Reeves, *J. Heredity, 22,* 339, 1931.
(23) R.R. Bergquist, *Phytopathology, 71,* 518, 1981.
(24) D.L. Plucknett *et al., Gene Banks and the world's food,* Princeton, 1987.

■ Pour se procurer une bibliographie plus complète voir page 304.

Où va la physique nucléaire ?

LA RECHERCHE

LES CELTES • LA RÉINTRODUCTION DES ESPÈCES
LES CRISTAUX DE FILMS • LE BILAN ÉNERGÉTIQUE DE LA TERRE



LES MÉDICAMENTS DU SIDA

ORSTOM Fonds Documentaire
N° : 36.496 ex 1
Cote : B

SUISSE: 3,5 FS, MAROC: 33 DH, TUNISIE: 3300 MIL, ESPAGNE: 600 PTAS, BELGIQUE: 270 FB, CANADA: 6,55 $, CAMEROUN: 1520 CFA, RCCHBV (241) 273-388 (1992) ISSN 0029-5671

MENSUEL N°241 MARS 1992 • 37 FRANCS