



HAL
open science

Etude génétique de la production de graines chez la luzerne (*Medicago sativa* L.)

Eduardo Bolanos-Aguilar

► **To cite this version:**

Eduardo Bolanos-Aguilar. Etude génétique de la production de graines chez la luzerne (*Medicago sativa* L.). Sciences du Vivant [q-bio]. Ecole Nationale Supérieure Agronomique, 2001. Français. NNT: . tel-02832262

HAL Id: tel-02832262

<https://hal.inrae.fr/tel-02832262>

Submitted on 15 Mar 2022

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

ECOLE NATIONALE AGRONOMIQUE DE RENNES

N°

THESE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'ECOLE NATIONALE AGRONOMIQUE DE RENNES

Discipline : Biologie et Agronomie

Présentée et soutenue publiquement

Par

EDUARDO-DANIEL BOLAÑOS-AGUILAR

Le 24 octobre 2001

Titre :

**ETUDE GENETIQUE DE LA PRODUCTION DE GRAINES CHEZ LA LUZERNE
(*MEDICAGO SATIVA L.*)**

Préparée à l'Unité de Génétique et d'Amélioration des Plantes Fourragères, INRA, 86600 Lusignan

Jury :

Mr	J. Hacquet	Ingénieur FNAMS	examineur
Mr	Y. Hervé	Professeur émérite de l'ENSA de Rennes	examineur
Mr	C. Huyghe	Directeur de recherche INRA	directeur de thèse
Mr	J. Le Guen	Directeur de recherche INRA	rapporteur
Mr	G. Lemaire	Directeur de recherche INRA	rapporteur
Mme	M.-T. Misset	Professeur de l'Université de Rennes I	examineur

Remerciements

Mes remerciements vont aux trois organismes qui ont rendu possible ma formation doctorale et mon séjour en France ; au Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) au Mexique qui m'a attribué la bourse pour réaliser un doctorat à l'étranger, à l'Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias (INIFAP), plus particulièrement au Campo Experimental de Huimanguillo, organisme où je travaille et qui m'a permis de m'éloigner de mes activités professionnelles pendant la durée de cette thèse, et à la Société Française d'Exportation de Ressources Humaines (SFERE) pour son accueil en France et son soutien dans les démarches administratives au cours des inscriptions à l'ENSAR.

Ce travail a été réalisé au sein de l'Unité de Génétique et d'Amélioration de Plantes Fourragères (UGAPF), INRA à Lusignan, sous la direction de M. Christian Huyghe, actuel directeur de cette station de recherche. Tout d'abord, je tiens à le remercier de m'avoir accepté pour la réalisation de cette étude. Je veux aussi lui exprimer toute ma reconnaissance franche pour sa grande disponibilité, intelligence et habileté pour diriger mon travail de thèse, caractères qui ont beaucoup aidé à la concrétisation de cette thèse. A ma co-encadrante, Bernadette JULIER-KOUBAITI, chercheuse responsable du laboratoire Légumineuses, je la remercie très sincèrement pour son soutien permanent et patient tout le long du développement et de la rédaction de cette thèse.

Que M. Yves Barrière, ancien directeur de l'UGAPF, INRA-Lusignan, trouve ici ma gratitude pour m'avoir permis de réaliser ce travail de thèse au sein de cette Unité.

Parmi les membres du Comité de thèse : M. Yves HERVE, Professeur émérite de l'ENSA de Rennes et qui m'a fait aussi l'honneur de présider le jury de thèse, M. Jacques HACQUET, Ingénieur de la Fédération Nationale des Agriculteurs Multiplicateurs de Semences (FNAMS) à Lusignan et qui a accepté de siéger dans le jury de cette thèse, M. Yannick HEBERT chercheur du laboratoire de maïs (INRA-Lusignan) et M. Jean-Louis DURAND chercheur de la Station d'Ecophysiologie de Plantes Fourragères (INRA-Lusignan), qui par l'aide qu'ils m'ont apportée au travers de leurs suggestions pendant les réunions de mon comité de thèse, ont largement contribué à l'amélioration de cette étude. Que M. HERVE soit assuré de ma profonde gratitude pour ses enseignements et son soutien constant pendant le DEA (de Génétique, Production et Adaptations Végétales) ainsi que pour sa gentillesse et sa bienveillance durant mon séjour en France.

Pour l'honneur qu'ils m'ont fait en acceptant de siéger dans mon jury, je tiens à remercier Messieurs Gilles LEMAIRE, directeur-adjoint du Département Environnement et Agronomie de l'INRA, et Joël LE GUEN, directeur de l'Unité de Génétique et d'Amélioration de Plantes de Rennes, qui ont bien voulu être rapporteurs de cette thèse, ainsi que M. le Professeur François LARHER, Professeur de l'Université de Rennes I qui a accepté d'être examinateur de ce travail.

Je ne pouvais pas oublier à mes anciens professeurs du DEA de l'ENSA de Rennes : M. Grégoire THOMAS, actuel responsable du DEA et à Mme Dominique BARLOY, pour leur soutien, leur disponibilité et leur attention pour éclairer mes doutes pendant les cours.

J'adresse également toute ma gratitude à Mme Aline GILLY, M. Joël JOUSSE et Mlle Déolinda DOS PENEDOS pour leur incomparable aide et assistance technique dans les travaux au champ. A M. Jacques PAPINEAU, M. Philippe CORMENIER, Mme Françoise DURAND, Mme Josiane FOURNEAU et à ma camarade de thèse Sylvie MARHADOUR par leur gentillesse et amitié toujours présente. Toute ma sympathie va plus particulièrement à mon ami M. Christian ECALLE qui a bien su m'accueillir pour rendre plus agréable mon stage en France. Il m'a appris énormément, tant sur le plan humain que professionnel. Mes remerciements à Dragan Djukic, chercheur de la faculté d'agronomie de Novi Sad en Yougoslavie, qui a participé à cette étude. Et aussi à mon amie et camarade de thèse et du laboratoire Légumineuses Françoise GUINES pour son amitié, sympathie et disponibilité pour me dépanner quand j'avais de problèmes avec SAS.

La presente está dedicada a mi esposa Luz del Carmen y a mis hijos Angel Eduardo y Carissa Luz, en quienes tengo depositado mi amor e inspiración para continuar siempre adelante. Por ellos soy. Y a mis padres, a quienes también quiero tanto, por darme educación, y a mis hermanos por su respeto y cariño verdadero.

Table des matières

Chapitre 1. Synthèse bibliographique: La luzerne et la production de semences	4
1.1 Taxonomie	4
1.1.1 Le genre <i>Medicago</i>	4
1.1.2 Le complexe <i>Medicago sativa</i>	4
1.1.3 Les variétés cultivées du complexe <i>Medicago sativa</i>	6
1.2 Importance socio-économique de la production de graines	7
1.3 Culture de la luzerne porte-graines	12
1.4. Elaboration du rendement grainer	14
1.4.1 Floraison et déclenchement	14
1.4.2 Pollinisation et fécondation	16
1.4.3 Ovules et fertilité des gamétophytes femelles	18
1.4.4 Croissance de la graine et avortement	20
1.4.5 Distribution de la matière sèche au cours de la croissance des organes reproducteurs	21
1.5 Les composantes du rendement en graines	25
1.5.1 Effet du génotype	26
1.5.2 Effet de l'environnement et des pratiques culturales	28
1.6 Relation des composantes du rendement entre plantes isolées et en couvert dense	33
1.7 Relation entre le rendement en graines et la production de fourrage	34
1.8 Conclusions	35
Chapitre 2. Effet du cultivar et de l'environnement sur le rendement en graines	37
2.1 Introduction	37
2.2. Article 1 : Effet du cultivar et de l'environnement sur le rendement en graines	38
ABSTRACT	38
MATERIALS AND METHODS	40
Cultivars and environments	40
Characters scored	41
Statistical analyses	43
RESULTS	45
Environment and cultivar effects	49
Cultivar x environment interaction	51
Trait correlations	51
DISCUSSION	53
ACKNOWLEDGEMENTS	55
REFERENCES	56
2.3. Discussion complémentaire	58
Chapitre 3. Etude génétique.....	62
3.1 Introduction	62
3.2 Variabilité génétique pour le rendement grainier et ses composantes.....	64
ABSTRACT	64
INTRODUCTION.....	65
MATERIALS AND METHODS	66
Plant material and experimental design	66
Plant characteristics.....	67
Statistical analysis	67
RESULTS.....	68
Among-population variation.....	68
Within-population variation	71
DISCUSSION	74
REFERENCES.....	75

3.3 Contrôle génétique du rendement grainier et de ses composantes	78
ABSTRACT	79
MATERIALS AND METHODS	79
Diallel design	79
Factorial design	80
RESULTS	80
Diallel design	80
Factorial design	81
DISCUSSION	82
REFERENCES	84
3.4 Discussion complémentaire	85
3.4.1. Définition d'un critère de sélection	86
3.4.2. Schéma de sélection utilisant le poids d'une inflorescence pour augmenter le rendement en graines de la luzerne.	89
3.4.3. Description du schéma de sélection:	90
Chapitre 4. Relation entre la biomasse et le rendement grainier.	95
4.1 Introduction	95
4.2. Relation entre le rendement en graines et la biomasse dans des cultures de luzerne porte-graines	96
ABSTRACT	96
INTRODUCTION.....	97
MATERIAL AND METHODS.....	98
RESULTS	100
Effect of Environmental Condition, Variety, Age of Stand, Sites and their Interactions.....	100
Relationships Between Traits.....	101
DISCUSSION	103
CONCLUSIONS	107
ACKNOWLEDGMENTS.....	107
REFERENCES	108
4.3 Discussion complémentaire	110
4.3.1 Présentation des essais FNAMS	110
4.3.2. Interprétation phytotechnique des essais FNAMS : effet des conditions de culture sur le rendement en graines	112
4.3.3. Interprétation des essais de la FNAMS par la relation biomasse - rendement	113
4.3.4. Des pratiques agricoles pour maximiser le rendement grainier via une augmentation de la biomasse	116
4.3.5 La relation entre biomasse et rendement grainier comme outil de diagnostic.	118
Conclusion générale et perspectives	119
Références bibliographiques	125

INTRODUCTION

La luzerne (*Medicago sativa* L.) est une légumineuse pérenne allogame et autotétraploïde cultivée sur plus de 33 millions d'hectares dans le monde, principalement en Europe Occidentale et Centrale, sur le pourtour de la Méditerranéenne et en Amérique du nord et du sud (Michaud *et al.*, 1988). En France, sa culture occupe environ 426 000 ha en culture pure (Agreste, 2000) et environ 250 000 ha en culture associée à une graminée fourragère. La production de semences occupe environ 12 500 ha pour une production annuelle de 4800 t, avec un rendement grainier moyen de 525 et 380 kg/ha en 1999 et 2000 respectivement. Sur cette production, environ 60% sont utilisés en France et 40% sont destinés à l'exportation (FNAMS, 2000). Le volume des exportations a varié de 1 500 à 4 500 t au long des 15 dernières années. Il existe un marché stable à destination de l'Europe du Nord (environ 800 t/an). Le reste est exporté vers les pays du Sud de l'Europe et en particulier l'Italie et les volumes sont alors fonction de la production locale. Au cours des 5 dernières années, un marché est apparu à destination de l'Argentine et des Etats-Unis. L'accès à ce marché est possible car les coûts de production en France sont limités, en particulier en raison de l'abondance des pollinisateurs naturels.

Les principaux atouts de cette culture fourragère sont son potentiel de production de biomasse aérienne, en particulier en été, la qualité de cette biomasse (teneur en protéines, ingestibilité et, dans une moindre mesure, digestibilité), sa pérennité et sa tolérance aux stress abiotiques comme la sécheresse et le froid. La résistance aux ravageurs et aux maladies a été fortement améliorée par sélection au cours des dernières décennies. Cependant, le succès commercial d'une nouvelle variété ne dépend pas uniquement de ces caractéristiques agronomiques mais aussi de sa capacité à produire des graines en quantité suffisante et de bonne qualité pour sa commercialisation. Si la productivité grainière n'est pas bonne, les semences seront trop chères pour les agriculteurs, et, par conséquent, le succès commercial de la variété sera limité.

Comme chez l'ensemble des légumineuses, la floribondité de la luzerne est élevée. Ainsi, sur la base du nombre de fleurs et du nombre d'ovules, Lorenzetti (1993) avait calculé un rendement potentiel théorique de 12 000 kg de graines par hectare. Même si cette valeur n'a aucune signification ni fondement biologique, la marge de progrès semble importante. Deux voies complémentaires doivent être envisagées pour augmenter le rendement grainier (Falcinelli, 2000) :

1) *L'amélioration des pratiques culturales.* Il s'agit d'identifier et d'utiliser des pratiques agronomiques qui favorisent le développement des tiges fructifères (Abu-Shakra *et al.*, 1969 ; Zambrana, 1972 ; Guy, 1975 ; Martiniello et Ciolla, 1994 ; Askarian *et al.*, 1995). Ceci a conduit à la mise en place de cultures spécifiquement destinées à la production grainière. Ainsi, dès 1957, Demarly indiquait qu'il n'est pas toujours possible d'obtenir de forts rendements en graines et en fourrage dans la même culture. En effet, pour favoriser la production de graines, des cultures " porte-graines " en lignes largement espacées favorisent la floraison, augmentent le nombre de tiges fructifères par plante, et améliorent l'activité des insectes pollinisateurs. En revanche, pour la production de fourrage, des cultures à forte densité sont nécessaires. En France, l'optimisation des pratiques agronomiques, une meilleure gestion des populations de pollinisateurs et le contrôle des ravageurs ont été les

principales raisons de l'augmentation du rendement grainier chez la luzerne, qui est passé de 200 à 500 kg/ha dans les 20 dernières années (Regambert et Nardi, 1998). Le choix des zones de production les plus adaptées a également permis cette progression.

2) *L'amélioration génétique*. L'amélioration génétique a pour objectif la création de variétés présentant un progrès pour différents caractères agronomiques ou relatifs à la valeur d'utilisation. Alors que des progrès importants ont été obtenus sur différents caractères agronomiques, le potentiel génétique de rendement grainier des variétés de luzerne a peu évolué depuis plusieurs dizaines d'années (Regambert et Nardi, 1998 ; Falcinelli, 2000). Ainsi, la variété Europe inscrite en 1961 au catalogue français de variétés se classe encore parmi les meilleures variétés pour la production de graines (Huyghe, 1997).

Les travaux d'amélioration génétique du rendement grainier de la luzerne sont rares. Dans les schémas de sélection utilisés actuellement, la production de graines n'est prise en compte qu'au terme du processus de sélection par l'évaluation en culture porte-graines des synthétiques de bonne valeur agronomique dont le dépôt à l'inscription est envisagé. La non-prise en compte de cet objectif lors des premières étapes de la sélection, et notamment en pépinière de plantes isolées s'explique pour partie par le fait que peu de critères de sélection sont disponibles. Par ailleurs, la crainte d'une corrélation négative entre la production de graines et la production de fourrage a limité les travaux cherchant l'amélioration de la production de graines par voie génétique chez les espèces fourragères. Quelques travaux ont visé à démontrer cette supposée corrélation négative entre le rendement grainier et la production de fourrage chez les légumineuses fourragères. Cependant, les résultats obtenus montrent soit une corrélation positive entre les deux variables, soit une absence de corrélation (Heinrichs 1965 ; Lorenzetti, 1981 ; Veronesi et Falcinelli, 1987). Il serait donc possible d'augmenter génétiquement le rendement grainier chez la luzerne sans affecter négativement la production de fourrage.

Ainsi, **les enjeux de ce travail de thèse** sont au nombre de trois :

1. la viabilité économique de l'activité de production de semences pour les agriculteurs multiplicateurs,
2. la compétitivité de la filière française et la possibilité d'accéder aux marchés internationaux en réduisant les coûts de production,
3. le développement commercial des variétés issues des programmes de sélection en cours dans les différentes entreprises de sélection françaises et européennes contribuant ainsi à la dissémination effective du progrès génétique sur l'ensemble des caractères agronomiques.

Pour répondre à ces enjeux, **l'objectif scientifique** de ce travail est de **comprendre les bases agronomiques et génétiques du rendement grainier de la luzerne**.

Cet objectif peut être décliné en trois sous-objectifs :

1. déterminer l'effet du cultivar et du milieu dans les variations de rendement grainier,
2. définir un ou des critères de sélection utilisables en plantes isolées. Pour ces critères potentiels, il faudra identifier :
 - la variabilité génétique disponible,
 - l'hérédité
 - les corrélations phénotypiques et génétiques avec le rendement grainier,
 - la possibilité de les mesurer sur de grands effectifs de plantes.
3. identifier les bases biologiques de variations du rendement en graines liées au milieu et en particulier la contribution des variations de biomasse aérienne.

Pour atteindre ces objectifs, la thèse a été organisée de la manière suivante :

Le **Chapitre I** est une étude bibliographique. Elle comporte une brève description botanique et phytotechnique de la luzerne, et les facteurs qui interviennent dans l'élaboration du rendement grainier. Elle analyse la relation entre le rendement grainier et ses composantes en plantes isolées et en plantes en couvert dense.

Le **Chapitre II** analyse l'effet du cultivar et de l'environnement sur le rendement grainier sur la base d'un dispositif comportant 12 variétés étudiées en quatre lieux et pendant trois années. A partir des résultats de cette étude, les questions génétiques et agronomiques de la production de graines sont posées.

Le **Chapitre III** est consacré à l'étude génétique. Il comprend tout d'abord une étude de la variabilité génétique disponible pour les composantes du rendement grainier, en analysant à la fois la variabilité entre populations et la variabilité à l'intérieur des populations. Ce chapitre comprend également une analyse génétique reposant sur l'étude de la descendance F1 d'un plan de croisement diallèle et d'un plan de croisement factoriel. Pour conclure ce chapitre, une discussion présente un schéma de sélection possible pour prendre en compte le rendement grainier dans l'amélioration génétique des variétés de luzerne.

Le **Chapitre V** est réservé à l'étude agronomique. Ce chapitre analyse principalement la relation entre la biomasse disponible au moment de la récolte des graines et le rendement grainier sur un dispositif expérimental comprenant deux variétés de luzerne, choisies parmi les témoins lors de l'inscription des variétés au Catalogue Officiel français, dans un ensemble de 29 conditions environnementales. Les relations mises en évidence sur la base de ce dispositif seront validées en utilisant un jeu de données indépendantes issues de travaux préalablement conduits par la FNAMS (Fédération Nationale des Agriculteurs Multiplicateurs de Semences) et de données issues de la littérature internationale.

Le **Chapitre VI** est consacré à la conclusion et à la présentation des perspectives issues de l'ensemble des résultats de ce travail de thèse.

Chapitre II

Effet du cultivar et de
l'environnement sur le
rendement en graines

Chapitre 1. Synthèse bibliographique: La luzerne et la production de semences

1.1 Taxonomie

1.1.1 Le genre *Medicago*

Le genre *Medicago* appartient à la famille des Faboïdées, il est proche des genres *Melilotus* et *Trigonella*. Trois niveaux de ploïdie sont trouvés parmi le genre *Medicago* spp., diploïdes ($2n=2x=14$ ou $2n=2x=16$), tétraploïdes ($2n=4x=32$) et exceptionnellement hexaploïdes ($2n=6x=48$). Le nombre chromosomique de base est $x=8$, sauf pour les espèces annuelles *M. constricta* Dur., *M. praecox* DC., *M. polymorpha* L., *M. rigidula* (L.) All., et *M. murex* Willd. dont la base chromosomique est $x=7$ (Quiros et Bauchan, 1988). Lesins et Lesins (1979) essentiellement sur la base de la morphologie des gousses et des graines classent le genre *Medicago* en 4 sous-genres : *Lupularia*, *Orbicularia*, *Medicago* et *Spirocarpos*. Parmi les 55 espèces de *Medicago* décrites par Lesins et Lesins (1979), seulement une dizaine sont cultivées. La plupart se rencontrent dans les pâturages et les parcours, en particulier en zones méditerranéennes (Prospéri *et al*, 1995).

1.1.2 Le complexe *Medicago sativa*

Les espèces pérennes cultivées, *M. falcata*, *M. sativa*, *M. glomerata*, *M. glutinosa* et *M. prostrata*, appartiennent à la section *Falcago*, sous-section *Falcatae*, alors que *M. arborea* et *M. lupulina*, appartiennent aux sections *Arborea* et *Lupularia* respectivement. Il existe de nombreuses possibilités d'inter-croisements entre les formes diploïdes et/ou les formes tétraploïdes de ces espèces que Lesins et Lesins (1979) décrivent comme un complexe d'espèces, nommé au sens large le complexe *Medicago sativa*. Toutes les espèces de ce complexe peuvent s'hybrider avec *M. sativa*. Dans ce complexe, certains auteurs donnent une classification en espèces (Lesins et Lesins, 1979), d'autres en sous-espèces (Quiros et Bauchan, 1988). La classification en sous-espèces est justifiée car il n'existe pas de barrières à l'hybridation. L'unique barrière à l'échange de gènes au sein du complexe est le niveau de ploïdie, mais cette barrière peut être surmontée par la génération de gamètes non réduits (Quiros et Bauchan, 1988). Par ailleurs, Lesins et Lesins (1979) admettent le classement en sous-espèces sur la base de l'hérédité des caractères, la fertilité des hybrides et leur survie en conditions expérimentales.

Des différences morphologiques subtiles résultant de recombinaisons génétiques ont été utilisées pour identifier de nouvelles espèces ou sous-espèces. Avec la recombinaison des caractères parentaux, de nombreux types d'hybrides ont été produits, du fait de la grande

variabilité entre et au sein des sous-espèces parentales que sont *M. sativa*, *M. falcata* et *M. glutinosa* (Quiros et Bauchan, 1988).

Des éléments cytologiques et génétiques basés sur un grand nombre de formes diploïdes et tétraploïdes de *M. sativa* et *M. falcata* montrent qu'elles ont un ancêtre commun. Cependant, de grandes différences de génome cytoplasmique ont été mises en évidence. Cette proximité génétique justifie l'interprétation de Gunn *et al* (1978), cités par Quiros et Bauchan (1988), de *M. falcata* comme étant *M. sativa ssp falcata*. De façon similaire, des études cytologiques sur *M. glutinosa* et *M. sativa* autorisent la dénomination *M. sativa ssp glutinosa*. Ainsi, dans le complexe, il existe quatre sous-espèces principales *ssp sativa*, *ssp falcata*, *ssp X varia* et une moins diversifiée, *ssp glutinosa*.

Les processus de différenciation par isolement géographique d'une part et la possibilité de transition entre niveaux de ploïdie par la production de gamètes non réduits d'autre part sont probablement les deux mécanismes qui permettent d'expliquer l'évolution de l'ensemble de ce complexe d'espèces. Un schéma possible d'évolution d'après Lesins et Lesins (1979) est présenté sur la figure 1. Toutes ces espèces ont subi une forte évolution génétique dans l'espace et dans le temps due à une grande diversité des conditions pédoclimatiques ainsi qu'à une sélection par l'homme. Plus de la moitié des écotypes et variétés de luzerne cultivés actuellement provient de l'intercroisement des formes pérennes tétraploïdes de *M. sativa* et *M. falcata* (Lesins et Lesins, 1979).

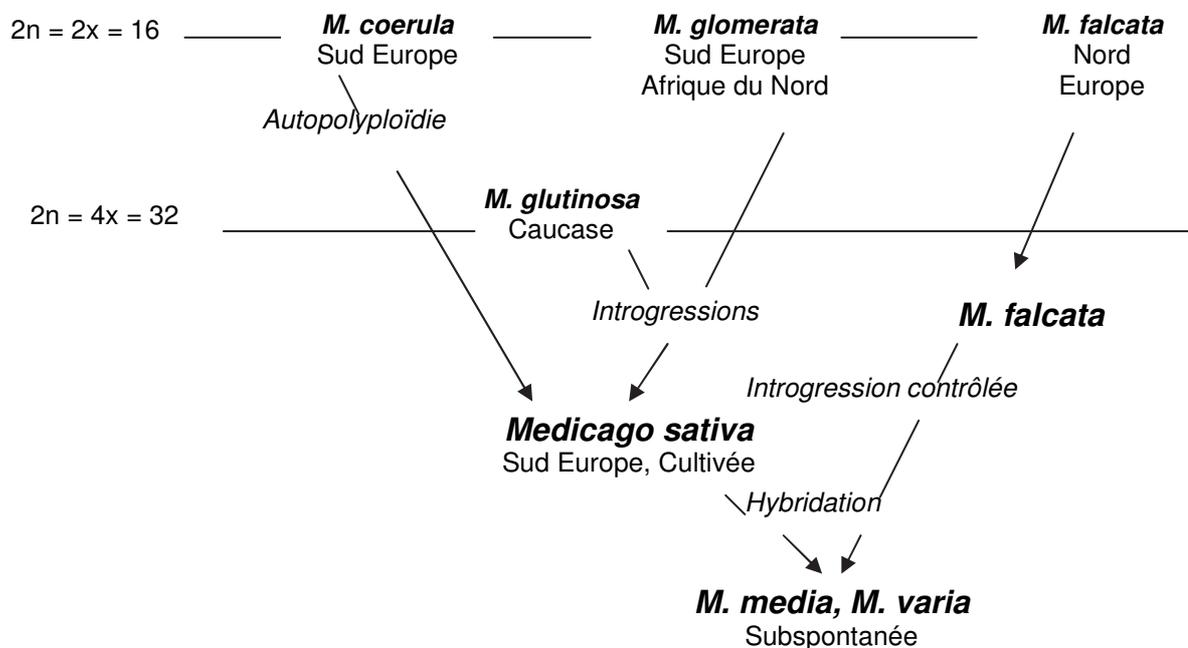


Figure 1.1 Evolution de la luzerne vers les types cultivés (d'après Lesins et Lesins, 1979)

Selon Vavilov (1951) cité par Michaud *et al* (1988), le centre d'origine de *M. sativa* est le Proche-Orient, l'Asie Mineure, la Transcaucasie, l'Iran et les régions hautes du Turkménistan. Le centre géographique le plus souvent mentionné est l'Iran. Ces régions sont caractérisées par des hivers froids et des étés chauds et secs, des sols bien drainées à pH neutre. Des populations issues de ces régions constituent tout ou partie de certaines variétés européennes. Sinskaya (1950) citée par Bolton (1972) et Michaud *et al* (1988) ajoutent un second centre de diversification en Asie centrale caractérisé par un climat sec et des hivers doux. Les luzernes résistantes à certaines maladies avec une forte croissance en conditions sèches seraient issues de ces populations. Enfin, des populations issues de prospections dans le Sud de la Péninsule Arabique et dans le Nord de l'Inde, constituent des sources de variation pour la sélection de variétés très peu dormantes adaptées aux climats chauds, sensibles au froid et ne marquant pas d'arrêt de croissance en périodes automnale et hivernale (aussi qualifié de dormance) (Smith *et al*, 1991, 1995).

Sinskaya (1950) situe le centre d'origine de *M. falcata* dans les régions de steppe forestière d'Asie Centrale et du Nord. Son aire de répartition actuelle s'étend depuis l'Europe de l'Ouest et du Nord à la Sibérie centrale. Cette espèce se rencontre essentiellement à l'état spontané. Elle est fréquente dans les steppes depuis la rive septentrionale de la Méditerranée (Bulgarie, Grèce et France) jusqu'aux limites Nord de la Russie (Prospéri *et al*, 1995). Elle est particulièrement adaptée aux régions froides et aux étés secs. Elle se caractérise par une dormance automnale très marquée. Dans toute la zone de répartition géographique, on rencontre des formes diploïdes et des formes tétraploïdes. Les caractéristiques morphologiques essentielles des sous-espèces *sativa* et *falcata* sont présentées dans le Tableau 1.1.

Tableau 1.1. Quelques différences morphologiques entre *Medicago sativa* L. et *Medicago falcata* L. (d'après Demarly, 1957).

Espèce	Racines	Port	Tiges	Folioles	Fleurs	Gousses
<i>Medicago sativa</i>	Pivotantes	Dressé	Fortes	Ovoïdes	Violettes	Spiralées
<i>Medicago falcata</i>	Fasciculées	Étalé	Fines	Étroit	Jaunes	En faucille

1.1.3 Les variétés cultivées du complexe *Medicago sativa*

La contribution de la sous-espèce *falcata* au fond génétique des variétés est plus importante chez les variétés adaptées aux conditions froides et nordiques. Ceci est en particulier révélé par la proportion de fleurs jaunes et de fleurs bigarrées dans les variétés et populations (Crochemore *et al*, 1998). La variabilité génétique disponible au sein de ce complexe d'espèces a permis aux sélectionneurs de créer des variétés adaptées aux différentes contraintes climatiques.

En France, toutes les populations locales sont constituées de combinaison, en proportions variables, de *Medicago sativa* L. et d'hybrides qui en sont souvent assez proches. Ces populations sont classées en trois groupes (Demarly, 1957) :

- 1) Luzerne de type **Provence**, avec des caractéristiques essentiellement de type *sativa* et peu du type *varia*. Ces plantes présentent des fleurs violettes, sont résistantes à la sécheresse, tolèrent les coupes fréquentes mais sont sensibles au froid.
- 2) Luzerne de type **Flamand**, essentiellement des *Medicago sativa x varia*, sont plus proches du type *falcata* que les types Provence. Ces plantes présentent des fleurs bigarrées, elles sont résistantes au froid et très productives sous des régimes de 3 à 4 coupes par an. La plupart des variétés du type Flamand sont résistantes à la verse suite à un gros effort de sélection en ce sens.
- 3) Luzerne de type **Marais de l'Ouest**, où les caractères *varia* sont plus marqués. Le port est plus étalé et les fleurs sont bigarrées. Les plantes sont assez sensibles au froid, mais avec une certaine tolérance à l'excès d'eau.

1.2 Importance socio-économique de la production de graines

Le rôle socio-économique de la luzerne est dû essentiellement à sa productivité fourragère, sa richesse en protéines et énergie et surtout à la multiplicité d'usages qu'elle peut permettre comme la pâture, le fourrage vert, le foin, l'ensilage, la déshydratation et, potentiellement, la production de fibres pour l'industrie de la papeterie (Talamucci, 1994). En France, la culture de la Luzerne représente 426 000 ha en culture pure (Agreste, 2000), dont 100 000 ha sont utilisés par l'industrie de la déshydratation (Semences et Progrès, 2001) et surtout localisés en Région Champagne-Ardenne (SNDF, communication personnelle). A ces surfaces, il convient d'ajouter 250 000 ha utilisés en association avec une graminée, pour l'essentiel le dactyle ou la fétuque élevée.

En dehors de la déshydratation, la luzerne est essentiellement utilisée en foin, le second usage étant l'ensilage, en général pratiqué sur la première coupe de printemps. Le mode d'utilisation le moins fréquent est le pâturage, essentiellement pratiqué avec des ovins. Ce mode est peu utilisé avec les bovins en raison des risques de météorisation encourus en cas de pâturage de luzerne mal maîtrisé (Mauriès, 1994). On rencontre aussi dans le cas des ovins et des caprins des alimentations en vert, ce mode de pratique tendant à décroître dans le cas de troupeaux de grande taille.

Cependant, le développement commercial d'une variété ne dépend pas uniquement de ses qualités fourragères, mais aussi de sa faculté à produire des graines en quantité suffisante pour sa commercialisation. Dans le cas d'une productivité grainière faible, les semences seront disponibles aux agriculteurs à un prix élevé et la variété nouvelle à commercialiser, quels que soient ses mérites agronomiques, ne pourra avoir de développement commercial significatif (Lorenzetti, 1993 ; Gayraud, 1994 ; Lonnet, 1996 ; Falcinelli, 2000). En conséquence, le prix de la semence est un critère essentiel pour la diffusion des variétés. L'indice de productivité grainière indiqué dans le catalogue français des variétés est calculé par rapport à la moyenne de 3 variétés témoins (Europe et Sitel, variétés de type flamand inscrites en 1961 et 1980, respectivement ; et Magali, variété de type Provence inscrite en 1971) dans les essais réalisés en pré-inscription (Tableau 1.2). Les essais conduits dans un réseau commun FNAMS-GEVES (Fédération Nationale des Agriculteurs de Semences et Groupement d'Etudes des Variétés et Semences) représentent en général 15 années-récoltes (lieux et années) pour chaque variété, mais les résultats sont indicatifs et ne sont pas pris en compte pour l'inscription des variétés.

Le marché mondial des semences de luzerne est évalué à 120 000 tonnes par an. Les Etats-Unis et le Canada sont les principaux producteurs avec un total d'environ 50 000 t/an. La France, la Hongrie et l'Argentine sont les autres principaux producteurs³. Les principaux marchés pour l'exportation de semences de luzerne sont l'Amérique du Sud, le Moyen-Orient et l'Afrique du Sud. Les échanges à l'intérieur des grandes unités géographiques sont également importants, en particulier au sein de l'Europe, au sein de l'ALENA (Accord de libre échange nord-américain formé par le Canada, les Etats Unis et le Mexique) et dans une moindre mesure l'Amérique du Sud (Figure 1.2). Selon la FNAMS (FNAMS, 2000), le marché européen fluctue autour de 12 000 t/an, dont 2 900 t pour le marché intérieur français.

En France les rendements sont très fluctuants selon les régions et les années, mais la tendance générale montre une progression depuis 20 ans (Figure 1.3). La culture porte-graine est concentrée dans les départements de Midi-Pyrénées, Poitou-Charentes et surtout Pays de Loire (Figure 1.4). En 1999, la surface de culture de luzerne porte-graines en France était de 13 421 ha avec une production grainière moyenne de 0.7 t/ha, ce rendement moyen étant toutefois exceptionnel. En certaines zones, les rendements ont même atteint 1 t et parfois 1.4 t/ha. La moyenne annuelle des exportations entre 1988 à 1997 était de 2 200 t avec une variation de . Les principaux pays acheteurs étaient, dans l'ordre d'importance : l'Allemagne (500 à 1 000 t), l'Italie (200 à 1 100 t), les Pays-Bas et l'Argentine (100 à 300 t). L'Argentine est devenue une destination importante, où la France est compétitive par rapport aux Etats-Unis (FNAMS, 2000).

³ http://www.agric.gov.ab.ca/economic/marketing_manual/cp_comodities/spcom_mz.html

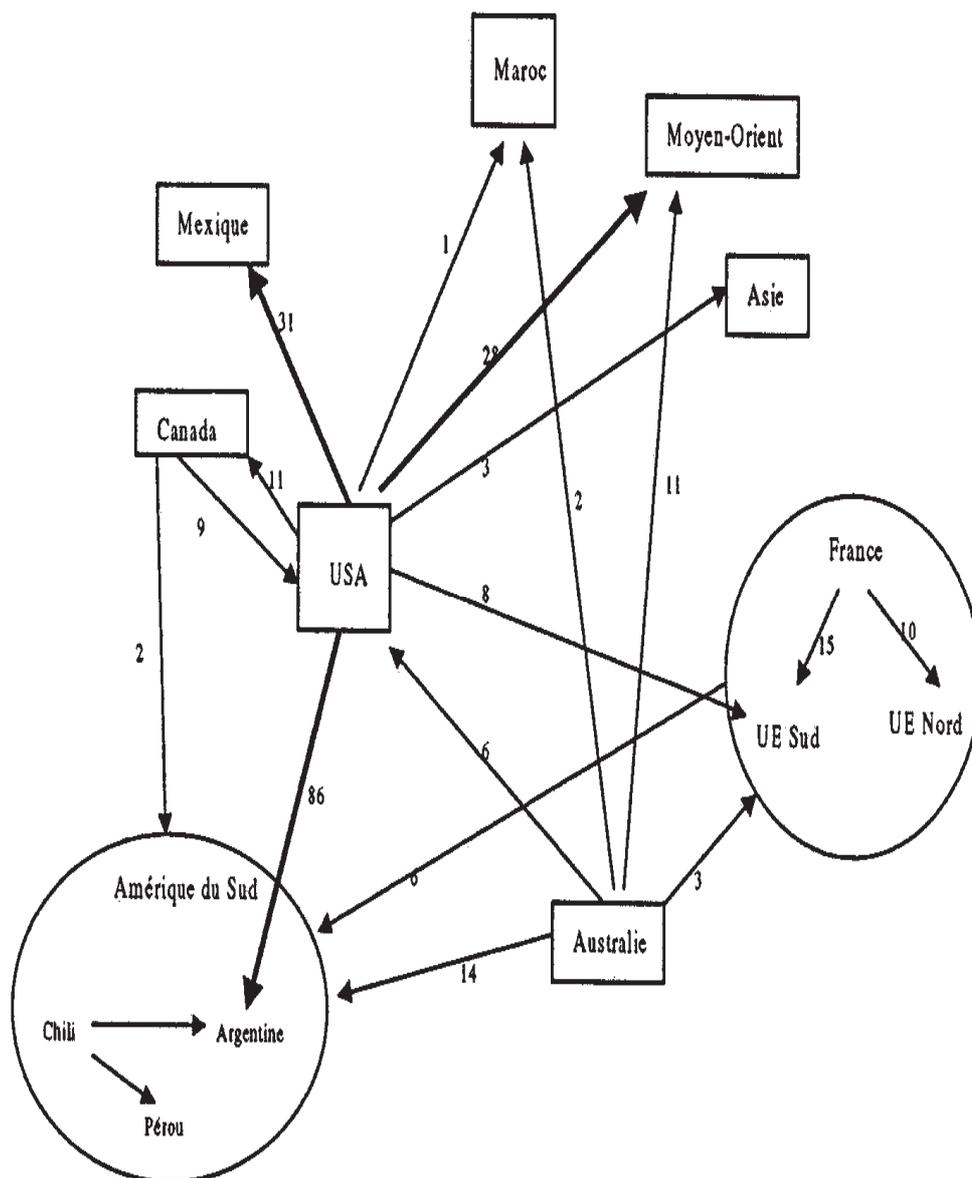


Figure 1.2. Echanges mondiaux de semences de luzerne en 1997 (en 1000 qx). D'après Huyghe (2000).

Tableau 1.2 Productivité grainière des variétés de luzerne et résistance à la verse (d'après FNAMS, 2000).

Liste A	Variété et année d'inscription	Obtenteur ou représentant commercial	Résistance à la verse (9 = TB)	Indice de productivité grainière ¹
Type	Alégro (1984)	Verneuil-Semences	moyenne	98
Flamand	Aubigny (1999)	Lafite	6.1	96
	Alizé (1983)	Semunion Verneuil	moyenne	105
	Barallix (2000)	Barenbrug Holland (NL)	bonne	99
	Belfeuil (1983)	Barenbrug France	très bonne	101
	Bella (1990)	Barenbrug France	6.9	110
	Cannelle (1998)	RAGT	5.8	111
	Capri (1992)	Florimond Desprez	6.6	104
	Comète (1996)	Semences Vertes	6.9	113
	Concorde (1987)	Plan Semences	bonne	103
	Daisy (1990)	Force Limagrain	6.3	104
	Daphné (1996)	Florimond Desprez	7.0	99
	Défi (1988)	Barenbrug France	moyenne	106
	Derby (1981)	Barenbrug France	moyenne	102
	Diane (1991)	Semunion Verneuil	6.7	107
	Europe (1961)	Florimond Desprez	7.1	107
	Euver (1976)	Florimond Desprez	moyenne	111
	Fauna (1993)	E. Schmidt	5.7	94
	Harpe (1996)	Semunion Verneuil	8.0	111
	Janu (1990)	Barenbrug France	6.6	99
	Jersey (1991)	Florimond Desprez et Plan S.	6.9	112
	Julia (1994)	Semences Vertes	7.2	100
	Kali (1997)	Semunion	7.6	112
	Kara (1979)	Florimond Desprez	bonne	108
	Lifeuil (1982)	RAGT	assez bonne	100
	Luzelle (1993)	Semunion Verneuil	(5)	93
	Marshal (1997)	Pionner Genetique (US)	5.8	106
	Maya (1986)	Florimond Desprez	assez bonne	110
	Mercedès (1994)	Force Limagrain	5.4	101
	Orca (1966)	Carneau Frères	très bonne	100
	Pécy (1988)	RAGT	moyenne	107
	Recor (1990)	Advanta France	5.8	97
	Résis (1977)	Force Limagrain	moyenne	109
	Rival (1988)	Pionner Genetique (US)	faible	102
	Sanditi (1995)	Barenbrug France	5.2	104
	Ségala (1997)	Force Limagrain	5.1	96
	Sitel (1980)	Barenbrug France	6.5	101
	Symphonie (1999)	Florimond Desprez	5.9	98
	Tango (1991)	Semences Vertes	6.4	110
	Vermont (1995)	Fertiberry Semences	5.8	100
Type	Estérel (1990)	Barenbrug France	5.6	94
Provence	Lobo (1998)	Plan Semences	4	93
	Magali (1971)	Plan Semences	5.2	92
	Marina (1990)	Barenbrug France	-	98
	Médalfa (1988)	Semences Vertes et Semunion	5.6	106
	Meldor (1995)	Advanta France	faible	94
	Midi (1987)	Semunion Verneuil	6.4	95
	Oro (1991)	Barenbrug France	-	90
Liste B				
Type	Coral (1993)	Pionner Genetique (US)		100
Flamand	Delfo (1992)	Pionner Genetique (US)		93
	Frankenneu (80)	Ernest Schmidt (D)		108
	Kiliana (1988)	Bayerrische Pflanz (D)	Non	97
	Luisante (1998)	INRA	Référencé	88
	Opal (1993)	Pionner Genetique (US)		102
	Progress (1991)	Prodana Seed (DK)		106
	Verko (1984)	Veb (D)		104
	Weibull B7 (94)	Weibull (S)		86
Type	Carmen (1990)	Green Genetics		84
Provence	Medina (1990)	Barenbrug France	Non	77
	Zenith (1993)	Florimond Desprez	référencé	109

¹ Indice calculé par rapport aux variétés Europe, Sitel et Magali.

Liste A : variétés ayant subi avec succès en France les épreuves de distinction, homogénéité, stabilité (DHS), ainsi que les tests de valeur agronomique et technologique (VAT).

Liste B : variétés ayant subi avec succès en France les épreuves de distinction, homogénéité, stabilité (DHS), mais pas les épreuves VAT.

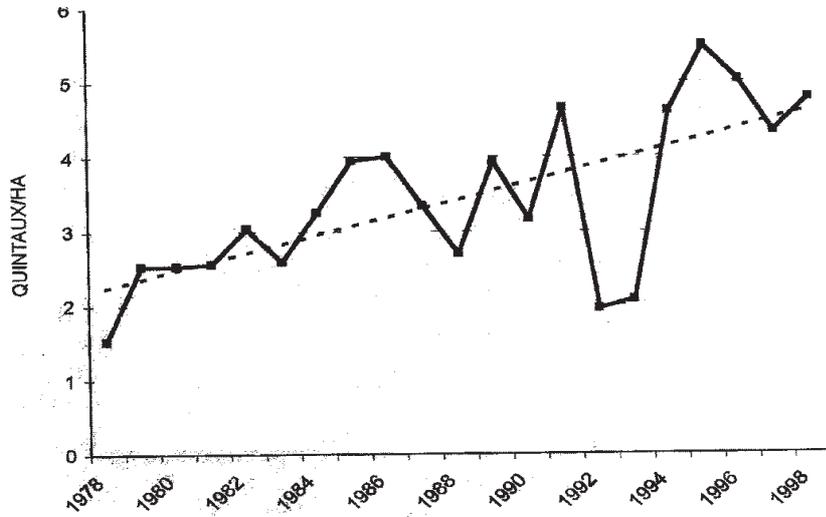


Figure 1.3 Evolution des rendements grainiers de luzerne dans les 20 dernières années. Rendement (—), Tendance (----). D'après FNAMS (2000).

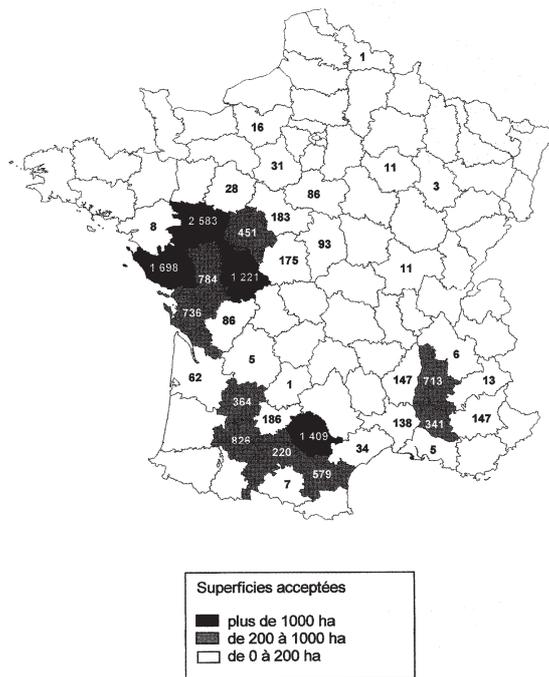


Figure 1.4. Superficies des cultures de luzerne en 1999 en France. D'après FNAMS (2000).

1.3 Culture de la luzerne porte-graines

En France, la luzerne porte-graines est implantée au printemps (de fin février à mi-avril) ou à la fin de l'été (de mi-août à mi-septembre) selon les régions. La dose de semis est de 3 à 4 kg/ha en sol nu bien préparé. Les semis sont superficiels à une profondeur de 1 cm et avec des écartements entre lignes de 35 à 70 cm en fonction de la capacité de rétention en eau du sol (FNAMS, 2000). Les cultures de luzerne porte-graines sont laissées en place pendant 3 ans, mais la production de graines est souvent maximale en deuxième année. La floraison s'étale sur un mois (Hacquet, 1986). La maturité échelonnée des inflorescences le long de la période reproductive de la plante fait que certaines gousses sont mûres et prennent une couleur brun-noir, alors que d'autres sont encore vertes. Comme la floraison commence par la base de la tige, il n'est pas rare d'observer, sur la même tige, des gousses en formation et au sommet les derniers boutons floraux.

En production de semences, la récolte est préconisée lorsque 80% des gousses sont noires ou brunes sur l'ensemble de la plante (Genter, 1995). Selon Hacquet (1987), une végétation exubérante due à une alimentation excessive en eau pendant toute la phase de croissance de la plante est nuisible à la bonne fructification de la luzerne. En effet le développement excessif de la masse foliaire provoque une verse précoce et gêne l'accès des pollinisateurs qui ne peuvent plus atteindre toutes les fleurs cachées. La floraison et le taux de déclenchement sont d'autant plus diminués que la verse est précoce.

Une pratique agronomique très utilisée en plantes fourragères pour réguler les productions excessives de matière sèche dans la partie aérienne de la plante est la pré-coupe. En effet, la pré-coupe réalisée au printemps, quand les plantes atteignent 40 à 50 cm, permet de modérer le développement végétatif et de façonner une structure de la plante plus favorable à la mise à graine : port dressé, couvert aéré avec un éclaircissement plus important du bas du couvert. Le nombre de ramifications par tige est également plus élevé. La pré-coupe provoque une réduction de la production de matière sèche, mais permet aussi de retarder et de regrouper la floraison vers une période de l'année plus propice à l'activité maximum des pollinisateurs avec des températures et des longueurs du jour en général plus élevées. Cependant, il peut s'agir aussi de périodes plus sèches. Ceci peut devenir un facteur limitant (Hacquet, 1986). Kowithayakorn et Hill (1982) ont observé que les plantes coupées à 7 cm au-dessus du sol ont eu une repousse plus rapide et un rendement grainier plus élevé que celles coupées à un 1 cm de hauteur. En effet une coupe très rase conduit à l'élimination d'un nombre important de bourgeons et donc à la repousse de moins de tiges. Durant l'année de semis, les rendements en graines les plus élevés sont obtenus en l'absence de pré-coupe. En effet, une pré-coupe limite alors de façon considérable la production de biomasse et induit des floraisons très tardives.

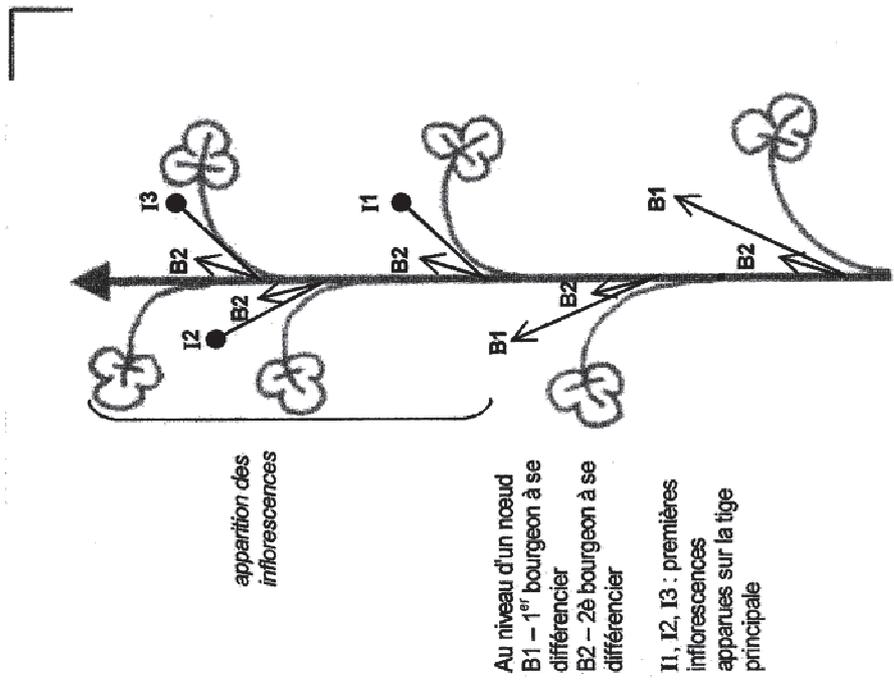


Figure 1.5. Représentation schématique de la croissance de la luzerne. Stade début floraison. D'après FNAMS (2000).

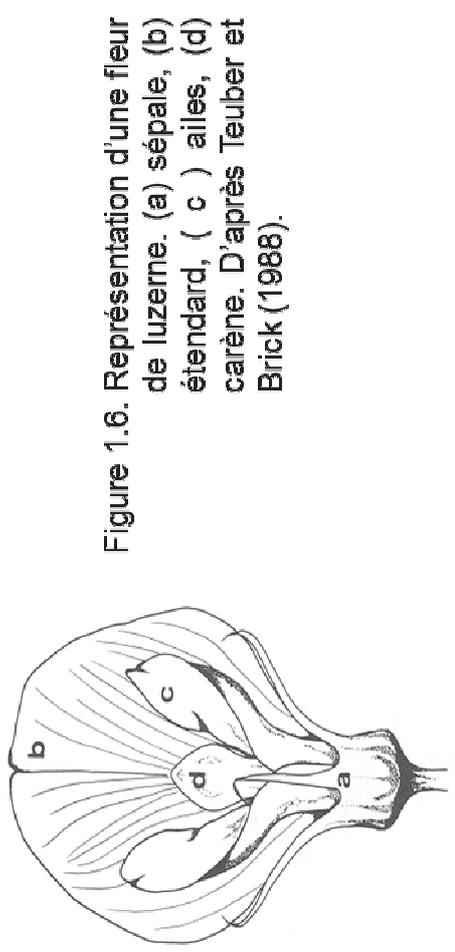


Figure 1.6. Représentation d'une fleur de luzerne. (a) sépale, (b) étendard, (c) ailes, (d) carène. D'après Teuber et Brick (1988).

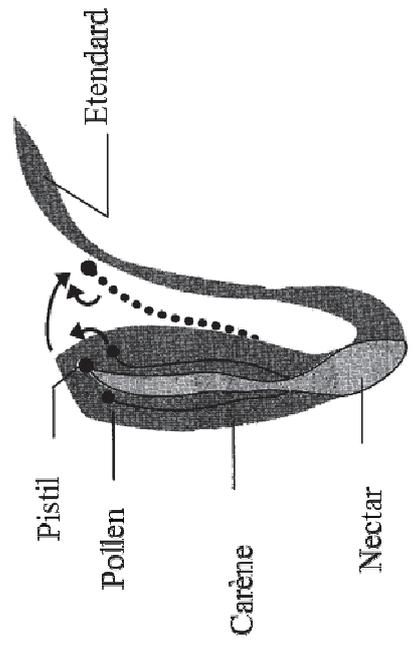


Figure 1.7. Déclenchement de la fleur. Lors de la visite des pollinisateurs, la carène de la fleur s'ouvre, le pistil et les étamines sont projetés vers l'étendard (le grand pétale). D'après Hacquet (1988).

1.4. Elaboration du rendement grainer

1.4.1 Floraison et déclenchement

Les inflorescences se différencient d'abord à partir des bourgeons axillaires de la zone apicale de la tige principale, par étages successifs, puis à partir des extrémités des ramifications sur la plante entière. Simultanément à la différenciation des inflorescences, la production d'entre-nœuds se poursuit sur la tige principale et les ramifications. La première indication qu'un primordium foliaire passe de l'état végétatif à l'état floral est la formation de protubérances du tissu méristématique à l'aisselle du primordium foliaire du sommet de la tige principale (Dobrenz *et al.*, 1965). L'apparition des inflorescences est de type acropète sur la tige principale et sur les ramifications (Figure 1.5). Le passage à l'état floral et la floraison sont accélérés par des jours longs et des températures élevées (Teuber et Brick, 1988).

Au champ et d'avril à septembre, Dobrenz *et al.* (1965) ont évalué l'effet de la température maximale et minimale, dès début floraison, sur le développement morphologique de luzerne avec et sans pré-coupe. Pendant cette période, les températures ont varié de 6 à 35 °C. Mesurée en nombre de jours depuis la coupe, l'initiation florale est d'autant plus précoce quand la température est élevée. Ces auteurs ont également observé une réduction significative du niveau d'insertion de la première inflorescence sur la tige principale (mesuré en nombre de nœuds) quand la température minimale était la plus élevée (18 à 21 °C). Ces résultats sont en accord à ceux de Blondon *et al.* (1979) et Nittler et Kenny (1964). Ceci explique que le temps nécessaire à l'initiation décroît quand la température augmente et que les cultures pré-coupées fructifient généralement plus bas.

La lumière et la température conditionnent également la vitesse de développement des inflorescences (mais aussi l'activité des insectes pollinisateurs), la nouaison, la croissance et la maturation des gousses. La luzerne est considérée comme une plante de jours longs (Massengale et Medler, 1958 ; Nittler et Kenny, 1964) car la floraison est obtenue plus précocement sous une lumière continue. Chez deux types éloignés de luzerne, l'une d'origine méditerranéenne (Gabès), l'autre d'origine nordique (Luciole), Guy *et al.* (1971) ont obtenu une croissance végétative rapide et une floraison précoce avec un éclaircissement continu, quelle que soit la température.

Le déclenchement de la fleur (les fleurs sont regroupées en inflorescences comportant 15 à 30 fleurs) est nécessaire pour obtenir la pollinisation. La fleur (Figure 1.6) est déclenchée quand la force cohésive entre les deux pétales de la carène est rompue sous la pression de la colonne reproductrice (Figure 1.7). Cette rupture peut être provoquée par des conditions environnementales, chimiques, ou par l'application d'une pression mécanique par l'homme, les abeilles ou d'autres agents pollinisateurs (Kreitner et Sorensen, 1985 ; Knapp et Teuber, 1994).

En champs commerciaux de luzerne dans le Nord-Ouest des Etats-Unis, avec plus de 25000 pollinisateurs [*Megachile rotundata* (F.)] par hectare assurés par l'apport de ruches, Strickler et Freitas (1999) ont démontré qu'il existe une forte interaction entre la dynamique du nombre de fleurs disponibles pour la pollinisation et la population de pollinisateurs. Lorsque les pollinisateurs sont apportés au début de la floraison, leur population croît au même rythme que le nombre de fleurs ouvertes, et ceci durant deux semaines. Au delà, la population d'insectes reste constante alors que le nombre de fleurs ouvertes décroît de façon exponentielle en raison du flétrissement rapide des fleurs après leur déclenchement. Ce déclin du nombre de fleurs est accéléré si la culture rencontre des conditions chaudes et sèches. De plus, selon Strickler (1999), quand la quantité de fleurs disponible est très importante, la nouaison pourrait diminuer en raison d'une augmentation de l'autopollinisation et conduire à un rendement grainier plus faible. Ceci souligne l'intérêt d'un apport précoce de pollinisateurs extérieurs quand la population naturelle est insuffisante. Cela met également en évidence l'intérêt de préserver les populations naturelles qui assureront le déclenchement des fleurs dès leur apparition et dont l'effectif évoluera en fonction de la floribondité des cultures de luzerne porte-graines.

Tasei (1978) a montré qu'en France, le déclenchement des fleurs est essentiellement le fait d'espèces sauvages : abeilles terricoles et bourdons, dont *Melitturga clavicornis*, *Andrena labialis*, *A. ovaluta*, *A. flavipes*, *Melitta leporina*, *Halictus marchali*, *Eucera clypeata*, *E. longicornis*, *Bombus terrestris* et *B. agrorum*. Les abeilles domestiques sont des pollinisateurs peu efficaces car elles déclenchent 2% seulement des fleurs visitées (Rincker *et al*, 1988 ; Knapp et Teuber, 1990). En fait, Tasei (1978) a montré qu'il n'y avait pas de relation entre la densité des abeilles domestiques et le rendement grainier chez la luzerne. On a estimé à environ 0.1 fleur par minute le déclenchement réalisé par une abeille domestique, alors que les espèces terricoles déclenchent 5 à 15 fleurs par minute. En France, on a aussi estimé des populations de pollinisateurs de 200 à 700 individus par hectare (la fréquence de chaque espèce varie selon la région, le mois et l'année), et exceptionnellement jusqu'à 2500 par hectare (Hacquet, 1998). En France le déclenchement des fleurs par des insectes pollinisateurs natifs n'est pas un facteur limitant. Par contre, en Amérique du Nord, la situation est totalement différente avec des populations naturelles de pollinisateurs quasiment absentes et des abeilles domestiques ou des mégachiles doivent être apportées sur les parcelles. Cet apport constitue un des principaux coûts financiers de la production de semences de luzerne dans ces pays.

Les facteurs de l'environnement (faible humidité relative) qui provoquent la perte de turgescence dans la zone de jonction des deux pétales de la carène peuvent faire que les deux pétales de la carène soient plus facilement dégagés par l'activité du pollinisateur (Kreitner et Sorensen, 1985). Knapp et Teuber (1990) ont mis en évidence des différences de facilité de déclenchement entre clones de luzerne. Dans les conditions californiennes, ils ont montré, dans un même pool génétique, que les plantes ayant un déclenchement facile avaient 2.3 fois plus de fleurs déclenchées et 41% de rendement en graines de plus que celles ayant un déclenchement difficile.

Ces auteurs concluent qu'en raison de la faible efficacité des abeilles domestiques dans le déclenchement de la fleur, la sélection de plantes avec un déclenchement facile peut être un moyen d'augmenter l'efficacité des pollinisateurs et le rendement grainier de la luzerne.

1.4.2 Pollinisation et fécondation

Après le déclenchement vient la pollinisation. La pollinisation est au sens strict le dépôt de pollen sur le pistil d'une fleur et sa germination. La fécondation est la rencontre réussie entre les noyaux reproductifs polliniques et les noyaux du sac embryonnaire (Rodet, 1998). Chez les espèces allogames comme la luzerne, la pollinisation est normalement affectée par la pluie, le vent et la verse, facteurs qui, au-delà de la modification du comportement des pollinisateurs, réduisent la quantité de pollen disponible, sa germination sur le style et ainsi concourent à une diminution de la production de graines (Evans *et al.*, 1986). En conditions environnementales difficiles, la perte de production peut atteindre 60% (Hebblethwaite *et al.*, 1980, cités par Lorenzetti, 1993).

Bosca *et al.* (1973) cités par Dattée (1976) ont analysé la fertilité pollinique d'un certain nombre de cultivars selon les générations d'autofécondation de I_0 en I_4 . Ils ont mis en évidence une diminution de la fertilité pollinique de 20%, avec des variations selon l'année et l'origine génétique. Blondon *et al.* (1979) indiquent que la température est un facteur très important de la fertilité pollinique de *M. sativa* pour lequel il existe aussi des effets génétiques et des interactions génotype x température. Ils ont montré, que plus la température est élevée, plus la fertilité pollinique est forte. Avec les génotypes à fertilité pollinique moyenne, celle-ci a été deux fois plus importante à 27 °C qu'à 17 °C. Ceci a résulté en une augmentation du nombre d'ovules fécondés par gousse, de 4.66 (17 °C) à 5.49 (22 °C) et 6.30 (27 °C). Ces résultats indiquent que l'amplitude des variations de la fertilité pollinique dépend de l'amplitude des variations du milieu et aussi des génotypes. Il est certainement préférable lors des études de fertilité pollinique de maintenir un environnement aussi constant que possible (Dattée, 1976).

Après la germination du pollen, la croissance du tube pollinique est la seconde étape du processus conduisant à la fécondation et à la formation des graines. Chez la luzerne, l'étape de la croissance des tubes polliniques à travers le style a fait l'objet de nombreuses recherches portant sur les interactions style-pollen et les phénomènes de compétition pollinique (Debrand *et al.*, 1979). Le régime de reproduction de la luzerne, essentiellement allogame, résulte de divers mécanismes liés à la biologie florale de la plante. Dans les conditions naturelles et en croisements contrôlés sans castration, après le déclenchement de la fleur, l'autopollen et l'allopollen se trouvent en compétition sur le stigmate ; l'allopollen est avantage et assure les fécondations. Cela résulte de l'attractivité ovulaire qui s'exerce préférentiellement sur l'allopollen. Quand il y a auto-pollinisation, la croissance du tube pollinique est plus lente que lors d'une pollinisation croisée (Sayers et Murphy, 1966). L'avantage de l'allopollen conduit à la production de graines hybrides. En présence de populations suffisantes de pollinisateurs, le taux d'allogamie est supérieure à 85%

(Knapp et Teuber, 1993). La sélection pour une plus grande facilité de déclenchement conduit à une légère augmentation du taux d'autofécondation. La proportion d'auto-pollen dans le pollen déposé sur le stigmate explique une part importante des variations observées dans les expérimentations de transport de pollen avec comme sources de variation le nombre de fleurs disponibles, la population de pollinisateurs et de leur mouvement (Strickler, 1999), ou les séquences de butinage (Geber, 1985 ; Robertson, 1992).

La stérilité mâle a depuis longtemps été considérée comme une méthode idéale pour la production de graines F1, afin de maximiser l'utilisation de la vigueur hybride chez la luzerne. Différents systèmes de stérilité mâle ont été décrits. Childers et Mc Lennan (1960) ont décrit une stérilité mâle génique contrôlée par un seul gène nucléaire (McLennan et Childers, 1964). Par opposition à ce système simple, Sugino (1979) a décrit une autre stérilité avec un contrôle complexe incluant à la fois des gènes récessifs et dominants. Enfin, le gène récessif *jp* qui conduit à la production de grains de pollen géants est aussi responsable de stérilité totale. Deux systèmes de stérilité géno-cytoplasmique ont été décrits chez la luzerne. Le premier, appelé NS, fut décrit par Davis et Greenblatt (1967), Bradner et Childers (1968) et Pedersen et Stucker (1969). Cette stérilité est contrôlée par un gène nucléaire récessif interagissant avec un cytoplasme stérile. Le second, appelé ES, présente le même type d'hérédité (Staszewski, 1979). Cependant, la production commerciale de graines est difficile par cette voie. Tout d'abord, les plantes mâle stériles sont peu attractives aux insectes pollinisateurs (faible déhiscence et production de pollen, très faible production de nectar) et ceci résulte en une faible pollinisation de ces plantes. En conséquence, la production grainière est limitée (Pederson et Barnes, 1973). De plus, se pose la question de la structure des parents de l'hybride et de leur production. La très forte dépression de consanguinité observée chez la luzerne conduit à une impossibilité de production de lignées. Par conséquent, la recherche s'est orientée vers la production d'hybrides de clones, mais le maintien des clones et surtout la production de plantes en grand nombre posent des difficultés techniques. Mc Kersie et Bowley (1993) ont proposé d'utiliser l'embryogenèse somatique comme une voie pour la production en grand nombre des plantes parentales. Cependant, là encore, cette méthode se heurte à un problème de coût et de rentabilité. En effet, dans le cas de production de semences hybrides utilisant la stérilité mâle, la récolte des semences commerciales n'est faite que sur le parent mâle stérile. Cette voie est donc actuellement abandonnée.

Il est cependant possible de valoriser la compétition pollinique et l'avantage de l'allopollen pour la production de semences hybrides. Il est en effet possible de produire des hybrides de clones, les parents étant fertiles. On peut alors récolter les semences commerciales sur les deux parents (Bowley *et al*, 1996). Cette méthode sera d'autant plus intéressante que l'avantage lié à l'hétérosis sera important. Cet avantage ne peut exister que si on met en évidence des groupes hétérotiques, entre les différents pools qui constituent le matériel génétique utilisés en sélection de la luzerne. Un travail en ce sens a été entrepris par Brummer (1999).

Dans des croisements interspécifiques de *Medicago* (*M. sativa* croisée par *M. scutellata*, *M. disciformis*, ou *M. rigidula*), on a observé un faible taux de germination du pollen et une faible croissance des tubes polliniques dans le style, avec en plus un dépôt de callose dans le style. Malgré les mécanismes d'incompatibilité dans les croisements interspécifiques, environ 43% des ovaires ont eu au moins un ovule fécondé dans des croisements entre diploïdes et de 22 à 43% lors de croisements entre tétraploïdes (Sangduen *et al.*, 1983).

1.4.3 Ovules et fertilité des gaméophytes femelles

Le nombre d'ovules par fleur est un caractère pour lequel il existe peu de variabilité génétique chez la luzerne selon Dattée (1972). Le nombre d'ovules par ovaire varie en effet de 8 à 12. Pasumarty *et al* (1993) rapportent également une faible variation inter-population (4.2-5.1) pour ce caractère chez le trèfle blanc, autre légumineuse fourragère allogame. Chez la luzerne, le nombre d'ovules par ovaire décroît légèrement (de 10.1 à 9.5) au cours de l'apparition des inflorescences successives de la tige principale (Genter *et al.*, 1997). Chez cette même espèce, Auriel (1998) a montré l'existence de la diversité génétique inter- et intra- population pour le nombre d'ovules, la moyenne des 10 variétés étudiées variant de 9.8 à 11.2. Le calcul des composantes de la variance génétique met en évidence que la variation génétique intra-population est 10 fois supérieure à la variation inter-population. Si de gros investissements ont été consentis sur l'étude de la fertilité pollinique, peu d'études ont porté sur la fertilité des gaméophytes femelles. Sayer et Murphy (1966) ont montré chez la luzerne l'importance du génotype du parent femelle pour la fécondation et l'avortement des ovules en suggérant un effet de la viabilité des sacs embryonnaires. Cependant, l'analyse en est difficile en raison de la structure de cet organe.

Par des techniques d'éclaircissement, Léneguer (1997) a mis en évidence l'absence de variation pour la fertilité des ovules liée à la position au sein de l'ovaire, au sein de l'inflorescence ou selon la position de l'inflorescence sur la tige. Auriel (1998) a démontré une forte variation génétique quantitative pour ce caractère, de 62 à 93% en inter-population, la variance génétique intra-population étant du même ordre que la variance inter-population. La fertilité femelle était corrélée à la fertilité pollinique ($r=0.42$, 88 ddl). L'hérédité de ce caractère étudié dans un plan de croisement diallèle s'est avérée essentiellement additive, l'héritabilité au sens strict étant égale à 0.65. Mesurées sur des plantes isolées en pollinisation libre, la fertilité femelle est corrélée positivement au rendement par plante. Rosellini *et al* (1998) ont mis en évidence un génotype issu de la variété Blazer présentant une stérilité femelle totale associée à un dépôt de callose dans le sac embryonnaire, ce caractère présentant une hérédité au sens strict de 0.85. Il s'agit sans aucun doute d'un contrôle génétique très différent de la variation quantitative observée par Auriel (1998).

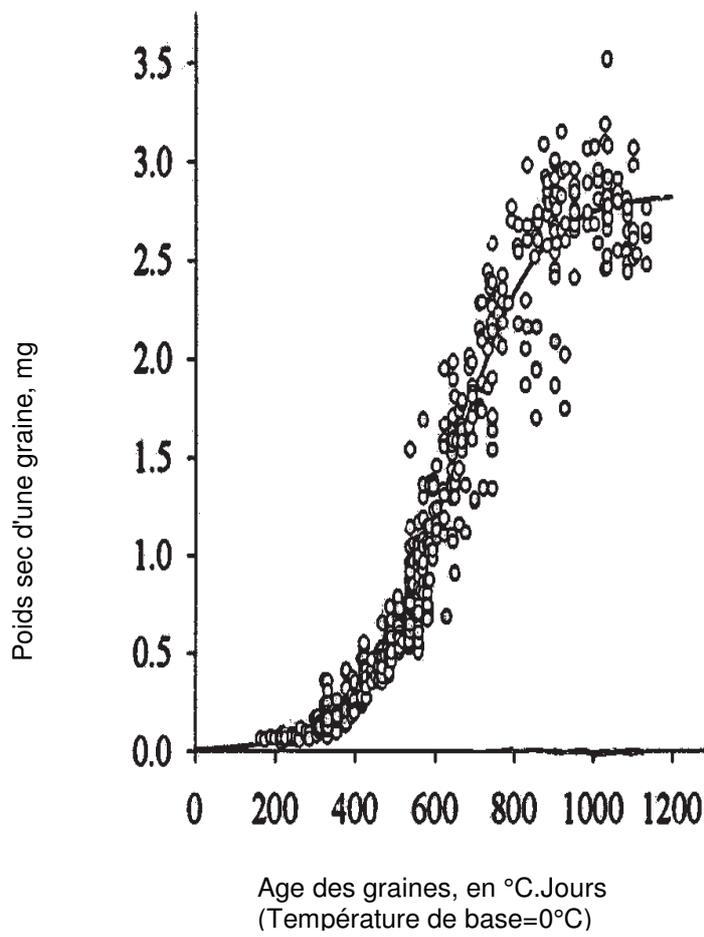


Figure 1.8. Evolution du poids sec d'une graine de luzerne en fonction du temps écoulé depuis la pollinisation. D'après Genter (1995).

Peu de données viennent illustrer un effet du milieu sur la fertilité des ovules. Chez la luzerne, Bodin (1998) a observé que la fertilité femelle de la luzerne était constante dans la gamme de température 17 – 27°C et pour les différentes inflorescences. Sur le trèfle blanc, Pasumarty et Thomas (1998) ont mis en évidence un effet du niveau d'éclairement sur la fertilité des ovules. Ces auteurs ont observé que la quantité de rayonnement photosynthétiquement actif a été de moins de 1 % sous le couvert dense. La fertilité des ovules (71% en plantes isolées et 54% en couvert dense) est plus affectée que celle du pollen (95% en plantes isolées, et 84% en couvert dense). Cependant, il est difficile de conclure s'il s'agit d'un effet direct du faible éclairement des organes reproducteurs avec une faible photosynthèse au niveau de ces organes ou s'il s'agit d'un effet lié à une modification de la qualité spectrale du rayonnement.

En moyenne, 60% à 80% des fleurs émises sont pollinisées et fécondées, mais la quantité des graines récoltées est beaucoup plus faible que le nombre de graines initialement mises en place, principalement à cause de l'arrêt du développement de l'embryon (Marshall, 1985). Pour comprendre la relation entre le nombre d'ovules fécondés, de graines en croissance et de graines viables récoltées, il importe de bien analyser les phases de croissance des gousses et des graines.

1.4.4 Croissance de la graine et avortement

La croissance en matière sèche d'une graine suit une courbe sigmoïde continue et comprend trois phases distinctes de croissance (Figure 1.8) :

- *Phase de divisions cellulaires de l'embryon ou phase de latence.* Chez toutes les légumineuses, cette phase se caractérise par une croissance lente et non-linéaire (Egli *et al.*, 1981). Elle correspond à la mise en place du nombre de cellules. Le nombre de cellules au début de la phase suivante dépend à la fois de la vitesse des divisions cellulaires et de la durée de la phase de latence (Guldan et Brun, 1985). De nombreux faits expérimentaux ont montré que la vitesse de division cellulaire est sensible aux conditions environnementales (Jones *et al.*, 1983 ; Ouattar *et al.*, 1987 ; Genter *et al.*, 1997). A la fin de cette phase les gousses ont atteint leur longueur finale et la concentration d'eau des graines va commencer à diminuer (Ney *et al.*, 1993 ; Munier-Jolain *et al.*, 1993). Lors de la croissance de la graine, il existe un stade au-delà duquel la probabilité d'avortement devient minimum ou presque nulle ; il s'agit du stade limite d'avortement (Pigeaire *et al.*, 1986). Les valeurs du «stade limite d'avortement des graines (SLA)» indiquent la fin de la division cellulaire et le début du remplissage de la graine (Ney *et al.*, 1994). La fin de la première phase de la courbe de croissance de la graine est considérée comme le stade limite d'avortement des graines.

- *Phase de remplissage des cellules.* Durant cette phase, les graines commencent à se remplir (Ney *et al.*, 1993). La vitesse de croissance des cellules est relativement stable et est peu affectée par les conditions du milieu (Ouattar *et al.*, 1987 ; Genter *et al.*, 1997). La croissance pondérale de la matière sèche est alors linéaire en fonction des sommes de température.
- *Phase de dessiccation des gousses.* Cette phase est caractérisée par une décroissance en matière sèche. La dessiccation est un phénomène passif.

Pour la luzerne, ces trois phases, mesurées en degrés jours et en base 0°C par Genter *et al.* (1997), se manifestent respectivement entre les températures de 0-400 degrés-jours (à la fin de cette phase la gousse s'allonge et se spiralise), 400-850 degrés-jours (la gousse grossit) et 850 à 1050 degré-jours (la gousse prend une teinte brune et sa teneur en eau diminue rapidement). A ce moment, la graine atteint son poids maximum qui varie de 1.5 à 3.5 mg, pour une moyenne de 2 mg. Aucune variation d'origine génétique n'a été mise en évidence pour la durée de ces phases. Par contre, des grandes variations de poids final des graines ont été mises en évidence (Crochemore *et al.*, 1998).

1.4.5 Distribution de la matière sèche au cours de la croissance des organes reproducteurs

La distribution ou l'accumulation de la matière sèche dans les différents organes de la plante est le résultat final du flux des assimilats des organes sources vers les organes puits dans la plante (Egli *et al.*, 1985). Marcelis (1996) définit une source comme un organe exportateur des assimilats carbonés vers les organes puits. Les organes puits utilisent le carbone pour augmenter leur quantité de matière sèche et pour la respiration. Selon Amthor (1984), près de la moitié du carbone fixé par la plante par photosynthèse peut être perdu par respiration pendant la période de forte croissance de la plante. Chez la luzerne, Dobrenz et Massengale (1966) ont mis en évidence une corrélation positive entre la quantité en glucides (amidon, sucrose, glucose et fructose) au niveau des racines au début de la floraison et la production de graines. Les plantes accumulant des quantités importantes de glucides dans les racines ont produit plus de graines, plus de gousses par tige et plus de graines par gousse. Ces résultats sont en accord à ceux de Dovrat *et al.* (1969).

Selon Genter (1995), la quantité d'azote allouée au pivot de la racine au début de la floraison est déterminante pour l'installation de son appareil reproducteur. Sous conditions contrôlées de nutrition azotée non limitante, la biomasse des inflorescences rapportée à la biomasse totale est supérieure (18%) à celle du pivot racinaire (10%). Mais la biomasse des inflorescences devient inférieure en cas d'une nutrition azotée limitante. Dans ce dernier cas, le pivot est l'organe puits le plus important. Avec une concentration élevée en nitrates (NO_3^-) dans la

solution nutritive, le développement reproductif a été favorisé (plus d'inflorescences par tige). Avec une concentration en nitrates faible, le développement végétatif a été favorisé avec une importante accumulation des assimilats dans les racines. Ainsi, la balance d'azote à disposition de la plante est un facteur important pour le développement de l'appareil reproducteur chez la luzerne.

La luzerne porte-graines se caractérise par une simultanéité des croissances végétatives et reproductrices. Ceci est associé à une croissance de type indéterminée. Ceci induit une compétition pour les assimilats entre les organes végétatifs et reproductifs et peut en conséquence affecter négativement la production de graines. Pour analyser les mécanismes de mise en place des organes reproducteurs et la répartition des assimilats entre les organes végétatifs et reproducteurs, des éléments de compréhension peuvent être recherchés chez les légumineuses à grosses graines ayant une architecture indéterminée (pois, soja, lupin). Il convient toutefois de prendre en compte le fait que la luzerne a en outre un compartiment racinaire important qui lui aussi varie en masse et en composition biochimique (accumulation de protéines et de glucides).

Lors d'un suivi de l'accumulation de la matière sèche et de l'azote de lupins blancs à croissance déterminée (Julier *et al.*, 1993) et indéterminée (Julier *et al.*, 1994), ces auteurs ont mis en évidence de grandes différences dans les cinétiques de croissance des organes reproducteurs et des organes végétatifs. Chez le type à croissance indéterminée, la croissance végétative se prolonge durant toute la phase de reproduction, conduisant à une forte compétition pour les assimilats entre ces deux compartiments. A l'inverse chez le type déterminé, l'absence de croissance végétative très rapidement après la floraison conduit à une allocation totale des assimilats vers le compartiment reproducteur. Ceci conduit au fait que chez un génotype déterminé les variations de rendement liées aux conditions environnementales sont liées à des différences de biomasse accumulée, en particulier durant la phase de reproduction, alors que chez un génotype indéterminée, ces mêmes variations sont le résultat du taux d'allocation au compartiment reproducteur. Ceci est alors exprimé à la récolte par la forte corrélation entre le rendement et l'indice de récolte (Huyghe *et al.*, 1994). Les mêmes situations ont été rencontrées chez les autres légumineuses à grosses graines quand des comparaisons entre types déterminés et indéterminés étaient possible (Egli *et al.*, 1985 sur le soja ; Silim et Saxena, 1992 sur la féverole).

Au cours du développement, les graines deviennent les principaux organes puits de la plante, lorsque leur croissance devient supérieure à celles des autres organes de la plante. En effet, Marcelis (1996) explique que l'accumulation de la matière sèche d'un organe de la plante est fonction de son taux de croissance potentiel. Plus un organe puits a une croissance rapide, plus il est compétitif pour les assimilats. Ainsi, selon cet auteur, la puissance d'attraction des assimilats des organes puits dépend en général plus de leur âge et de la phase de croissance dans laquelle il est que de leur taille. Ainsi, chez une luzerne annuelle [*Medicago minima* (L.)], à croissance indéterminée, Busso *et al.* (1998) ont démontré, sur la base de la distribution du poids sec entre les différents organes de la plante, que la graine est le principal organe puits des assimilats. Dans le

cas de la luzerne pérenne, il est important de considérer le compartiment racinaire. Dobrenz et Massengale (1966) ont montré que la quantité de sucres dans les racines au début de la floraison était favorable à la production de graines. Des études plus récentes de la cinétique d'accumulation de la matière sèche et de l'azote dans les racines ont montré le rôle de ces réserves racinaires (Kim *et al.*, 1993) et en particulier de certaines formes protéiques (les Vegetative Storage Proteins) sur le redémarrage des plantes après une coupe (Avice *et al.*, 1997). Aucun suivi de la dynamique d'évolution des parties racinaires n'est disponible pour les cultures de luzerne porte-graines. Cependant, Khaiti et Lemaire (1992) ont établi qu'au tout début de la floraison les cultures de luzerne fourrage ont restauré en totalité l'azote racinaire mobilisé au bénéfice du redémarrage des parties aériennes à l'issue d'une coupe. On peut donc imaginer que l'investissement d'assimilats et en particulier d'assimilats azotés vers les racines durant la phase de mise en place et de croissance des graines ne correspond pas à un phénomène vital pour la survie et la pérennité du couvert. S'il se produit, il s'agirait alors d'une consommation de luxe. Cependant, il conviendrait également de documenter la force de puits du compartiment reproducteur durant la phase de remplissage des graines vis à vis de l'azote.

Les facteurs environnementaux affectent la croissance du végétal et la répartition des assimilats aux différentes parties de la plante (fleurs, feuilles, tiges et racines). En conséquence, la production de graines dépendra de l'état phénologique de développement auquel les plantes se trouvent au moment de la contrainte (Rotili, 1979). Cet effet des facteurs environnementaux peut contribuer à expliquer les conséquences de certaines pratiques culturales. Ainsi, chez le trèfle d'Alexandrie (*Trifolium alexandrinum* L.), Martiniello *et al.* (1996) ont observé, sur des pré-coups faites à 4 stades de développement différents (traitement A : au quatrième entre-nœud; B : au huitième entre-nœud; C : au début floraison, et D: à maturité physiologique de graines) que les pré-coups précoces (A et B) ont plus limité l'accumulation de matière sèche par plante que celles faites à des stades tardifs de développement (C et D). Les accumulations de matière sèche totale ont été de 11.9, 16.4, 35.3 et 46.7 g/plante pour les traitements A, B, C et D, respectivement. Le rendement en graines le plus fort a été obtenu pour la pré-coupe du début floraison (C) puis pour la pré-coupe au huitième entre-nœud (B). Ceci est associé à une plus grande accumulation de matière sèche dans les racines. Le traitement C a présenté une accumulation de matière sèche des racines de 55.1% supérieure à A, 5.7% supérieure à B et 18.4% supérieure à D. Les éléments concernant la remobilisation des racines vers les parties aériennes ne sont pas disponibles pour cette expérimentation.

Un stress environnemental (températures élevées, sécheresse, ombrage) appliqué pendant la phase de division cellulaire des graines induit une diminution de la vitesse de croissance des graines. Par contre, une diminution de la disponibilité des assimilats pendant le remplissage des graines n'a pas d'effet négatif sur le poids individuel de la graine (Jones et Simmons, 1983; Munier-Jolain *et al.*, 1998; Genter 1997). En considérant que les feuilles sont les principaux organes sources de la plante, où les assimilats sont produits par photosynthèse, Genter

(1997) a démontré jusqu'à quel stade la présence de ces organes sources était vitale pour la production de graines. Il a observé qu'une défoliation sévère de la plante avant 400 degré-jours (base 0°C) à partir du début de la floraison, augmente le nombre d'avortements des gousses jeunes, même si une certaine activité photosynthétique peut être assurée par les parties vertes des gousses, des tiges et par la zone du collet. Par contre, la défoliation appliquée après 400 degré-jours ne diminue pas le nombre de graines par gousse. A maturité de la graine ou lors de la sénescence de la plante, Busso *et al.* (1998) ont observé, pour les espèces à croissance indéterminée *Medicago minima* et *Erodium cicutarium*, une diminution de la matière sèche de tous les organes étudiés (fruits, fleurs, feuilles, racines et tiges). Cela a été expliqué par l'augmentation de la respiration dans la phase finale de la croissance de la plante et une diminution importante de sa photosynthèse. Cette diminution du poids sec de plusieurs organes à la fin du cycle de croissance de la plante a été aussi observée par Hardy *et al.* (1997) chez *Lupinus mutabilis* Sweet, légumineuse annuelle à croissance indéterminée.

Tableau 1.3 Indice de récolte (%) pour quelques fourrages et cultures à graines. D'après Lorenzetti, 1993.

Fourrages pérennes	(%)	Cultures annuelles	(%)
Luzerne (<i>Medicago sativa</i>)	12	Blé (<i>Triticum aestivum</i>)	50
Trèfle violet (<i>Trifolium pratense</i>)	10	Maïs (<i>Zea mais</i>)	50
Trèfle blanc (<i>Trifolium repens</i>)	12	Pois (<i>Pisum sativum</i>)	60
Lotier (<i>Lotus corniculatus</i>)	10	Tournesol (<i>Helianthus annuus</i>)	30
Ray grass (<i>Lolium perenne</i>)	10		
Dactyle (<i>Dactylis glomerata</i>)	10		
Fétuque (<i>Festuca arundinacea</i>)	6		

L'indice de récolte est un paramètre utilisé pour établir un bilan final de cette distribution. Il est calculé par le rapport du poids sec de graines à celui de la biomasse aérienne totale (y compris les graines) de la plante. En comparaison avec les cultures annuelles, les cultures porte-graines des espèces fourragères pérennes ont des indices de récolte très faibles, de 6% pour la fétuque à 12% pour la luzerne, alors que cet indice atteint 50% pour les céréales et d'autres cultures annuelles (Tableau 1.3). Cependant, ces conclusions soulignant la faiblesse de l'investissement reproducteur des fourragères pérennes doivent être tempérées par deux éléments. D'une part, comme démontré plus haut, l'investissement dans le compartiment racinaire doit être pris en compte comme un investissement métabolique permettant la survie des plantes. D'autre part, et en particulier chez les légumineuses, la mise en place des graines nécessitent la mise en place d'un appareil reproducteur important et d'organes contribuant à la protection des gamétophytes et des graines (glumes et glumelles chez les graminées, cosses chez les légumineuses). A maturité, la part de ces organes protecteurs dans le poids de l'appareil reproducteur peut être considérable et est souvent plus élevé chez les cultures fourragères pérennes que chez les espèces non fourragères et annuelles. Ainsi, alors que la proportion de cosses dans la gousse de pois est de 13% seulement, elle dépasse 55% dans le cas de la luzerne. Ces valeurs sont encore plus élevées

chez les légumineuses sauvages, atteignant 80% chez *Medicago intertexta* (Abdelguerfi et Louar, 1999) et 90% chez *Anthyllis vulneraria* (Navarro, 1996).

1.5 Les composantes du rendement en graines

Chez les plantes fourragères comme chez les cultures à graines, le rendement grainier dépend de la taille et de l'efficacité du système reproducteur (Lorenzetti, 1993). Chez la luzerne, le rendement grainier résulte des différentes composantes résumées sur la figure 1.9. Ces différentes composantes correspondent à différents niveaux d'organisation du peuplement grainier, plante, tige, inflorescence, gousse et graine (Rinquer *et al.*, 1988). Les composantes estimées à ces différents niveaux d'organisation sont susceptibles de présenter des corrélations fortes ou faibles avec le rendement grainier ainsi que des corrélations entre elles. Des corrélations significatives vont alors suggérer des phénomènes de compensation soit entre niveaux d'organisation soit pour différentes composantes correspondant à un même niveau. Chacune de ces composantes est susceptible d'être affectée par des facteurs génétiques et environnementaux (Kearsey et Pooni, 1998). Dans le cas de la luzerne, les niveaux d'organisation que sont la tige et l'inflorescence ont été très peu pris en compte.

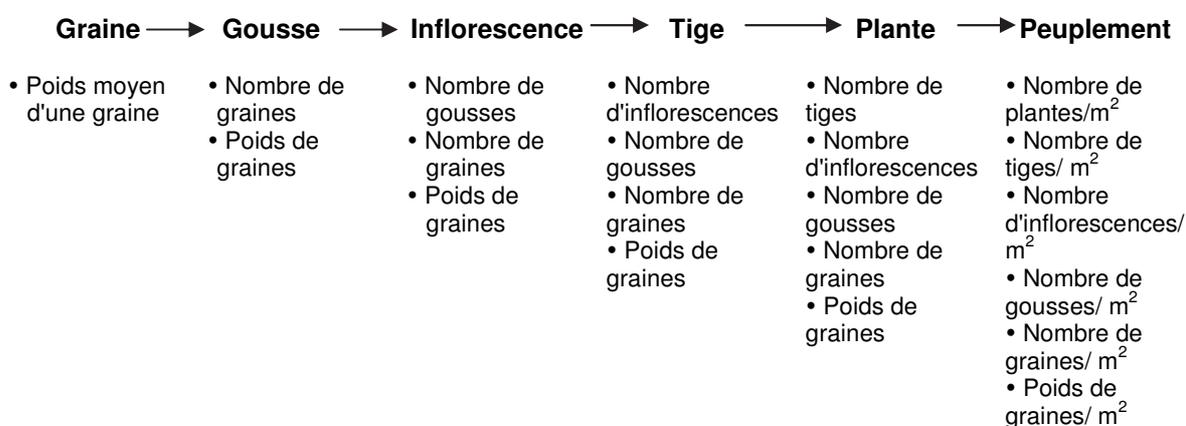


Figure 1.9. Composantes du rendement grainier aux différents niveaux d'organisation d'un peuplement de luzerne porte-graines

Une revue bibliographique effectuée par Hacquet (1990) montre l'hétérogénéité des caractères mesurés dans les différentes études et souligne la variation des corrélations entre caractères, cette revue rassemblant à la fois des travaux effectués sur des variations d'origine génétique, environnementale et liées aux pratiques expérimentales (Tableau 1.4).

Afin de bien appréhender la signification de ces corrélations et éventuellement les relations de cause à effet qu'elles illustrent, une analyse bibliographique de l'effet du génotype et du milieu est proposée dans la suite de ce chapitre.

Tableau 1.4 Corrélations entre le rendement en graines et quelques composantes du rendement chez la luzerne (modifié d'après Hacquet, 1990).

Références	Nb d'inflorescences par tige ou par plante	Nb gousses/ inflorescence	Nb graines/ gousse	PMG ¹
Dann and Waldron, 1933	0.54*	0.68**	0.57**	
Pedersen et Nye, 1962		S*	S*	- S*
Hurst et Pedersen, 1964	0.13	0.10	0.48**	-0.10
Rausch, 1964			S***	
Demarly et Chesneaux, 1966			0.62	-0.18
Dobrenze et Massengale, 1966		S*	S*	
Dovrat <i>et al.</i> , 1969	S*	S*		
Abu-Shakra <i>et al.</i> , 1969				
Rumbaugh <i>et al.</i> , 1971	S**		0.52**	0.06
Zambrana, 1972	S**			
Steuckardt, 1973	S***		0.65**	
Kowithayakorn et Hill, 1982			NS	
Zharinov, 1986			S*	
Taylor et Marble, 1986	0.84*		0.77**	
Boçsa et Buglos, 1983			0.58**	
Askarian <i>et al.</i> , 1995			NS	

¹ PMG : Poids moyen d'une graine

* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001, S et NS= corrélation significative et non significative, respectivement (valeurs non disponibles).

1.5.1 Effet du génotype

L'analyse de la variabilité génétique pour les composantes du rendement et de leurs relations avec le rendement grainier est une étape importante pour mener des programmes d'amélioration génétique de ce caractère chez la luzerne (Rincker *et al.*, 1988). Les composantes du rendement que sont la fertilité, le nombre de graines par gousse, le poids moyen d'une graine, le nombre de gousses par inflorescence et le nombre d'inflorescences expliquent les différences de rendement grainier entre variétés, et par conséquent ont été suggérés et utilisés comme critères de sélection pour augmenter le rendement grainier de la luzerne (Boçsa et Pummer, 1997).

La cinétique de mise en place des organes reproducteurs est directement liée à la date de floraison. Cependant les études sur l'effet de la floraison sont peu nombreuses. Martiniello (1998) dans une évaluation de différentes variétés fourragères dont la luzerne, a démontré une forte relation entre la date de floraison et le rendement grainier. Il a observé que les variétés avec un rendement grainier élevé étaient celles qui avaient une floraison précoce. De la même façon, Evans *et al.* (1986) chez 15 variétés de trèfle blanc a observé une faible production de graines accompagnée d'une faible production d'inflorescences pour les variétés qui ont eu une floraison tardive. On ne peut pas interpréter cet effet comme une conséquence des différences de

photopériodes au moment de la floraison, les différences entre génotypes restant très limitées. La date de floraison joue un rôle en permettant une mise en place plus rapide d'un nombre suffisant d'inflorescences, ceci étant expliqué pour partie par la cinétique d'émissions de ramifications et le nombre d'inflorescences portées par ces ramifications.

Sur deux années d'évaluation et sur 1301 plantes chez *Medicago media* Pers, Rausch (1964) a observé que l'augmentation du nombre d'inflorescences avait un effet positif sur le rendement de graines par plante, cet effet était du même ordre que celui du nombre de graines par gousse et du nombre de gousses par inflorescence. Cependant, cette étude conduite en plantes isolées n'a pas été validée par des résultats en couverts denses. Dans une étude similaire chez deux graminées fourragères pérennes, *Festuca arundinacea* Schreb et *Phleum pratense* L., Bean (1972) a trouvé une corrélation positive plus élevée entre le poids de graines par inflorescence et le rendement grainier total qu'entre le nombre d'inflorescences et le rendement. Par ailleurs la variabilité génétique et l'héritabilité du poids de graines par inflorescence ont été plus importantes que celles observées pour le nombre d'inflorescences.

Chez la luzerne, plusieurs auteurs ont mis aussi en évidence une corrélation positive entre le nombre de gousses par inflorescence et le rendement grainier (Tableau 1.4). Cependant, Zambrana (1972) n'a pas trouvé cette même relation entre ces deux caractères, dans des évaluations faites sur 6 variétés pendant 3 années. Les corrélations ont varié de -0.08 à 0.29, selon la variété. Cet auteur trouve que le nombre de graines par plante est la principale composante du rendement. Cependant, là encore, cet auteur a travaillé en plantes isolées. Le nombre de graines par gousse apparaît très souvent corrélé positivement au rendement grainier quand la source de variation est le génotype. Ce caractère dépend plus du nombre d'ovules fertiles par ovaire que du nombre d'ovules (Rausch, 1964 ; Gardner et Davis, 1966 ; Dattée, 1972 ; Djukic, 1992). Ainsi, Auriel (1998) a observé qu'il n'existe pas de corrélation entre la fertilité femelle $\{(\text{nombre d'ovules fertiles}) / (\text{nombre total d'ovules})\}$ et le nombre d'ovules par ovaire. Par contre, une relation forte (0.83, $p < 0.01$, 88 ddl) existe entre le nombre d'ovules fertiles par ovaire et la fertilité femelle.

Chez la luzerne, peu de travaux ont évalué la variabilité génétique pour le nombre de graines par gousse, et les résultats sont contradictoires. Zambrana (1972) ne trouve pas de différences importantes pour ce caractère (variations de 2.5 à 3.3 graines par gousse). En revanche, Dattée (1972) rapporte que le nombre de graines par gousse varie de 2 à 9 et avec une forte héritabilité. Boçsa et Buglos (1983) suggèrent que le nombre de graines par gousse associé à une forte auto-compatibilité constitue un des principaux critères de sélection pour augmenter le rendement grainier. Pedersen *et al.* (1956) expliquent que des apports élevés d'allopollen permettent des nombres élevés de graines par gousse et sont associés à de forts rendements grainiers chez la luzerne. Cependant, lors de rendements élevés, des diminutions du poids moyen d'une graine sont observés en résultats de phénomène de compensation. Ce phénomène de

compensation a été aussi observé chez *Lolium perenne* L. Lewis (1970) a trouvé une corrélation négative entre le nombre d'inflorescences et le poids de mille graines. Il indique une concurrence pour les assimilats entre les graines et un nombre important de fleurs en développement. Ainsi, la sélection pour augmenter le poids de mille graines semble être justifiée uniquement quand la qualité de la graine est un facteur à améliorer (Lorenzetti, 1993). Considérant que chez la luzerne la qualité de la graine n'est pas un facteur limitant, le poids de mille graines n'a pas un rôle important pour augmenter le rendement grainier.

Des phénomènes de compensation similaires ont été observés entre conditions environnementales. Katepa-Mupondwa *et al.* (1996) ont ainsi mis en évidence un phénomène de compensation entre le poids d'une graine et le nombre de graines par gousse, comme résultat des effets de la température au moment de la pollinisation. En effet, en conditions contrôlées, avec des températures au moment de la pollinisation de 18 et 27 °C, le poids moyen d'une graine passe de 2.73 à 18°C à 2.68 mg à 27°C, le nombre de graines augmentant de 4.62 à 4.74 pour les mêmes températures, ces différences étant significatives. Dans 25 populations diploïdes et tétraploïdes de luzerne pérenne du complexe *M. sativa* L., Julier *et al.* (1995) ont trouvé que les populations sauvages, dans les espèces *falcata* et *sativa*, avaient un poids moyen d'une graine plus faible que les populations cultivées.

1.5.2 Effet de l'environnement et des pratiques culturales

Les conditions environnementales sont les conséquences des conditions pédo-climatiques liées au lieu et à l'année d'expérimentation. Elles sont aussi la conséquence des pratiques culturales. Ainsi, les densités de semis et les écartements vont modifier la structure du peuplement et conditionner les relations entre composantes et rendement. De même, les dates et modes de pré-coupe vont modifier les conditions environnementales durant la période de reproduction, en modifiant la structure du peuplement et notamment son aptitude à intercepter le rayonnement incident et, en retardant la date de floraison, modifier les conditions de température, d'éclairement et de disponibilité en eau durant la phase de reproduction. On ne peut donc interpréter l'effet des techniques culturales hors du contexte pédo-climatique où elles ont été mis en œuvre et sans analyser les mécanismes morphogénétiques et trophiques en jeu dans une culture porte-graines, que ce soit durant la phase reproductive elle-même ou durant la phase végétative précédent la mise à fleur.

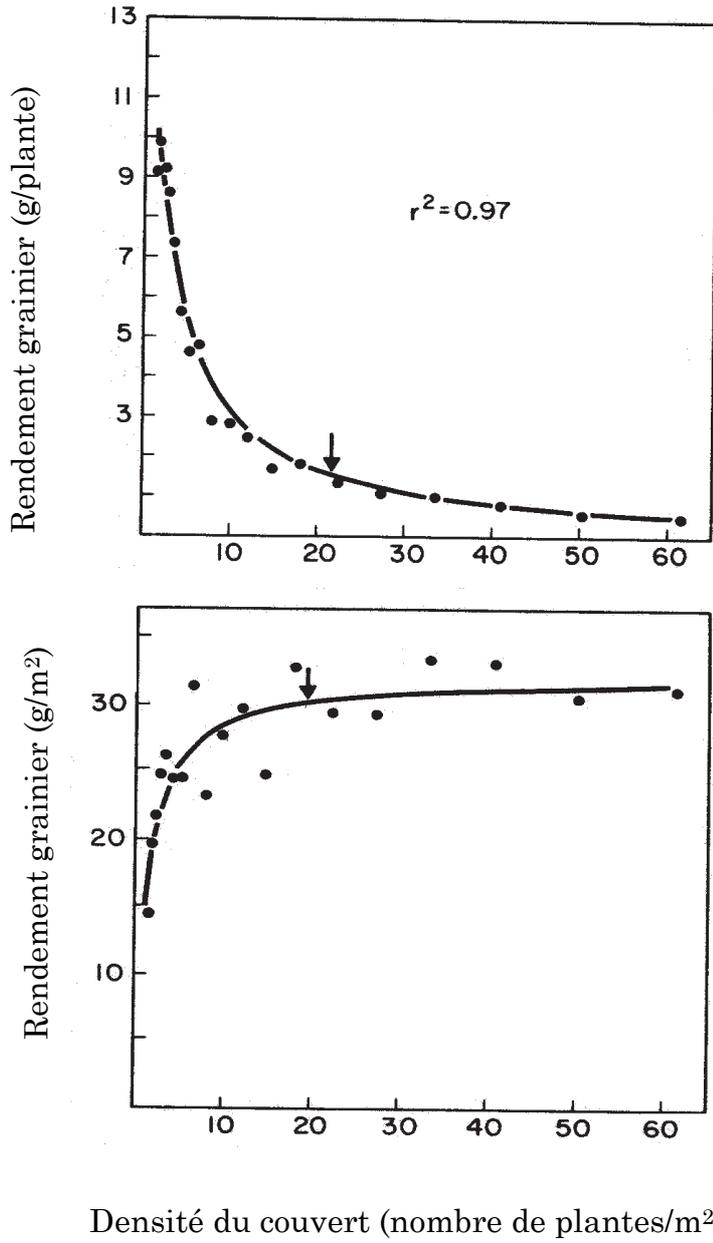


Figure 1.10. Relation entre le rendement grainier par plante et par unité de surface avec la densité du couvert (d'après McGraw *et al.*, 1986)

1.5.2.1 Densité de semis, écartement et structure du peuplement

De nombreuses études ont été conduites en vue de définir la densité de semis et les écartements optimaux. Ces études sont justifiées par les relations existant entre le rendement en graines par unité de surface, le rendement par plante et du nombre de plantes par unité de surface (Dovrat *et al.*, 1969 ; Hampton et Fairey, 1997). En général, ces travaux concluent que, pour une production de graines élevée, les plantes doivent être cultivées à grands écartements afin d'obtenir des plantes vigoureuses. Cependant, la valeur de ces écartements est variable. La préconisation optimale est de 40-50 cm entre rangs en conditions françaises. Les mêmes valeurs optimales ont été observées par Askarian *et al* (1995) qui rapportent que cet écartement est celui qui permet le nombre de tiges fertiles le plus élevé par unité de surface sans réduction du nombre d'inflorescences fertiles par tige. La préconisation en terme d'écartement est de 80 cm en conditions plus fraîches, comme en Pologne (Z. Staszewski, comm. pers.). De telles plantes produisent un plus grand nombre de ramifications et de fleurs par plante, plus de graines par plante, plus de gousses par inflorescence, plus de graines par gousse et un poids de mille graines plus élevé. Les densités optimales de semis fluctuent de 1 kg/ha (Askarian *et al*, 1995).

Cependant, le nombre optimum de plantes par unité de surface pour augmenter le rendement grainier est variable et dépend des conditions pédo-climatiques. Ainsi, Kowithayakorn et Hill (1982) suggèrent de 11 à 25 plantes/m² pour obtenir un rendement maximum en graines chez une variété de luzerne, alors que Li et Min (1998) suggèrent un peuplement de 6 plantes/m² seulement pour des productions élevées, mais sous conditions irriguées. Ces différents travaux ne mentionnent pas le nombre de tiges reproductrices obtenues dans ces différentes conditions. Une difficulté d'interprétation des effets de densités provient des phénomènes de compensation. Ce même phénomène de compensation entre le rendement grainier par plante et le nombre de plantes par unité de surface a été observé chez une autre légumineuse fourragère (*Lotus corniculatus*) par McGraw *et al.* (1986). Ces auteurs ont mis en évidence des phénomènes de compensation à des densités supérieures à 20 plantes/m² (évaluations faites jusqu'à 60 plantes/m²). Le rendement grainier par plante décroît de façon exponentielle, le rendement par unité de surface étant stable (Figure 1.10).

1.5.2.2 Choix du cycle et pré-coupe

Le choix du cycle comme la date de pré-coupe sur lequel on choisit de produire des graines constituent des éléments essentiels dans la gestion des cultures porte-graines. Dans des conditions sèches de la Plaine de la Bekaa (Liban), et en faisant varier le nombre de récoltes de fourrages préalables, Abu-Shakra *et al.* (1977) que les meilleurs rendements sont obtenus après deux récoltes de fourrage. Au delà le rendement diminue en raison de la réduction du nombre de tiges fertiles par plante et du nombre de gousses par inflorescence. Les mêmes conclusions en ce qui concerne les facteurs limitants du rendement en réponse à la date de pré-coupe sont

proposées par Tiwana et Puri (1997) dans les conditions plus humides du Punjab en Inde. Kowithayakorn et Hill (1982) ont observé que la pré-coupe au moment de la pleine floraison diminue le nombre de tiges fructifères, le nombre de fleurs par plante, le nombre de gousses et le nombre de graines par gousse.

Ces deux pratiques culturales influent sur deux aspects critiques. Tout d'abord, elles conditionnent la structure du peuplement, en particulier en terme de nombre de tiges et donc de nombre de ramifications. Ensuite, elles conditionnent l'état des ressources pour les cultures, en particulier la température qui va conditionner le rythme de développement des organes, le rayonnement disponible et l'état hydrique. Enfin, elles conditionnent la date de floraison et modifient la réponse de la phase reproductrice des cultures à la longueur du jour. En effet, selon Kowithayakorn et Hill (1982) la pré-coupe au moment de la floraison diminue le nombre de fleurs par plante car la floraison se produit alors sous une photopériode courte. Dès 1958, Massengale et Medler avaient indiqué que la luzerne a besoin d'une photopériode de 14 heures pour une production élevée de fleurs.

1.5.2.3 Gestion de l'irrigation et besoins en eau

L'irrigation constitue également une pratique culturale importante pour la gestion des cultures porte-graines. Les résultats expérimentaux sont très variables et parfois contradictoires. Ils mentionnent le plus souvent l'effet des rythmes d'irrigation et des volumes d'eau apportés, parfois sans référence à l'évapotranspiration. Les meilleurs rendements grainiers sont en général obtenus quand les régimes d'irrigation

- conduisent à des déficits hydriques modérés au niveau du sol et de la plante,
- évitent des stress hydriques sévères et
- favorisent une croissance continue lente et la mise en place des sites de reproduction (Taylor *et al*, 1959 ; Krogman et Hobbs, 1977 ; Taylor et Marble, 1986).

Des disponibilités en eau importantes conduisent en général à une production végétative excessive et diminuent et/ou retardent la production de graines (Taylor *et al*, 1959 ; Taylor et Marble, 1986). Dans ces conditions, les plantes ont une croissance excessive conduisant à de la verse, en particulier dans des conditions de couverts denses. La verse provoque alors une mauvaise pollinisation des fleurs et en conséquence la production de graines diminue (Hutmacher *et al.*, 1991 ; Li et Min, 1998). Selon Griffith (2000) qui a travaillé sur trois espèces de graminées fourragères, la diminution du rendement en graines sur des plantes versées est due, pour une partie, à une diminution significative des sucres solubles dans les tiges versées pendant la floraison par rapport aux tiges dressées, ce qui limite la disponibilité des assimilats pour le développement de la graine et produit une diminution du nombre de graines par inflorescence.

Même si l'effet favorable de déficits hydriques modérés sur la production de semences est décrit, peu d'éléments existent qui définissent le déficit hydrique optimum des plantes. Steiner *et al.* (1992) ont montré qu'un remplacement de 70% de l'eau évaporé constituait un optimum pour augmenter la production de graines. Au delà, ils ont observé une augmentation du nombre d'inflorescences mais en détriment du nombre de gousses par inflorescence, la compensation incomplète conduisant alors à une baisse du rendement par unité de surface. Abu-Shaka *et al.* (1969) a également montré qu'une irrigation correctement maîtrisée permettait un gain de rendement grâce à une augmentation du nombre de gousses par inflorescence et du poids moyen d'une graine. Martiniello (1998) avec différents modes d'irrigation a montré que l'apport d'eau permettait une augmentation du rendement grainier grâce à une augmentation de la densité de tiges par plante et du nombre de graines par tige avec une corrélation très hautement significative entre le rendement grainier et la densité de tiges/m². Il trouve également une la corrélation positive entre la production de biomasse et le rendement en graines ($r= 0.62$, $P\leq 0.001$).

Ces différentes pratiques culturales vont conditionner la durée du cycle reproducteur en modifiant la température moyenne, la ressource en eau ainsi que la quantité de rayonnement intercepté par le couvert. Peu d'éléments existent quant à la cinétique d'interception du rayonnement par un couvert porte-graines de luzerne. Ces couverts ont deux caractéristiques particulières qui limitent la transposition des éléments existant chez les cultures de luzerne fourrage. Durant la phase végétative de la culture porte-graines, la structure en rangs, parfois très espacés doit être prise en compte. Sinoquet (1989) et Sinoquet et Bonhomme (1989) ont montré la difficulté qu'il y a à estimer l'efficacité d'interception du rayonnement dans les couverts de ce type. Dans la phase tardive, correspondant au remplissage des graines et à leur maturation, le couvert comporte des organes végétatifs photosynthétiquement actifs et un grand nombre d'organes sénescents. L'estimation de l'interception du rayonnement et surtout l'estimation de l'efficacité de conversion soulève de réelles difficultés dans ces conditions (Gosse *et al.*, 1986). De plus, on ne peut exclure un stockage racinaire important qui modifierait l'efficacité de conversion apparente.

Cependant, des travaux conduits sur plantes isolées avec des ablations de feuilles à certains stades de développements ont permis de montrer que la restriction de la photosynthèse à floraison conduisait à une réduction du nombre de graines par gousse (Genter *et al.*, 1997). Les gousses les plus jeunes et en particulier celles n'ayant pas atteint le stade limite d'avortement sont les plus affectées. Aucun élément en ce sens n'a été fourni en ce qui concerne l'effet de l'âge des cultures, prenant en compte le fait que l'efficacité de la photosynthèse et l'allocation des assimilats aux parties aériennes varient, l'efficacité apparente étant plus basse chez les luzernières en année d'implantation (Khaiti et Lemaire, 1992).

Cette réduction de la ressource en assimilats issus de la photosynthèse conduit également à une réduction du poids moyen d'une graine (Genter *et al.*, 1997), même si la plupart des travaux expérimentaux ne font pas apparaître de grandes variations du poids moyen d'une graine

(Marshall, 1985 ; Elgersma, 1990a, et Fraser et Acharya, 1997) ni de fortes relations entre ce poids moyen d'une graine et le rendement grainier (Abu-Shakra *et al.*, 1969, Kowithayakorn et Hill, 1982 ; Taylor et Marble, 1986 ; Elgersma, 1990a). Ces conclusions pourraient être partiellement liées au processus de nettoyage utilisé en cultures ou en expérimentation qui conduisent à l'élimination des graines ou insuffisamment développées (Elgersma et van Wijk, 1997).

1.6 Relation des composantes du rendement entre plantes isolées et en couvert dense

Comme établi au chapitre précédent par l'effet de la densité de semis et de l'écartement, les caractères liés au rendement sont sensibles aux variations de densité de plantes et de structure du peuplement. Ceci résulte des effets de compétition des plantes dans les peuplements (Rotili et Zannone, 1975). En amélioration génétique des fourrages, la sélection est réalisée sur une large gamme de populations évaluées en plantes isolées, ce qui permet l'identification individuelle de génotypes d'intérêt (Asay *et al.*, 1999) et la récolte de leurs graines pour passer à la génération suivante. Mais pendant la production commerciale de graines, les plantes sont exploitées en couverts denses. Par conséquent, il est nécessaire que les caractères mesurés en plantes isolées soient fortement corrélés avec le rendement grainier mesuré en couvert dense et qu'ils aient une héritabilité élevée (Elgersma et van Wijk, 1997). Peu de travaux ont été réalisés sur la luzerne pour évaluer cette relation entre plantes isolées et en couvert dense pour la production de graines quand la source de variation est le génotype.

Christophe (1973) a évalué, chez la luzerne, les variances génétiques additives intra- et inter-familles, sur 28 familles de demi-frères (issues de polycross), pour les caractères de hauteur de la plante et de date de floraison sous 5 densités de semis (de 23 à 176 plantes/m²). Pour la floraison, il a observé une diminution de la variance génétique additive (de 3.77 à 0.30) et de l'héritabilité (de 0.65 à 0.12) quand la densité augmente. Ces résultats montrent, selon cet auteur, les problèmes qu'il peut y avoir quand la sélection est faite sur des plantes isolées.

Chez le trèfle blanc (*Trifolium repens* L.), Annicchiarico et Piano (2000) indiquent que la sélection en plantes isolées est moins efficace qu'une sélection en couvert dense pour la production de matière sèche et le rendement grainier. Sur des évaluations clonales de 12 génotypes établis en plantes isolées et en couvert dense, ces auteurs ont trouvé des héritabilités supérieures en couvert dense qu'en plantes isolées pour la plupart des caractères évalués. De plus, les corrélations génétiques trouvées en plantes isolées et en couvert dense sont différentes. La corrélation génétique entre le rendement grainier et la biomasse a été de -0.22 en couverts dense, et de 0.47 en plantes isolées. Ces auteurs indiquent que l'évaluation des plantes en couvert dense comparée à l'évaluation en plantes isolées est plus laborieuse, mais qu'elle augmente l'efficacité de la sélection. Rotili et Zannone (1975) indiquent que la réalisation d'un programme

d'amélioration génétique en sélectionnant les plantes en cultures denses permet d'exploiter les caractéristiques des plantes dans les conditions d'exploitation normale de la luzerne. Cette démarche est importante car l'amélioration du peuplement est le but final de la sélection et non l'amélioration de plantes individuelles.

Un autre facteur à prendre aussi en compte en sélection est l'hérédité du caractère en évaluation parent-descendance. En effet, les génotypes sélectionnés en plantes isolées, quand ils sont inter-croisés pour obtenir une variété, doivent donner des descendances avec des caractéristiques agronomiques favorables en culture dense. Ce type d'étude a été très peu réalisé chez la luzerne pour des caractères de production grainière. Les valeurs des composantes du rendement grainier en plantes isolées (2 variétés, 31 génotypes/variété et 4 environnements) ont été comparées à celles de leurs descendances en couvert dense par Elgersma *et al.* (1994) chez le ray-grass anglais (*Lolium perenne*). Ces auteurs ont observé que la plupart des composantes évaluées en plantes isolées ne sont pas corrélées à ces mêmes composantes dans les descendances évaluées en couverts denses. Pour les deux variétés il y a eu une corrélation négative (-0.41 , $p < 0.05$) entre le nombre d'épillets par épi en plantes espacées et le rendement grainier de leurs descendances en couvert dense. Pour cette même espèce, ces résultats sont similaires à ceux de Bugge (1987), dans une analyse factorielle, qui n'a trouvé qu'une faible corrélation ($r = 0.21$, 98 ddl) entre le rendement grainier de plantes isolées et le rendement de leurs descendances, en couvert dense. Bien que cette espèce ait une morphologie différente de celle de la luzerne, ces résultats illustrent la valeur de prédiction limitée du rendement grainier de plantes en couverts denses à partir des données obtenues de plantes espacées.

Cependant, cette comparaison confond deux effets, le premier est celui lié aux variations de densité, le second est celui lié à la transmission héréditaire des caractères, transmission conditionnée par l'hérédité des caractères, la structure génétique des populations et des plantes et la structure du génome. L'hérédité du rendement et des composantes du rendement chez la luzerne ne fera pas l'objet d'une synthèse bibliographique dans ce chapitre. En effet, cette ensemble d'informations fait l'objet d'une synthèse au chapitre IV traitant de l'hérédité du rendement grainier et de ses composantes au travers d'un dispositif de croisement diallèle et d'un dispositif factoriel.

1.7 Relation entre le rendement en graines et la production de fourrage

Singh (1978) a évalué la descendance de 7 clones de luzerne intercroisés dans un plan de croisement diallèle. Des évaluations sur les descendances en plantes isolées ont été faites pour le rendement grainier et la biomasse à la récolte par plante, sur la deuxième et la troisième année après la semis. Il a observé une corrélation élevée ($p < 0.01$) entre le rendement grainier et la

biomasse à la récolte par plante. Ces résultats indiquent que la biomasse à la récolte est peut-être un des contributeurs directs de la production de graines.

En couverts denses, neuf clones, sélectionnés sur la base à leurs AGC positifs pour la production de fourrage dans un polycross, ont été intercroisés dans un plan de croisement diallèle. Les descendances ont été évaluées pour la production de biomasse au moment de la floraison et pour la production de graines. La biomasse à la récolte a été évaluée durant les deux premières années et la production de graines pendant les deux années suivantes. Le progrès génétique moyen, par rapport à la moyenne des 9 clones évalués, du meilleur croisement de chaque clone a été de 65% pour le rendement en graines et 10% pour la production de fourrage. La corrélation entre le rendement en fourrage et le rendement en graines a été hautement significative ($r= 0.54$). Ces résultats indiquent la possibilité d'introduire ces deux caractères dans la même variété (Melton, 1969).

Des résultats différents ont aussi été obtenus toujours pour la luzerne. Veronesi et Falcinelli (1987) sur près de 300 plantes (issues de 72 plantes en pollinisation ouverte, sélectionnées pour le rendement grainier à l'intérieur d'une variété) évaluées pendant 3 années en couvert dense, n'ont pas trouvé de relation ($r= 0.13$) entre production de biomasse et rendement grainier par plante. De même, Heinrichs (1965) sur des descendances (72 lignes clonales ont été choisies pour les croisements), issues de polycross, semées sur deux lieux, n'a pas trouvé de relation ($r= 0.018$) entre le rendement grainier et la biomasse sur trois années d'évaluation. Chez d'autres espèces fourragères, les corrélations entre ces 2 caractères sont positives. Ainsi, une corrélation génétique positive a été observée chez le trèfle blanc (Cain *et al.*, 1995) et chez le dactyle (Fraser et Acharya, 1997).

Donc, sur la base de ces résultats la relation entre la biomasse et le rendement grainier a été trouvée positive ou nulle, mais peu de relations négatives entre ces deux caractères sont rapportées. Le fait de ne pas avoir de relation entre ces deux caractères chez la luzerne peut permettre une sélection indépendante pour ces deux facteurs. Cependant, des recherches qui puissent confirmer la relation entre la production de fourrages et la production de graines en cultures porte-graines, chez la luzerne, sont rares.

1.8 Conclusions

Parmi les processus physiologiques mentionnés dans la littérature dont l'altération affecte le plus le rendement grainier, les principaux sont le nombre d'organes reproducteurs mis en place, la pollinisation, la fécondation des ovules, la croissance des graines, en particulier pendant la phase de latence. Le génotype, les conditions pédoclimatiques, les pratiques culturales et leurs interactions interviennent sur ces différents processus.

Au cours des 20 dernières années, le rendement grainier a augmenté grâce à la maîtrise des pratiques culturales comme la conduite de l'irrigation, la gestion des populations de pollinisateurs et la maîtrise des populations de ravageurs, la densité de semis, l'optimisation de la date et hauteur de la pré-coupe mais aussi le choix des régions les plus adaptées en fonction du sol et du climat moyen. Cependant, les bases physiologiques permettant de comprendre le fonctionnement des cultures porte-graines, l'élaboration de sa structure physique, la dynamique de mise en place des organes reproducteurs et la répartition des assimilats sont encore très peu fréquents.

Par contre, l'amélioration génétique du rendement en graines a eu un succès limité. Le principal motif du faible investissement de la recherche pour augmenter le rendement grainier par voie génétique est dû peut être à la crainte d'un effet négatif sur la production de fourrage des variétés, même si cette relation n'a pas été démontrée chez la luzerne. Un autre motif est également le manque de critères de sélection facile à mettre en œuvre sur des grands effectifs de plantes isolées et permettant une amélioration du rendement en couverts denses. Ce manque de critères s'explique par les différents niveaux d'organisation dans le peuplement, les compensations entre niveaux et au sein de ces niveaux et le caractère peu fonctionnel de certains critères dans le processus de sélection. Il est par conséquent nécessaire d'identifier le niveau d'organisation le plus pertinent par rapport à la sélection de matériel amélioré quant à son comportement en couverts denses, d'analyser la diversité génétique disponible pour les caractères à ce niveau le plus pertinent d'organisation et leur hérédité. Il faut en outre mentionner que l'évaluation du rendement grainier engendre une augmentation du coût en sélection dans la mesure où elle impose des expérimentations aux densités adaptées à la production de graines. Afin de limiter ces coûts supplémentaires, il est important que les critères de sélection identifiés soient utilisables en plantes isolées, la mesure du gain réel en production de semences n'étant conduite que sur le matériel génétique le plus prometteur.

Chapitre II

Effet du cultivar et de
l'environnement sur le
rendement en graines

Chapitre 2. Effet du cultivar et de l'environnement sur le rendement en graines

2.1 Introduction

Le rendement grainier n'est pas un critère pris en compte lors de l'inscription des variétés de luzerne au Catalogue Officiel en France. La situation est la même dans tous les pays dotés d'un catalogue pour cette espèce. Cependant, c'est un facteur déterminant pour la commercialisation des variétés. Ainsi, un faible rendement grainier peut être un frein à la diffusion du progrès génétique en limitant l'utilisation de variétés apportant des innovations agronomiques. Cependant le progrès génétique obtenu sur ce caractère est faible. Avant d'entreprendre un programme d'amélioration génétique de ce caractère, il faut identifier de la variabilité génétique et mieux connaître l'effet des conditions environnementales sur le rendement grainier et ses composantes.

Les facteurs environnementaux ont souvent des effets plus importants que les facteurs génétiques sur les caractères (Charmet *et al.*, 1993 ; Desclaux 1996). Cependant, le problème majeur est posé lorsque les interactions entre génotype et milieu sont importantes (Gregorius, 1977). Dans ce cas, il devient difficile de prévoir le comportement moyen d'un génotype et parallèlement, il est difficile de prévoir le rendement moyen d'un milieu (Hulmel, 1999). Dans ce contexte, pour le rendement en graines et ses composantes chez la luzerne, il est important de connaître les variations dues aux effets du cultivar et du milieu et d'analyser l'importance de l'interaction entre cultivar et milieu.

Cette étude, menée en couvert dense porte-graines, permettra d'identifier les composantes du rendement les mieux corrélées au rendement grainier dans ce dispositif, et ayant une forte héritabilité au sens large. Les corrélations entre composantes du rendement pourront être calculées, au niveau génétique et au niveau environnemental, permettant de mieux comprendre l'élaboration du rendement grainier en fonction de ces sources de variations (génétiques ou environnementales).

2.2. Article 1 : Effet du cultivar et de l'environnement sur le rendement en graines

Effect of cultivar and environment on seed yield in alfalfa

Crop Science 2002, sous presse

Eduardo-Daniel Bolaños-Aguilar, Christian Huyghe*, Christian Ecalle, Jacques Hacquet, and

Bernadette Julier

INRA, Unité de Génétique et d'Amélioration des Plantes Fourragères, 86600 Lusignan, France; J. Hacquet, Fédération Nationale des Agriculteurs Multiplicateurs de Semences, 86600 Lusignan, France. The first author was financially supported by CONACYT (National Science and Technology Council from Mexico), INIFAP (Institute for Forestry, Agriculture and Livestock Research from Mexico) and SFERE (French Society for Educational Resource Exportation). Received _____

* Corresponding author (huyghe@lusignan.inra.fr)

ABSTRACT

Seed yield of alfalfa (*Medicago sativa* L.) is important in determining the effective distribution of new cultivars to farmers. Many genetic and environmental factors affect seed yield. This study was conducted to explain seed yield variation induced by either environmental conditions or cultivars. We analyzed seed yield, above-ground phytomass, harvest index and seed yield components for a set of 12 cultivars at four locations across France in each of three years. Each location x year combination was considered an environment. Seed weight, number of pods per inflorescence, number of seeds per pod, and mean seed weight were measured. Mean seed yield was 801 kg ha⁻¹. Large variation in seed yield was found among cultivars and environments. The cultivar x environment interaction was significant. Among environments, seed yield was highly correlated with above-ground phytomass at harvest ($r = 0.94$) as the lowest seed yields were obtained in the seeding year. The cultivars most adapted to grazing showed the lowest seed yields. Seed yield was genetically correlated with lodging resistance ($r = -0.89$) and harvest index ($r = 0.99$). The mean harvest index was 12.7 %. The seed weight per inflorescence showed a high broad-sense heritability (0.578) and a high genetic correlation with seed yield ($r = 0.91$) and with harvest index ($r = 0.96$). Variation in seed weight per inflorescence was due to variation in the number of seeds per pod and number of pods per inflorescence. Seed weight per inflorescence appears to have a strong genetic association with seed yield in alfalfa. Environments with high above-ground phytomass potential also have high seed yield potential.

The seed yield of alfalfa cultivars is not recognized having agronomic value to producers. However, the ability of a cultivar to give a high seed yield determines competitive selling price, a key factor for its effective distribution to farmers (Falcinelli, 2000). Seed yield also determines the economic viability of seed producers. The mean seed yield of alfalfa in France is low (250-500 kg ha⁻¹) in view of its large potential for phytomass production and large numbers of flowers present in seed crops (Lorenzetti, 1994).

Genetic diversity for seed yield and seed yield components in alfalfa was described between and within populations by Bolaños-Aguilar et al. (2000). Similarly, genetic variation was identified for pollen fertility (Viands et al., 1988), ovule fertility (Rosellini et al., 1998), and ease of tripping (Knapp and Teuber, 1993), traits that influence seed yield. However, the actual seed yield improvement achieved in breeding has been limited as these characters are not easy to measure on large numbers of plants and are not the only limiting factors of seed yield in dense canopies. Alfalfa seed yield also depends to a great extent upon environmental conditions and agronomic practices. Abu-Shakra et al. (1977) showed that seed yield was significantly affected by the number of forage harvests prior to seed production, and this effect was mainly associated with variation in the number of fertile stems per plant and pods per raceme. Abu-Shakra et al. (1969) and Askarian et al. (1995) reported similar effects as a consequence of different row spacings. In dry environments, Abu-Shakra et al. (1969) and Taylor and Marble (1986) have shown that frequent irrigation was beneficial to seed yield, as it resulted in more pods per inflorescence. However, Hutmacher et al. (1991) pointed out that an excessive water supply may lead to excessive vegetative growth and therefore be detrimental to seed production, possibly through a reduction in the degree of tripping (Goldman and Dovrat, 1980). Steiner et al. (1992b) established that water replacement of 70% of accumulated evapotranspiration was optimal for seed production. Increasing amounts of water increased number of racemes but decreased the number of pods per raceme.

Boçsa and Buglos (1983) suggested that a high number of seeds per pod combined with high self-compatibility were the most important selection criteria for high seed yield. Hacquet (1990) found a positive correlation of 0.63 between seed yield and number of seeds per pod across 46 experimental conditions combining cultivars and environments. Taylor and Marble (1986) reported a positive correlation between seed yield and seeds per pod of 0.77 among environments differentiated primarily by water supply. In contrast, Askarian et al. (1995) and Kowithayakorn and Hill (1982) found that the number of seeds per pod was an unimportant yield component, when the principal source for yield variation was plant density. Genter et al. (1997) showed that the number of seeds per pod was significantly reduced by a plant defoliation at flowering, though the effect was small (4.1 seeds vs. 4.5 for the non-defoliated control plants).

The objective of this study was to identify characteristics induced either by environmental or genetic factors that explain seed yield variation in alfalfa.

MATERIALS AND METHODS

Cultivars and environments

Twelve registered or experimental cultivars with fall dormancy rating of 3 to 5 were used for this study (Table 1). Three cultivars (Coussouls, Magali, Medalfa) were Provence types while the others were Flemish types. Two cultivars (Luzelle and Coussouls) were selected for their adaptation to grazing and more prostrate growth habit. The cultivar Radius was provided by Prof Z. Staszewski (IHAR Radzikow, Poland) and was specifically selected for pod setting under cool temperatures in Poland. The experimental cultivar Lp2507, provided by B. Tharel (Barenbrug-Tourneur-Recherches, France), possesses the *lp* mutation that confers long inflorescences (Bodzon et al., 1998).

Table 1. List, description, and average seed yield of the 12 alfalfa cultivars evaluated over four locations in three years (LSD = 52.8).

Cultivar	Description	Average seed yield kg ha ⁻¹
Radius	Polish cultivar, Flemish type	999
Lp2507	French experimental cultivar, Flemish type	978
Bella	French cultivar, Flemish type	866
Diane	French cultivar, Flemish type	851
Europe	French cultivar, Flemish type	845
Medalfa	French cultivar, Provence type	844
Rival	U.S. cultivar, Flemish type	801
Sitel	French cultivar, Flemish type	801
Mercedes	French cultivar, Flemish type	799
Magali	French cultivar, Provence type	629
Luzelle	French cultivar, Flemish type, grazing tolerant	626
Coussouls	French cultivar, Provence type, grazing tolerant	416

This material was cultivated at four experimental locations representing the main areas of alfalfa seed production in France: Lusignan (46°26'N, 0°08'E), Condom (43°58'N, 0°23'E), Marans (46°19'N, 1°01'W) and Etoile (44°49'N, 4°53'E). The first location was provided by INRA, Unité de Génétique et d'Amélioration des Plantes Fourragères, while the other three locations were provided by the Fédération Nationale des Agriculteurs Multiplicateurs de Semences. The soil characteristics (structure, pH) at the different locations are shown in Table 2. Weather data for the different locations over the three years are shown in Table 3.

Table 2. Soil characteristics at the four locations used for alfalfa seed yield evaluation.

Location	Soil
Marans	Alkaline soil (pH=8.3), alluvial marine origin, greyish brown color, loamy clay texture, micro-polyhedral structure
Etoile	Alkaline soil (pH=8.0), alluvial origin, clear brown color, loamy sand texture with low clay content, calcareous with small aggregate structure
Condom	Alkaline soil (pH = 8.2), calcareous origin, brown color, clay-loamy texture and grain structure
Lusignan	Neutral soil (pH=6.8) from a decalcification origin, brown color, clay-loamy texture and polyhedral structure

In each location, trial was drilled during spring 1997 (Table 4) in randomized complete blocks with three replicates, with each plot consisting of three rows of 5 m long and 0.42 m apart, with a space of 0.84 m between adjacent plots. The drilling density was 2.4 kg ha⁻¹ for all cultivars and locations. As alfalfa was previously grown at all four locations, no rhizobium inoculation was used, but the plants were nodulated.

The trials were conducted across three years (1997, 1998 and 1999), i.e., the seeding year (Y0) and the first and second years of regrowth (Y1 and Y2 respectively). Pest control practices were in accordance with those recommended for each location. No irrigation was provided. The plots were not clipped in Y0. In Y1 and Y2, they were clipped at all locations, except at Etoile where clipping is considered detrimental to crop growth because of the regular summer droughts. The clipping dates are shown in Table 4. Large populations of pollinators were observed at all locations and considered sufficient for optimal pollination of alfalfa as all flowers were tripped in the different trials. Two days before harvest, all trials were defoliated with Diquat (dihydro-6,7 dipyrido[1,2-a:1,2'-c] pyrazidiinium) (600 g a.i. ha⁻¹).

Characters scored

Flowering date was scored on each plot when 50% of the stems had one flowering inflorescence. Lodging was scored during the flowering period on a scale from 1 (no lodging) to 5 (fully lodged).

Prior to harvest, 30 well-podded inflorescences from 30 main stems were sampled from each plot, and the number of pods per inflorescence was counted. The inflorescences were dried at 40°C until their weight was stable, or approximately 72 h. The first two pods from these inflorescences were threshed and the seeds counted and weighed. From these data, the mean seed weight and the number of seeds per pod was calculated. The rest of the inflorescences were threshed and the seeds weighed. By re-combining with the seed weight measured on the first sample, total seed weight per inflorescence was calculated.

Table 3. Monthly means of minimum (Min) and maximum (Max) temperatures, monthly rainfall and evapotranspiration (ET) during the three experimental years in the four locations of trial for evaluation of alfalfa seed yield.

Location	Year		Min	Max	Rainfall	ET
			°C		mm	
Marans	1997	May	11	21	80	137
		June	12	22	83	122
		July	13	26	17	154
		Aug.	17	28	78	134
	1998	May	11	22	42	135
		June	12	23	26	134
		July	13	24	17	126
		Aug.	12	28	7	151
	1999	May	12	22	78	114
		June	13	23	32	138
		July	15	27	26	159
		Aug.	15	26	89	127
Etoile	1997	May	11	23	75	136
		June	14	25	92	131
		July	15	27	78	161
		Aug.	17	30	94	141
	1998	May	11	23	150	148
		June	14	26	47	142
		July	16	29	83	168
		Aug.	15	29	9	142
	1999	May	7	17	84	118
		June	13	24	85	163
		July	13	25	33	187
		Aug.	16	29	61	142
Condom	1997	May	12	22	80	106
		June	14	23	125	112
		July	15	25	56	114
		Aug.	17	28	131	119
	1998	May	11	22	27	107
		June	13	24	35	71
		July	15	27	58	145
		Aug.	15	29	52	137
	1999	May	13	22	80	93
		June	13	24	40	120
		July	16	28	105	136
		Aug.	16	27	28	107
Lusignan	1997	May	9	19	108	110
		June	11	21	94	102
		July	13	25	35	122
		Aug.	16	29	59	114
	1998	May	10	21	25	111
		June	11	23	51	119
		July	13	25	44	126
		Aug.	13	28	18	135
	1999	May	11	21	83	110
		June	11	23	57	135
		July	14	27	48	151
		Aug.	14	26	46	123

Following harvesting of the remainder of the plot with a combine harvester, the total vegetative phytomass was collected in each plot and its dry matter content estimated on a sub-sample of 500 g dried at 80°C for 48 hours. The seeds were dried, cleaned, sieved and weighed. The total above-ground phytomass was calculated from the dry matter collected at the back of the combine, the seeds, and impurities. Harvest index was calculated as the ratio of seed yield to total above-ground phytomass at harvest.

Statistical analyses

Analyses of variance were performed using the GLM procedure of SAS (SAS Institute, 1988). The first analysis included cultivars, locations, years, and their interactions in the model. Over all locations and years, the experimental design was analyzed as a split-plot, with the location as main plot. The location effect was tested against the blocks-within-locations mean square. A pooled error term for testing cultivars, years and their interactions was formed from interactions of blocks. As the location x year interaction was significant for all traits, each location x year combination was later considered as one environment in subsequent analyses. Variance components were calculated using the VARCOMP procedure of SAS and the restricted maximum likelihood method. The standard error of variance component g was calculated (Becker, 1975) as

$$SE(\sigma_g^2) = \sqrt{\frac{2}{k^2} \sum_i \frac{MS_i^2}{f_i + 2}}$$

where MS_i is the mean square of effect i used to estimate variance component g , f_i is the degrees of freedom for MS_i , and k is the coefficient for σ_g^2 in the expected mean squares. Broad-sense heritabilities were estimated as

$$h^2 = \sigma_g^2 / (\sigma_g^2 + \sigma_{ge}^2 + \sigma^2),$$

where σ_g^2 is the genetic variance, σ_{ge}^2 is the cultivar x environment interaction variance and σ^2 the residual variance. The standard error of these heritabilities was calculated (Becker, 1975) as

$$SE(h^2) = \{SE(\sigma_g^2)\} / \sigma_p^2,$$

where σ_p^2 is the phenotypic variance and σ_g^2 is the genetic variance.

Phenotypic correlations were calculated from the means across the three blocks for each cultivar x environment combination. Genetic correlations were calculated from variance-covariance matrices obtained by the MANOVA statement of the GLM procedure for the cultivar effect and cultivar x environment interaction. Correlations across environment were calculated from the variance-covariance matrices obtained by MANOVA statement of the GLM procedure for the environment effect, the cultivar x environment interaction, the blocks- within-environments effect, and the residual term.

The Wricke's ecovalence parameter was used as a measure for the phenotypic stability of any given cultivar (Wricke, 1962). Joint regression analysis of cultivar x environment interaction for seed yield was performed according to Finlay and Wilkinson (1963).

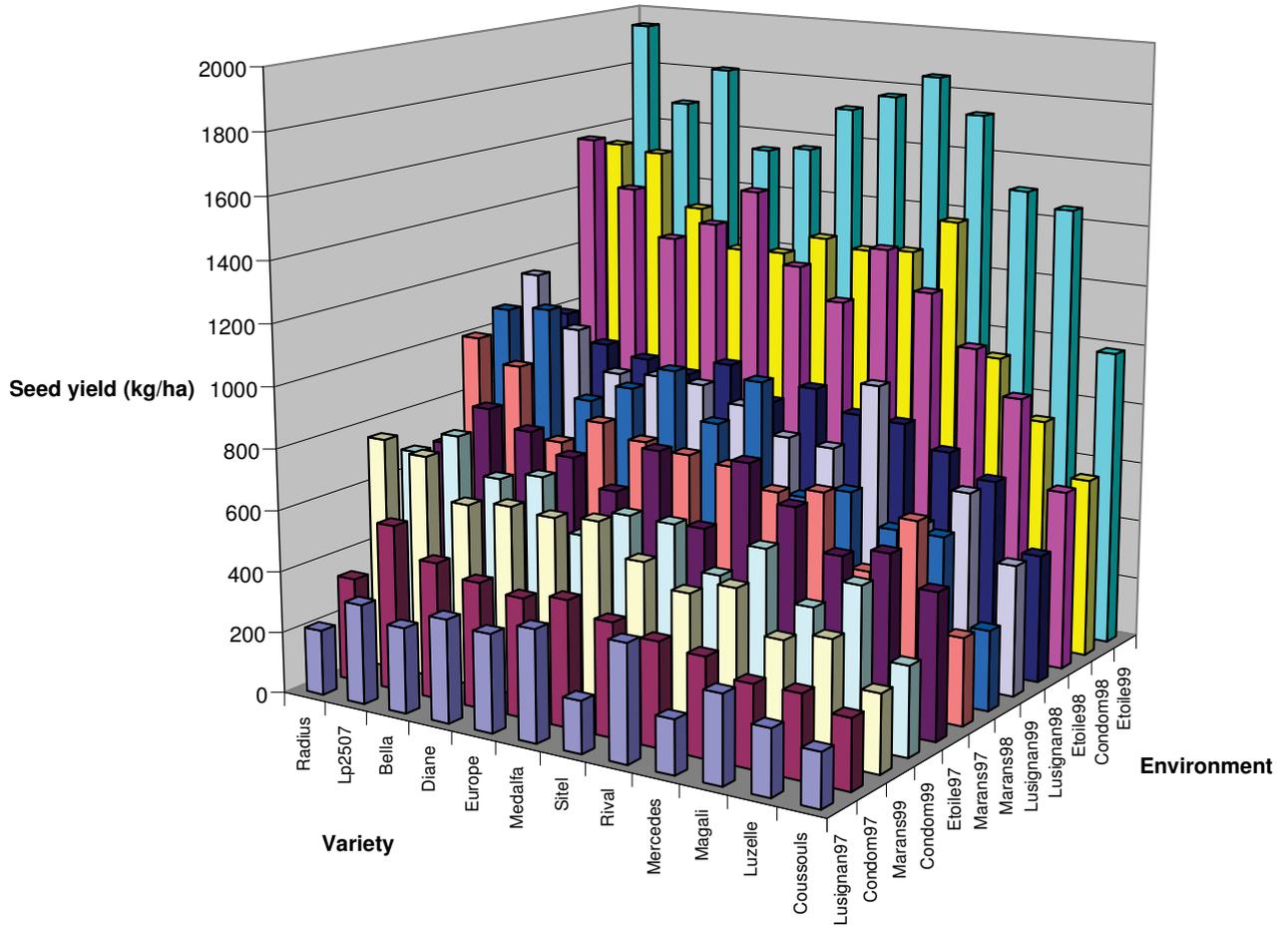


Figure 1 : Seed yield for 12 varieties / genotypes grown in 12 environments.

RESULTS

In all three years of the study and at all four locations the growing seasons were characterized by rather favorable conditions with warm temperatures and regular rainfall during the summer. The main exception were Lusignan in Y0 and Y1 with a severe drought period during flowering and pod growth.

The flowering dates of the control cultivar Europe are given in Table 4. Flowering occurred earlier in Etoile in Y1 and Y2 as a consequence of the omission of clipping at this location. At Condom in 1998, the clipping was performed early in the season and therefore the crop flowered early.

Table 4. Dates of sowing, clipping, flowering and harvest, and average seed yield of 12 alfalfa cultivars grown at four locations in France.

	Location			
	Marans	Etoile	Condom	Lusignan
1997				
Sowing date	18 Mar.	2 Apr.	29 Mar.	16 Apr.
Flowering date	15 June	13 June	22 June	28 June
Harvest date	9 Sept.	5 Sept.	11 Sept.	23 Sept.
Average seed yield, kg ha ⁻¹	725	676	374	278
1998				
Clipping date	28 Apr.	None	22 Apr.	23 Apr.
Flowering date	25 June	5 June	4 June	18 June
Harvest date	3 Sept.	27 Aug.	20 Aug.	27 Aug.
Average seed yield, kg ha ⁻¹	801	1258	1259	830
1999				
Clipping date	12 May	None	27 Apr.	29 Apr.
Flowering date	18 June	2 June	14 June	9 June
Harvest date	26 Aug.	4 Aug.	13 Aug.	24 Aug.
Average seed yield, kg ha ⁻¹	558	1687	585	829

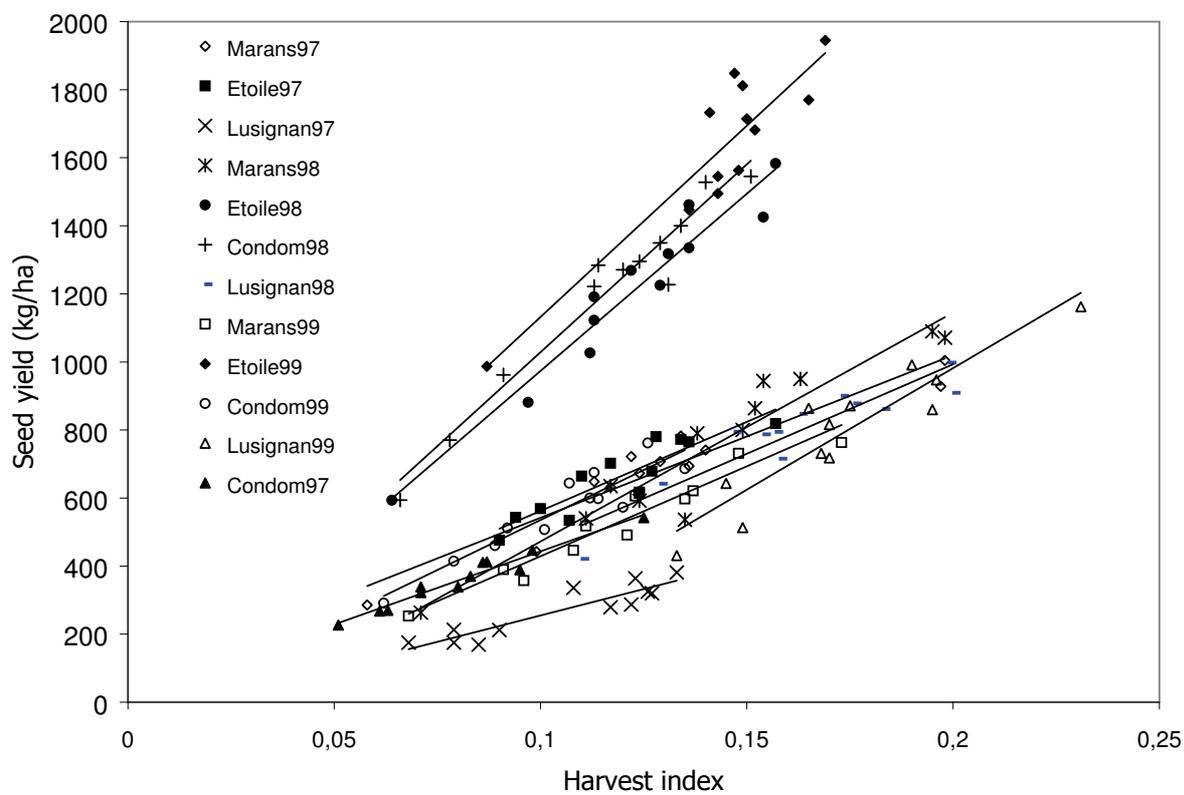
Table 5. Grand mean and mean squares for seed yield, above-ground phytomass, harvest index, seed yield components and lodging score, for 12 cultivars grown in four locations in France over three years.

Source	df	Seed yield	Phytomass	Harvest index	Mean seed weight	No. seeds/pod	Seed weight/ inflorescence	No. pods/ inflorescence	Lodging score
		kg ha ⁻¹	t ha ⁻¹	%	mg		mg		
Location (L)	3	6566727**	451.2**	358**	0.537**	21.89**	49965**	190.6**	10.79NS
Replication (R) /L	9	20960NS	0.8*	8**	0.031NS	0.93**	1700**	6.7NS	0.49NS
Year (Y)	2	9500727**	326.7**	292**	0.037NS	12.41**	98983**	641.5**	13.66NS
Y x L	6	3100783**	131.2**	103**	0.961**	11.68**	18920**	133.0**	17.66**
Cultivar (C)	11	932068**	3.43**	173**	0.136**	3.37**	26949**	273.1**	14.77**
C x Y	22	77379**	0.6NS	9**	0.027*	0.41*	603*	5.1NS	0.81NS
C x L	33	31870**	0.8**	7**	0.027*	0.45**	1402**	12.1**	0.39NS
C x Y x L	66	26777**	0.4NS	4*	0.015NS	0.31*	709**	9.5**	0.73NS
R x C x Y /L	278	12916	0.404	3	0.016	0.22	376	4.7	0.26
Mean		801	6.22	12.7	2.01	4.63	155	16.6	2.28

NS, *, ** Non significant, significant at the 0.05 and 0.01 probability levels, respectively

Table 6. Components of variance and broad-sense heritability (h^2), and their standard errors, for seed yield and its components, measured on 12 cultivars grown in four locations in France over three years.

Traits	Environment	Cultivar	Cultivar x Environment	Error	h^2
Seed yield, kg ha ⁻¹	148 10 ³ (58 10 ³)	25 10 ³ (10 10 ³)	9 10 ³ (2 10 ³)	12 10 ³ (1 10 ³)	0.55 (0.23)
Phytomass, t ha ⁻¹	7.73 (3.00)	0.09 (0.04)	0.06 (0.03)	0.38 (0.03)	0.16 (0.07)
Harvest index	6.32 (2.70)	4.95 (1.97)	1.05 (0.27)	2.72 (0.24)	0.57 (0.23)
Mean seed weight, mg	0.018 (0.006)	0.003 (0.002)	0.001 (0.001)	0.017 (0.001)	0.15 (0.08)
No. seeds/pod	0.388 (0.163)	0.084 (0.036)	0.050 (0.016)	0.216 (0.019)	0.24 (0.10)
Seed weight/inflorescence, mg	1169 (481)	725 (291)	175 (39)	353 (32)	0.58 (0.23)
No. pods/inflorescence	6.61 (2.67)	7.34 (3.01)	1.63 (0.43)	4.58 (0.42)	0.54 (0.22)
Lodging score	0.45 (0.16)	0.38 (0.15)	0.15 (0.31)	0.28 (0.03)	0.47 (0.40)



Environment and cultivar effects

Seed yields averaged 801 kg ha⁻¹ (Table 5), which is higher than the average commercial seed yields in France (450 kg ha⁻¹, J. Hacquet, pers. comm.) but similar to the seed yields achieved in areas most suited for seed production. The year had a significant effect on all traits except mean seed weight and lodging score, while the location effect was significant for all traits except lodging score (Table 5). The year x location interaction was always significant. The effect of year on seed yield was strong, as seed yields was lower in the planting year (Y0) than in the following years (Y1 and Y2). The lowest yields were for two Y0 crops, in Lusignan and Condom, while very high yields were achieved in three environments, i.e., Etoile in Y1 and Y2 and Condom in Y1 (Table 4). The above-ground phytomass varied in a similar manner. The cultivar x year interaction was significant for seed yield, harvest index, and mean seed weight but very small in comparison with the main effects.

When considering the different year x location combinations as different environments, the effects of cultivars, environments and their interaction were significant, except the cultivar x environment interaction for the mean seed weight (Table 5). The seed yield of each cultivar in each environment is shown in Figure 1. The cultivars ranked similarly in each environment. The highest yields were achieved by the cultivar Radius and the experimental cultivar Lp2507. The lowest yields were from the two grazing-type cultivars Coussouls and Luzelle, and Magali (Table 1).

Total above-ground phytomass at harvest was highly variable among environments, from 2.4 to 11.3 t ha⁻¹, but it did not vary much between cultivars. However, the harvest index varied with both environments and cultivars, with an average value of 12.7% and a range of 7 to 18%.

Seed weight per inflorescence averaged 155 mg and varied from 110 to 224 mg among cultivars. Variation for mean seed weight and number of seeds per pod was more narrow than for seed weight per inflorescence, and both varied similarly as a consequence of environments and cultivars.

Variance components for the different random effects are given in Table 6. For all traits except the number of pods per inflorescence, the environmental variance exceeded the genetic variance. This was especially true for above-ground phytomass at harvest for which the environmental variance was 90 times larger than the genetic variance.

Broad-sense heritability for seed yield was moderately high (0.55 ± 0.23) reflecting a large genetic variance and small interaction and residual variances. The large genetic variance was most likely due to the range of cultivars included in the present study, with two pasture-type cultivars which yielded poorly and two high yielding cultivars (Radius in particular). Heritabilities for harvest index, seed weight, and number of pods per inflorescence were high (0.54 to 0.58). Heritability of total aerial above-ground phytomass at harvest was low, reflecting low genetic variance and a large error variance. Mean seed weight and number of seeds per pod also showed low heritabilities as the genetic variation available for these traits appeared to be narrow in the present set of cultivars in comparison to the error term.

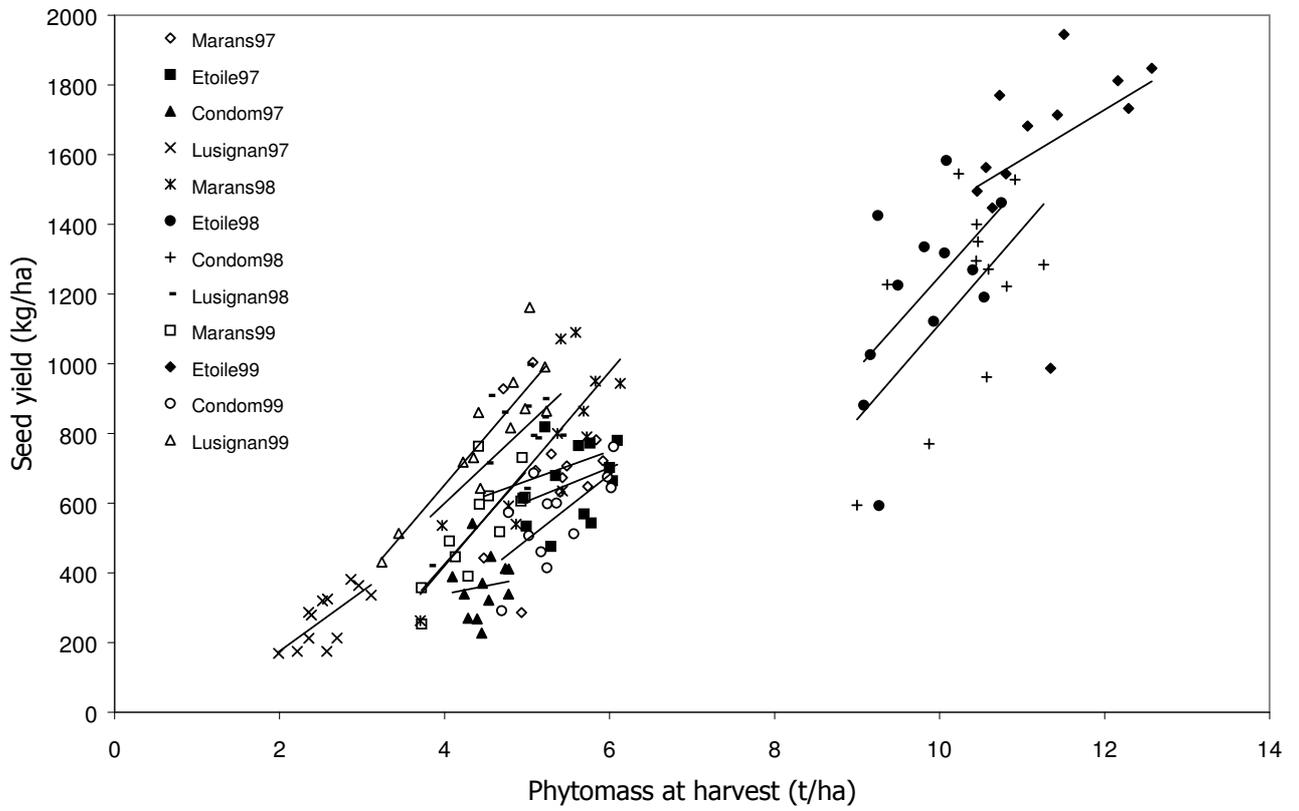


Figure 3 : Relationship between phytomass at harvest and seed yield for 12 cultivars grown in 12 environments

Cultivar x environment interaction

The genetic variance was three times greater than the interaction variance for seed yield. Ecovalence parameter indicated one high yielding cultivar, Radius, and one low-yielding cultivar, Coussouls, contributed mostly to the interaction. Among environments, the highest yielding environments (Etoile in Y1 and Y2 and Condom in Y1) and the lowest yielding one (Lusignan in Y0) contributed most to the interaction. All three environments without clipping significantly contributed to the interaction. Joint regression analysis showed that, for each cultivar, there was a high correlation between mean seed yield in a given environment and the performance of the cultivar in this environment. Indeed, the R^2 of the joint regression varied from 0.89 for Coussouls to 0.99 for Bella. The slopes of the regression varied from 0.55 for Coussouls up to 1.29 for Radius.

Trait correlations

At the phenotypic level (Table 7), the correlation between seed yield and harvest index was significant but moderate ($r = 0.55$). The correlation was high at the genetic level, but low at the environmental level (Figure 2). Thus, variation in seed yield among cultivars in a given environment was related to variation in harvest index. This relationship may be partly related to the lodging. Indeed, the genetic correlation of lodging score with seed yield and harvest index were -0.89 and -0.93 , respectively. Across environments, the major source of variation in seed yield was the total above-ground phytomass present at harvest ($r = 0.94$) (Figure 3). Differences in above-ground phytomass between environments was possibly due to differences in leaf area. The presence of high yielding environments (Etoile in Y1 and Y2 and Condom in Y1) strengthened this correlation. The environmental correlation between above-ground phytomass and seed yield holds true when the Y0 data are removed ($r = 0.93$). The genetic correlation between seed yield and total above-ground phytomass was high ($r = 0.79$).

The correlation between seed yield and seed weight per inflorescence was particularly high at the genetic level ($r = 0.91$), but only 0.40 at the environmental level (Figure 4). Seed weight per inflorescence explains a major part of the variation among cultivars for any given environment. It was genetically correlated with number of pods per inflorescence ($r = 0.91$) and to some extent number of seeds per pod ($r = 0.66$). This later correlation was stronger across environments ($r = 0.82$). The correlation between seed yield and number of seeds per pod was high at the genetic level but low across environments.

Table 7. Phenotypic (below diagonal) ($n = 144$), genetic (above diagonal), and environmental (above diagonal in bold) correlations for seed yield and its components, for 12 cultivars grown in four locations in France over three years.

	Seed yield	Phytomass	Harvest index	Mean seed weight	No. seeds/pod	Seed weight/ inflorescence	No. pods/ inflorescence	Lodging score
Seed yield, kg ha⁻¹		0.79	0.99	-0.17	0.81	0.92	0.70	-0.89
		0.94	0.40	0.28	0.35	0.25	0.00	0.33
Phytomass, t ha⁻¹	0.87***		0.69	0.30	0.60	0.58	0.38	-0.54
			0.07	0.15	0.13	0.05	-0.08	0.33
Harvest index	0.55***	0.11		-0.144	0.80	0.96	0.75	-0.93
				0.20	0.75	0.68	0.35	0.12
Mean seed weight, mg	0.10	-0.00	0.04		0.25	-0.08	-0.39	-0.28
					0.07	0.13	-0.18	-0.39
No. seeds/pod	0.39***	0.13	0.65***	-0.04		0.64	0.29	-0.75
						0.83	0.37	0.04
Seed weight/inflorescence, mg	0.40***	0.09	0.75***	0.01	0.69***		0.91	-0.87
							0.78	0.04
No. pods/inflorescence	0.20*	0.02	0.48***	-0.22	0.19*	0.80***		-0.74
								0.08
Lodging score	0.02	0.21*	-0.29***	-0.28***	-0.16	-0.25**	-0.16	

DISCUSSION

These experiments showed wide variation in seed yield potential among cultivars. The cultivars with the lowest yields were Coussouls and Luzelle, which are grazing-type cultivars with a prostrate growth habit. These cultivars were also the most susceptible to lodging. More generally, a strong negative genetic correlation was found between lodging score and seed yield. Lodging is unfavorable to seed setting, as a more compact canopy could limit pollination and possibly induce disease damage to the pods. The lodging-susceptible cultivars showed a low seed weight per inflorescence. For example, the seed weights per inflorescence were 100 and 139 mg for Coussouls and Luzelle, respectively, while the mean value of all cultivars tested was 155 mg. The low seed weights per inflorescence could also be associated with the genetic background of these cultivars that includes *falcata*-type progenitors, indicated by the presence of variegated flowers. Crochemore et al. (1998) reported 33% and 28% of plants with variegated flowers in Coussouls and Luzelle, respectively. The lower seed weight per inflorescence on these cultivars may then be associated with lower degrees of tripping as observed by Goplen and Brandt (1975) on *falcata* types and with pollinator behavior according to flower color (Steiner et al, 1992a). Thus, the results of the present study do not imply that all grazing tolerant cultivars necessarily produce low seed yields.

At the other end of the range of seed yield variation, the cultivar Radius originated from a breeding program targeting good pod set at low temperatures. The experimental population Lp2507 yielded similarly to Radius (971 kg ha⁻¹). This population carried the long peduncle mutation controlled by a single recessive gene (Bodzon, 1998) and could positively contribute to high seed weight per inflorescence.

Variation in seed yield among cultivars was predominantly related to variation in harvest index, as might be expected since harvest index is calculated from seed yield. The genetic improvement of seed yield through a higher harvest index is similar to the objectives in cereal breeding (Donald, 1968) or in grain legume breeding (Huyghe, 1998). The mean harvest index found in the present study (12.7%) was similar to values of 13.6 to 14.4% found by F. Lelièvre (unpublished data) among agronomic treatments. At the genetic level, seed yield was positively correlated with total above-ground phytomass at harvest (e.g., $r = 0.79$, Table 7). However, it is not possible to draw any conclusion on the relationship between seed production and forage production. Indeed, phytomass at seed harvest also includes seed yield.

Among environments, variation in seed yield was predominantly related to the potential for above-ground phytomass production. Few data are available in the literature to corroborate this relationship. It is interesting that, on average, the seed yields achieved in the year of sowing tended to be lower than in the following seasons, as the above-ground phytomass in the year of sowing is usually lower due to a lower photosynthetic capacity and poorer crown and root development (Gosse et al., 1988; Khaiti and Lemaire, 1992). However, based on the results of the present study, the relationship seems to hold true in a range of variation from 2.4 to 11.3 t ha⁻¹ of above-ground phytomass at harvest even if it must be considered that these results were obtained in conditions previously optimized for seed production (row spacing and sowing density) and that none of the crops

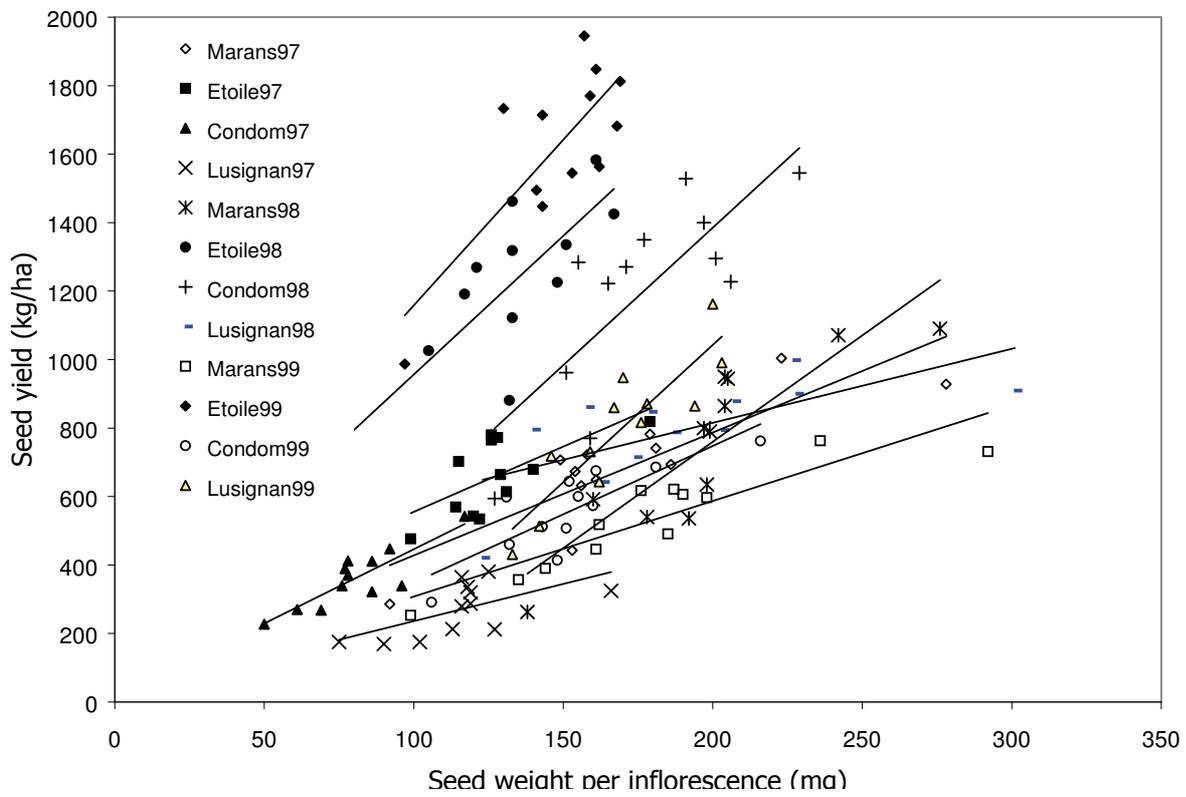


Figure 4 : Relationship between seed weight per inflorescence and seed yield for 12 cultivars grown in 12 environments.

under study suffered from poor pollination or severe lodging problems. If confirmed, the implications of this relationship in terms of agronomic practices would be numerous especially for defining optimum clipping date and pest control practices. Thus, it seems that both genetics and agronomy may be used to improve seed yield. Indeed, both a higher above-ground phytomass achieved with optimization of agronomic practices and a higher harvest index achieved through choice of cultivar can be combined in seed production.

Seed weight per inflorescence seems to be an adequate selection criterion for seed yield breeding in alfalfa. This trait showed high broad-sense heritability and was highly correlated with seed yield and harvest index at the genetic level. Little interaction between cultivars and environments was detected for this trait and was strongly influenced by the experimental cultivar carrying the long peduncle mutation. No interaction was detected between cultivars and years. Thus, seed weight per inflorescence could be measured in the planting year as an early assessment of yielding potential. Indeed, in our experimental design, we calculated the seed weight per inflorescence for each cultivar across the four locations in the planting year. This value showed a highly significant correlation with mean seed yield in Y1 and Y2 ($r = 0.80$, $P \leq 0.01$). There was a wide range of genetic variation in seed weight per inflorescence among the material included in the present study. A much wider range of variation was evidenced when investigating both the between-population and within-population variation (Bolaños-Aguilar et al., 2000).

Variation in seed weight per inflorescence among environments and cultivars was related both to variation in number of pods per inflorescence and in number of seeds per pod, not to variation in mean seed weight. The seed weight per inflorescence can thus integrate both sources of variation.

In conclusion, higher yielding cultivars had higher seed weight per inflorescence and higher harvest index. Higher yields may also be achieved through modification of agronomic practices that lead to higher above-ground phytomass.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank Prof Z. Staszewski (IHAR Radzikow, Poland) and B. Tharel (Barenbrug-Tourneur-Recherches, France) for providing seeds and J. Jousse and A. Gilly from INRA and S. Bador, L.M. Broucqsault, J.L Chareyron, C. Fourreau and L. Nardi from FNAMS for their technical assistance. Dr I. Shield is thanked for his editorial modifications of the manuscript.

REFERENCES

- Abu-Shakra, S., M. Akhtar, and D.W. Bray. 1969. The influence of irrigation interval and plant density on alfalfa seed production. *Agron. J.* 61:569-571.
- Abu-Shakra, S., M.L. Bhatti, and H. Ahmed. 1977. Effect of forage harvest frequency on subsequent seed production and pollen quality. *Agron. J.* 69:428-431.
- Askarian, M., J.G. Hampton, and M.J. Hill. 1995. Effect of row spacing and sowing rate on seed production of lucerne (*Medicago sativa* L.) cv. Grasslands Oranga. *N. Z. J. Agric. Res.* 38:289-295.
- Becker, W.A. 1975 *Manual of quantitative genetics*. Washington State Univ., Pullman, Washington.
- Bodzon, Z. 1998. Inheritance of spontaneous long peduncle mutation in alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Plant Breeding & Seed Science* 42:3-9.
- Boçsa, I., and J. Buglos. 1983. Seed yield and some factors influencing seed setting at the variety level in lucerne. *Z. Pflanzenzuchtg.* 90:172-176.
- Bolaños-Aguilar, E.D., C. Huyghe, B. Julier, and C. Ecalte. 2000. Genetic variation for seed yield and its components in alfalfa (*Medicago sativa* L.) populations. *Agronomie* 20:333-345.
- Crochemore, M.L., C. Huyghe, C. Ecalte, and B. Julier. 1998. Structuration of alfalfa genetic diversity using agronomic and morphological characteristics. Relationship with RAPD markers. *Agronomie* 18:79-94.
- Donald, C.M. 1968. The breeding of crop ideotype. *Euphytica* 17:385-403.
- Falcinelli, M. 2000. Temperate forage seed production: conventional and potential breeding strategies. *International Herbage Seed Production Research Group Newsletter* 31:7-15.
- Finlay, K.W., and G.N. Wilkinson. 1963. The analysis of adaptation in a plant breeding programme. *Aust. J. Agric. Res.* 14:742-754.
- Genter, T., E. Deléens, and A. Fleury. 1997. Influence of photosynthetic restriction due to defoliation at flowering on seed abortion in lucerne (*Medicago sativa* L.). *J. Exp. Bot.* 48:1815-1823.
- Goldman, A., and A. Dovrat. 1980. Irrigation regime and honey bee activity as related to seed yield in alfalfa. *Agron. J.* 72:961-965.
- Goplen, B.P., and S.A. Brandt. 1975. Alfalfa flower color associated with differential seed set by leaf-cutter bees. *Agron. J.* 67:804-806.
- Gosse, G., G. Lemaire, M. Chartier, and F. Balfourier. 1988. Structure of population of *Medicago sativa* L. and dynamics of stem competition for light during regrowth. *J. Appl. Biol.* 25:609-617.
- Hacquet, J. 1990. Genetic variability and climatic factors affecting lucerne seed production. *J. Appl. Seed Prod.* 8:59-67.
- Hutmacher, R.B., J.J. Steiner, S.S. Vail, and J.E. Ayars. 1991. Crop water stress index for seed alfalfa: influences of within-season changes in plant morphology. *Agricultural Water Management* 19:135-149.
- Huyghe, C. 1998. Genetics and genetic modifications of plant architecture in grain legumes: a review. *Agronomie* 18:383-411.

- Khaiti, M., and G. Lemaire. 1992. Dynamics of shoot and root growth of lucerne after seeding and after cutting. *Eur. J. Agron.* 1:241-247.
- Knapp, E.E., and L.R. Teuber. 1994. Selection progress for ease of floret tripping in alfalfa. *Crop Sci.* 34:323-326.
- Kowithayakorn, L., and M.J. Hill. 1982. A study of herbage and seed production in lucerne (*Medicago sativa* L.) under different plant spacing and cutting treatments in the seeding year. *Seed Sci. Technol.* 10:3-12.
- Lorenzetti, F. 1981. Relationship between dry matter and seed yield in leguminous forage plants. p. 57-74. *In* G. van Bogaert (ed) Breeding high yielding forage cultivars combined with high seed yield. Report of the meeting of the Eucarpia Fodder Crops Section, Merelbeke, Belgium.
- Rosellini, D., F. Lorenzetti, and E.T. Bingham. 1998. Quantitative ovule sterility in *Medicago sativa*. *Theor. Appl. Genet.* 97:1289-1295.
- SAS Institute, Inc. 1988. SAS user's guide: Statistics. 6th ed. SAS Inst. Inc., Cary, NC.
- Steiner, J.J., P.R. Beuselink, R.N. Peaden, W.P. Kojis, and E.T. Bingham. 1992a. Pollinator effect on crossing and genetic shift in a three-flower-color alfalfa population. *Crop Sci.* 32:73-77.
- Steiner, J.J., R.B. Hutmacher, S.D. Gamble, J.E. Ayars, and S.S. Vail. 1992b. Alfalfa seed water management: Crop reproductive development and seed yield. *Crop Sci.* 32:476-481.
- Taylor, A.J., and V.L. Marble. 1986. Lucerne irrigation and soil water use during bloom and seed set on a red-brown earth in south-eastern Australia. *Aust. J. Exp. Agric.* 26:577-581.
- Viands, D.R., P. Sun, and D.K. Barnes. 1988. Pollination control: mechanical and sterility. p. 931-960. *In* A.A. Hanson et al. (ed). Alfalfa and Alfalfa Improvement. Agron. Monogr. 29. ASA, CSSA, and SSSA, Madison, WI.
- Wricke, G. 1962. Über eine Methode zur Erfassung der Ökologischen Streubreite in Feldversuchen. *Zeitsch. Pflanz.* 47:92-96.

2.3. Discussion complémentaire

Les effets des cultivars et des conditions environnementales sur le rendement grainier et ses composantes sont tous deux importants. Mais l'amplitude de variation pour le rendement grainier entre conditions environnementales est plus large que celle observée entre cultivars. L'interaction entre cultivars et conditions environnementales est significative pour tous les caractères sauf pour la biomasse à la récolte. Cependant, la variance de l'interaction a toujours été plus faible que celle du cultivar. Cela montre qu'il existe une homéostasie importante des caractères liés au rendement grainier, qui peut être expliquée pour partie par la structure génétique des cultivars de luzerne qui sont tous des populations synthétiques.

Cette étude, menée en couverts denses, a mis en évidence l'importance de l'indice de récolte et de la production de biomasse à la récolte pour la production de graines en culture porte-graines. En effet, au niveau génétique, le rendement grainier a été fortement corrélé avec l'indice de récolte ($r = 0.99$) et plus faiblement avec la biomasse aérienne ($r = 0.79$). En revanche, au niveau environnemental, le rendement grainier était peu corrélé à l'indice de récolte ($r = 0.40$) et très corrélé à la biomasse aérienne ($r = 0.94$). L'indice de récolte est une composante importante de l'amélioration du rendement en graines des légumineuses à grosses graines mais son utilisation comme critère de sélection effectif est très difficile (Huyghe, 1998). Pour les légumineuses fourragères, l'augmentation génétique de l'indice de récolte pourrait affecter négativement la production de biomasse végétative. Dans l'article précédent, la biomasse aérienne considérée prenait en compte la biomasse reproductive (graines et gousses). Dans une analyse complémentaire, nous avons calculé la corrélation entre la biomasse aérienne végétative, le rendement grainier et ses composantes.

La biomasse végétative, au moment de la récolte des graines, a donc été estimée à partir de la biomasse totale disponible à maturité. Pour cela, la relation entre le poids de graines par inflorescence et le poids total des inflorescences avant battage a été estimée sur les cultures récoltées en 1999. La corrélation entre les deux caractères est hautement significative ($r = 0.81$, 142 ddl ; Figure 3.1). Sur la base de cette relation, nous avons calculé la proportion moyenne de cosses qui atteint 55.6%. En faisant l'hypothèse que la proportion est constante pour tous les cultivars et tous les environnements, la matière sèche du compartiment reproducteur (graines + cosses) a été estimée. La biomasse strictement végétative a alors été calculée par différence. Les résultats issus de ces calculs doivent être pris avec précaution en raison du nombre de calculs préalablement effectués et des hypothèses sous-jacentes.

On obtient des corrélations entre le rendement en graines et la biomasse végétative de - 0.56 au niveau génétique et de 0.88 au niveau environnemental (Tableau 2). Ceci indique qu'en sélectionnant les cultivars sur l'indice de récolte, on risquera de pénaliser la production de biomasse végétative. Cependant, la corrélation génétique négative reste relativement modérée.

D'autre part, cette biomasse a été mesurée au stade de récolte des graines, dans un dispositif expérimental propre à la production de graines. Elle ne peut donc être considérée comme un indicateur exact de la production de fourrages. La relation négative entre rendement fourrager et rendement grainier, chacun mesuré dans un dispositif adapté, n'est donc pas prouvée.

Tableau 2. Corrélations génétiques et environnementales entre la biomasse végétative calculée et les autres caractères mesurés dans l'étude impliquant 12 cultivars cultivées dans 12 conditions environnementales.

	Corrélation génétique	Corrélation environnementale
Rendement grainier	-0.56	0.88
Biomasse totale à la récolte	0.04	0.98
Indice de récolte	-0.07	-0.07
Poids moyen d'une graine	0.14	0.10
Nombre de graines/gousse	-0.52	0.02
Poids de graines/inflorescence	-0.74	-0.03
Nombre de gousses/infl.	-0.65	-0.11
Verse	0.74	0.31

Au niveau environnemental, la biomasse végétative est fortement corrélée à la biomasse totale, alors qu'au niveau génétique, cette corrélation est nulle. Au niveau génétique, il convient aussi de souligner les corrélations négatives fortes entre la biomasse végétative et les poids de graines ou nombre de gousses par inflorescence. Ceci est vraisemblablement lié à la présence de Lp2507 parmi les cultivars en étude. Cette population à longues inflorescences se caractérise aussi par la plus faible production de biomasse végétative. Cette faible production de biomasse végétative pourrait éventuellement être associée à la structure génétique de cette population expérimentale mis à notre disposition par B. Tharel (Barenbrug Tourneur Recherches, Connantre, France). En effet, le caractère 'longue inflorescence' est contrôlé par une mutation récessive. Son introduction et son expression dans une population en sélection induisent un recours à des étapes d'autofécondation. Ceci peut alors induire une dépression de consanguinité, préjudiciable au développement végétatif.

L'analyse des corrélations génétiques entre le rendement grainier et les biomasses permet de supposer qu'il n'y a pas de relation négative sévère entre le rendement grainier et la production de fourrage en couvert dense. Heinrichs (1965), Kristeck (1979) et Veronesi et Falcinelli (1987) avaient déjà observé des relations nulles ou positives entre production de biomasse et rendement en graines. Si ces résultats sont confirmés dans des études où on mettra en parallèle la production de semences et la production de fourrage, chacune évaluée dans un dispositif adapté, on pourrait réunir dans la même cultivar un fort potentiel de rendement en graines et un fort potentiel de production de fourrage.

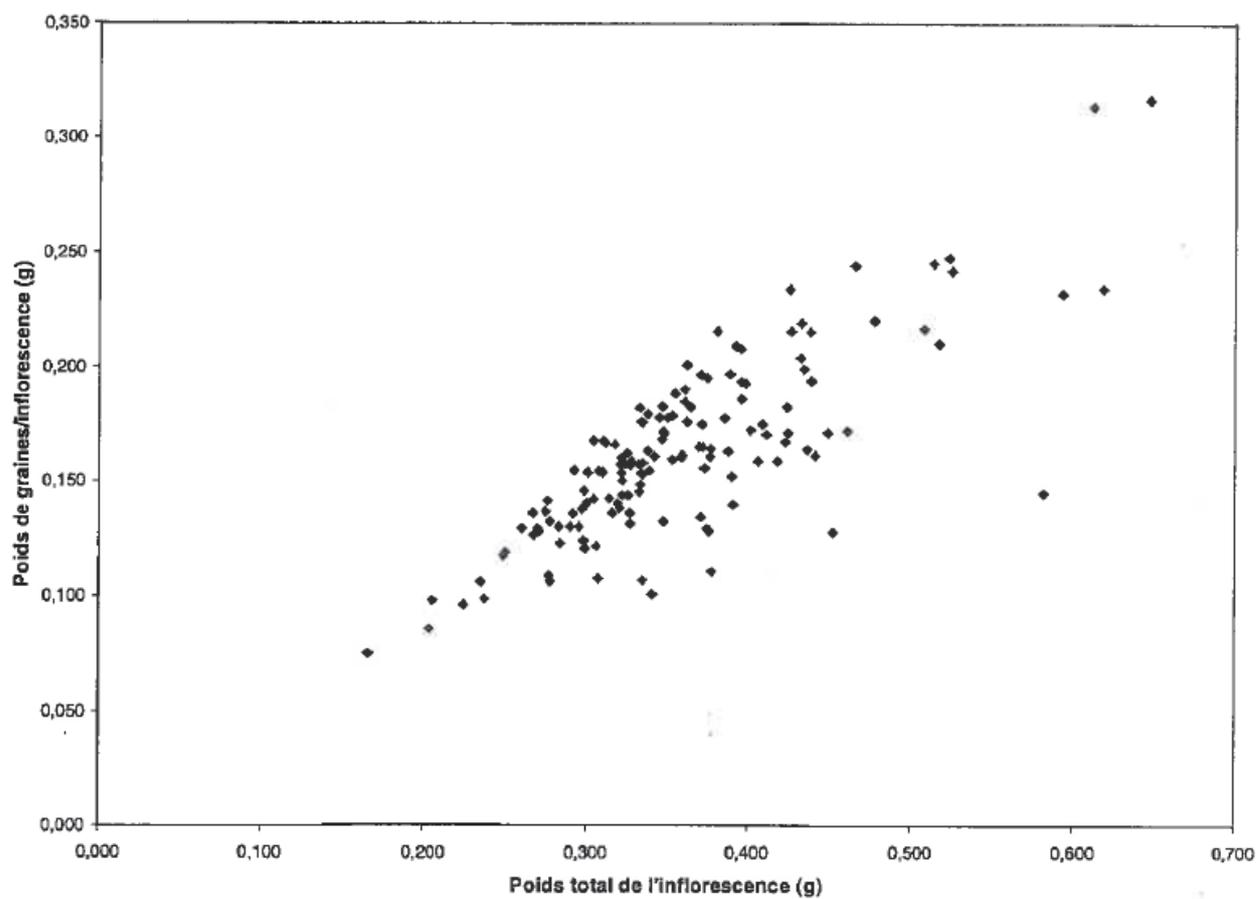


Figure 3.1 Relation entre le poids d'une inflorescence et le poids de graines par inflorescence. Estimation faite sur une année (1999), 4 lieux et 12 variétés.

Parmi les composantes du rendement mesurées, le poids de graines par inflorescence est un caractère bien corrélé génétiquement au rendement en graines et présentant une forte héritabilité. Il est, de plus, relativement facile à mesurer. Les variations observées pour le poids de graines par inflorescence entre environnements et cultivars s'expliquent par le nombre de gousses par inflorescence (corrélation génétique de 0.91) et le nombre de graines par gousse (corrélation génétique de 0.82). Sur les inflorescences échantillonnées pour cette étude, le nombre de gousses par inflorescence variait de 16.6 à 24.4. Certains travaux avaient montré que le nombre de graines par gousse était un bon critère de sélection pour une évaluation sur des plantes isolées. Dans notre étude menée en couverts denses porte-graines, ce caractère a montré une variabilité génétique modérée et une faible héritabilité (0.24) liée à la fois à cette variance génétique et à la variance résiduelle importante.

L'inflorescence est une unité biologique limitée, et la nouaison des gousses d'une inflorescence se produit dans un délai de 12 à 36 h. Le poids de graines par inflorescence englobe deux caractères : le nombre de gousses par inflorescence et le nombre de graines par gousse. Des phénomènes de compensation entre ces deux critères élémentaires peuvent intervenir, donnant un intérêt supplémentaire au poids de graines par inflorescence.

Sur la base de ces résultats, le poids de graines par inflorescence est un caractère qui pourrait être un bon critère de sélection pour augmenter le rendement grainier chez la luzerne. Néanmoins, il faut auparavant connaître la variabilité génétique disponible, que ce soit au niveau des cultivars ou au niveau intra-population. Par ailleurs, il faut évaluer l'héritabilité au sens strict de ce caractère, en évaluant la part de variance additive dans la variance génétique totale. Cette analyse génétique du rendement en graines et de ses composantes comprendra une évaluation de la variabilité génétique disponible et une analyse de la transmission de ces caractères en croisement. D'autre part, l'analyse de l'effet des conditions environnementales sur le rendement grainier sera poursuivie, en cherchant à étayer les bases de la relation entre la biomasse aérienne et le rendement grainier. Cette analyse agronomique évaluera l'effet d'un grand nombre de conditions environnementales sur le rendement grainier de deux cultivars.

CHAPITRE III

Etude génétique de la
production de semences
chez la luzerne

Chapitre 3. Etude génétique de la production de semences

3.1 Introduction

Tout programme d'amélioration génétique doit commencer par l'évaluation de la variabilité génétique disponible pour les caractères d'intérêt, au sein d'une collection de plantes issues de variétés, de populations, ou d'écotypes. La sélection est seulement possible s'il y a une variabilité génétique pour le caractère à améliorer, en ce qui nous concerne pour les composantes du rendement grainier. Chez la luzerne, la variabilité génétique a été principalement évaluée pour la production de biomasse, les résistances aux maladies et aux ravageurs, l'adaptation au milieu et la qualité. La production de graines n'a été évaluée qu'en fin des programmes de sélection, c'est à dire sur des populations synthétiques, sans analyse fine des composantes du rendement.

Le rendement grainier pour cette espèce n'était pas un problème prioritaire, mais il est reconnu que c'est un atout important pour la commercialisation des variétés. Le caractère à améliorer est le rendement grainier en couvert dense, dans les conditions de culture et d'exploitation mises au point pour le maximiser. Il résulte de la mise en place des différentes composantes du rendement, qu'on peut décliner en se plaçant à différents niveaux d'organisation de la plante: plante, tige, inflorescence, gousse, graine (Figure 1.9). Tenant compte des études antérieures montrant d'importance des phénomènes de compensation dans l'élaboration du rendement grainier, liés aux corrélations existantes entre les composantes du rendement, nous avons privilégié certains niveaux d'approche. Ainsi, il est décrit que le niveau "tige" est plus pertinente que le niveau "plante" dans les études en couverts denses, car chaque plante dans un peuplement a un nombre différent de tiges qui dépende de la densité de semis. De même, nous nous sommes particulièrement intéressés aux caractères au niveau de l'inflorescence, car des travaux sur de nombreuses espèces avaient montré les compensations possibles entre le nombre de gousses, le nombre de graines par gousse et le poids de 1000 graines (Pederson *et al.*, 1956 ; Lewis, 1970 ; Lorenzetti, 1993). La prise en compte de l'inflorescence comme niveau d'étude est entièrement originale par rapport aux études déjà menées sur la production de graines chez la luzerne.

L'évaluation de la variabilité génétique concernera à la fois le rendement grainier et ses composantes. En raison de la grande diversité génétique de la luzerne due à sa pollinisation croisée (allogame) et à sa tétraploïdie, il nous est paru important de chercher de la variabilité génétique à deux niveaux : entre les populations et à l'intérieur des populations pour le rendement grainier et ses composantes. La part de variation disponible entre variétés et au sein de chaque variété sera décrite pour chaque caractère. Cette analyse sera menée dans un dispositif de plantes isolées, d'une part pour évaluer correctement chaque individu, d'autre part en référence aux premières étapes de la sélection qui sont très généralement menées dans ce type de dispositif. Dans ce dispositif, l'héritabilité, au sens large, des caractères sera évaluée. De même, les corrélations entre rendement grainier et ses composantes seront calculées.

Le matériel utilisé pour l'évaluation de la variabilité génétique entre populations et à l'intérieur d'une population provient de différentes régions d'Europe, d'Afrique du Nord, d'Amérique et d'Asie. Il est constitué par des populations et des variétés cultivées qui appartient à la sous-espèce *sativa*. Ainsi, elles couvrent le maximum de variabilité génétique disponible, et exploitable dans les programmes de sélection conduits en Europe de l'Ouest.

L'étude génétique sera poursuivie par une analyse de la transmission des caractères de rendement grainier en croisement. Deux plans de croisement permettront d'évaluer les aptitudes à la combinaison, et de calculer la part de variance d'additivité dans la variance génétique totale. L'héritabilité au sens strict des caractères sera estimée. Le matériel génétique utilisé provient de populations ou de variétés françaises, dont les potentialités de rendement grainier sont variables.

Les résultats obtenus de cette étude génétique ont été traités en deux articles. Le premier traite de la variabilité génétique pour le rendement grainier et ses composantes. Cet article a été publié dans la revue *Agronomie* 20 (2000) 333-345, sous le titre « **Genetic variation for seed yield and its components in alfalfa (*Medicago sativa* L.) populations** ». Le deuxième traite de l'hérédité des mêmes caractères. Cet article a été publié dans la revue *Plant Breeding* 120 (2001) 67-72, sous le titre « **Genetic control of alfalfa seed yield and its components** ».

3.2 Variabilité génétique pour le rendement grainier et ses composantes

Article 2 : « Genetic variation for seed yield and its components in alfalfa (*Medicago sativa* L.) populations ».

Agronomie 20 (2000) 333–345
© INRA, EDP Sciences 2000

333

Original article

Genetic variation for seed yield and its components in alfalfa (*Medicago sativa* L.) populations

Eduardo-Daniel BOLAÑOS-AGUILAR, Christian HUYGHE*, Bernadette JULIER,
Christian ECALLE

Unité de Génétique et d'Amélioration de Plantes Fourragères, INRA, Route de Saintes, 86600 Lusignan, France

(Received 4 October 1999; accepted 19 January 2000)

Abstract – Genetic variation in seed yield and its components was investigated in alfalfa (*Medicago sativa* L.) in two experiments established in a spaced plant design. The first experiment evaluated the among-population genetic variation in a set of 45 cultivated populations. It showed a significant population effect for all the characters evaluated with a different behavior among the Mediterranean and the Nordic materials while the population \times year interaction was only significant for the seed yield per plant. A second experiment evaluated the genetic variation among and within-populations in a set of 11 populations. The among- and within-population effects were significant for almost all the components. The among-population variance accounted for 5 to 31% of the total genetic variance for seed yield components, while the within-population variance explained 69 to 95%. In both experiments, the broad-sense heritabilities of characters varied from 0.27 to 0.43. The number of inflorescences, seed number per plant and seed weight per inflorescence showed high phenotypic and genetic correlations with seed yield per plant. The possibility of using the seed weight per inflorescence as a selection criterion is discussed.

alfalfa / seed yield / population / genetic variation / selection criterion

Résumé – Variabilité génétique intra- et inter-population pour le rendement grainier et ses composantes chez la luzerne. Deux essais ont été implantés, en plantes isolées, pour évaluer la variabilité génétique pour le rendement grainier et ses composantes chez la luzerne (*Medicago sativa* L.). Le premier essai a mis en évidence une variabilité génétique inter-population au sein d'un ensemble de 45 populations cultivées pour toutes les composantes évaluées avec un comportement différent des types nordiques et des types méditerranéens. L'interaction année \times population n'est significative que pour le rendement et le nombre de graines par plante. Le deuxième essai a évalué la variabilité génétique inter- et intra-population dans un ensemble de 11 populations. Les effets inter- et intra-population ont été significatifs pour toutes les composantes. La variance inter-population représente de 5 à 31 % de la variance génétique totale, et la variance intra-population de 69 à 95 % pour les différentes composantes. Les héritabilités au sens large des

Communicated by Mervyn Humphreys (Aberystwyth, UK)

* Correspondence and reprints
huyghe@lusignan.inra.fr

composantes ont varié de 0,27 à 0,43. Le nombre d'inflorescences et le nombre de graines par plante et le poids de graines par inflorescence sont fortement corrélés phénotypiquement et génétiquement avec le rendement grainier par plante dans un dispositif en plantes isolées. La possibilité d'utiliser certaines composantes relatives à l'inflorescence comme critère de sélection pour le rendement grainier est discutée.

luzerne / rendement grainier / population / variation génétique / critère de sélection

1. Introduction

Alfalfa (*Medicago sativa* L.) is a cross-pollinated autotetraploid forage legume. At present, this species is grown on more than 33 000 000 ha in the world and the main alfalfa-producing areas are central and eastern Europe, the Mediterranean basin and north America [27]. Variability for agronomic and morphological traits of alfalfa is frequently used in breeding programs for developing cultivars with a high forage production and quality, but seed-yielding ability has rarely been an important criterion in the early stages of selection programs. However, the ability of a cultivar to give a high seed yield determines its effective distribution to farmers at competitive prices. The seed yield of alfalfa is very low (250–400 kg·ha⁻¹) compared to its high vegetative biomass, up to 8 000 kg·ha⁻¹ [12]. According to Lorenzetti [24], the theoretical seed yield potential in alfalfa calculated from the number of flowers and the number of ovules is 12 000 kg/ha, but the actual seed yield achieved under the most favorable conditions only reaches 4% of this seed yield potential. Many forage breeders expect a negative correlation between dry matter production and seed yield. However, such a negative correlation between production of dry matter and seed is difficult to demonstrate both in grasses [1] and legumes [23]. In alfalfa, a significant positive phenotypic correlation between seed and forage yield was observed by Boçsa and Buglos [4] and Melton [26], while Heinrichs [15] found no relationship between seed yield and dry matter yield. A positive relationship may be due to architectural attributes such as tall and lodging tolerant stems which would enhance both characters [13, 22]. The phenotypic correlation between harvest index and seed yield is also highly significant

[33]. Therefore, it should be possible to increase seed yield in alfalfa without a negatively correlated response on forage yield.

Knowledge of the extent of genetic variation for seed yield components remains an important step in alfalfa breeding programs [29]. Hacquet [14] reviewed the relationships between seed yield and its components in alfalfa across varieties and environments. He reported that seed yield was highly correlated with number of seeds per pod, number of inflorescences and number of pods per inflorescence. Seed yield components such as fertility (number of pods per 100 flowers), seed number per pod, mean seed weight, number of inflorescences and number of pods per inflorescence explained differences in seed yield among cultivars. They were used to develop selection criteria for breeding higher yielding cultivars or for selection of germplasm [5]. However, all of these studies evaluated few seed yield components related to the inflorescence itself. Crochemore et al. [8] and Julier et al. [17] have shown a large genetic variability for some morphological and agronomic characters associated with forage and seed yield and quality in alfalfa populations. Because of their genetic structure, the within-population variation was shown to be large for morphological and quality traits [18] as well as for molecular markers [7]. However, nothing is known about the genetic diversity available within the alfalfa populations for the seed yield and seed yield components.

The objectives of the present study were to evaluate genetic variation for seed yield and its components among and within a large range of alfalfa populations grown in a spaced plant design. Major emphasis was given to traits associated with the inflorescence. The possibility of exploiting genetic variation in breeding programs is discussed.

2. Materials and methods

2.1. Plant material and experimental design

Two experiments were carried out at the Unité de Génétique et d'Amélioration des Plantes Fourragères, INRA, at Lusignan (46.26°N; 0.07°E), France on a loamy-clay soil, pH 6.8. In both experiments, plants were established in a spaced plant design with 70 cm between plants in both directions. No inoculation was performed prior to transplanting because of the presence of indigenous *Rhizobium meliloti* populations. Pollination was ensured by native pollinators, and was considered not to be a limiting factor. No irrigation or insecticide were applied during the reproductive development of the plants.

2.1.1. Among-population variation

In experiment I, 45 alfalfa populations of different genetic origins (Tab. I) were analyzed to determine the genetic variation for seed yield and its components. The populations were either varieties or local landraces and were chosen to cover a wide range of geographic origin in *M. sativa* ssp. *sativa*. The populations were classified into two groups of diversity, the cultivated Nordic types including the Flemish material and the cultivated Mediterranean types. The seeds were mechanically scarified to obtain a homogeneous germination. The seeds were germinated in Petri dishes placed for 48 h in a growth cabinet at 24 °C. The seedlings were then planted in a greenhouse. After 2 months in the greenhouse, the plants were clipped and transplanted into the field on 18 April 1994. The trial was established in a randomized block design with three replications. Each individual plot consisted of 30 random plants. In two consecutive years, 1995 and 1996, seed yield and yield components were analyzed during summer growth. The plots were cut on 14 June and 15 May in 1995 and 1996 respectively.

2.1.2. Within-population variation

For experiment II, in February 1997 11 of the original 45 populations of alfalfa (Tab. I) were selected to evaluate genetic variation among- and

Table I. Origin of the 45 populations of alfalfa studied to assess among-population variation. Populations marked with (*) were used in experiment II.

Population	Origin	Group
3. Dem3	Morocco	Mediterranean
4. Pool5	Morocco	Mediterranean
5. Gabes	Tunisia	Mediterranean
* 6. Flamande	France	Nordic
7. Provence	France	Mediterranean
8. Marais de Luçon	France	Nordic
12. Natsuwakaba	Japan	Nordic
* 13. Magali	France	Mediterranean
* 14. Europe	France	Nordic
* 15. Medalfa	France	Mediterranean
* 16. Rival	France	Nordic
17. Resis	France	Nordic
* 18. Maya	France	Nordic
19. Alègro	France	Nordic
* 20. Orca	France	Nordic
21. 63-28p	France	Nordic
* 22. Luzelle	France	Nordic
23. Julius	Sweden	Nordic
24. Lodi	Italy	Mediterranean
25. Aragon	Spain	Mediterranean
* 26. Ampurdan	Spain	Mediterranean
27. Tierra de Campos	Spain	Mediterranean
28. Mediterraneo	Spain	Mediterranean
29. Totana	Spain	Mediterranean
30. Coussouls	France	Mediterranean
31. Crioula	Brazil	Mediterranean
32. WL514	USA	Mediterranean
33. Alfagraz	USA	Nordic
34. Altfranken-S-S	Germany	Nordic
35. CUF101	USA	Mediterranean
36. Radouga	Russia	Nordic
37. 27-48	France	Nordic
38. Sewa	Egypt	Mediterranean
39. Chypre	Cyprus	Mediterranean
40. Higazi	Sudan	Mediterranean
42. 2929	India	Mediterranean
* 43. Sabre	Canada	Nordic
44. Victory	Canada	Nordic
45. Rhizoma	Canada	Nordic
46. Lamia	Greece	Mediterranean
* 47. Kayserie	Turkey	Mediterranean
48. Lutèce	France	Nordic
49. 63-28 p × Rival	France	Nordic
50. 63-28 p × Maya	France	Nordic
51. 68-28 p × Lutèce	France	Nordic

within-populations. Twenty plants per population were randomly picked from the old nursery. Each plant was considered as a different genotype based on the genetic structure of the alfalfa populations. Each genotype was cloned via cuttings to obtain four clones that were rooted in the greenhouse. One month later, these clones were transplanted to the experimental field (15 April 1997). The experimental design consisted of four blocks. A block was formed of 11 populations with 20 genotypes each. The seed yield and its components were analyzed during the first year of growth.

2.2. Plant characteristics

In experiment I, seed yield and its components were evaluated in 1995 and 1996 on a plot basis. Prior to harvest, the number of plants per plot was counted. For the measurement of the yield components, the third inflorescence of the longest stem of each plant was sampled. For each plot, the inflorescences were weighed. The two basal pods from each inflorescence were sampled and threshed, and their seeds counted. From these data, the number of seeds per pod, the mean seed weight and the seed weight per pod were calculated. The rest of the inflorescences were threshed and the seed weighed. From these data, the following characters were calculated: seed weight per inflorescence, number of pods per inflorescence, number of seeds per inflorescence. The whole plot was then harvested with a combine and seed weight measured. The seed yield per plant was calculated from the seed yield per plot divided by the plant number per plot.

In experiment II, seed yield and its components were evaluated on an individual plant basis. At maturity, the first four inflorescences of the longest stem were collected and the first five pods of each inflorescence were sampled. These 20 pods were threshed and their seeds weighed and counted to calculate the number of seeds per pod, the seed weight per pod and the mean seed weight. The rest of the four inflorescences was threshed to determine the seed weight per inflorescence. After threshing the rest of the plant, the seed yield per plant was calculated as well as the numbers of seeds and inflorescences per plant.

2.3. Statistical analysis

Statistical analyses were carried out using procedures from the SAS program [30].

In experiment I, analysis of variance (ANOVA) was performed with the population effect as random and the block effect as fixed. The model was: $X_{ijk} = \mu + P_i + Y_j + (PY)_{ij} + b_k + \epsilon_{ijk}$, where X_{ijk} = phenotypic value observed of population i in year j for block k ; μ = grand mean; P_i = effect of population i ; Y_j = effect of year j ; $(PY)_{ij}$ = population i \times year j interaction; b_k = effect of block k ; ϵ_{ijk} = residual error. Variance components were calculated using the VARCOMP procedure. The standard errors (SE) of variances of the random effects were estimated following Becker [3] as: $SE(\sigma_g^2) = (2/k^2 \Sigma_i [MS_i^2/(f_i + 2)])^{1/2}$ where MS_i = mean square of effect i used to estimate the variance component g , f_i = degrees of freedom corresponding to the effect i , k = coefficient of σ_g^2 in $E(MS_g)$. Broad-sense heritabilities were estimated: $h^2 = \sigma_g^2 / (\sigma_g^2 + \sigma_{py}^2 + \sigma_e^2)$ with σ_g^2 = genetic variance, σ_{py}^2 = population \times year interaction variance and σ_e^2 = error variance. The standard error of these heritabilities [$SE(h^2)$] was calculated using the equation of Becker [3]: $SE(h^2) = \{SE(\sigma_g^2)\} / \sigma_p^2$, where σ_p^2 = phenotypic variance and σ_g^2 = genotype variance. Phenotypic correlations were calculated using the CORR procedure from the mean data calculated across blocks for each population \times year combination. Genetic correlations were calculated from variance-covariance matrices obtained by the multivariate analysis of variance (MANOVA) procedure for the genotype effects and year \times population interaction.

The structure of genetic variation among the populations based on all the seed yield characteristics was analyzed using a principal component analysis (PCA) on the centred and standardized variates using the mean population value across the three replications and the two years.

In experiment II, populations and genotypes within populations were considered as random effects and the block effect as fixed in the ANOVA, performed with the GLM procedure. The model was: $Y_{ijk} = \mu + P_i + g(P)_{ij} + b_k + \epsilon_{ijk}$, where Y_{ijk} =

phenotypic value observed of genotype j of population i for block k ; μ = grand mean; P_i = effect of population i ; $g(P)_{ij}$ = genotype j within population i ; b_k = effect of block k ; ϵ_{ijk} = residual error. The variance components were calculated as in experiment I. Broad-sense heritabilities were estimated according to Gallais [10] as: $h^2 = (\sigma_p^2 + \sigma_{g(p)}^2) / (\sigma_p^2 + \sigma_{g(p)}^2 + \sigma_e^2)$ with σ_p^2 = for among-population variance, $\sigma_{g(p)}^2$ = for within-population variance and σ_e^2 = error variance. Standard errors of the variance components and of the heritabilities were calculated as in experiment I. The phenotypic correlations were calculated on the mean of the genotypes across blocks. The genotype correlations were calculated from variance-covariance matrices obtained by the MANOVA procedure for the genotype effect and error term from an analysis of variance where no population effect was declared. This allowed all the genetic variation to be taken into account.

3. Results

3.1. Among-population variation

The ANOVA for the 45 cultivated populations is shown in Table II. It showed a highly significant population effect ($P < 0.001$) for all of the characters evaluated. The year effect was also highly significant for all the components, except for seed weight per pod and number of seeds per pod.

The year \times population interaction effect was only found to be highly significant ($P < 0.001$) for seed yield per plant and number of seeds per plant. However, the population effect for these components remained significant when tested against the interaction. The populations which contributed the most to the year \times population interaction were some of the Mediterranean populations which yielded poorly in the second year of seed harvest. Indeed, some of these populations with low autumn dormancy tended to produce weak plants with few fertile stems per plant.

The estimates of variance components and broad-sense heritabilities are shown in Table III. The population variance was larger than the year \times population interaction variance for all the components evaluated. It contributed up to 14.4 and 15.2% of the total phenotypic variance, for seed yield and the number of seeds per plant respectively. A large error variance was observed for all the components, especially for the number of inflorescences per plant. This led to low broad-sense heritability values, which varied from 0.28 to 0.42. The highest heritabilities were observed for the seed yield per plant, the seed weight per inflorescence and the number of seeds per inflorescence. The lowest heritability was for the number of inflorescences per plant.

Phenotypic and genetic correlations for all the components evaluated are presented in Table IV. Seed yield per plant showed strong and positive

Table II. ANOVA of the different sources of variation for the two experiments.

Character	Experiment I (45 populations)			Experiment II (11 populations)	
	Population	Year	Year \times population	Among-population	Within-population
1. Seed yield / plant	***	***	***	**	***
2. No. of seeds / plant	***	**	***	ns	***
3. No. of inflorescences/ plant	***	****	ns	***	***
4. Seed weight / inflorescence	***	**	ns	***	***
5. No. of pods/inflorescence	***	***	ns	***	***
6. No. of seeds/inflorescence	***	***	ns	***	***
7. Seed weight/pod	***	ns	ns	**	***
8. No. of seeds/pod	***	ns	ns	***	***
9. Mean seed weight	***	***	ns	***	***
d.f.	44	1	44	10	203

ns: not significant; *, **, *** significant at the 0.05, 0.01 and 0.001 levels, respectively; d.f.: degrees of freedom.

Table III. Mean, estimates of variance components and heritability among 45 populations of experiment I for seed yield and its components. Standard errors (SE) are given in brackets.

Character	Mean	Population variance (σ_p^2)	Population \times year interaction variance ($\sigma_{p \times y}^2$)	Error variance (σ_e^2)	Broad-sense heritability (h^2)
Seed yield / plant (g)	37.32	67.204 (19.40)	22.821 (9.82)	68.531 (7.22)	0.42 (0.12)
No. of seeds / plant (10^3)	17.52	14.493 (4.40)	5.720 (2.48)	17.438 (1.83)	0.38 (0.11)
No. of inflorescences / plant	336.7	5155.38 (1603.4)	108.88 (1000.0)	12579.88 (1326.0)	0.28 (0.08)
Seed weight / inflorescence (mg)	117.3	401.256 (103.7)	20.888 (45.3)	531.403 (56.01)	0.42 (0.10)
No. of pods / inflorescences	14.63	2.022 (0.63)	0.518 (0.38)	3.689 (0.38)	0.32 (0.10)
No. of seeds / inflorescences	54.74	77.420 (20.75)	7.165 (8.93)	97.233 (10.24)	0.42 (0.11)
Seed weight / pod (mg)	7.98	0.809 (0.20)	0.0 (0.07)	1.259 (0.002)	0.39 (0.09)
No. of seeds / pod	3.72	0.130 (0.03)	0.0 (0.01)	0.211 (0.02)	0.38 (0.08)
Mean seed weight (mg)	2.14	0.014 (0.003)	0.0 (0.001)	0.021 (0.002)	0.40 (0.08)

Table IV. Phenotypic and genetic correlation coefficients from experiments I and II (in bold). Phenotypic and genetic correlations are on the right and left sides of the diagonal, respectively.

Character	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Seed yield/plant		0.97*** 0.95***	0.70*** 0.82***	0.30** 0.38***	0.39*** 0.26***	0.32** 0.29***	0.05 ns 0.26***	0.07 ns 0.17*	-0.01 ns 0.18**
No. of seeds/plant	0.98 0.96		0.69*** 0.79***	0.25* 0.34***	0.41*** 0.32***	0.34** 0.39***	-0.03 ns 0.16*	0.08 ns 0.23***	-0.20 ns -0.05 ns
No. of inflorescences/plant	0.75 0.81	0.74 0.78		-0.40*** -0.08 ns	-0.22* -0.01 ns	-0.39*** -0.12 ns	-0.45*** -0.08 ns	-0.47*** -0.16*	-0.05 ns 0.11 ns
Seed weight/inflorescence	0.43 0.46	0.37 0.43	-0.30 -0.06		0.80*** 0.56***	0.94*** 0.85***	0.75*** 0.73***	0.72*** 0.64***	0.22 ns 0.24***
No. of pods/inflorescence	0.48 0.33	0.49 0.41	-0.11 0.03	0.81 0.55		0.85*** 0.63***	0.22* -0.12 ns	0.32** -0.001 ns	-0.14 ns -0.17*
No. of seeds/inflorescence	0.40 0.36	0.41 0.47	-0.32 -0.11	0.95 0.87	0.86 0.62		0.61*** 0.48***	0.75*** 0.74***	-0.10 ns 0.26***
Seed weight/pod	0.19 0.31	0.10 0.21	-0.42 -0.08	0.84 0.78	0.36 -0.10	0.72 0.54		0.85*** 0.78***	0.48*** 0.45***
No. of seeds/pod	0.16 0.22	0.17 0.28	-0.48 -0.17	0.80 0.75	0.45 0.07	0.84 0.82	0.88 0.82		-0.02 ns -0.17*
Mean seed weight	0.10 0.18	-0.10 -0.07	0.02 0.13	0.26 0.15	-0.11 -0.29	-0.05 -0.33	0.47 0.40	-0.01 -0.17	

ns: non significant; *, **, *** significant at the 0.05, 0.01 and 0.001 level, respectively.

phenotypic and genetic correlations with number of seeds per plant, number of inflorescences per plant, and to a lesser extent with seed weight per inflorescence, and number of pods and seeds per inflorescence. The first two characters are very variable in a spaced plant design as the plants may reach contrasting stages of development and produce a contrasting number of fertile stems. The relationship between the number of inflorescences per plant and the seed yield is shown for both years in Figure 1. The correlations were significant except for the Nordic group in the first year of study. The phenotypic correlation between the seed weight per inflorescence and the seed yield was 0.30. The relationship between these traits displays a complex pattern, as shown over both years for the Nordic and Mediterranean groups in Figure 2. The relationship was positive both for the Nordic and the Mediterranean groups in the first year of

seed harvest, and remained significant for the Nordic group in the second year. The lack of relationship for the Mediterranean group in the second year was due to the poor growth of some populations, as stated above with regard to the year \times population interactions. The number of inflorescences per plant had significantly negative phenotypic and genetic correlations with almost all the components except for seed yield per plant and seed number per plant. The seed weight per inflorescence was positively related at the phenotypic and genetic level with the number of seeds and pods per inflorescence. Traits concerning the pod were not correlated with seed yield. The number of seeds and seed weight per pod were positively related to seed weight per inflorescence or per pod. Mean seed weight was only related to seed weight per pod which reflects the narrow range of variation available for this trait.

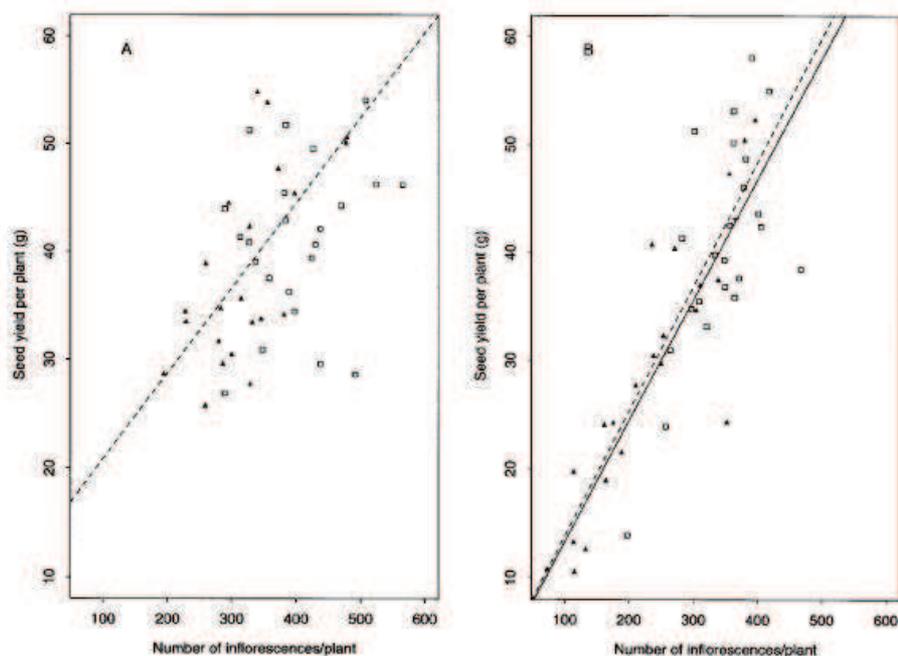


Figure 1. The relationship between number of inflorescence per plant and seed yield per plant in 1995 (A) and 1996 (B). A regression line is given when the correlations are significant. A solid line refers to the Nordic group and a dashed line to the Mediterranean group. Symbols: ▲: Mediterranean populations; □: Nordic populations.

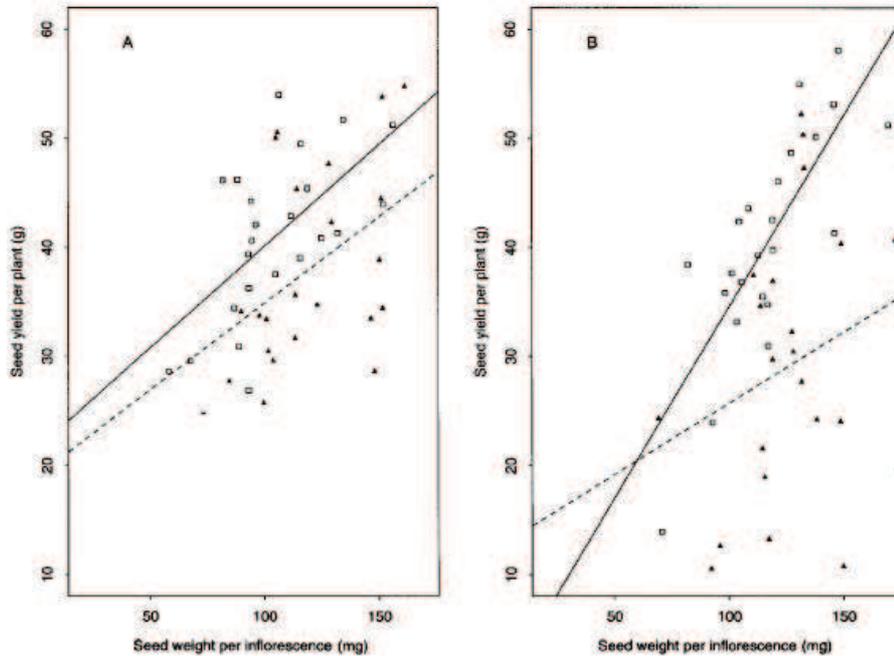


Figure 2. The relationship between seed weight per inflorescence and seed yield per plant in 1995 (A) and 1996 (B). A regression line is given when the correlations are significant. A solid line refers to the Nordic group and a dashed line to the Mediterranean group. Symbols: ▲: Mediterranean populations; □: Nordic populations.

The PCA based on the nine seed yield traits tended to separate the Mediterranean populations from the Nordic group (Fig. 3). Both groups were similarly distributed along the first axis which accounted for 48% of the total variation, but they were separated by the second axis which accounted for 31% of the total variation. More seeds per pod (3.85 versus 3.59) and a higher seed weight per pod (8.41 versus 7.56 mg) characterized the Mediterranean group, while the Nordic group had more inflorescences per plant (384 versus 286) and produced a higher seed yield per plant (40.75 versus 33.72 g).

3.2. Within-population variation

The mean values for seed yield and seed yield components were lower in experiment II, where both the among-population and the within-

population variances were evaluated, compared to experiment I (Tab. V). This is likely due to the fact that the data for experiment II was collected in the first year after field transplantation and that the plants originated from rooted cuttings.

The results of the ANOVA are presented in Table II. The among- and within-population effects were significant ($P < 0.001$) for all the characters evaluated, except for the number of seeds per plant among-populations. The estimates of among- and within-population variance components and broad-sense heritabilities are presented in the Table V. As in experiment I, the error variance was large for all the components evaluated. It accounted for 57 to 81% of the total phenotypic variance, depending on the character. The within-population variance was larger than the among-population variance for all the seed yield components. The within-population variance contributed from 69 to 95% of the

Table V. Mean, estimates of variance components among and within 11 alfalfa populations of experiment II and heritability of seed yield and seed yield components. Standard errors (SE) are given in brackets.

Character	Mean	Among population variance (σ_p^2)	Within population variance ($\sigma_{g(p)}^2$)	Error variance (σ_e^2)	Broad-sense heritability (h^2)
Seed yield/plant (g)	15.31	3.868 (2.64)	32.116 (4.87)	50.776 (3.29)	0.41 (0.08)
No. of seeds/plant (10^3)	8.25	0.502 (0.56)	10.031 (1.54)	16.227 (1.05)	0.39 (0.07)
No. of inflorescences/plant	191.60	1796.66 (945.78)	5055.74 (802.30)	9075.49 (590.15)	0.43 (0.10)
Seed weight/inflorescence (mg)	82.76	68.613 (39.63)	193.99 (38.96)	592.75 (38.42)	0.31 (0.09)
No. of pods/inflorescences	10.96	0.606 (0.34)	1.656 (0.36)	6.066 (0.39)	0.27 (0.08)
No. of seeds/inflorescences	44.87	27.573 (14.50)	62.586 (11.84)	170.90 (11.04)	0.34 (0.10)
Seed weight/pod (mg)	7.62	0.243 (0.16)	1.479 (0.25)	3.202 (0.20)	0.34 (0.08)
No. of seeds/pod	4.10	0.096 (0.05)	0.361 (0.057)	0.660 (0.04)	0.40 (0.09)
Mean seed weight (mg)	1.87	0.007 (0.004)	0.027 (0.005)	0.081 (0.005)	0.30 (0.09)

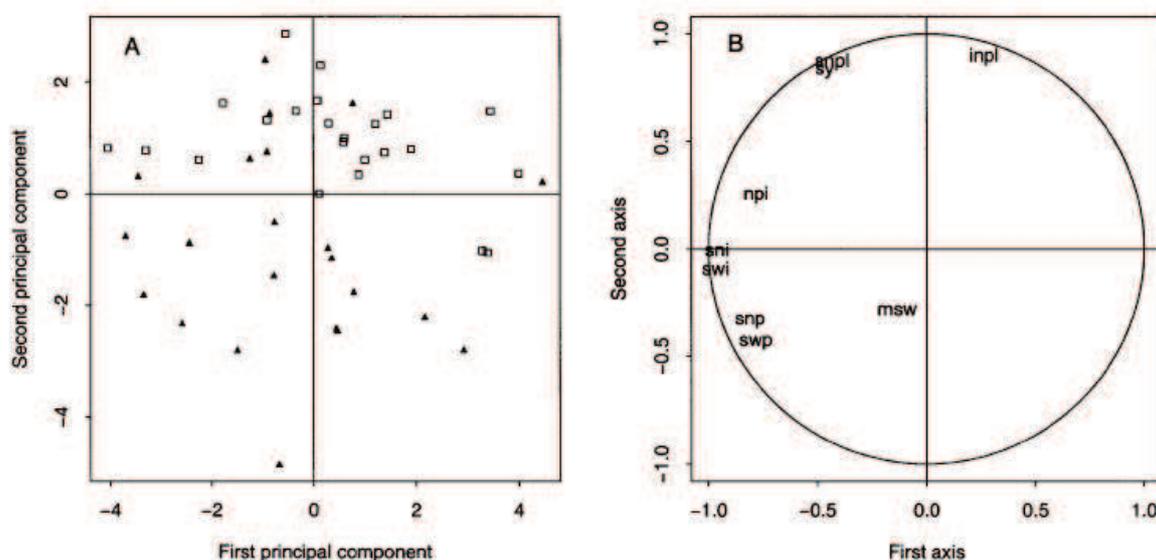


Figure 3. PCA diagrams for the cultivated populations. A shows the distribution of the populations on the first two axes of the PCA. The contribution of the variates to the axes 1 and 2 is shown in B. Symbols: \blacktriangle : Mediterranean populations; \square : Nordic populations. Variates: sy: seed yield per plant; snpl: seed number per plant; inpl: inflorescence number per plant; npi: number of pods per inflorescence; sni: seed number per inflorescence; swi: seed weight per inflorescence; snp: seed number per pod; swp: seed weight per pod; msw: mean seed weight.

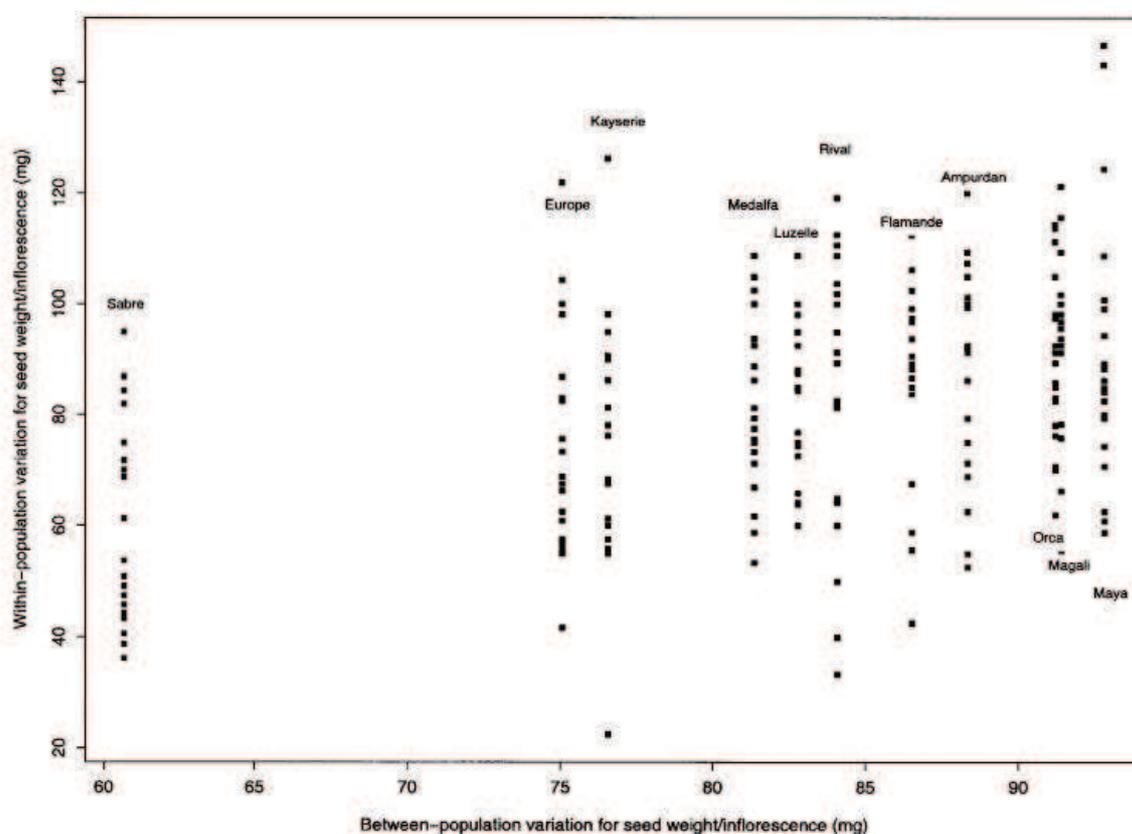


Figure 4. Among- and within-population variation for seed weight per inflorescence evaluated in 11 alfalfa populations.

genetic variance, the lowest value being found for the number of seeds per inflorescence and the highest for the number of seeds per plant. Seed yield per plant variation ranged from 9.37 to 18.32 g among populations and from 0.30 to 30.75 g within populations. Mean seed weight per inflorescence ranged from 61 to 93 mg among populations, and from 20 to 140 mg within populations (Fig. 4).

The broad-sense heritabilities for all characters were relatively low because of the large error variance. They varied from 0.27 to 0.43, the highest values being found for seed yield and number of inflorescences per plant. Phenotypic and genetic

correlations between seed yield components are presented in Table IV. In general, estimates of the phenotypic and genetic correlations between all pairs of the nine seed yield characters measured on individual plants were similar. Phenotypic correlations showed that all the components were associated with seed yield, the correlations decreasing progressively according to the scale of the component under consideration. Thus, the highest correlations were found for the traits measured at the plant scale, and the lowest at the pod scale.

With respect to the genetic correlations, number of seeds per plant and number of inflorescences per plant also had the highest correlations with seed

yield per plant. The number of inflorescences per plant was only positively correlated with seed yield per plant and number of seeds per plant. As in experiment I, the number of pods and seeds per inflorescence were positively related to the seed weight of inflorescences, the number of seeds and seed weight per pod were positively correlated with seed weight per inflorescence and mean seed weight with the seed weight per pod.

4. Discussion

Both experiments clearly showed a large among-population range of variation for all the seed yield components. Experiment II underlined that within-population variation was larger than the among-population variation. Julier et al. [18] found a large within-population variation compared to among-population variation for quality and morphological characters. They reported a within-population variation accounting for 31 to 70% of the total genetic variance for quality and 57 to 100% for morphological components. Similarly, Crochemore et al. [7], using RAPD markers, found that within-population variation accounted for 50% of the total genetic variance. These large within-population variations are similar to those reported for other tetraploid cross-pollinating species such as *Trifolium pratense* (Kongkiatngam et al. [20]). The large within-population variation found in the alfalfa populations is a feature of outcrossing in natural populations or synthetic varieties [11] and underlines the broad diversity available for breeding populations.

The large range of variation found for seed yield the present experiments corresponds with values reported in the literature. While we found (among 214 genotypes with four replicates) a range of 0.30 to 30.75 g of seed per plant, Rausch [28] reported a range from 0 to 44 g of seed per plant measured on 1 301 individual plants of alfalfa. The within-population variation for seed yield and its components may have very diverse origins such as differences in male fertility [34], female fertility [16] and ease of tripping [19]. As early as 1937, Bolton and

Fryer [6] reported within-population variation for components related to seed yield.

In both the present experiments, the error variance contributed a major part of the phenotypic variance for all the characters. The error variance accounted for 43 to 70% of the phenotypic variance in experiment I depending on the characters and from 57 to 80% in experiment II. In both experiments, the mean seed weight had the largest error variance (66 and 80% of the total phenotypic variation for experiments I and II, respectively). These large proportions of error variance for mean seed weight correspond with a narrow range of genetic variation for seed size in cultivated alfalfa populations. To decrease the error variance, the sampling methods should be modified. The error variances tended to be larger in experiment II, except for the seed yield per plant and the number of seeds or inflorescences per plant. However, the mean values for these traits were much lower in experiment II. The larger error variances are related to sample size. Indeed, the sampling unit was four replicates of one plant (or 0.49 m²) for the measurement of seed yield in experiment II and three replicates of 30 plants (or 7.35 m²) in experiment I. For the assessment of seed weight per inflorescence, the sample sizes were three replicates of 30 inflorescences and four replicates of four inflorescences in experiments I and II respectively. Thus, the sample size should be adapted to the precision of the measurement required for breeding.

In experiment I, the population × year interaction was not significant for most components, and only accounted for the 14.4% of the total phenotypic variation for the seed yield per plant and 15.2% for the number of seeds per plant. Thus, population × environment interaction does not constitute an important factor in the estimation of variance components for most seed yield components when studied in a spaced plant design, and is unlikely to reduce the efficiency of selection programs.

Because of the large error variances, the broad-sense heritabilities were low for all the studied characters, but similar in both experiments, except

for number of inflorescences per plant. This later character showed the lowest heritability (0.28 ± 0.08) in experiment I, and the highest heritability (0.43 ± 0.10) in experiment II, because of the contrasting values of error variance. Seed weight per inflorescence had a high heritability in both experiments.

In general, seed yield per plant had high and positive phenotypic correlations with seed number per plant, inflorescence number per plant and seed weight per inflorescence. The genetic correlations between these components were also strong. Seed weight per inflorescence showed high positive correlations with the number of pods and the seed weight per pod and variation may be produced from these two sources. The negative correlation found between the number of seeds per inflorescence and the mean seed weight indicates that some biological compensation may occur.

Relationships between seed yield and some of the seed yield components analyzed here have been reported before in alfalfa. Taylor and Marble [32] reported that the number of inflorescences per plant was the most influential component of seed yield. Zambrana [35] reported that the number of seeds per plant was the main component of seed yield, and that relationships between seed yield and number of fertile stems, number of seeds per pod and number of inflorescences per plant were also high and positive. Hacquet [14] and Rosellini et al. [31] reported positive relationships between seed yield and number of seeds per pod, while Askarian et al. [2] and Kowithayakorn and Hill [21] found no relationship between seed yield and number of seeds per pod under various management regimes. In the present study, the relationships between these components were either non-significant (in experiment I) or very low (in experiment II). Little information is available in the literature regarding the number of inflorescences or racemes and above all the seed weight per inflorescence. Our results suggest that the inflorescence could be an interesting target to consider in breeding for seed yield in alfalfa.

Selection criteria must take into account both dense canopy and spaced plant conditions. Our

studies were performed under a spaced plant design which is necessary for the assessment of individual plants. In dense canopies, competition among plants is more severe and the main factors limiting seed yield may be different. Numerous studies have reported the effects of canopy structure on the seed yield of alfalfa, mainly as an effect of row spacing and plant density [2, 9, 21, 25]. Under a spaced plant design, the number of fertile stems and inflorescences may be more variable, depending on the size of the individual plants as found in both of our experiments, while, in dense canopies, the number of fertile stems per unit area is likely to be more stable.

It will be of interest to evaluate, in dense canopies, components related to the inflorescence, and especially seed weight per inflorescence, in a range of genotypes and environmental conditions. Because of its ability to take into account compensation within the inflorescence and because of the large genetic variation reported both among and within alfalfa populations, seed weight per inflorescence could be an interesting selection criterion for seed yield. The number of seeds and inflorescences per plant could also be considered as potential selection criteria. However, the extent of their variation is likely to be very different depending on plant density and competition among plants or stems. Also, the assessment of these two traits on an individual plant basis is very time consuming.

Acknowledgements: E.D. Bolaños-Aguilar is grateful to CONACYT (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México), INIFAP (Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias de México) and SFERE (Société Française d'Exportation de Ressources Educatives) for financial support. J. Jousse, A. Gilly and D. Dos Pénédos, to whom gratitude is also expressed by the authors, rendered invaluable technical assistance.

References

- [1] Andersen S., Relationship between dry matter and seed yield in grasses, in: G. van Bogaert (Ed.), *Breeding High Yielding Forage Varieties Combined with High Seed Yield*, Rep. Meeting, Eucarpia Fodder Crops Section, Merelbeke, Belgium, 1981, pp. 49–56.

- [2] Askarian M., Hampton J.G., Hill M.J., Effect of row spacing and sowing rate on seed production of lucerne (*Medicago sativa* L.) cv. Grasslands Oranga, N. Z. J. Agric. Res. 38 (1995) 289–295.
- [3] Becker W.A., Manual of Quantitative Genetics, Washington State Univ., Washington, USA, 1975.
- [4] Boçsa I., Buglos J., Seed yield and some factors influencing seed setting at the variety level in lucerne, Z. Pflanzenzucht. 90 (1983) 172–176.
- [5] Boçsa I., Pummer L., Seed production and breeding for stability of fertility, in: O. Chloupek, U. Simon (Eds.), Seed Production of Lucerne, Prague, 1997, pp. 87–93.
- [6] Bolton J.L., Fryer J.R., Inter-plant variations in certain seed-setting processes in alfalfa, Sci. Agric. (Ottawa) 18 (1937) 148–160.
- [7] Crochemore M.L., Huyghe C., Kerlan M.C., Durand F., Julier B., Partitioning and distribution of RAPD variation in a set of population of the *Medicago sativa* complex, Agronomie 16 (1996) 421–432.
- [8] Crochemore M.L., Huyghe C., Ecalle C., Julier B., Structuration of alfalfa genetic diversity using agronomic and morphological characteristics. Relationship with RAPD markers, Agronomie 18 (1998) 79–94.
- [9] Dovrat A., Levanon D., Waldman M.A., Effect of plant spacing on carbohydrate in the root and components of seed yield in alfalfa, Crop Sci. 9 (1969) 33–34.
- [10] Gallais A., Théorie de la sélection en amélioration des plantes, Masson, Paris, 1990.
- [11] Gallais A., Pourquoi faire des variétés synthétiques? Agronomie 12 (1992) 601–609.
- [12] Genter T., Deléens E., Fleury A., Influence of photosynthetic restriction due to defoliation at flowering on seed abortion in lucerne (*Medicago sativa* L.), J. Exp. Bot. 44 (1997) 1815–1823.
- [13] Guy P., Ecalle C., Fosset M., Sikora Y., Critère de la productivité en semences de la luzerne, Fourrages (Suppl.) 62 (1975) 32–35.
- [14] Hacquet J., Genetic variability and climatic factors affecting lucerne seed production, J. Appl. Seed Prod. 8 (1990) 59–67.
- [15] Heinrichs D.H., Selection for higher seed yield in alfalfa, Can. J. Plant Sci. 45 (1965) 177–183.
- [16] Huyghe C., Leneguer R., Auriel P.H., Bodin C., Ecalle C., Julier B., Genetic variation for male and female fertilities in alfalfa, in: J. Bouton, G.R. Bauchan (Eds.), Rep. 36th North American Alfalfa Improvement Conf., Bozeman, Montana, USA, 1998, p. 51.
- [17] Julier B., Porcheron A., Ecalle C., Guy P., Genetic variability for morphology, growth and forage yield among perennial diploid and tetraploid lucerne populations (*Medicago sativa* L.), Agronomie 15 (1995) 295–304.
- [18] Julier B., Huyghe C., Ecalle C., Within- and among-cultivar genetic variation in alfalfa: forage quality, morphology and yield, Crop Sci. (2000) in press.
- [19] Knapp E.E., Teuber L.R., Selection progress for ease of floret tripping in alfalfa, Crop Sci. 34 (1994) 323–326.
- [20] Kongkiatngam P., Waterway M.J., Fortin M.G., Coulman B.E., Genetic variation within and between two cultivars of red clover (*Trifolium pratense* L.): comparisons of morphological, isozyme, and RAPD markers, Euphytica 84 (1995) 237–246.
- [21] Kowithayakorn L., Hill M.J., A study of herbage and seed production in lucerne (*Medicago sativa* L.) under different plant spacing and cutting treatments in the seeding year, Seed Sci. Technol. 10 (1982) 3–12.
- [22] Liang G.H.L., Riedl W.A., Agronomic traits influencing forage and seed yield in alfalfa, Crop Sci. 4 (1964) 394–396.
- [23] Lorenzetti F., Relationship between dry matter and seed yield in leguminous forage plants, in: G. van Bogaert (Ed.), Breeding High Yielding Forage Varieties Combined with High Seed Yield: Rep. Meeting, Eucarpia Fodder Crops Section, Merelbeke, Belgium, 1981, pp. 57–74.
- [24] Lorenzetti F., Achieving potential herbage seed yields in species of temperate regions, in: M.J. Baker, J.R. Crush, L.R. Humphreys (Eds.), Proc. XVII Int. Grassland Congr., 1993, pp. 1621–1628.
- [25] Lovato A., Montanari M., Influence of row spacing and sowing rates on lucerne (*Medicago sativa* L.) seed production, J. Appl. Seed Prod. 5 (1987) 69.
- [26] Melton B., Comparative seed and forage yield in crosses of selected alfalfa clones as compared to poly-cross progeny, Crop Sci. 9 (1969) 253–255.
- [27] Michaud R., Lehman W.F., Rumbaugh M.D., World distribution and historical development, in: A.A. Hanson, D.K. Barnes, R.R. Hill (Eds.), Alfalfa and Alfalfa Improvement, Agronomy Monogr. No. 29, Madison, USA, 1988, pp. 25–91.
- [28] Rausch H., The causes of infertility in lucerne (*M. media* Pers.). Investigations on correlations between factors determining seed yield, Z. Pflanzenzucht. 51 (1964) 141–166.

- [29] Rincker C.M., Marble V.L., Brown D.E., Johansen C.A., Seed production practices, in: A.A. Hanson, D.K. Barnes, R.R. Hill (Eds.), *Alfalfa and Alfalfa Improvement*, Agronomy Monogr. No. 29, Madison, USA, 1988, pp. 985–1021.
- [30] SAS Institute, *SAS Language and Procedure: Usage*, Version 6, 1st ed., SAS Institute, Cary, NC, USA, 1995.
- [31] Rosellini D., Veronesi F., Falcinelli M., Lorenzetti F., Seed yield components in alfalfa materials selected for seed yield, in: G. Bauchan (Ed.), *Rep. 32nd North American Alfalfa Improvement Conf.*, Pasco, Washington, 1990, p. 29.
- [32] Taylor A.J., Marble V.L., Lucerne irrigation and soil water use during bloom and seed set on a red-brown earth in south-eastern Australia, *Aust. J. Exp. Agric.* 26 (1986) 577–581.
- [33] Veronesi F., Falcinelli M., Grando S., Lorenzetti F., Selection for high seed yield in *Medicago sativa* L., *Z. Pflanzenzucht.* 96 (1986) 189–192.
- [34] Viands D.R., Sun P., Barnes D.K., Pollination control : mechanical and sterility, in: A.A. Hanson, D.K. Barnes, R.R. Hill, (Eds.), *Alfalfa and Alfalfa Improvement*, Agronomy Monogr. No. 29, Madison, USA, 1988, pp. 931–960.
- [35] Zambrana T., Components of seed yield in different varieties of alfalfa, *Rev. Cubana Cienc. Agric.* 6 (1972) 289–299.

3.3 Contrôle génétique du rendement grainier et de ses composantes

Dans l'article précédent, il est mis en évidence qu'il existe une large variabilité génétique au niveau inter- ou intra-population pour le rendement grainier chez la luzerne, et pour la plupart de ses composantes. Il a été observé que la variabilité génétique pour augmenter le rendement grainier était supérieure au niveau intra- qu'inter-plante. Cela était presque évident étant donné la nature synthétique de la luzerne. Cette variabilité permet d'envisager une amélioration génétique de la production grainière. Cependant, avant de pouvoir proposer les critères et les schémas de sélection qui maximiseront le progrès génétique, il faut préciser le contrôle génétique des caractères. La génétique des caractères liés au rendement grainier est analysée sur les descendances de plans de croisements. L'importance des effets d'aptitudes générales et spécifiques à la combinaison (AGC et ASC), et des effets réciproques est mesurée. De plus, la part de la variance d'additivité dans la variance génétique totale est calculée, car elle conditionne le gain génétique attendu. L'héritabilité au sens strict des caractères est estimée.

Dans la mesure où la variabilité génétique à l'intérieur des populations est supérieure à celle observée entre populations pour les composantes du rendement grainier chez la luzerne, les études sur le contrôle génétique sont réalisées à deux niveaux:

- 1) Dans un plan de croisements entre plantes issues de différentes variétés. On évalue ainsi la transmission des caractères, alors que la source de variation génétique provient de variétés distinctes. Dans cet objectif, un plan de croisement diallèle entre 7 plantes, avec les croisements réciproques mais sans les autofécondations, est étudié en génération F1. Il a été analysé en modèle fixe, car des déséquilibres de liaison existent dans ce type de dispositif. Les effets d'AGC et d'ASC, et les effets réciproques sont testés.
- 2) Dans un plan de croisements entre plantes issues d'une même variété. La source de variation est alors celle observée à l'intérieur des variétés. Un plan factoriel, avec 14 parents de la population Flamande, 7 plantes prises comme femelles et 7 prises comme mâles, est étudié en génération F1. Les données sont traitées en modèle aléatoire, ce qui permet de décomposer la variance génétique totale en variance d'additivité et de dominance, sous certaines hypothèses génétiques propres aux espèces autotétraploïdes.

Tenant compte des résultats déjà acquis, l'accent est mis sur certains composantes relatives à l'inflorescence (le nombre d'inflorescences, le nombre de graines par plante et le poids de graines par inflorescence) qui ont montré une relation positive avec le rendement grainier et pour lesquelles l'interaction population x année n'a pas été significative. Parmi ces caractères, le poids de graines par inflorescence pourrait être le caractère le plus intéressant à utiliser comme critère de sélection pour d'augmenter le rendement en graines de la luzerne, car il est facile à mesurer et présente une corrélation génétique forte avec le rendement.

L'ensemble de ces résultats devrait permettre de préciser les progrès génétiques possibles et le type de schéma de sélection qui les permettra.

Article 3 : « Genetic control of alfalfa seed yield and its components ».

Plant Breeding 120, 67–72 (2001)
 © 2001 Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin
 ISSN 0179-9541

Genetic control of alfalfa seed yield and its components

E. D. BOLAÑOS-AGUILAR¹, C. HUYGHE^{1,3}, D. DJUKIC², B. JULIER¹ and C. ECALLE¹

¹ INRA, Unité de Génétique et d'Amélioration des Plantes Fourragères, F-86600 Lusignan, France;

² Faculté d'Agriculture 21000 Novi Sad, Yugoslavia; ³ Corresponding author

With 5 tables

Received August 12, 1999/Accepted July 8, 2000

Communicated by B. Schweisguth

Abstract

Seed yield is of little agronomic importance in alfalfa (lucerne) but is critical in the marketing of varieties. In order to develop breeding criteria, the quantitative genetics of seed yield components must be studied. The objective of this study was (1) to evaluate combining ability for seed yield and its components and (2) to estimate the genetic control of these same characters. A 7 × 7 diallel mating design, including reciprocals, among parents from different varieties, and a 7 × 7 factorial design within the 'Flamande' population were evaluated. In the diallel design, where the progenies were evaluated over two growing seasons, a high genotype effect was found for seed yield and its components while genotype × year interaction was only significant for seed yield per plant. General combining ability (GCA) effects explained most of the variation due to genotype effect. Specific combining ability (SCA) and reciprocal effects were only significant for seed yield per plant. 'Europe-1', 'Rival-5' and 'Medalfa-7' were the most promising parents, conferring the highest GCA for most of the characters evaluated, especially for seed weight per inflorescence. In the factorial design, seed weight per pod was the only character for which the year effect was not significant. Male and female effects were significant for all characters and these effects were larger than the male × female interaction variance for all the characters. These results were stable over the 2 years for most characters. Additive variance was larger than dominance variance, for all traits. This resulted in high narrow-sense heritabilities, especially for seed yield per plant, seed weight per inflorescence and number of seeds per pod. Seed weight per inflorescence and number of seeds per inflorescence were highly correlated with seed yield per plant among the full-sib (FS) families, in both experiments. Increase in seed yield potential in alfalfa could be achieved by the use of seed weight per inflorescence as a selection criterion.

Key words: *Medicago sativa* — additive and dominance variance — combining ability — heritability — seed yield components

Seed yield has little agronomic importance in alfalfa (lucerne) varieties but is critical in their marketing. The increase in the seed yield potential during the last three decades has been imperceptible (Falcinelli 2000) since this yield is not taken into account in the first cycles of selection. Genetic variability, broad-sense heritabilities, relationships between seed yield per plant and its components in alfalfa germplasms have been investigated in a previous work (Bolaños-Aguilar et al. 2000) where genetic variation among- and within-populations in seed yield and its components were observed. The number of inflorescences, seed number per plant and seed weight per inflorescence showed high correlations with seed yield per plant, and the broad-sense heritabilities of these traits were high. It was stressed that seed weight per inflorescence could be

an useful character to be used as a selection criterion for increasing the seed yield potential of alfalfa. However, it is necessary to know the genetic control of those characters that affect potential seed yield. Inheritance studies have been carried out for seed set (Haaland et al. 1975), number of ovules per ovary (Dattée 1972b), pollen fertility (Dobias and Vlkovicova 1984), ease of floret tripping (Knapp et al. 1993) and self-incompatibility (Dattée 1972a, Campbell and He 1997). These traits are of potential use for increasing the seed yield in alfalfa. However, studies on the inheritance of seed yield per plant itself and its components in alfalfa are scarce. Vachunova et al. (1984) found general combining ability (GCA) and specific combining ability (SCA) effects for the number of pods and number of seeds per inflorescence, as well as reciprocal effects. A better understanding of the genetic components of seed yield and related traits would provide plant breeders with useful information to develop alfalfa populations with the genetic capacity for high seed yield.

The objectives of this study were (1) to evaluate combining ability for seed yield and its components, and (2) to determine the genetic control of these characters. A diallel of parents obtained from different populations of alfalfa and a factorial design within the population 'Flamande' were analysed to meet these objectives.

Materials and Methods

Two mating designs were carried out, a diallel design to assess the combining ability and maternal effects among different populations, and a factorial design to assess the inheritance within one population, both for seed yield traits. These studies were carried out at the Unité de Génétique et d'Amélioration des Plantes Fourragères of INRA-Lusignan (46.26°N, 0.07°E), France.

Diallel design: Plant material and experimental design. The material was 42 full-sib (FS) families generated by a 7 × 7 diallel cross with reciprocals without selfing in accordance with Griffing's (1956) method 3. Parental plants were sampled from seven different varieties of alfalfa. Five varieties ('Europe', 'Luzelle', 'Orca', 'Rival' and 'Maya') were Flemish types, and two ('Magali' and 'Medalfa') were Provence types. One plant was randomly chosen in each population, and coded as: 'Europe-1', 'Magali-2', 'Luzelle-3', 'Orca-4', 'Rival-5', 'Maya-6' and 'Medalfa-7'. The plants were crossed manually, without emasculation, in a greenhouse (100 flowers per hybrid combination were crossed) in 1996. The F₁ seeds derived from these crosses were germinated in Petri dishes placed in a growth cabinet at 24°C for 48 h. Germinated seeds were grown in a greenhouse for 50 days. In April 1997, the F₁ plants were established in one location (INRA, Unité de Génétique et d'Amélioration des Plantes Fourragères, Lusignan,

France) in the field (brown soil, clay-loamy texture, polyhedral structure, pH 6.8) as spaced plants with 70 cm between plants in both directions. The experiment was planted in a randomized complete-block design with three replicates. A block consisted of 42 FS families with double row plots of 20 plants.

The progenies were evaluated at the end of September over two successive years: 1997 (planting year) and 1998. In the field, pollination among plants by native pollinators was assumed not to be a limiting factor. There was no irrigation, and no insecticide was applied during the experiment.

Harvesting procedure. For each individual plot, the third inflorescence of the main stem of each plant was sampled when the inflorescence reached maturity. The first two pods of each inflorescence were collected, bulked and threshed in order to evaluate the seed number per pod, seed weight per pod and mean seed weight. The seed of the remaining inflorescences was weighed and, combined with the seed weight of the two-pod subsample, the seed weight per inflorescence was calculated. Based on these data, the number of pods per inflorescence and the number of seeds per inflorescence were calculated. The whole plot was harvested. Seed yield per plant was calculated as the ratio of seed yield per plot and number of plants. The number of inflorescences per plant was calculated as the ratio between seed yield per plant and seed weight per inflorescence.

Statistical analysis. As a preliminary analysis, the significance of genetic differences among the FS families was tested by the GLM procedure from the Statistical Analysis System program (SAS 1995). Because of the choice of one plant per variety and the small number of parental plants, a fixed model (model I) was used. Therefore, the diallel design was analysed assuming Griffing's method 3 model I (Griffing 1956) using the **DIALLEL-SAS1** program described by Zhang and Kang (1997) for five parents and extended to seven parents. The two harvest years were considered as two environments thus confounding the effects of year and plant age. The model was:

$$Y_{ijkl} = \mu + c_k + bl_j + g_i + g_j + s_{ij} + r_{ij} + gc_{ik} + gc_{jk} + sc_{ijk} + rc_{ijk} + e_{ijkl}$$

where: Y_{ijkl} = observed trait value from each experimental unit (parents i and j ; environment k ; block l); μ = population mean; c_k = effect of environment k ; bl_j = effect of block l ; g_i = GCA effect for parent i ; g_j = GCA effect for parent j ; s_{ij} = SCA effect for the ij th FS family; r_{ij} = reciprocal effect for the ij th or j th FS family (= $m_i + m_j + n_{ij}$; where m_i = general reciprocal effect of parental line i , m_j = effect of parental line j , and n_{ij} = specific reciprocal effect of the ij th or j th FS family); gc_{ik} = interaction between GCA effect for parent i and environment k ; gc_{jk} = interaction between GCA effect for parent j and environment k ; sc_{ijk} = interaction between SCA effect for the ij th F_1 hybrid and environment k ; rc_{ijk} = interaction between reciprocal effect for the ij th or j th F_1 hybrid and environment k ; and e_{ijkl} = residual effect. The effects of genotype, environment and all possible interactions were tested with the appropriate mean squares, as determined from the expected mean squares. Mean squares were calculated from Type III sums of squares of the SAS program. Correlations between seed yield per plant and its components were calculated by the CORR procedure of SAS from the data for GCA per genotype and from mean values per FS family.

Factorial design: Plant material and experimental design. From 14 plants chosen at random from the population 'Flamande', seven were randomly defined as females and the other seven as males. Thus, the basic material was 49 full-sib (FS) families generated by a 7×7 factorial conforming to a North Carolina Design II of Comstock and Robinson (1952). The plant management and the harvesting procedure were the same as for the diallel design. However, two different sowing years (1997 and 1998) were analysed. A randomized complete block design with three replicates was also used. Each block consisted of 49 FS families.

Statistical analysis. In a first analysis of variance of the factorial design, the significance of genotype (FS family) was tested. No genotype effect was found for the seed weight per pod and number of

Pods per inflorescence. Hence, these characters were not considered for the calculation of variance components. Because the parental plants used in this study were chosen at random, they were considered as random effects in the analysis of variance. The model was:

$$Y_{ijkl} = \mu + y_k + bl(y)_{kl} + f_i + m_j + fm_{ij} + fy_{ik} + my_{jk} + fmy_{ijk} + e_{ijkl}$$

where: Y_{ijkl} = observed trait value from each experimental unit (parents i and j ; year k ; block l); μ = population mean; y_k = effect of year k ; $bl(y)_{kl}$ = block l within year k ; f_i = effect for female parent i ; m_j = effect for male parent j ; fm_{ij} = male \times female interaction for the ij th FS family; fy_{ik} = interaction between female parent i and year k ; my_{jk} = interaction between male parent j and year k ; fmy_{ijk} = interaction between the male \times female interaction for the ij th FS family and year k ; and e_{ijkl} = residual effect. The male (σ_A^2), female (σ_F^2) and male \times female interaction (σ_{MF}^2) variances were calculated using the VARCOMP procedure of SAS. Assuming no epistatic variance and no linkage disequilibrium, the variance components, based on an autotetraploid model, were estimated according to Wricke and Weber (1986):

$$\begin{aligned} \sigma_G^2 &= \sigma_A^2 + \sigma_D^2 \\ \text{with } \sigma_A^2 &= 2(\sigma_M^2 + \sigma_F^2) - 2/3(\sigma_{MF}^2) \\ \text{and } \sigma_D^2 &= 6(\sigma_{MF}^2), \end{aligned}$$

where σ_A^2 = additive variance, σ_D^2 = dominance variance (non-additive), σ_M^2 = variance due to males, σ_F^2 = variance due to females and σ_{MF}^2 = variance due to male \times female interaction. The standard errors (SE) of variances of the random effects were estimated (Becker 1975) as:

$$SE(\sigma_G^2) = (2/k^2 \sum (MS_i^2 / f_i + 2))^{1/2}$$

where MS_i = mean square of effect i used to estimate the variance component g , f_i = degrees of freedom corresponding to the effect i , and k = coefficient of σ_G^2 in $E(MSg)$. The narrow-sense heritabilities (which are more exactly twice the parent-offspring regressions) were estimated using the formula of Wricke and Weber (1986):

$$h^2 = (\sigma_A^2 + 1/3\sigma_D^2) / (\sigma_A^2 + \sigma_D^2 + \sigma_e^2)$$

Phenotypic correlations among FS families between seed yield per plant and its components were calculated by the CORR procedure from the mean data per FS family.

Results

Diallel design

The means for seed yield per plant and its components and the analysis of variance are shown in Table 1. The effect of the environment (confounding year and plant age) was significant for most of the characters, except for number of seeds per inflorescence and seed weight per pod. For all seed yield components except seed yield per pod and number of seeds per pod, the values were lower in the year of establishment than in the next growing season. Significant differences were found among FS families for all the characters evaluated over the two environments. When the variation due to genotypes was subdivided into GCA, SCA and reciprocal effects, the GCA was the main source of genotypic variation and was highly significant for all the characters. The SCA effect was found to be significant only for seed weight per pod. The absence of significant reciprocal effects for most traits indicated that maternal effects were not present; thus, the direction of the cross was not important. The reciprocal effect was significant only for seed yield per plant. When the reciprocal effects were further partitioned, the general effect alone was significant (data not

Table 1: Means and ANOVA mean squares for seed yield per plant and its components in diallel and factorial crosses

Source ¹	df	Seed yield/plant (g)	Number of inflorescences/plant (10 ³)	Seed weight/inflorescence (mg)	Number of pods/inflorescence	Number of seeds/inflorescence	Seed weight/pod (mg)	Number of seeds/pod	Mean seed weight (mg)
Diallel analysis									
Mean		20.90	2.87	76.48	10.03	34.57	7.66	3.46	2.20
Environment	1	3541.6***	51.44***	1940.5**	56.81***	73.6 ns	0.32 ns	2.31*	0.65***
Block	2	103.5**	0.50 ns	327.5 ns	7.90 ns	26.3 ns	6.43*	1.11*	0.02 ns
Genotype	41	163.2***	2.71***	1697.0**	14.23***	293.4***	5.86***	0.62*	0.16***
GCA	6	797.1***	11.68***	9517.5**	73.7***	1633.2***	24.52***	2.15**	0.85***
SCA	14	37.46 ns	1.03 ns	300.0 ns	3.81 ns	49.7 ns	4.31*	0.53 ns	0.04 ns
Reciprocal	21	48.87*	1.16 ns	246.1 ns	3.10 ns	53.7 ns	1.58 ns	0.35 ns	0.03 ns
Genotype × environment	41	36.79*	1.37 ns	271.9 ns	3.59 ns	53.3 ns	2.09 ns	0.33 ns	0.02 ns
GCA × environment	6	124.88***	2.56 ns	195.1 ns	2.58 ns	32.8 ns	2.10 ns	0.23 ns	0.04 ns
SCA × environment	14	20.61 ns	0.66 ns	256.5 ns	3.51 ns	60.3 ns	1.43 ns	0.29 ns	0.01 ns
Reciprocal × environment	21	23.89 ns	1.38 ns	273.6 ns	4.06 ns	48.8 ns	2.20 ns	0.32 ns	0.03 ns
Error	164	24.47	1.004	280.7	4.16	60.4	2.40	0.42	0.02
Factorial analysis									
Mean		10.80	1.59	71.72	10.11	33.49	7.14	3.31	2.14
Year	1	11358.1***	253.14***	1165.9*	38.15**	1509.3***	2.12 ns	2.97**	1.22***
Block (year)	4	1.48 ns	0.93 ns	1404.1***	7.03 ns	175.4 ns	5.99 ns	0.63 ns	0.106*
Genotype	48	76.50***	0.874***	1352.9***	3.17 ns	193.6***	3.16**	1.68***	0.054**
Male	6	287.2***	1.93***	4867.3**	6.53 ns	646.7***	7.63**	7.57***	0.108**
Female	6	117.8***	1.50**	2916.0***	4.81 ns	329.5***	6.19*	2.40***	0.15***
Female × male	36	20.9***	0.51 ns	371.6 ns	2.19 ns	92.4 ns	2.17 ns	0.54*	0.02 ns
Genotype × year	38	30.03***	0.50 ns	264.3 ns	7.27*	90.4 ns	6.62***	0.44 ns	0.04
Male × year	5	104.9***	0.65 ns	376.8 ns	6.20 ns	25.4 ns	21.66***	0.23 ns	0.01 ns
Female × year	6	46.7***	1.34**	296.6 ns	12.03*	118.9 ns	4.46 ns	0.65 ns	0.02 ns
Female × male × year	28	10.7 ns	0.24 ns	290.9 ns	5.96 ns	95.6 ns	4.00 ns	0.46 ns	0.04 ns
Error	169	7.18	0.38	270.1	4.64	79.3	2.53	0.33	0.03

*, **, *** Significant at P = 0.05, P = 0.01 and P = 0.001, respectively; ns, not significant.

¹ GCA, general combining ability; SCA, specific combining ability.

shown). This significant general reciprocal effect for the seed yield character was induced by one parent, 'Maya-6', which showed a positive maternal effect significantly different from zero.

Genotype × environment was significant only for the seed yield per plant. The interaction was further partitioned and GCA × environment alone was significant. Thus, for most traits, the behaviour of the genotypes was stable over seasons.

The parents 'Rival-5' and 'Medalfa-7' had significantly positive GCA values for most of the characters evaluated (Table 2). 'Europe-1' had a significant GCA value for most traits, except for the seed yield and the number of inflorescences per plant. In contrast, 'Luzelle-3' and 'Magali-2' parents had negative GCA values for most traits.

The correlations among characters measured for GCA values were similar to the phenotypic correlations among FS

families (Table 3). At the both GCA and F₁ levels, the number of pods per inflorescence and the number of seeds per inflorescence had the highest correlation values with seed yield per plant. In contrast, the seed weight per pod and the mean seed weight showed the lowest correlations at both levels. The number of inflorescences per plant was positively correlated with seed yield and negatively correlated with all the other seed yield components under study.

Factorial design

The means for seed yield per plant and its components and the analysis of variance are presented in Table 1. The year effect was significant for all the characters evaluated, except for seed weight per pod. The seed yield per plant, the number of inflorescences per plant and mean seed weight were higher in

Table 2: General combining ability for seed yield and its components for seven parental plants from seven different synthetic populations

Parents	Seed yield/plant	Number of inflorescences/plant	Seed weight/inflorescence	Number of pods/inflorescence	Number of seeds/inflorescence	Seed weight/pod	Number of seeds/pod	Mean seed weight
'Europe-1'	-1.730**	-63.61***	9.807***	0.235	2.210*	0.864***	0.159*	0.147***
'Magali-2'	-1.748**	-19.10	-2.624	-0.627*	-2.254*	0.222	-0.021	0.080***
'Luzelle-3'	-5.546***	41.53***	-26.206***	-2.211***	-9.915***	-1.139***	-0.294***	-0.153***
'Orca-4'	-1.725**	-54.73***	4.790*	0.261	-0.031	0.309	-0.061	0.147***
'Rival-5'	3.351***	43.67***	1.466	0.658*	1.674	-0.326	-0.045	-0.066***
'Maya-6'	1.878**	28.60*	-0.410	0.387	0.796	-0.339	-0.052	-0.072***
'Medalfa-7'	5.421***	23.64*	13.176***	1.296***	7.520***	0.409*	0.316***	-0.083***

*, **, *** Significant at P = 0.05, P = 0.01 and P = 0.001, respectively.

Table 3: Correlations in the factorial (above the diagonal) and diallel (below the diagonal) designs.¹ The correlations among the FS families are given in normal letters for both experimental designs. For the diallel, correlations among general combining ability values are given in bold type

Components	1	2	3	4	5	6	7	8
1. Seed yield/plant		0.58***	0.78***		0.76***		0.67***	0.02
2. Number of inflorescences/plant	0.42** 0.33		0.04		0.16		0.12	-0.31*
3. Seed weight/inflorescence	0.64*** 0.69	-0.37 -0.44			0.89***		0.83***	0.26
4. Number of pods/inflorescence	0.76*** 0.88**	-0.04 -0.12	0.84*** 0.93***					
5. Number of seeds/inflorescence	0.78*** 0.86*	-0.12 -0.16	0.94*** 0.95***	0.90*** 0.97***			0.90***	0.03
6. Seed weight/pod	0.26 0.29	-0.62*** -0.76*	0.78*** 0.87**	0.34* 0.64	0.61*** 0.71			
7. Number of seeds/pod	0.51*** 0.68	-0.25 -0.27	0.73*** 0.88**	0.41** 0.80*	0.74*** 0.91**	0.83*** 0.80*		0.08
8. Mean seed weight	-0.17 -0.22	-0.79*** -0.96***	0.47** 0.50	0.11 0.22	0.16 0.22	0.72*** 0.78*	0.22 0.27	

* **, *** Significant at P = 0.05, P = 0.01 and P = 0.001, respectively.

¹ In the factorial design, number of pods per inflorescence and seed weight per pod were not considered since the genotype effect on these characters was not significant.

the first sowing year than in the second. The genotype effect was significant for most characters, except for the number of pods per inflorescence and the seed weight per pod. Thus, these last two characters were not considered for the subsequent analyses. The genotype × year interaction was significant only for the seed yield per plant, number of pods per inflorescence and seed weight per pod. When the genotype effect was partitioned into the male and female effect, both effects were highly significant for all traits, and the female × male interaction was significant only for seed yield per plant and number of seeds per pod. The male × year and female × year interactions were highly significant only for seed yield per plant and the female × year interaction was also found to be significant for the number of inflorescences per plant.

When the genetic variances were estimated (Table 4), the male variance was larger for all characters than the female variance. The male and female variances were larger than the male × female interaction variance for all characters. The male and female variances exceeded their interaction with the year for most characters, except for seed yield per plant and number of inflorescences per plant. The standard errors for the different variances were large owing to the low number of male and female parents. Components of genetic variances showed that the additive variance was larger than the dominance variance for all the characters (Table 5), particularly for the number of inflorescences per plant, seed weight

per inflorescence and mean seed weight. The narrow-sense heritabilities for all characters ranged from 0.28 to 0.55. The phenotypic correlations among FS families between seed weight per inflorescence and number of seeds per inflorescence with seed yield per plant was high and positive (Table 3). The mean seed weight was not correlated with seed yield per plant.

Discussion

Little information was available in alfalfa on the inheritance of seed yield itself and seed yield components, especially those assessed at the inflorescence level. In this work, the combining ability and reciprocal effects of seed yield per plant and its components were evaluated with a diallel design among parents chosen from seven different varieties. This experiment was complemented by a factorial design to assess the inheritance of the same seed yield components within the population 'Flamande'. Neither mating design involved emasculation because of the selective competitiveness of the allopollen. Davis and Gartner (1966) found similar estimates of GCA for crosses produced with or without emasculation in alfalfa. The diallel, as well as the factorial design, confirmed large genetic variation for seed yield and its components in the material under study.

Large genetic variation in alfalfa populations has previously been reported for the number of pods and number of seeds per

Table 4: Estimates of genetic variances and genotype × year interaction variances in the factorial analysis. Standard errors (SE) are given in brackets

Source	Seed yield/plant	Number of inflorescences/plant (10 ²)	Seed weight/inflorescence	Number of seeds/inflorescence	Number of seeds/pod	Mean seed weight
Genotype	7.79 (3.14)	0.033 (0.051)	203.80 (52.68)	20.242 (7.85)	0.228 (0.066)	0.022 (0.002)
Male	4.14 (4.36)	0.033 (0.029)	132.57 (66.94)	15.55 (8.90)	0.178 (0.107)	0.012 (0.001)
Female	1.39 (1.82)	0.015 (0.029)	69.31 (41.57)	5.53 (5.03)	0.041 (0.035)	0.003 (0.002)
Female × male	1.03 (1.08)	0.000 (0.000)	16.58 (21.88)	2.105 (6.26)	0.021 (0.033)	0.000 (0.000)
Genotype × year	9.40 (2.26)	0.080 (0.057)	0.00 (0.00)	2.192 (6.99)	0.036 (0.036)	0.004 (0.003)
Male × year	6.69 (3.00)	0.033 (0.018)	0.00 (0.00)	0.000 (0.00)	0.000 (0.000)	0.001 (0.001)
Female × year	2.61 (1.46)	0.046 (0.042)	1.44 (10.11)	0.437 (3.91)	0.012 (0.021)	0.000 (0.000)
Female × male × year	2.25 (0.97)	0.009 (0.021)	0.00 (0.00)	0.134 (8.48)	0.024 (0.040)	0.001 (0.004)
Error	7.148 (0.780)	0.386 (0.042)	271.88 (26.37)	80.13 (8.57)	0.336 (0.036)	0.029 (0.003)

Table 5: The variance components and narrow-sense heritabilities in the factorial analysis

Estimates	Seed yield/plant	Number of inflorescences/plant (10^2)	Seed weight/inflorescence	Number of seeds/inflorescence	Number of seeds/pod	Mean seed weight
Variance additive (σ_A^2)	10.39	0.089	392.7	40.78	0.426	0.012
Variance dominance (σ_D^2)	6.19	0.000	99.4	12.63	0.131	0.000
Narrow-sense heritability (h^2)	0.52	0.19	0.56	0.34	0.56	0.28

floret tripped for self-incompatibility evaluation (Campbell and He 1997). A large genetic variation among- and within-populations for seed yield and its components in alfalfa was also reported by Bolaños-Aguilar et al. (2000). The among-population variance accounted for 5–31% of the total genetic variance, while the within-population variance accounted for 69–95%. Similarly, Julier et al. (2000) and Crochemore et al. (1998) reported that within-population variance was larger than among-population genetic variance for quality and morphological characters. Hill et al. (1989) reported similar results for the number of florets in white clover. The large within-population variation among the alfalfa populations is associated with the synthetic characteristics of these populations (Gallais 1992).

In the diallel study, the GCA effects contributed most of the genetic variation for seed yield components. The prevalence of GCA effect could be due to the choice of one plant per parental variety, thus leading to linkage disequilibrium, even if none of the parental varieties was especially selected for seed yield. The SCA effect did not play an important role in the inheritance of all the characters evaluated, except for seed weight per pod. The presence of larger GCA effects suggests that high genetic gain could be achieved per breeding cycle. Similar values for GCA and SCA for some seed yield components have been reported in alfalfa by Haaland et al. (1975), Peterson (1983), Dobias and Vlkovicova (1984) and Chloupek and Rod (1985), and by Sato et al. (1981) in cocksfoot, another cross-pollinated autotetraploid forage crop.

In contrast, Singh (1978) reported GCA and SCA variances to be significant for seed yield per plant and number of seeds per pod in a diallel whose parents were seven clones of alfalfa selected after self-pollination. The values of SCA variances for each character were larger than the values for GCA leading to low narrow-sense heritabilities. To explain these discrepancies with our work, it could be argued that such results were obtained because Singh (1978) worked with material originating from several selection cycles for the traits under study; thus the GCA could have been fixed. In his study, the use of plants of '*falcata*' origin, could be one other possible reason. 'Rival-5', 'Medalfa-7', and to a lesser extent 'Europe-1', were the most promising parents because they showed high GCA values for most seed yield components, thus, indicating that these parents would confer high seed yield levels on their offspring.

In our study, the presence of reciprocal effects for the seed yield per plant indicated the importance of the direction of cross on the value of the progenies for this character only. In contrast, no reciprocal effect was detected for the seed yield components, indicating the absence of cytoplasmic effects on these traits. Similarly, Dattée (1972a,b) and Singh (1978) reported no reciprocal effect for the number of ovules per ovary, number of seeds per pod and seed yield per plant. The

absence of reciprocal effects is of major importance for the production of synthetics. In contrast, Vachunova et al. (1984) found significant reciprocal effects for number of seeds per inflorescence and number of pods per inflorescence.

Within the population 'Flamande', the factorial design showed that the additive variance contributed most of the genetic variance for the seed yield per plant and the other five traits evaluated. This result suggests that effective selection for seed yield can be performed using breeding methods designed to exploit additive genetic variance. High additive variances have also been found for the other characters related to seed yield (Dattée 1972a,b, Knapp et al. 1993). The large additive genetic variances led to high estimates of the narrow-sense heritabilities for most characters evaluated, but mainly for seed yield per plant, seed weight per inflorescence and number of seeds per pod. The low narrow-sense heritability found for the number of inflorescences per plant, number of seeds per inflorescence and mean seed weight could be explained by the large error variances found for these three traits. In contrast, Hill et al. (1989) reported a low narrow-sense heritability (0.171) for the number of seeds per pod in white clover.

The correlations between seed yield per plant and the other characters among FS families, in the diallel and factorial designs, showed that seed weight per inflorescence, number of pods per inflorescence and number of seeds per inflorescence had the highest positive correlations with seed yield per plant. In contrast, the mean seed weight and the seed weight per pod were not correlated with seed yield per plant. Therefore, the selection for these two characters is likely to be ineffective. Singh (1978) found a similar correlation between seeds per pod and seed yield per plant among FS families.

In this work, it was found that the environmental effects were important. The environment effect may be attributed to differences in the plant growth (age of plant) for the diallel design and seasonal differences between the two years in the factorial design. However, the genotype mean square was higher than the genotype \times condition interaction mean square for all the traits in both studies. This means that the seed yield components were stable over environments. This stability would be favourable in breeding for seed yield in alfalfa. Thus, the selection of genotypes would be relatively easier.

On the basis of these results, the seed weight per inflorescence could be a valuable selection criterion. The high correlation with the seed yield at the GCA and FS family levels and the high narrow-sense heritability as well as the large genetic variation found among- and within-populations (Bolaños-Aguilar et al. 2000) supports its use in breeding for increasing seed yield in alfalfa. Moreover, the breeding objective in alfalfa is the improvement of the value of alfalfa stands and not of the plant itself. In alfalfa, Christophe (1973) and Rotili and Zannone (1975) showed in progeny tests that plant density and the structure of the stands affected the genetic parameters of flowering and dry matter production. It

is now necessary to determine if the combining ability and the estimates of genetic parameters found in this study for seed yield and its components would be modified under dense conditions.

Acknowledgements

The authors thank J. Jousse and A. Gilly from INRA for technical assistance. The first author is also thankful to CONACYT (National Science and Technology Council from Mexico), INIFAP (National Institute for Forestry, Agriculture and Livestock Research from Mexico) and SFERE (French Society for Educational Resource Exportation) for the financial support.

References

- Becker, W. A., 1975: Manual of Quantitative Genetics. Washington State Univ., Pullman.
- Bolaños-Aguilar, E. D., C. Huyghe, B. Julier, and C. Ecalle, 2000: Genetic variation for seed yield and its components in alfalfa (*Medicago sativa* L.) populations. *Agronomie* **20**, 333–345.
- Campbell, T. A., and Y. He, 1997: Factorial analysis of self-incompatibility in alfalfa. *Can. J. Plant Sci.* **77**, 69–73.
- Chloupek, O., and J. Rod, 1985: Combining ability for forage and seed yields in lucerne. *Sbornik Uvtiz Genetika Slechteni* **2**, 121–127.
- Christophe, C., 1973: Action de la densité de la plantation sur des paramètres génétiques de la luzerne. *Ann. Amélior. Plant.* **23**, 67–79.
- Comstock, R. E., and H. F. Robinson, 1952: Estimation of average dominance of genes. In: J. W. Gowen (eds), *Heterosis*, 494–516. Iowa State Coll. Press, Ames.
- Crochemore, M. L., C. Huyghe, C. Ecalle, and B. Julier, 1998: Structuration of alfalfa genetic diversity using agronomic and morphological characteristics. Relationship with RAPD markers. *Agronomie* **18**, 79–94.
- Dattée, Y., 1972a: Analyse quantitative de l'auto- et de l'interfertilité chez quelques familles de luzerne (*Medicago sativa* L.). *Ann. Amélior. Plant.* **22**, 5–21.
- Dattée, Y., 1972b: Hérité quantitative du nombre d'ovules par ovaire dans quelques familles de luzerne cultivée (*Medicago sativa* L.). *Ann. Amélior. Plant.* **22**, 201–209.
- Davis, R., and A. Gartner, 1966: Effects of self-compatibility on reciprocal differences and combining ability in *Medicago sativa* L. *Crop Sci.* **6**, 479–481.
- Dobias, A., and E. Vlkovicova, 1984: Combining ability for pollen fertility in lucerne. *Proc. Medicago sativa Group of EUCARPIA*, 27–30 Aug., Brno, Czechoslovakia, 41–50.
- Falcinelli, M., 2000: Temperate forage seed production: Conventional and potential breeding strategies. *Int. Herbage Seed Prod. Res. Group Newsletter*, **31**, 7–15.
- Gallais, A., 1992: Pourquoi faire des variétés synthétiques? *Agronomie* **12**, 601–609.
- Griffing, B., 1956: Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. *Aust. J. Biol. Sci.* **9**, 463–493.
- Haaland, R., F. Dane, M. Lentner, and B. Melton, 1975: Effects of years, planting arrangements, and methods of pollination on combining ability for seed set of alfalfa. *Crop Sci.* **15**, 306–308.
- Hill, J., I. B. Norris, and T. P. T. Michaelson-Yeates, 1989: The inheritance of floral characters in white clover (*Trifolium repens*). *Ann. Appl. Biol.* **115**, 101–113.
- Julier, B., C. Huyghe, and C. Ecalle, 2000: Within- and among-cultivar genetic variation in alfalfa: forage quality, morphology and yield. *Crop Sci.* **40**, 365–369.
- Knapp, E. E., L. R. Teuber, and J. A. Henning, 1993: Ease of floret tripping in alfalfa: Quantitative inheritance and expected genetic gain. *Crop Sci.* **33**, 1176–1180.
- Peterson, M. A., 1983: An evaluation of the relationship between seed size and combining ability in crosses among diverse alfalfa germplasm. (Dissert.) *Abstr. Int.* **43**, 2413B.
- Rotili, P., and L. Zannone, 1975: Principaux aspects d'une méthode de sélection de la luzerne basée sur des dispositifs qui utilisent la concurrence entre les plantes. *Ann. Amélior. Plant.* **25**, 29–49.
- SAS Institute, 1995: SAS Language and Procedure. Usage, Version 6, 1st edn. SAS Inst., Cary.
- Sato, S., S. Kawabata, and F. Ikegaya, 1981: Variations of main characters in diallel cross progenies among seven clones of orchardgrass, *Dactylis glomerata* L. IV. Seed yield and its associated characters. *Bull. Natl. Grassl. Res. Inst.* **18**, 27–37.
- Singh, S. M., 1978: Genetic basis of seed setting in alfalfa. *Theor. Appl. Genet.* **51**, 297–304.
- Vachunova, A., V. Vagnerova, and O. Mrasek, 1984: Combining ability for seed production in lucerne. *Proc. Medicago sativa Group of EUCARPIA*, 27–30 Aug., Brno, Czechoslovakia, 107–116.
- Wricke, G., and W. E. Weber, 1986: *Quantitative Genetics and Selection in Plant Breeding*. De Gruyter, Berlin.
- Zhang, Y., and M. S. Kang, 1997: Diallel-SAS: an SAS program for Griffing's diallel analyses. *Agron. J.* **89**, 176–182.

3.4 Discussion complémentaire

L'objectif de l'étude génétique a été d'évaluer la variabilité et le contrôle génétique pour le rendement grainier et ses composantes, et d'identifier des critères de sélection, héréditaires, faciles à mesurer sur de grands effectifs de plantes isolées et liés génétiquement au rendement grainier en couverts denses.

Jusqu'à présent (Figure 1.9), les recherches sur les couverts porte-graines ont été principalement basées sur quatre niveaux d'organisation : la graine, la gousse, la tige et la plante. Des caractères tels que le nombre de graines par gousse, le nombre d'inflorescences par plante et le nombre de graines par plante ont été suggérés comme critères de sélection pour augmenter la production de graines chez la luzerne (Pedersen *et al.*, 1956 ; Rausch, 1964 ; Hacquet, 1990 ; Boçsa et Pummer, 1997). Par contre, les recherches conduites au niveau de l'inflorescence sont rares. Pourtant, on peut identifier à ce niveau d'organisation des caractères faciles à mesurer sur de grands effectifs. C'est pourquoi, nous avons accordé une attention spéciale à ce niveau et obtenu des résultats novateurs et encourageants.

Nous avons montré qu'il existe une large variabilité génétique pour le rendement grainier et pour ses composantes. La part de variabilité à l'intérieur des cultivars est importante, elle couvre entre 69 et 95% de la variation totale selon les caractères. La variabilité génétique entre cultivars est néanmoins importante, et nous avons pu caractériser des cultivars avec de faibles rendements en graines comme Coussouls et Luzelle (variétés adaptées au pâturage), Gabès (population locale méditerranéenne) ou Sabre (variété canadienne), et d'autres à fort potentiel et déjà sélectionnées pour leur productivité grainière comme Europe, Radius, Lp2507 et Maya). Ces résultats sur la variabilité à l'intérieur des cultivars rejoignent d'autres études sur des caractères liés à la qualité du fourrage ou à la croissance aérienne (Julier *et al.*, 2000), ou sur des marqueurs moléculaires (Crochemore *et al.*, 1996). Cette importante variabilité génétique à l'intérieur des cultivars est due à la structure synthétique des variétés ou des populations locales et à la polyploïdie de l'espèce (Gallais, 1992). La variabilité intra-variétale pourra être utilisée dans les schémas de sélection. Ceci permettra aux sélectionneurs de conserver leur pool génétique, déjà amélioré pour d'autres caractères, et de le faire progresser sur la production grainière.

Les héritabilités obtenues dans ces études dans des dispositifs de plantes isolées ont été faibles pour tous les caractères évalués à cause de fortes variances de l'erreur. Ceci a été particulièrement marqué dans le dispositif de plantes clonées mesurées individuellement. Ces variances de l'erreur au niveau inter-population expliquaient de 43 à 70% de la variance phénotypique totale, selon le caractère, et au niveau intra-population de 57 à 80%. Afin de réduire cette variance de l'erreur, il faudra savoir si ces résultats sont dus à des tailles d'échantillon différents ou à l'effet du clonage des plantes étudiées. Le clonage pratiqué dans cette étude a consisté à prélever en fin d'hiver des fragments du collet partiellement enracinés et portant une tige. Ce mode de prélèvement a pu être une source de différence entre les éclats issus de la même plante mère. Il a également pu générer des différences entre génotypes d'un même cultivar, les éclats issus de plantes vigoureuses

ayant une tendance à montrer une vigueur supérieure. Ainsi, il est possible que la variation intra-population ait été surestimée.

La part de l'aptitude générale à la combinaison est prépondérante par rapport à l'aptitude spécifique à la combinaison pour toutes les composantes du rendement évaluées, cette dernière étant même non significative pour certaines de ces composantes. Les effets réciproques sont faibles ou nuls, montrant que l'effet maternel est négligeable. L'absence de ces effets est très favorable car les variétés synthétiques ne permettent pas de les valoriser. L'hérédité des caractères montre une large part d'additivité par rapport à la dominance, contribuant à des héritabilités au sens strict plutôt fortes. Ce contexte est favorable à un progrès génétique important et rapide, dans les schémas de sélection de la luzerne qui ont pour objectif la création de variétés synthétiques.

3.4.1. Définition d'un critère de sélection

En synthétisant les résultats obtenus dans ce chapitre sur la génétique des caractères de production grainière, mesurés en plantes isolées, et les études menées en couverts denses (Chapitre II), on montre qu'un critère de sélection lié à l'inflorescence, comme le poids de graines par inflorescence, pourrait permettre d'améliorer le rendement grainier chez la luzerne. En effet, ce caractère s'est révélé être hautement corrélé génétiquement (0.91) avec le rendement en graines par unité de surface, et de plus présente la meilleure héritabilité (0.58) de tous les caractères évalués.

Dans un dispositif en plantes isolées implanté en 1997 à Lusignan, nous avons étudié les 12 variétés de l'essai multilocal (Chapitre II) en 1997 (A0) et 1998 (A1). Ce dispositif comportait 3 répétitions de 20 plantes par variété. Le poids de graines par inflorescence a été mesuré pour chaque répétition sur un échantillon composé d'une inflorescence par plante, l'inflorescence prélevée était la troisième à partir de la base sur la tige dominante. Les valeurs en 1997 et 1998 ont été corrélées aux poids de graines par inflorescence mesurés aussi dans ces deux années sur des parcelles denses, cultivées sur le même site expérimental (le prélèvement des inflorescences est décrit au Chapitre II). Ces corrélations ont été de 0.84 et 0.64 pour les années d'évaluation 1997 et 1998 sur la base des douze variétés évaluées (Figure 3.1). La corrélation en 1998 est affaiblie par la valeur élevée obtenue pour un cultivar (Europe) en couvert dense. Les causes de cette valeur élevée n'ont pu être identifiées. Il apparaît donc que la relation entre la valeur en dense et les valeurs moyennes en plantes isolées est forte pour chacune des deux années. On peut donc utiliser un dispositif en plantes isolées pour estimer le comportement d'un ensemble de variétés en peuplements denses. L'étude réalisée sur 45 populations de luzerne étudiées en plantes isolées a montré que le poids de graines par inflorescence présentait une variance génétique plus forte et une héritabilité en sens large plus élevée (0.42) que le nombre de graines par plante (0.38) et le nombre d'inflorescences par plante (0.28).

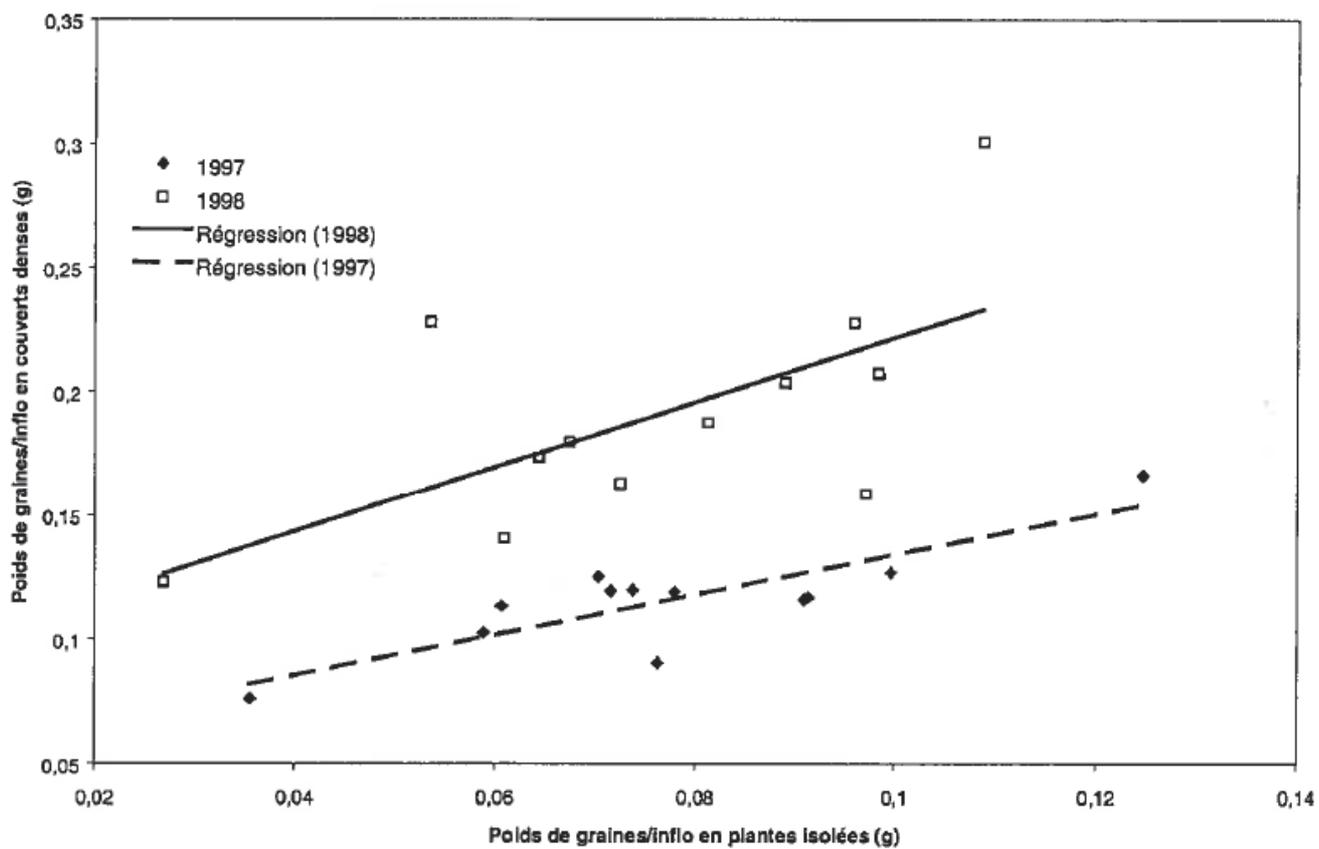


Figure 3.1. Corrélation entre le poids de graines par inflorescence (PGRINFL) de plantes isolées et le PGRINFL de plantes en couverts denses. Evaluations sur 12 variétés et 2 années.

Le poids de graines par inflorescence a montré aussi une variabilité génétique importante, avec une variation forte au sein des populations (74% de la variance génétique totale). Ce caractère est génétiquement corrélé au poids de graines par plante lors de la mesure sur des plantes isolées ($r = 0.43$, avec 46 populations), et en couverts denses ($r = 0.91$, avec 12 variétés). Dans nos dispositifs en plantes isolées, une corrélation encore plus forte a été observée le rendement par plante et le nombre de graines par plante ($r = 0.98$, avec 46 populations) et le nombre d'inflorescences par plante ($r = 0.75$). Zambrana (1972) et Taylor et Marble (1986) ont observé une corrélation similaire entre ces caractères. Ces deux caractères, le nombre de graines par plante et le nombre d'inflorescences par plante, pourraient être utilisés comme critères de sélection pour augmenter le rendement grainier. Cependant, ils sont totalement dépendants de la compétition entre plantes (densité de semis), plus particulièrement du nombre de tiges par plante (Kephart *et al.*, 1992 ; Askarian *et al.*, 1995 ; Martiniello, 1998). Ceci ne constitue pas en soi une difficulté si l'interaction génotype x densité est peu importante, mais, ces éléments bibliographiques ne renseignent pas sur l'importance de l'interaction. Par ailleurs, à cause de fortes variances de l'erreur ces caractères montrent des héritabilités faibles de 0.38 et 0.28, respectivement. De plus, l'évaluation de ces deux caractères sur des plantes individuelles demande beaucoup de temps. Dans des études conduites au sein du laboratoire de recherche en parallèle au présent travail de thèse, la structure des peuplements et des tiges au sein des peuplements ont été analysées pour une variété dans diverses conditions environnementales. Les résultats suggèrent qu'il est difficile dans la plupart des conditions de croissance d'augmenter le nombre d'inflorescences fertiles par unité de surface. Il est en effet démontré que le nombre d'inflorescences sur les tiges dominantes ne dépasse pas 12 en moyenne et que le nombre de tiges fertiles par unité de surface est pratiquement constant, sans que le mécanisme qui préside au contrôle du nombre de tiges fertiles ait été identifié.

Les évaluations faites en plantes isolées sur des familles F1 du plan de croisement factoriel entre plantes de la population Flamande montrent que la variance additive est la principale source de variation génétique pour tous les caractères mesurés. Cette variance est très élevée pour le poids de graines par inflorescence, mais aussi pour le poids de graines par plante et le nombre de graines par gousse. En conséquence, les héritabilités au sens strict sont élevées pour ces trois caractères (0.56, 0.52 et 0.56, respectivement). Le poids de graines par inflorescence est corrélé génétiquement avec le poids de graines par plante pour les descendances de ce plan de croisement factoriel ($r = 0.78$) comme pour les descendances F1 du plan diallèle entre plantes issues de variétés ($r = 0.64$). Le nombre de graines par inflorescence et le nombre de graines par gousse sont aussi fortement corrélés avec le poids de graines par plante. La similitude des résultats dans les plans de croisements diallèle et factoriel suggère que le contrôle génétique des différentes composantes évaluées est semblable quelle que soit la source de la variation génétique exploitée (entre génotypes d'une même population ou de variétés différentes). Ainsi, les déséquilibres de liaison susceptibles d'exister dans le dispositif diallèle ont peu influé sur la part des différentes variances.

Sur la base des résultats précédents, le poids de graines par inflorescence semble être un critère de sélection intéressant pour augmenter le rendement grainier en couverts porte-graines. Si on

considère les divers phénomènes de compensation observés entre les composantes du rendement (Pederson *et al.*, 1956 ; Lewis, 1970 ; Lorenzetti, 1993 ; Katepa-Mupondwa *et al.*, 1996), le poids de graines par inflorescence peut intégrer les sources de variations telles que le nombre de gousses par inflorescence, le nombre de graines par gousse et le poids moyen d'une graine, et les possibles compensations qui peuvent se produire entre elles dans une inflorescence donnée. Par ailleurs, le poids de graines par inflorescence est relativement facile à mesurer. Il consiste à prélever sur des plantes isolées, ou sur des couverts denses des inflorescences bien remplies et après les avoir battues, d'en peser les graines. Cependant, dans un souci d'alléger davantage le processus, nous avons testé la corrélation entre le poids de graines par inflorescence et le poids total des inflorescences avant battage. Sur des échantillons de 30 inflorescences par parcelle élémentaire en couverts denses, la relation mise en évidence entre le poids de graines par inflorescence et le poids des inflorescences avant battage est forte ($r = 0.81$, 142 ddl) (Figure 2.1). Une corrélation de même niveau a été obtenue lors de la mesure sur des plantes individuelles, dans le dispositif permettant l'étude de la variation inter-population et présenté dans ce chapitre. Le poids de l'inflorescence en lui-même peut être considéré comme un critère de sélection.

Genter *et al* (1997) indiquent que l'inflorescence peut être considérée comme une unité biologique, car toutes les fleurs d'une inflorescence fleurissent sur une période de temps relativement courte, de 12 à 24 heures. Par ailleurs elle correspond à un puits d'assimilats pour lequel on peut penser qu'il y a une même source. Ces caractéristiques permettent de comprendre les mécanismes de compensation qui se mettent en place au sein de cette unité. De tels phénomènes de compensation sont suggérés par les corrélations négatives rapportées aux Chapitres II et III entre le nombre de gousses par inflorescence, le nombre de graines par gousse et le poids moyen d'une graine.

3.4.2. Schéma de sélection utilisant le poids d'une inflorescence pour augmenter le rendement en graines de la luzerne.

Etant donné les éléments suivants :

a) *L'aptitude générale à la combinaison a été la principale source de variation génétique.* Les fécondations libres et les croisements en polycross utilisés pour la production de variétés synthétiques permettent d'exploiter l'AGC.

b) *L'absence des effets réciproques.* Le sens du croisement n'est donc pas importante.

c) L'AGC est prédominante quelle que soit la source de variation génétique exploitée, soit à l'intérieur d'une population soit entre populations.

d) La corrélation génétique entre rendement et poids de graines par inflorescence est élevée en situation de couverts denses.

e) La corrélation entre plantes isolées et couverts denses pour le poids de graines par inflorescence est forte, et le poids de graines par inflorescence est corrélé avec le poids d'une inflorescence avant battage.

Le schéma de sélection proposé cherche à valoriser l'aptitude générale à la combinaison (AGC) des plantes parentales, dans un dispositif de sélection combinée individu-famille, et en utilisant le poids de l'inflorescence comme critère de sélection. Pour maximiser le progrès génétique il est proposé de sélectionner sur les deux sexes. Dans la mesure où l'interaction génotype x environnement est faible dans les dispositifs évalués, ce schéma de sélection sera conduit dans un seul lieu, l'analyse multilocale n'intervenant que sur des synthétiques.

Ce schéma comporte une hypothèse que les travaux présentés dans cette étude ne permettent pas de lever. Il s'agit de la corrélation entre valeur propre et valeur en croisement. On fait, en effet, l'hypothèse que les plantes choisies en raison d'un poids de graines par inflorescence élevé confèrent ce caractère à leur descendance. Des relations positives fortes entre la valeur propre et l'AGC ont fréquemment été mises en évidence chez diverses légumineuses à graines pour des caractères relatifs aux composantes du rendement. Ce même type de relation a aussi été mis en évidence chez la luzerne pour d'autres caractéristiques agronomiques comme la résistance au puceron (Julier et al., submitted). Cette hypothèse semble donc raisonnable.

3.4.3. Description du schéma de sélection:

La figure 3.2 montre la stratégie intégrée de sélection et de création de variétés basée sur une sélection combinée individu-famille. Cette sélection combinée permet en effet un gain génétique supérieur à celui obtenu avec une sélection familiale seule ou individuelle seule (Gallais, 1990). Elle combine le progrès génétique permis par la sélection entre familles et la sélection intra-famille.

Le point de départ d'un cycle du schéma de sélection est l'évaluation phénotypique d'un large ensemble de plantes issu de familles en sélection, de populations et de variétés de bonne valeur agronomique, l'évaluation se faisant dans une pépinière de plantes isolées en conservant la structure familiale. Cette implantation constitue l'année 1 du cycle. Dans la mesure du possible, ces populations ou familles auront auparavant subi des tests en conditions contrôlées pour évaluer le niveau moyen et trier les plantes selon leur niveau de résistance aux principaux ravageurs (en particulier les maladies fongiques, *Verticillium albo-atrum* et *Colletotrichum trifolii* et le nématode des tiges, *Ditylenchus dipsaci*). En année 1, les plantes seront testées pour leur aptitude grainière évaluée par le poids des inflorescences par plante en collectant 5 inflorescences bien fournies par plante ou en notant la taille des inflorescences (voir fin de ce chapitre). En année 2, sur ces mêmes plantes, des mesures de hauteur, vigueur des plantes, résistance à la verse ou à des maladies seront réalisées.

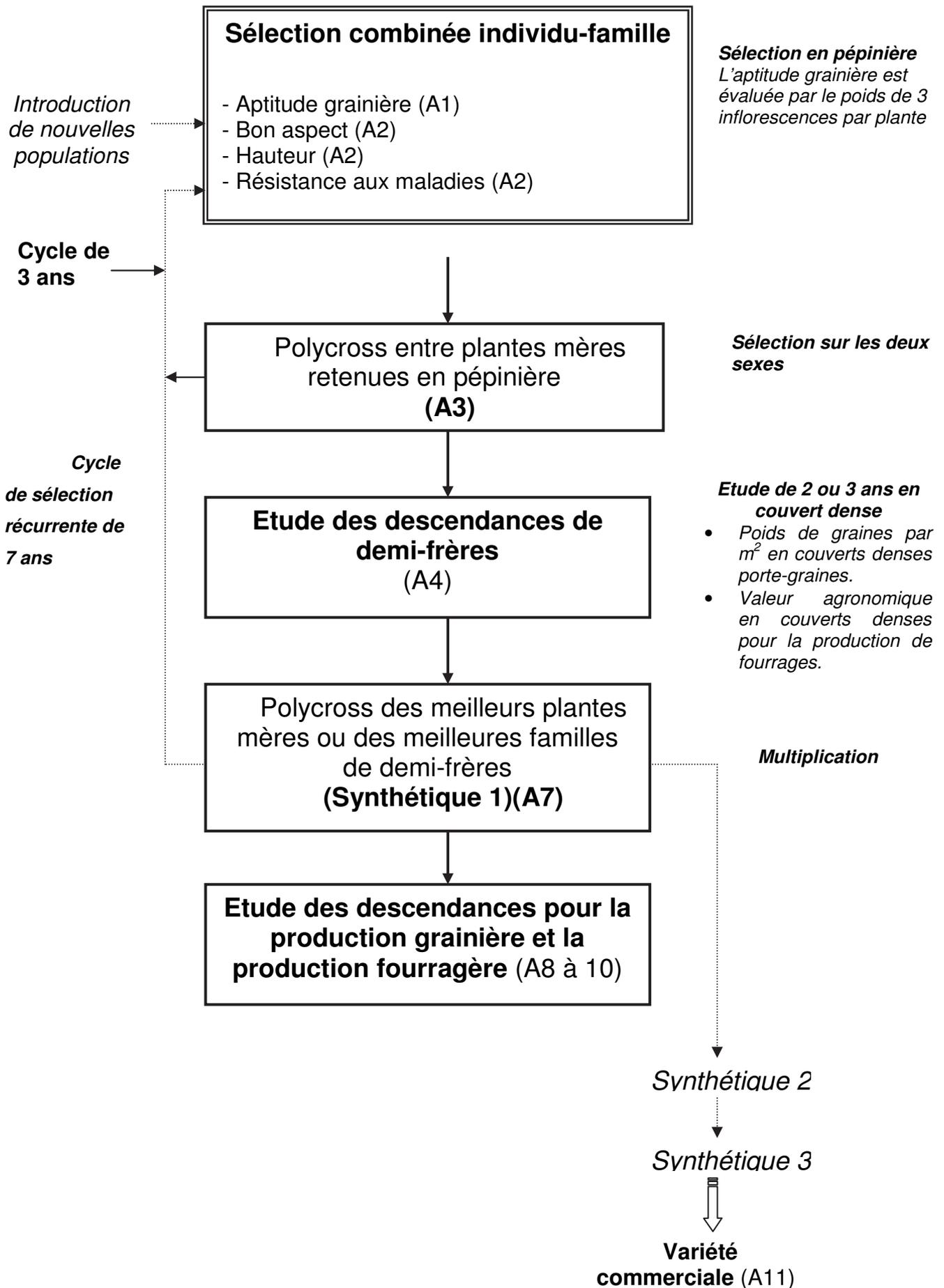


Figure 3.2. Schéma de sélection de variétés de luzerne à forte production grainière et de bon niveau agronomique. Sélection combinée individu-famille.

Sur la base de ces deux années d'étude, une sélection familiale et individuelle sera effectuée. La sélection sera effectuée sur index, le poids donnant aux différents critères étant fonction des choix agronomiques du sélectionneur. Pour permettre un progrès rapide et substantiel sur le rendement grainier, il est nécessaire, au moins au cours du premier cycle de donner une pondération importante à ce caractère. Certaines familles seront éliminées sur la base de leur valeur moyenne. Dans les meilleures familles, les meilleurs individus seront retenus. Deux possibilités sont envisageables: A) intercroisement libre de toutes les plantes en pépinière et récolte des graines uniquement sur les plantes sélectionnées (sélection sur les plantes femelles), B) Intercroisement contrôlé des plantes sélectionnées, ce qui permet de conduire une sélection sur les deux sexes. Les meilleurs génotypes de la pépinière sont alors prélevés pour permettre un intercroisement en serre au cours de l'automne de l'année 2, et/ou intercroisé en isolement en année 3. Ceci permet de produire plus de graines pour l'évaluation ultérieure. Nous proposons la voie B). Même si cela peut ralentir d'un an le programme de sélection, cette voie augmente le degré de contrôle parental et en conséquence le progrès génétique sera nettement plus élevé qu'en suivant la voie A).

Les descendances (familles de demi-frères) du polycross seront évaluées (année 4) pour la production de graines (rendement par unité de surface) en couverts à la densité utilisée en production de semences (couvert porte-graines ; par exemple 2 lignes de 5 m de long, espacées de 40 cm, avec 3 répétitions) mais aussi pour la production fourragère (micro-essais, 4 lignes de 2 m de long, espacées de 20 cm, avec 2 répétitions). La production de graines et la production fourragère seront évaluées au moins 2 ans (années 5 et 6). Ce dispositif pourra être conduit en plusieurs lieux pour chacun des deux objectifs, les lieux étant choisis pour leur pertinence. Ainsi pour la production fourragère, un lieu en Champagne-Ardennes, zone de production de luzerne déshydratée, sera particulièrement recommandé. Pour la production de graines, un lieu de test en Pays de Loire ou en Vendée où se situent 60% des surfaces de luzerne porte-graines est souhaitable. Prenant en compte l'héritabilité des caractères de rendement grainier et des faibles interactions génotype x milieu, le nombre de lieux d'évaluation de la production grainière pourra être limité. Simultanément à cette évaluation en couverts, les familles de demi-frères nouvellement créées entrent dans un nouveau cycle de sélection : test de résistance aux maladies en conditions contrôlées, évaluation en pépinière.

Sur la base des données du test sur descendances, les meilleurs parents (s'ils ont été conservés) ou leurs descendances seront sélectionnés. On peut envisager de constituer annuellement 10 polycross. Les graines récoltées sur ces polycross correspondent à une première génération de variété synthétique (Syn. 1). En année 8, ces descendances de polycross seront implantées dans un dispositif multilocal en couvert dense pour une évaluation de la valeur agronomique (années 8 à 10), et parallèlement en couvert dense porte-graines pour validation de leur productivité grainière. Simultanément, les polycross seront multipliés en panmixie et en isolement (Syn. 2 et Syn. 3) pour prévoir la production commerciale de graines de la nouvelle variété. Celle-ci pourra être déposée à l'inscription en année 11 (le nombre d'années est donné à titre indicatif, car il dépend des moyens en serre utilisables par le sélectionneur pour réaliser des polycross en génération dérobée).

Une formule de progrès génétique pour une sélection combinée individu-famille a été proposée par Knapp et Teuber (1993) sur la luzerne :

$$\Delta G = i_1 c_1 \left(\sigma_A^2 + \frac{1}{3} \sigma_D^2 \right) / \left[\frac{1}{4} \sigma_A^2 + \frac{1}{36} \sigma_D^2 + \frac{1}{4} \sigma_{Ay}^2 / y + \frac{1}{36} \sigma_{Dy}^2 / y + \sigma_{e(hs)}^2 / ry + \left(\frac{3}{4} \sigma_A^2 + \frac{35}{36} \sigma_D^2 + \frac{3}{4} \sigma_{Ay}^2 / y + \frac{35}{36} \sigma_{Dy}^2 / y + \sigma_{we(hs)}^2 / y \right) / nr \right]^{1/2} + i_2 c_2 \left(\sigma_A^2 + \frac{1}{3} \sigma_D^2 \right) / \left[\frac{3}{4} \sigma_A^2 + \frac{35}{36} \sigma_D^2 + \frac{3}{4} \sigma_{Ay}^2 / y + \frac{35}{36} \sigma_{Dy}^2 / y + \sigma_{we(hs)}^2 / y \right]^{1/2}$$

où : i_1 différentielle de sélection généralisée (en fonction du taux de sélection appliqué) entre familles de demi-frères, i_2 différentielle de sélection généralisée à l'intérieur des familles de demi-frères, c_1 , c_2 facteurs de contrôle parental, $c_1 = 1/4$ et $c_2 = 3/4$, σ_A^2 variance additive, σ_D^2 variance de dominance, σ_{Ay}^2 variance de d'interaction additivité x année, σ_{Dy}^2 variance de l'interaction dominance x année, y nombre d'années d'évaluation, $\sigma_{e(hs)}^2$ variance de l'erreur entre familles de demi-frères, $\sigma_{we(hs)}^2$ variance de l'erreur à l'intérieur des familles de demi-frères, n nombre de plantes par famille, r nombre de répétitions.

Les données de cette thèse ne fournissent pas l'ensemble des paramètres génétiques pour prédire le gain génétique. Ainsi, la variance de l'erreur au niveau de la plante individuelle n'a pas été calculée dans les dispositifs évalués. De plus, la diversité génétique prise en compte au départ conditionnent les variances génétiques et donc les variances d'additivité valorisées en sélection. La variance de l'erreur n'est pas liée à la variance génétique étudiée mais dépend du dispositif expérimental. Même s'il n'est pas envisageable de calculer un gain génétique, les voies permettant son optimisation peuvent être discutées.

Sur la base de la formule ci-dessus, l'optimisation de la sélection individu-famille sera obtenue principalement en augmentant l'intensité de sélection, donc en s'appuyant sur une population de départ assez large. Parallèlement au progrès génétique, ceci permet d'éviter les risques de consanguinité et une perte de variabilité génétique pendant les processus de sélection. Pour pouvoir choisir un nombre maximum d'individus dans les meilleures familles, sans risque de consanguinité et de perte de variabilité, il faudra que l'intensité de sélection entre familles soit modérée. A la limite, la sélection peut n'être qu'intra-familiale, mais on doit alors accepter un progrès plus faible et une moindre différenciation au sein du matériel en sélection, ce qui peut à terme conduire à des difficultés au cours des processus d'inscription et en particulier de DHS (Distinction, Homogénéité, Stabilité).

En analysant la formule ci-dessus, la contrainte majeure à la maximisation du gain génétique est l'importance des variances résiduelles trouvées dans les dispositifs évalués, surtout au niveau de l'évaluation intra-population, sous réserve qu'on l'extrapole à la variation intra-familiale. Effectivement, la variance résiduelle intra-population a été supérieure à celle inter-population. Ceci est dû à deux

phénomènes : la petite taille de l'échantillon d'inflorescences étudié (4 plantes clonées par génotype et cinq inflorescences par plante) et un effet du clonage des plantes, clonage qui était nécessaire dans notre étude pour disposer de répétitions vraies. Augmenter la taille de l'échantillon (nombre d'inflorescences prélevées par plante) pourrait réduire la part des variations aléatoires dues à l'effet du clonage, par le fait que la valeur d'un génotype sera calculée sur la moyenne d'un assez grand nombre d'individus. On peut aussi suggérer de prélever au moins 10 inflorescences par plante et non pas cinq. On se heurte alors à la quantité de travail. Une autre solution plus opérationnelle est alors la notation des plantes individuelles, notation non pas sur le nombre d'inflorescences, mais sur leur taille. Une analyse préliminaire conduite au sein du laboratoire sur des dispositifs en parcelle élémentaire de 20 plantes à la densité de 6 plantes par m² avec le prélèvement de vingt inflorescences par parcelle élémentaire a montré une corrélation de 0.90 (145 ddl) entre le poids de graines par inflorescence et la notation visuelle selon une échelle de 1 à 5.

CHAPITRE IV

Etude de la relation
biomasse – rendement
grainier

CHAPITRE 4. Relation entre la biomasse et le rendement grainier

4.1 Introduction

Dans les cultures de luzerne porte-graines, la variabilité des rendements est importante et très dépendante des variétés mais surtout des conditions environnementales. Dans le Chapitre II concernant l'étude multilocale de la production de graines sur un dispositif comprenant 12 cultivars et 12 conditions de culture, nous avons mis en évidence que les variations du rendement grainier entre les différentes conditions environnementales sont reliées aux différences en production de biomasse (partie aérienne totale de la plante) évaluée au moment de la récolte des graines. La production de biomasse a ainsi contribué positivement à la production grainière.

Il existe très peu des travaux corroborant cette relation positive entre la production de biomasse et la production de graines en culture porte-graines, *i.e.*, en cultures à faibles densités de semis (3 à 4 kg/ha). La plupart des études qui évaluent la relation entre la biomasse et le rendement grainier ont été faites en cultures à forte densité (15 à 25 kg/ha) où l'objectif principal est la production de fourrage. Dans ce type de cultures, la relation entre la production de fourrages et la production de graines est soit positive (Melton, 1969 ; Boçsa et Buglos, 1983), soit nulle (Heinrichs 1965 ; Veronesi et Falcinelli, 1987).

L'objectif de ce chapitre est d'évaluer la relation entre le rendement grainier et la biomasse présente au moment de la récolte des graines dans un plus grand nombre de conditions environnementales (combinaison de lieux, années et âges de cultures). Deux variétés ; Europe (variété représentative du type Flamande) et Magali (représentative du type Provence) ont été utilisées en cultures porte-graines. Si la relation positive observée dans le Chapitre II entre la biomasse et le rendement grainier est confirmée, les implications pourraient être nombreuses surtout pour optimiser les pratiques agronomiques. Il faudrait alors chercher à augmenter la production de biomasse pour améliorer, de façon indirecte, la production de graines en cultures porte-graines. La production de biomasse pourrait être alors considérée comme critère de prédiction ou de diagnostic du rendement grainier chez la luzerne.

Les résultats obtenus dans cette étude agronomique ont été traités dans l'article « **Relationship between seed yield and biomass at seed harvest time in alfalfa seed crops** » qui sera soumis à la revue *Agronomy Journal*.

4.2. Relation entre le rendement en graines et la biomasse dans des cultures de luzerne porte-graines

Article à soumettre à la revue Agronomy Journal

Relationship between seed yield and biomass at seed harvest time in alfalfa seed crops

E.D. Bolaños-Aguilar^{1,2}, C. Huyghe¹, J. Hacquet³, C. Ecalte¹, B. Julier¹

¹ Unité de Génétique et d'Amélioration de Plantes Fourragères, INRA, 86600 Lusignan, France.

² Permanent address: Campo Experimental de Tabasco, INIFAP, 86400 Huimanguillo, Tabasco, México.

³ Fédération Nationale des Agriculteurs Multiplicateurs de Semences, FNAMS, 86600 Lusignan, France.

ABSTRACT

Little data has been provided on the relationship between the seed yield and the aboveground biomass at seed harvest time and the harvest index for alfalfa (*Medicago sativa* L.) across a range of environments. Two alfalfa varieties (Europe and Magali) were utilized for to evaluate the influence of age of crops and environmental conditions on seed yield and aboveground biomass (at seed harvest time) and the relationships between these two traits under dense canopies. The harvest index was also evaluated. The 29 environmental conditions evaluated were obtained from combinations of four sites, three harvest years (1997 to 1999) and various ages of crop into the year: sowing year (Y0) and for three following years (Y1 to Y3). The seed yield components investigated were seed yield, mean seed weight, number of seeds per pod and seed weight per inflorescence. The variety and environmental conditions affected the seed yield and the harvest index. The aboveground biomass at seed harvest was only affected by the environmental conditions, but not by the variety. The age of the crop and the site were the main sources of variation affecting the aboveground biomass among the environmental conditions. The variation in seed yield among varieties was predominantly relationship with the variation in seed weight per inflorescence, correlated with 0.43** and 0.50** for Europe and Magali, respectively. For seed yield and aboveground biomass at harvest, the sowing year (Y0) was less productive than the following ones (Y1 to Y3). In contrast, the crops in the sowing year had a higher harvest index (up to 30%) than the others ages of crops. The main sources of variation among the environmental conditions for harvest index were the age of crop and its interactions with the year. A strong relationship was observed between seed yield and aboveground biomass for both varieties: 0.88*** and 0.82*** for Europe and Magali, respectively. In contrast, the correlation between seed yield and harvest index was not significant. Seed weight per inflorescence seems to be a good character for increasing the seed yield in alfalfa. The relationship between seed yield and aboveground biomass at seed harvest time could be used as a diagnosis tool to investigate the limiting factors of seed yield in alfalfa and to optimize the agronomic practices.

INTRODUCTION

To date, the scientific research has been developed to create varieties of alfalfa with high forage production and quality, but without strong selection pressure on the seed yield. As in most perennial forage species, the seed yield of alfalfa cultivars is a key factor for the delivery of a variety to the farmers at competitive prices (Falcinelli, 2000). Seed yield in alfalfa has always been thought of as relatively low and unreliable (Heinrichs, 1965; Kowithayakorn and Hill, 1982). For instance, in France, over the last twenty years, the mean seed yield increased from 200 kg ha⁻¹ to 500 kg ha⁻¹ without a large improvement of the seed yield potential of the varieties (Regambert and Nardi, 1998). This progress was mainly achieved through improvement of the agronomic practices especially the management of the population of pollinators insects, the optimization of the dates of clipping, the disease and pest control and through a better choice of the areas involved in seed production. This led to a large proportion of the total tonnage to be produced in the Loire Valley and in the Vendée wetlands. In these regions, high soil water retention capacities, temperature, rainfall distribution, solar radiation as well as the presence of populations of wild pollinators are all together favorable factors for seed production (Rincker et al., 1988).

Genetic progress in seed yield in alfalfa is scarce in spite of high theoretical seed yield potential of this species. Lorenzetti (1993) evaluated in 12 t ha⁻¹ its seed yield potential and it was calculated from the number of flowers and the number of ovules. The actual seed yield achieved under the most favorable conditions only reaches the 4% of this seed yield potential. A possible reason of the lack of genetic studies for increase seed yield in alfalfa is the negative correlation expected between forage yield and seed yield. Some scientific researches have not found this negative relation (Heinrichs 1965; Veronesi and Falcinelli, 1987), while others ones have found a positive relation between these two characters (Melton, 1969; Boçsa and Buglos, 1983). These later results finding the possibility of selecting for seed yield without negative responses on forage yield in alfalfa.

Otherwise, the seed production in alfalfa has also been claimed to be very variable as well as its relationships with seed components, and to depend upon the environmental conditions (Hacquet, 1988b; Rincker et al., 1988). Bolaños-Aguilar et al. (submitted) found that among environmental conditions (location x year combination) the seed yield was highly correlated to the biomass available at harvest and this linked to age of crop. The lowest seed yields were obtained in the planting year because of the low biomass available at seed harvest time. Demarly (1957) indicated that for a given variety is not possible to obtain simultaneously a high seed yield and a high biomass on the same culture. Indeed, the higher biomass production is obtained under a very high dense canopy while the higher seed yield in dense to low canopies (in alfalfa seed crops) where there are abundant flowers a better pollination and consequently a high seed yield.

The present work was carried out under dense canopies with the objectives: *i*) to evaluate the influence of age of crops and environmental conditions on seed yield and aboveground biomass available at seed harvest time in two well-known varieties: Europe and Magali; and *ii*) to know the

relationships between seed yield and its components with the aboveground biomass at seed harvest time. The harvest index was also investigated.

MATERIAL AND METHODS

Two varieties of alfalfa, Europe and Magali, used as official controls for the variety registration in the French list as Flemish and Provence types respectively, were analyzed under 29 environmental conditions. This set of conditions was obtained from combinations of four sites, three harvest years and various ages of crops by year. The arrangement of the trial conditions is shown in Table 1. The four sites were covering the main areas of alfalfa seed production in France: Lusignan (46°26'N, 0°08'E), Condom (43°58'N, 0°23'E), Marans (46°19'N, 1°01'W) and Etoile (44°49'N, 4°53'E). The first site was provided by the INRA, Unité de Génétique et d'Amélioration des Plantes Fourragères, while the other three sites were provided by the Fédération Nationale des Agriculteurs Multiplicateurs de Semences (FNAMS).

Table 1. Trial design among sites, harvest years and crop ages.

Harvest year	Age of crop†	Site			
		Marans	Etoile ¹	Condom	Lusignan
1997	Y0	X	X	X	X
	Y1	X	X ³	X	
	Y2		X		X ²
1998	Y0			X	X
	Y1	X	X	X	X
	Y2	X	X	X	
1999	Y0		X	X	X
	Y1			X	X
	Y2	X	X	X	X
	Y3	X			

† Age of crop: Y0, plants in the seeding year; Y1 to Y3, plants in the next three regrowth periods; ¹No clipping whatever the age of the crops; ²One trial condition with clipping and one without; ³No measurement of aboveground biomass and harvest index.

All the trials were drilled in spring in a three-replicate complete randomized block arrangement. Plot size was 8.40 m² with 5 m-long rows with 42 cm between rows and a free row between adjacent plots. The sowing density in all the trials was of 2.4 kg ha⁻¹. No inoculation was provided. At each site, the pollination by native pollinators was considered to be adequate for good seed setting of alfalfa (Hacquet, 1988a). In each condition, the flowering date was scored on each plot when 50% of the stems had one flowering inflorescence. Lodging was scored during the flowering period on a scale from 1 (no lodging) to 5 (fully lodged). On August to September, the harvests were performed at physiological maturity in 1997, 1998 and 1999 on trials of three ages of crops: plants from seeding (Y0) and two others corresponding to two regrowth periods (Y1 and Y2). In 1999, there was a Y3. The canopies were not clipped in Y0. The all plots rest were harvest with a cut at 6-cm aboveground level.

Prior to harvest, 30 large inflorescences on 30 different main stems by variety, were sampled in each plot for evaluating seed yield components: mean seed weight, seeds per pod and seed weight per inflorescence. The inflorescences were dried at 40°C till stabilization of the weight, *i.e.* 72 h. On

these 30 inflorescences, the first two pods were sampled, threshed and the seeds counted and weighed. From these data, the mean seed weight and the number of seeds per pod was calculated. The rest of the inflorescences were threshed and the seeds weighed. Combined with the seed weight measured on the first sample, the seed weight per inflorescence was calculated as well as the number of pods per inflorescence. In the harvest 1999, the weight of the inflorescences before threshing was measured. These data combined with the seed weights gave the proportion of seeds in the inflorescences. During harvest with a combine harvester on the whole plots was measuring the seed yield, aboveground biomass and harvest index. The aboveground biomass (leaves + shoots + reproductive organs) was collected in each plot and its dry matter content estimated on a sub-sample of 500 g dried at 72°C for 48 hours. The seeds were dried, cleaned, sieved and weighed for obtain the seed yield per unit area from each plot in each environmental condition. Therefore, the aboveground biomass was calculated from the dry matter collected at the back of the combining machine, more the seeds and the impurities. The harvest index was calculated as the ratio between the seed yield and the aboveground biomass at seed harvest time. Daily weather data were recorded: minimum and maximum temperatures, potential evapotranspiration and rainfall.

Analyses of variance were carried out on the different traits under study, using the general linear model (GLM) procedure of SAS software (SAS, 1988). In a first step, the model included the variety and the environmental condition as main factor and their interaction. The condition effect was then split into site, year, age of crop and main effects and first and second order interactions between these factors. The variety x condition interaction was partitioned into the first, second and third order interactions between variety and site, year and age of crop. The phenotypic correlations, were calculated by CORR procedure from the mean data calculated across the three blocks for each combination of variety x environmental condition. A covariance analysis was carried out on the seed yield with the aboveground biomass as a covariate.

Table 2. Mean value and range of variation among conditions for the seed yield and its components.

Traits	Mean	Range of variation among conditions
Seed yield (kg ha ⁻¹)	724	104.6 – 1722.2
Aboveground biomass (t ha ⁻¹)	5.03	0.81 – 11.82
Harvest index (%)	15.5	6.38 – 34.41
Thousand Seed Weight (g)	2.05	1.75 – 2.38
No. seeds per pod	5.22	3.24 – 7.27
Seed weight inflorescence ⁻¹ (mg)	170	69.3 – 252.2

RESULTS

Effect of Environmental Condition, Variety, Age of Stand, Sites and their Interactions

Weather conditions were characterized with warm temperatures and regular rainfalls during the summer for three years in the four sites. The seed yield was significantly affected by the environmental conditions as it varied from 104.6 to 1722.2 kg ha⁻¹ with an average value of 724 kg ha⁻¹ (Table 2).

The highest seed yields were achieved in Y2 crops for Etoile in 1999 and 1998 (1655 and 1292 kg ha⁻¹, respectively) and for Condom in Y1 crops in 1998 (1314 kg ha⁻¹). The lowest yields were in 1997 and 1998 for Lusignan in Y0 crops with 303.98 and 107.55 kg ha⁻¹, respectively. Thus, the range of variation was large and the mean seed yield was above the average value experienced in the previous years. This was due to favorable environmental context in some very high yielding conditions.

Table 3. Mean squares from the analysis of variance for the different traits under study.

Factors	df	Thousand seed weight (g)	Number of seeds per pod	Seed weight/ inflorescence (mg)	Seed yield (dt ha ⁻¹) [†]	Aboveground biomass (t ha ⁻¹)	Harvest index (%)
Variety (V)	1	0.124***	1.78**	15.0***	75.46***	4.99***	91***
Condition (C)	28	NS	0.99***	2.37***	12.99***	7.53***	31.9***
Year (Y)	2	NS	NS	10.9***	26.23 ***	18.4***	401***
Age of crop (A)	3	NS	NS	26.6***	153.5***	97.7***	129***
Site (S)	4	0.062***	13.31***	5.2***	92.21***	75.3***	123***
Y x A	4	0.068***	7.51***	15.9***	42.89***	18.2***	269***
Y x S	6	0.11***	1.40***	2.1***	58.46***	24.7***	45***
A x S	6	0.041**	0.92**	4.5***	15.12***	16.9***	8*
Y x A x S	3	0.046**	NS	NS	28.30 ***	19.0 ***	95***
Condition x variety	28	NS	0.43**	1.28***	3.34***	0.79***	5.98*
Y x V	2	NS	NS	1.2*	NS	NS	12*
A x V.	3	NS	NS	NS	2.98 *	NS	8*
S x V	4	NS	NS	2.9***	3.76 **	1.0 *	NS
Y x A x V	4	NS	NS	NS	4.16 **	0.9 *	NS
Y x S x V	6	NS	1.01***	1.12**	NS	0.9 **	7*
A x S x V	6	NS	0.56*	NS	2.95 *	1.5 ***	7*
Y x A x S x V	1	NS	NS	NS	NS	1.7 *	NS
SE	81	0.10	0.46	16.8	1.02	0.54	1.6

[†] The values of the Means Squares were divided by 10³

*, **, *** significant at 5%, 1% and 0.1% probability, respectively. NS, not significant. df, degree of freedom.

The analysis of variance for the different traits under study are shown in Table 3. When the condition effect was split into its various components, all the main factors and the first and second interactions were significant. However, the age of crop and the site were the main sources of variation. This is relevant with the fact that the crops in the sowing years (Y0) are less productive than in the following ones (Y1 to Y3). It is also relevant with the site suitability for seed production. The effect of variety as well as the variety x condition interaction were significant. Between the two varieties evaluated, the highest mean seed yield was achieved by the variety Europe with 807.62 kg ha⁻¹ vs Magali with 645.24 kg ha⁻¹. When significant, the interactions between variety and environmental conditions were small despite the fact that the varieties under study belonged to two different dormancy groups. This suggests that the mechanisms regulating the seed yield components as a function of the environmental conditions are the same for both varieties. The aboveground biomass at harvest is strongly affected by the environmental conditions and mainly by the age of crop and the site, but not by the variety with 5.26 t ha⁻¹ for Europe and 4.84 t ha⁻¹ for Magali.

The effect of age of crop is related to the fact that the aboveground biomass at seed harvest time is on average lower in the seeding year (3 t ha⁻¹) than in the next growing seasons. The harvest index averaged 15% and was affected by the variety and the environmental condition. The variety Europe showed on average a higher harvest index than Magali, with values of 16.28 v.s. 14.44%, respectively. The age of the crops and its interaction with the year were the main sources of variation among the environmental factors for harvest index. On average, the crops in the seeding year had a higher harvest index. This was especially true for Condom and Lusignan in 1999, where the harvest indices in Y0 reached 30%. In contrast for Etoile in 1999, the harvest index in Y2 was of 8% only.

Regarding the seed yield components, the effect of variety was significant for all them. Thousand seed weight was larger for Magali (2.08 g) than for Europe (2.02 g). The number of seeds per pod was larger for Europe (5.34) than for Magali (5.11). The seed weight per inflorescence was larger for Europe (181 mg) than Magali (161 mg). The effect of environmental condition was significant for most of the seed yield components, except for the thousand seed weight. When the condition effect was subdivided into year, age of crop and site, the site and the harvest year x age of crop combination had the major influence on the seed yield components. Condition x variety was not significant only for thousand seed weight. The interaction was further partitioned and the most were not significant.

Relationships Between Traits

The correlations between the different traits under study are shown in Table 4. The seed yield is strongly affected by the aboveground biomass at seed harvest time. The correlations were similar for both varieties (0.886 and 0.827 for Europe and Magali respectively). This correlation is illustrated on Fig. 1. The regression slope was steeper for Europe than for Magali. This steeper slope for Europe is associated with the higher harvest index recorded for this variety. Even if most of the crops fit well along this regression, there is a substantial variation around it, especially for the low levels of aboveground biomass production. The values above the regression correspond to Y0 crops with very high harvest indices.

Table 4. Correlation among the traits under study for all the combinations variety x environmental conditions.

Traits	Seed yield	Above ground biomass	Harvest index	Seed weight by inflorescence	Mean seed weight
Aboveground biomass	0.849***				
Harvest index	0.143NS	-0.343*			
Seed weight by inflorescence	0.486***	0.347*	0.161NS		
Mean seed weight	0.188NS	0.090NS	0.245NS	0.138NS	
Number of seeds per pod	0.263*	-0.069NS	0.547***	0.581***	0.159NS

*, **, *** significant at the 0.05, 0.01 and 0.001 probability levels, respectively. NS, not significant

But no relationship was found between the seed yield and the harvest index. The correlation between seed yield and the seed weight per inflorescence was highly significant and were similar for both varieties with a peculiar pattern (Figure 2). Therefore, the variation in seed yield among varieties was predominantly due to variation in seed weight per inflorescence. Most of the observations were located along a positive relationship while a few high yielding conditions showed low seed weight per inflorescence. These conditions corresponded to crops in Y2 from Etoile in 1998 and 1999 with a mean seed weight per inflorescence of 167 and 152 mg, respectively. All these crops had a very strong vegetative growth and a high aboveground biomass production. These crops also suffered from lodging. The number of seeds per pod showed a significant correlation with the seed yield. This trait was strongly and positively related to the harvest index and to the seed weight per inflorescence.

Table 5. Covariance analysis of the seed yield (Sums of Squares) using the aboveground biomass as a covariate.

	Without covariate	With a covariate
Aboveground biomass	-	1635.5 ***
Variety	108.7 ***	55.9 ***
Environmental condition	2079.0 ***	500.78 ***
Variety x condition	93.7 ***	57.4 ***
Error	93.8	55.5
R ²	0.96	0.97

*** significant at 0.001 probability level.

The strong relationship between aboveground biomass and seed yield may bias the interpretation of the analysis of variance. Consequently a covariance analysis was performed on the seed yield with the aboveground biomass as a covariate. Based upon type I sums of squares, it appears that the aboveground biomass explains a large part of the variations due to the environmental conditions and less by the variety variation (Table 5).

DISCUSSION

This study based upon two varieties grown under a wide range of environmental conditions led to a very wide range in the different traits under study, and especially the seed yield that ranged from 100 to 1626 kg ha⁻¹. The major feature drawn from this study is the very strong relationship between seed yield and aboveground biomass available at seed harvest time. This strong relationship proved to be true for both varieties. Other researches on alfalfa grown in dense canopy seem to agree on the presence of positive correlation between seed yield and forage yield under favorable climatic conditions or when the irrigation was utilized (Abu-Shakra et al., 1969; Radzhabov, 1982; Steiner et al., 1992; Martiniello and Ciola, 1994; Martiniello, 1998). These authors indicating that the results were a consequence of higher stem density and higher number of seeds per stem in the canopy. According to the results obtained on root development under controlled environments in alfalfa (Dovrat et al., 1966) and in *Lolium perenne* L. (Warringa and Kreuzer, 1996), it may be indicated that the irrigation provides water to promote more biomass production and the restoration of root-systems reserves, and finally increase the seed production. Under rainfall conditions, seed yield was not correlated to aboveground biomass production in dense canopy (Heinrichs, 1965; Veronesi and Falcinelli, 1987; Rosellini et al., 1994; Martiniello, 1998) in alfalfa. Perhaps, the plants under irrigation better exploit the resources available and maintain active photosynthesis and physiological processes, which support seed yield and biomass production.

In our study, it must be taken into account that this relationship was obtained in a set of experiments designed for seed production, and the trial sites are characterized by clear sunny and warm summer. These climatic conditions promote good flowering and pollinating activity that are essential for seed production (Rincker et al., 1988). Despite of this optimization, a very wide range of variation for seed yield among conditions was observed. Among environmental conditions, the variations in seed yield were principally due to the potential aboveground biomass production and after to the seed weight per inflorescence. The lowest seed yield observed in the seeding year (Y0) as a consequence of a lower aboveground biomass is relevant with the physiology of the crops in the seeding season. Indeed, the establishment of the leaf area index is slower than in the subsequent years with a dry matter accumulation in roots higher than in aerial parts (Gosse et al., 1986), particularly under wide row spacing. For the cv Europe, Khaiti and Lemaire (1992) observed that the radiation use efficiency by the aboveground biomass was lower in Y0, and explained the lower biomass found on these crops, than the subsequent periods of growth. They found a later achievement of the full radiation interception and a lower conversion efficiency of the solar radiation into aboveground biomass. These authors also explained that the variation in radiation use efficiency for aboveground biomass harvested between different growth periods can be attributed to differences

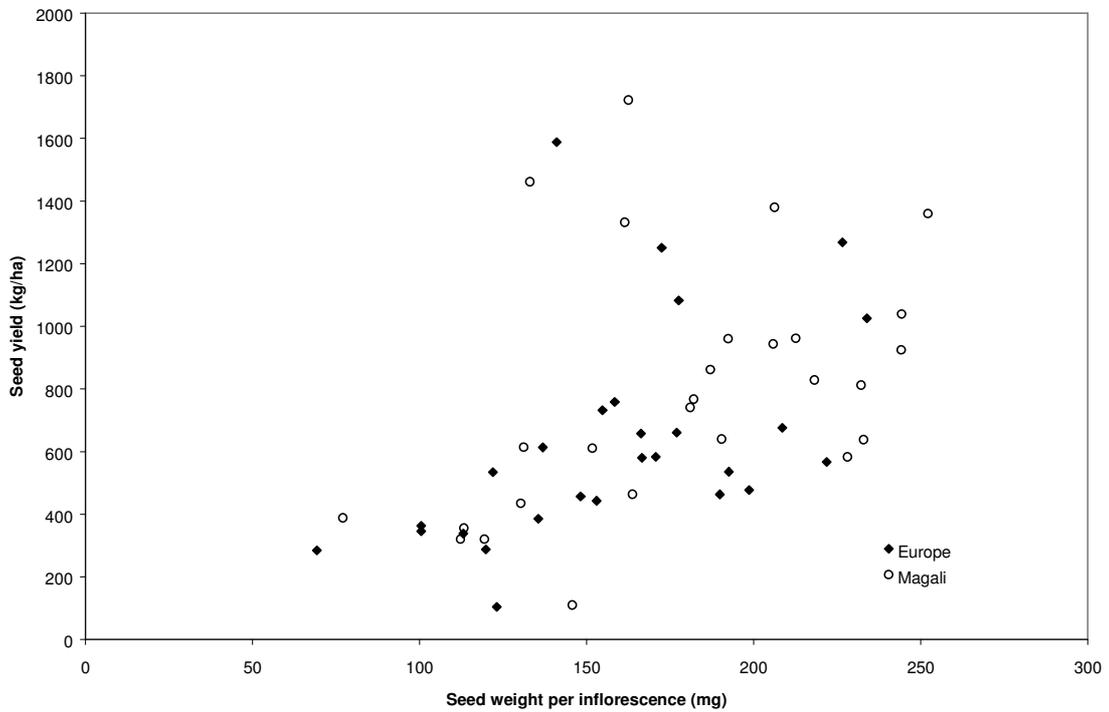
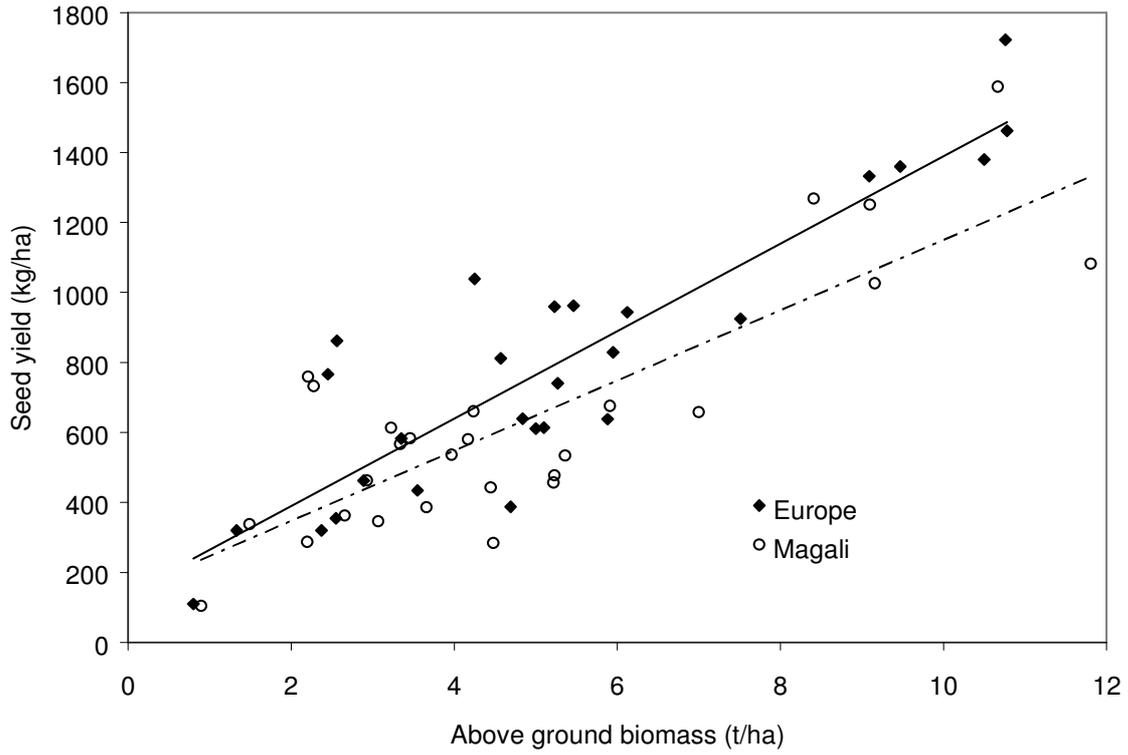


Figure 2. Relationship between the seed weight per inflorescence and seed yield for Europe and Magali varieties grown in 29 environmental conditions.

in the partitioning of assimilates between shoots and roots, with a larger investment into the root compartment. This strong relationship between aboveground biomass and seed yield is also relevant with the little differences observed in seed yield between Y1 and Y2 in a given environment in our study. Martiniello (1998) also found higher seed yields in the subsequence years to the seeding year. This should be explained by similar potential of light interception and photosynthesis among the conditions, contributing to similar aboveground biomass at seed harvest in these two ages of crop.

The very high seed yields were achieved in Etoile in Y1 and Y2 crops in 1998 and 1999 where the crops were not clipped before the seed production cycle and irrigation was applied to fulfil the crop water requirements till the end of flowering. The absence of clipping induced a early flowering of all the plants. On different grass and legumes species, Martiniello (1998) found that early flowering of the accessions evaluated is a characteristic able to increase dry matter and seed yield. High seed yields were also achieved in Condom in Y1 and Y2 crops in 1998 thanks to high rainfalls during the seed production season. Taylor and Marble (1986) found a positive correlation between seed yield and aboveground biomass when the irrigation during bloom or the whole year was applied. The high yields achieved through a high biomass production resulted of various combination of seed yield components as illustrated by the absence of unique correlation between seed yield and its components. The increase in seed yield may be achieved through higher seed weight per inflorescence, itself being partly due to higher number of seeds per pod ($r= 0.58$, $p<0.001$). The variations in seed weight per inflorescence among environments and varieties were mostly due both to variation in number of seeds per pod. Hacquet (1990c) and Rosellini et al. (1990) also reported positive relationship between seed yield and number of seeds per pod. However, in the very high yielding conditions met in Etoile and Condom, higher seed yield was likely due to more inflorescences, especially on the branches (data not shown). These results support similar findings of Dovrat (1969), Kowithayakorn and Hill (1982) and Taylor and Marble (1986). Branching may increase seed yield per plant by increasing the number of primary, secondary and tertiary lateral flowering shoots at low sowing rates (Askarian et al., 1995). Thus, the measurement of simple indicators is not likely to provide precise information on the seed yield for one variety across environmental conditions. However, the seed weight per inflorescence is the best indicator. These results support the work by Bolaños-Aguilar et al. (2000) indicating a strong phenotypic and genetic relationship between seed yield per plant and seed weight per inflorescence in isolated plants. This relationship was also validated using independent data set collected on agronomic practice trials (Huyghe et al., submitted). It will be of a major interest to identify the precise period of time during which the dry matter is accumulated in the reproductive compartment and whether there are substantial assimilate remobilization from the vegetative and root compartments to the reproductive compartment.

The crop protection to avoid leaf diseases or insect damages will increase the potential for biomass production and likely result into higher seed yields. The relationship between seed yield and aboveground biomass could be used as a diagnosis tool to investigate the limiting factors of seed yield in alfalfa and to optimize the agronomic practices. Indeed, the physiological mechanisms leading to the production of biomass are well identified. The definition of the clipping date must not be based only on the occurrence of the pollinators or to reduce the vegetative growth. It must take into account the

optimization of the vegetative growth. The analysis of the row spacing is also necessary. As it is necessary to maximize the aboveground biomass at seed harvest time (or at flowering) and so to look for a full radiation interception at flowering, in cool environments, where the first flowering node is higher, row spacing must be broad to avoid severe crop lodging and to improve the pollination. In warm environments, where the first flowering node is low, narrow row spacing will lead to better performances. As a consequence of this relationship, the sowing density seems to have a constant and predictable effect. Indeed, plants closely spaced have an intense interplant competition soon after sowing, associated with non-flowering stems and a reduction of seed yield per plant (Abu-Shakra et al., 1969; Kowithayakorn and Hill, 1982; Li and Min, 1998). In clover canopies, Pasumarty and Thomas (1998) found changes in pollen sterility: 16% and 5% in dense and open canopies respectively. Furthermore the number of seeds per floret was 30% higher in the open canopies. These differences were the results of limited available photosynthates because the light intensity was lower in dense (less than 1% of incoming photosynthetically active radiation) than open canopies.

The development of a global development model of the alfalfa seed crops would be extremely valuable. When taking into account the flowering date, the light interception efficiency and the dry matter accumulation during the reproductive period, the model would be helpful to assess more precisely the geographical areas suitable for the alfalfa seed production and to provide decision tools to upgrade the agronomic practices. It would especially help in defining the optimum clipping date according to the soil water status, to the expected flowering date and to the likeliness of pollinator occurrence. The development of a model in considering the flowering date, the light interception efficiency and dry matter accumulation, would be helpful upgrade the agronomic practices for alfalfa seed yield.

CONCLUSIONS

The variety and environmental conditions affected the seed yield and the harvest index. The variation in seed yield among varieties was predominantly associated to variation in seed weight per inflorescence. Among environmental conditions, the variations in seed yield were principally due to aboveground biomass at seed harvest time. The age of the crop and the site were the main sources of variation affecting the aboveground biomass among the environmental conditions. For seed yield and aboveground biomass at harvest, the sowing year (Y0) was less productive than the following ones (Y1 to Y3). The crops in the sowing year had a higher harvest index than the others crop years. The relationship between seed yield and aboveground biomass at seed harvest time may be regarded as a tool to improve the seed yield through optimization of the agronomic practices applied to the alfalfa seed crops.

ACKNOWLEDGMENTS

E.D. Bolaños-Aguilar is grateful to CONACYT (National Science and Technology Council from Mexico), INIFAP (National Institute for Forestry, Agriculture and Livestock Research from Mexico) and SFERE (French Society for Educational Resource Exportation). The authors thank to J. Jousse and A. Gilly from INRA and S. Bador, L.M. Broucqsault, J.L. Chareyron, C. Fourreau and L. Nardi from FNAMS for their technical assistance.

REFERENCES

- Abu-Shakra S., M. Akhtar, and D.W. Bray. 1969. The influence of irrigation interval and plant density on alfalfa seed production. *Agron. J.* 61: 569-571.
- Askarian M., J.G. Hampton, and M.J. Hill. 1995. Effect of row spacing and sowing rate on seed production of lucerne (*Medicago sativa* L.) cv. Grassland Oranga. *N.Z.J. Agric Res.* 38: 289 – 295.
- Boçsa I., and J. Buglos. 1983. Seed yield and some factors influencing seed setting at the variety level in lucerne. *Z. Pflanzenzuchtg.* 90: 172-176.
- Bolaños-Aguilar E.D., C. Huyghe, B. Julier, and C. Ecalte. 2000. Genetic variation for seed yield and its components in alfalfa (*Medicago sativa* L.) populations. *Agronomie* 20: 333-345.
- Bolaños-Aguilar E.D., C. Huyghe, C. Ecalte, J. Hacquet, and B. Julier. Effect of variety and environment on seed yield in alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Crop Sci.* Submitted.
- Demarly Y. 1957. Biologie et exploitation de la luzerne. *Ann. Amélior. Plantes* 7: 247-272.
- Dovrat A., D. Levanon, and M.A. Waldman. 1969. Effect of plant spacing on carbohydrate in the root and components of seed yield in alfalfa. *Crop Sci.* 9: 33-34.
- Falcinelli M. 2000. Temperate forage seed production : conventional and potential breeding strategies. *International Herbage Seed Production Research Group Newsletter*, 31: 7-15
- Gosse G., C. Varlet-Grancher, R. Bonhomme, M. Chartier, J.M. Allirand, and G. Lemaire. 1986. Production maximale de matière sèche et rayonnement solaire intercepté par un couvert végétal. *Agronomie* 1: 47-56.
- Hacquet J. 1988a. Pollinisation de la luzerne. Vive notre faune sauvage! *Bulletin Semences.* 142: 12–14.
- Hacquet J. 1988b. Quelques clefs pour comprendre l'élaboration du rendement de la luzerne. In *Bulletin Semences* 105: 28–31.
- Hacquet J. 1990c. Genetic variability and climatic factor affecting lucerne seed production. *J. Appl. Seed Prod.* 8: 59-67.
- Heinrichs D.H. 1965. Slection for higher seed yield in alfalfa. *Can. J. Plant Sci.* 45: 177-183.
- Huyghe C. et al. 2000. Submitted.
- Khaiti M., and G. Lemaire. 1992. Dynamics of shoot and root growth of lucerne after seeding and after cutting. *Eur. J. Agron.* 4: 241-247.
- Kowithayakorn L. and M.J. Hill. 1982. A study of seed production of lucerne (*Medicago sativa*) under different plant spacing and cutting treatments in the seeding year. *Seed Sci. & Technol.* 10: 3-12.
- Li Y., and J. Min. 1998. The effects of irrigation times and sowing density on the growth and seed production of alfalfa. *Acta Prataculture Sinica* 7:3, 29-33.
- Lorenzetti F. 1993. Achieving potential herbage seed yields in species of temperate regions; p. 1621-1628. In: *Proceedings of the XVII International Grassland Congress*, 13-16 February, New Zealand.
- Martiniello P. 1998. Influence of agronomic factors on the relationship between forage production and seed yield in perennial forage grasses and legumes in a Mediterranean environment. *Agronomie* 18: 591-601.

- Martiniello P. and A. Ciola. 1994. The effect of agronomic factors on seed and forage production in perennial legumes sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) and French honeysuckle (*Hedysarum coronariu* L.). Grass For. Sci. 49: 121-129.
- Melton B. 1969. Comparative seed and forage yield in crosses of selected alfalfa clones as compared to polycross progeny. Crop Sci. 9: 253-255.
- Pasumarty S.V. and R.G. Thomas. 1998. Limitations to seed set in white clover (*Trifolium repens* L.). IV. Effect of canopy density and artificial shading in the field. J. Applied Seed Prod. 16: 31-37.
- Radzhabov T. 1982. Irrigation of lucerne for seed production. Khlopkovdostvo 4: 21-22.
- Regambert M. and L. Nardi. 1998. 20 ans après, la luzerne refait surface. Bulletin Semences 145: 21-22
- Rincker C.M., V.L. Marble, D.E. Brown, and Johansen, C.A. 1988. Seed production practice. p. 985-1021. In Hanson, A.A.; Barnes, D.K.; Hill, R.R. (Eds). Alfalfa and Alfalfa improvement, Agronomy 29, Madison USA.
- Rosellini D., F. Veronesi, M. Falcinelli, and Lorenzetti F., 1990. Seed yield components in alfalfa materials selected for seed yield, in : G. Bauchan (Ed.), Rep. 32nd North American Alfalfa Improvement Conf., Pasco, Washington. P. 29.
- Rosellini D., F. Veronesi, and M. Falcinelli. 1994. Componenti della produzione di seme in linee selezionate di erba medica (*Medicago sativa* L.). Riv. Di Agron. 28: 43 - 49
- SAS Institute, Inc. 1988. SAS user's guide: Statistics. 6th ed. SAS Inst. Inc., Cary, NC.
- Singh S.M. 1978. Genetic basis of seed setting in alfalfa. Theor. Appl. Genet. 51: 297-304.
- Steiner J. J., Hutmacher R. B., Gamble S. D., Ayars J. E. and Vail S. S., 1992. Alfalfa seed water Management: I. Crop reproductive development and seed yield. Crop Sci. 32: 476-481.
- Taylor A.J., V.L. Marble. 1986. Lucerne irrigation and soil water-use during bloom and seed set on a red-brown earth in southeastern Australia. Aust. J. Exp. Agric. 26: 577-581.
- Vasilev E. and, R. Chak"rov. 1998. Productivity of lucerne under different methods of growing. Rasteniev"Dni Nauki. 35: 749-754.
- Veronesi F. and M. Falcinelli. 1987. Seed selection in *Medicago sativa* L. and correlated responses affecting dry matter yield. Plant Breeding, 99: 77-99.
- Warringa J.W., and A.D.H. Kreuzer. 1996. The effect of new tiller growth on carbohydrates, nitrogen and seed yield per ear in *Lolium perenne* L. Ann. Bot. 78: 749-757.

4.3 Discussion complémentaire

Dans cette étude agronomique réalisée sur 29 conditions environnementales (obtenues par la combinaison de quatre lieux, trois années de récolte, et quatre âges de cultures), le rendement grainier est corrélé positivement à la biomasse totale aérienne présente au moment de la récolte des graines, pour les deux variétés évaluées, Europe ($r = 0.88$) et Magali ($r = 0.82$). La pente de la régression plus faible pour la variété Magali correspond à un indice de récolte moyen, plus faible chez Magali (14.4%) que chez Europe (16.2%). Une relation positive similaire ($r = 0.94$) entre le rendement grainier et la biomasse disponible au moment de la récolte des graines, avait été mise en évidence dans le Chapitre II sur une gamme plus étroite de conditions environnementales, mais avec 12 variétés différentes. Devant ces résultats deux questions se posent :

1) *Cette relation positive entre la biomasse et la production de graines est-elle toujours valide pour d'autres situations environnementales, différentes de celles que nous avons étudiées ?*

2) *Peut-on utiliser cette régression comme outil de diagnostic ?*

Pour répondre à ces questions et pour valider nos expériences, nous avons repris les données d'anciens essais de production de semences. Ces essais ont été réalisés par la Fédération Nationale des Agriculteurs Multiplicateurs de Semences (FNAMS) pendant la période 1986-1994 dans différentes conditions environnementales.

4.3.1 Présentation des essais FNAMS

Ils avaient pour but d'évaluer l'effet de pratiques agronomiques, comme l'irrigation, la date de la pré-coupe, les écartements entre rangs et l'âge de la plante, sur le rendement grainier en couverts denses porte-graines. La biomasse avait été mesurée mais les données n'avaient pas été spécialement mises en relation avec le rendement en graines. Les essais ont été les suivants (Tableau 4.1) :

Essai 1 (1986-1988) : Effets de l'écartement entre rangs et de l'âge de la culture, testés à Lavaur et à Fiac dans le Tarn, et à Castelnaudary dans l'Aude.

Essai 2 (1989-1991) : Effets de l'irrigation et la pré-coupe, testés à Lavaur et à Etoile (Drôme).

Essai 3 (1991-1994) : Effets du stade de pré-coupe, testé à Montpellier (Hérault)

Tableau 4.1. Essais menés par la FNAMS pour la production de graines chez la luzerne (1986-1994).

Essai 1 (1986-1989)	Traitements	Ecartement entre rangs (cm)	Irrigation	Graines (kg/ha)	Biomasse (t/ha)	
A0 (1986) Lavour	1	37	Oui	700	4.73	
	2	55	Oui	630	4.29	
	3	75	Oui	588	3.56	
	Castelnaudary	1	37	Oui	944	5.72
		2	55	Oui	911	5.20
		3	75	Oui	857	4.83
A1 (1987) Lavour	1	37	Non	854	6.26	
	2	55	Non	825	5.82	
	3	75	Non	672	5.54	
	Castelnaudary	1	37	Non	977	8.16
		2	55	Non	1056	9.02
		3	75	Non	921	7.42
1988 Fiac A1	1	37	Non	610	5.8	
	2	55	Non	588	4.2	
	3	75	Non	550	5.2	
	Castelnaudary (A2)	1	37	Non	1021	8.4
		2	55	Non	912	7.4
		3	75	Non	815	7.6
1989 Fiac A2	1	37	Oui (un bloc)	217	3.30	
	2	55	Oui (un bloc)	263	3.35	
	3	75	Oui (un bloc)	344	3.34	
	Castelnaudary (A3)	1	37	Oui	1053	5.83
		2	55	Oui	1093	6.56
		3	75	Oui	1077	5.94

Essai 2 (1989-1991)	Traitements	Ecartement entre rangs (cm)	Date de pré- coupe	Irrigation	Graines (kg/ha)	Biomasse (t/ha)
A1 Lavour	1	37.5	Sans pré-coupe	Oui	524	6.6
	2	37.5	Sans pré-coupe	Non	481	5.5
	3	37.5	15 mai	Oui	384	4.7
	4	37.5	15 mai	Non	352	3.3
Etoile	5	34.0	4 mai	Oui	1130	8.3
	6	60.0	4 mai	Oui	1071	7.6
	7	60.0	Sans pré-coupe	Oui	1014	7.1
	8	60.0	Sans pré-coupe	Non	986	6.1
A2 Lavour	1	37.5	15 avril	Oui	1195	9.97
	2	37.5	15 avril	Non	559	-
	3	37.5	14 mai	Oui	1208	5.40
	4	37.5	14 mai	Non	427	-
Etoile	5	34.0	30 avril	Non	1246	9.4
	6	60.0	30 avril	Non	1389	7.7
	7	60.0	Sans pré-coupe	Non	1420	10.6
	8	60.0	Sans pré-coupe	Oui	1426	10.5

Tableau 4.1. Suite

Essai 3	Variété	Traite-	Stade de pré-coupe	Irrigation	Graines	Biomasse	Date de
---------	---------	---------	--------------------	------------	---------	----------	---------

(1991-1993)		ment			(kg/ha	(t/ha)	floraison
A1 (1991) Montpellier	Cinna	1	Sans pré-coupe	Non	160	11.53	14
		2	35 à 50 cm sur le sol	Non	81	8.03	27
		3	Début bourgeonnement	Oui	208	6.16	43
		4	Début floraison	Oui	144	8.32	57
	Resis	1	Sans pré-coupe	Non	265	8.8	12
		2	35 à 50 cm sur le sol	Non	151	5.78	25
		3	Début bourgeonnement	Oui	206	8.28	43
		4	Début floraison	Oui	126	6.62	55
A2 (1992)	Cinna	1	Sans pré-coupe	Oui	463	8.84	26
		2	35 à 50 cm sur le sol	Oui	442	10.36	36
		3	Début bourgeonnement	Oui	348	8.47	45
		4	Début floraison	Oui	463	8.12	53
	Resis	1	Sans pré-coupe	Oui	611	9.26	26
		2	35 à 50 cm sur le sol	Oui	385	9.81	37
		3	Début bourgeonnement	Oui	440	9.85	45
		4	Début floraison	Oui	422	7.11	53
A1 (1993)	Cinna	1	Sans pré-coupe	Oui	794	7.91	10
		2	35 à 50 cm sur le sol	Oui	675	7.08	27
		3	Début bourgeonnement	Oui	676	4.84	49
	Resis	1	Sans pré-coupe	Oui	888	7.25	10
		2	35 à 50 cm sur le sol	Oui	708	5.81	27
		3	Début bourgeonnement	Oui	598	4.97	47

¹ Floraison comptabilisée en jours après le 1 mai.

4.3.2. Interprétation phytotechnique des essais FNAMS : effet des conditions de culture sur le rendement en graines

4.3.2.1. Effet de l'âge de la culture

L'essai 1 montre que l'âge de la plante est un facteur qui participe à la production de graines, principalement quand on compare l'année d'implantation et les années suivantes. Effectivement, les rendements en graines en A0 (année de semis) ont été inférieurs aux rendements obtenus en A1 et A2 (années de repousses). La production diminue entre la A1 et la A3 (exemple à Castelnaudary). En fait, dans d'autres essais de la FNAMS conduits jusqu'en A4, les résultats montrent que le rendement grainier tend à diminuer après la A2 (Hacquet, communication personnelle). A Fiac où il n'y a pas eu évaluation en A0, le rendement en A2 a été beaucoup plus faible qu'en A1. Cette faible production en graines en A2 a été causée par une forte sécheresse.

On observe que la production de biomasse suit des évolutions semblables à celle décrites pour la production grainière : plus faibles en A0 que les années suivantes, tendance à la diminution de la A1 à la A3, plus faibles en cas de forte sécheresse.

4.3.2.2. Effet de l'irrigation

L'effet de l'irrigation a été fortement positif sur le rendement grainier à Lavaur en A2, et plus faiblement positif dans les autres conditions. On remarque que les gains en production de graines

sont parallèles à l'augmentation en biomasse. Dans ces essais, la verse a été un facteur pratiquement négligeable, peut-être parce que les apports d'eau n'ont pas été trop élevés, évitant une croissance végétative excessive de la plante. D'ailleurs, les parcelles présentaient un couvert peu dense (la distance entre rangs était toujours supérieure à 37 cm). Tysdal (1946), mentionné par Steiner *et al* (1992), avait déjà observé que les plantes de luzerne à densités faibles sont moins sensibles à la verse en conditions d'irrigation importantes que les plantes à densités fortes. En fait, des irrigations trop importantes sont néfastes aussi au déclenchement des fleurs et au rendement grainier (Goldman et Dovrat, 1980).

4.3.2.3. Effet du stade de pré-coupe

L'essai 3 montre que le stade de la pré-coupe est un autre facteur susceptible de modifier la production de graines, chez la luzerne. Sur quatre traitements évalués à Montpellier; sans pré-coupe, pré-coupé lorsque les plantes font entre 35 ou 45 cm de hauteur, au début bourgeonnement et au début floraison, les rendements les plus élevés ont été observés sur les plantes sans pré-coupe. L'effet du stade de pré-coupe est variable selon la variété et l'année.

La date de floraison a été plus précoce dans le traitement sans pré-coupe que dans les autres. Ainsi, on observe une relation entre la date de floraison et le rendement en graines. De la même façon, Martiniello (1998) a observé, chez différentes graminées et légumineuses fourragères, que les cultures avec une floraison précoce ont donné des rendements en graines plus élevés. Cependant, cette relation ne peut en aucun cas être interprétée comme une relation causale. En effet, le stress hydrique peut fréquemment intervenir en cas de pré-coupe tardive et réduire fortement le potentiel grainier et ceci par deux voies. Tout d'abord, la culture pré-coupée peut avoir épuisé de façon importante la réserve hydrique. Ensuite, la croissance de la culture porte-graine et la production de graines se produiront à une période où la pluviométrie est faible et l'évapotranspiration élevée. Cependant, les résultats de cet essai de la FNAMS doivent être pris avec précaution en raison de l'attaque des graines par l'insecte ravageur *Bruchophagus roddi*, au cours des deux premières années de l'expérimentation. Les dégâts ont pu être hétérogènes entre les différents traitements. Il est par conséquent possible que les résultats obtenus soient en désaccord à la vraie réponse biologique de la plante aux différents traitements.

4.3.3. Interprétation des essais de la FNAMS par la relation biomasse - rendement

Sur la base des données issues des essais 1 et 2 de la FNAMS, on met en évidence une relation positive entre la production de graines et la biomasse aérienne disponible à la récolte des graines (Figure 4.1).

Ces résultats sont cohérents avec nos expériences présentées tout d'abord dans le Chapitre II sur l'effet de la variété et du milieu sur la production de graines, et postérieurement dans ce Chapitre IV où la relation entre la biomasse et la production de graines a été évaluée sur 29 conditions environnementales différentes pour deux variétés. Avec ces 29 conditions environnementales, on a obtenu l'équation de la régression entre le rendement grainier (y) et la biomasse à la récolte des graines (x) pour les deux variétés confondues : $y = 139.34 + 114.25x$; $r = 0.84$, 56 ddl.

Cette équation a été utilisée pour calculer un rendement grainier prédit à partir de la biomasse disponible au moment de la récolte des graines dans les essais 1 et 2 de la FNAMS. La corrélation entre le rendement prédit et le rendement observé est élevée ($r = 0.82$) avec une pente de 1.05, non statistiquement différente de 1 (Figure 4.2). Ainsi, les essais 1 et 2 valident la régression obtenue sur les essais conduits dans notre travail. Par conséquent, les variations pour le rendement grainier chez la luzerne sont expliquées à 67% par les variations pour la biomasse aérienne au moment de la récolte.

On peut à la lumière de cette relation interpréter à nouveau les résultats des essais conduits par la FNAMS.

Les fortes augmentations du rendement grainier constatées entre l'année de semis et les années suivantes sont expliquées par des augmentations en biomasse. Ces variations de biomasse aérienne peuvent être interprétées à l'aide de la relation linéaire entre la production de biomasse aérienne et la quantité de rayonnement photosynthétiquement actif absorbé (PAR, 400-700nm), démontrée par Khaiti et Lemaire (1992) chez la luzerne. La pente de la régression est l'efficacité d'utilisation de la lumière pour la production de biomasse aérienne. Ces auteurs ont observé une meilleure efficacité d'utilisation du PARa en A1 (1.13 à 1.80 g MJ⁻¹) qu'en A0 (0.79 g MJ⁻¹). La différence est liée à l'allocation de ressources au compartiment racinaire. De plus, l'indice foliaire en A0 est globalement plus faible qu'en A1 et surtout s'établit de façon plus lente en A0, culture non-précoupée, qu'en A1, que ce soit alors sans ou avec une pré-coupe. Duru et Langlet (1988) ont indiqué que la vitesse de mise en place de l'indice foliaire dépendait principalement de l'état de croissance des bourgeons et des petites tiges juste après la coupe. Le nombre des petites tiges comme de bourgeons est bien plus élevé au début de la repousse en A1 et A2 qu'en A0.

Dans les régions sèches et sur cultures établies, la production de biomasse sera plus forte en absence de pré-coupe en raison de la plus forte disponibilité en eau.

L'écartement entre rangs a globalement peu d'effet sur le rendement dans les gammes testées. Seul l'écartement de 75 cm conduit en général à des rendements plus faibles, en particulier en année d'implantation. Pour des cultures en rangs comme la luzerne, l'interception du rayonnement sera plus importante :

- Si un grand nombre de tiges est produit : c'est le cas sur des cultures en A1 et A2.

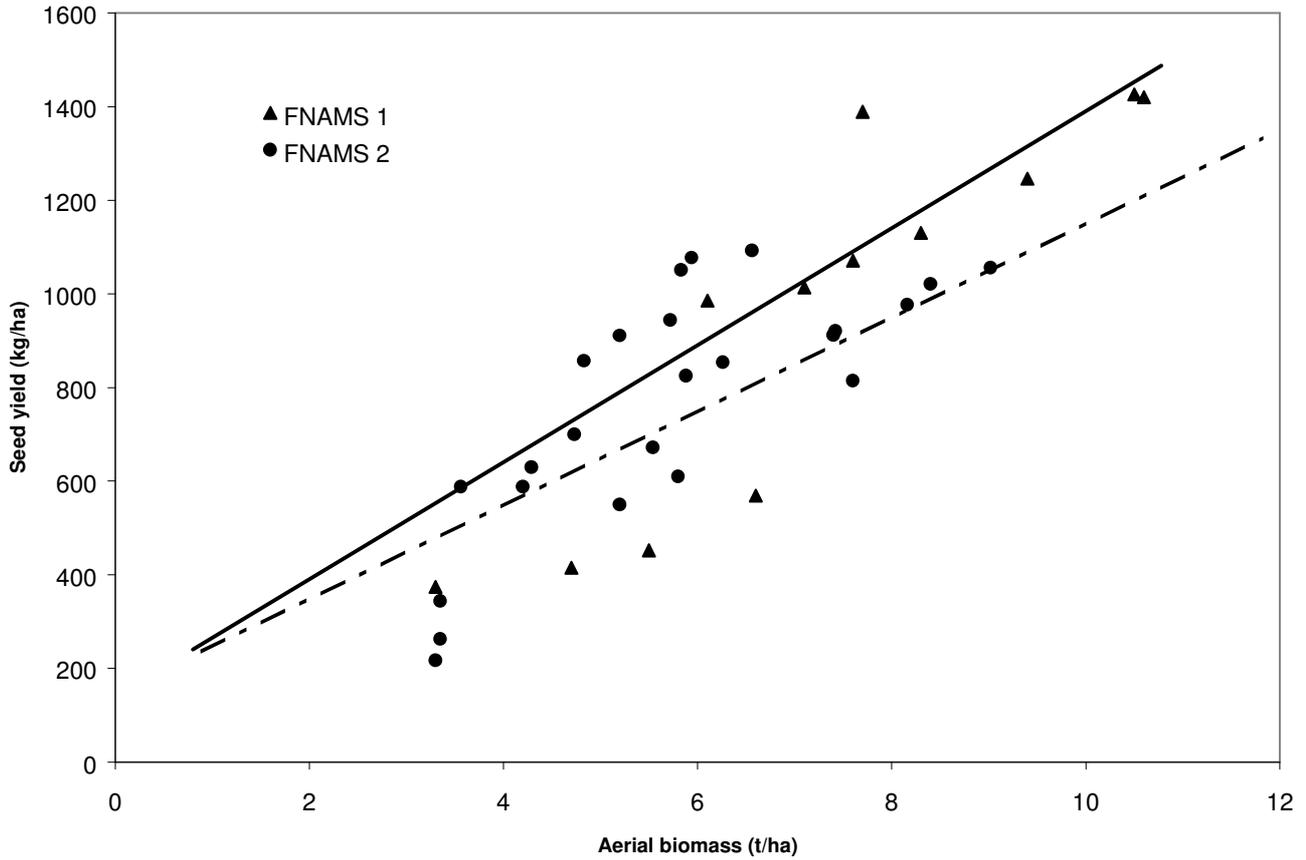


Figure 4.1 Relation entre la biomasse et le rendement grainier mise en évidence à partir des données recueillies par la FNAMS (essais 1 et 2). Les droites de régression correspondent à l'étude agronomique de la thèse et aux variétés Europe (—) et Magali (- - - -).

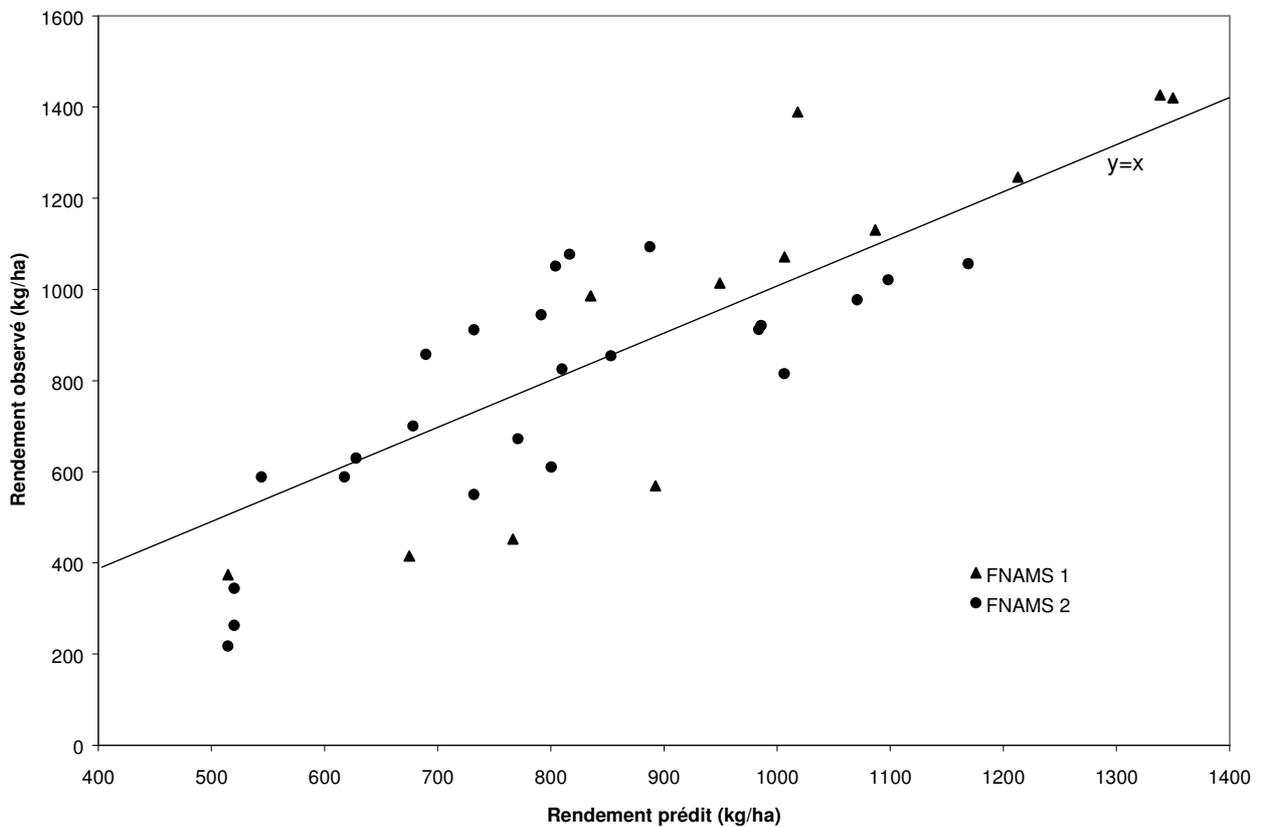


Figure 4.2. Relation entre le rendement grainier prédit, par l'équation entre le rendement grainier et la biomasse calculée sur 29 conditions environnementales et 2 variétés, et le rendement grainier observé dans les essais 1 et 2 menés par la FNAMS.

- Si la floraison se produit sur des tiges déjà bien développées. Les grands écartements auront donc des effets plus pénalisants sur des cultures pré-coupées et dans des régions chaudes où la floraison va se produire sur des nœuds plus bas. A l'inverse dans des régions au climat frais, les grands écartements seront moins voire non pénalisants.
- Si l'alimentation hydrique est satisfaisante pour permettre aux tiges feuillées un développement satisfaisant et en conséquence une interception maximale du rayonnement.

Les essais étudiant l'effet de l'irrigation ont parfois donné des résultats contradictoires. Dans les essais 1 et 2 de la FNAMS utilisés pour valider notre régression, les traitements irrigués s'ajustent de façon très satisfaisante à la droite. Ainsi, dans les conditions des essais, les effets positifs liés à l'irrigation sont associés à une augmentation de la production de biomasse.

4.3.4. Des pratiques agricoles pour maximiser le rendement grainier via une augmentation de la biomasse

Notre étude agronomique met en évidence le rôle de la production de la biomasse pour augmenter la production de graines chez la luzerne porte-graines. Les pratiques agronomiques peuvent alors tendre à élever la biomasse, en considérant que la verse et la floraison tardive risquent de pénaliser la production grainière. Ainsi, les pratiques agronomiques qui permettront d'augmenter la production grainière *via* une augmentation de la biomasse doivent tendre à :

a) *Optimiser l'irrigation*, pour favoriser la croissance en évitant la verse. En analysant les travaux de la FNAMS, l'irrigation, appliquée pendant la période non reproductive comme reproductive de la plante, est une pratique importante pour augmenter la production de graines à travers l'augmentation de la biomasse à la récolte en couverts porte-graines. Mais, il faut savoir doser l'approvisionnement d'eau pour éviter que les applications d'eau soient supérieures aux besoins de la plante. Auquel cas, on a le risque d'induire une croissance végétative excessive au détriment de la croissance des organes reproductifs, à cause de la compétition entre ces organes pour les assimilats. Par ailleurs, la croissance excessive de la plante entraîne une verse précoce, ce qui va gêner le déclenchement des fleurs par les insectes pollinisateurs.

Cependant la question de la quantité d'eau apportée par irrigation reste posée. Steiner *et al* (1992) ont étudié pendant trois années l'effet de l'irrigation sur la production de graines, en réalisant des remplacements d'eau en pourcentage (40, 70 et 100%) de l'évapotranspiration totale cumulée (ETc) comptabilisés après une irrigation initiale de 200 et 300 mm appliquée dès la pré-coupe. Ils ont aussi étudié la fréquence d'irrigation (applications après 75 mm d'évapotranspiration cumulé sur les traitements de 200 et 300mm, et tous les jours). En général, ils ont observé une meilleure production grainière, chaque année, avec une irrigation correspondant à 70% de l'ETc. Le rendement grainier a diminué avec une irrigation correspondant à 100% de l'ETc, appliquée tous les jours. Selon les auteurs, ces faibles productions de graines avec l'augmentation des apports en eau ont été le résultat de l'avortement des fleurs avant la formation des gousses et à une diminution du nombre

d'inflorescences portant des gousses. Les motifs des avortements ne sont pas explicités; mais ils sont, probablement, le résultat d'une allocation en assimilats plus faible, dans la plante, pour la croissance reproductive à cause d'une croissance végétative rapide (Li et Min, 1998), ce phénomène étant peut-être associé à un faible niveau de déclenchement des fleurs par les pollinisateurs dans des peuplements très denses. Dans ce cas, les points expérimentaux se situeront sous la droite de régression entre la biomasse aérienne et le rendement en graines. Afin de savoir quelle était la relation entre la production de graines et la biomasse selon les travaux de Steiner *et al.* (1992), nous avons calculé des productions de la biomasse à partir de données de productions de graines et des indices de récolte présentés dans les graphiques de ces auteurs. On n'observe pas une relation entre ces deux caractères avec les traitements évalués (Figure 4.3) : chaque année, les rendements en graines les plus élevés sont observés pour une production de biomasse d'environ 5 t/ha. Au-delà de cette production en biomasse, une diminution du rendement grainier est observée dans la plupart des traitements. Nous avons choisi de ne pas faire figurer la régression que nous avons établie dans la mesure où les variétés utilisées dans ces essais sont très différentes de celles que nous avons étudiées.

b) Gérer la date de pré-coupe. La pré-coupe est une pratique agronomique utilisée notamment pour grouper la floraison à une époque plus propice à l'activité maximum des pollinisateurs et quand les conditions climatiques sont favorables à la nouaison. Mais, la pré-coupe ne doit pas limiter la biomasse de la plante. En particulier, il faut éviter de pré-couper trop tard, pour que les plantes ne subissent pas un stress hydrique pendant la phase de croissance des gousses. Donc, dans les régions à ensoleillement précoce et à déficit hydrique estival, ainsi que pour les régions de sols très peu profonds et en années sèches, il ne faut pas pré-couper (FNAMS, 2000). La construction de modèles de production de biomasse en fonction de la structure du peuplement devrait à terme permettre d'affiner fortement la prévision de la nécessité de pré-coupe et de leurs dates en fonction du lieu et du contexte climatique de l'année.

c) Contrôler l'état sanitaire, en maîtrisant les maladies foliaires et les insectes défoliateurs. Le maintien d'une surface foliaire importante et en bon état sanitaire est une condition indispensable à l'obtention d'une forte production de biomasse. Les derniers essais de la FNAMS, menés en 2000 à Lusignan sur la variété Diane en A2 et à Etoile sur la variété Mercedes en A2 également, montrent bien l'intérêt de l'application de fongicides pour augmenter la production grainière en évitant une défoliation trop précoce à cause des maladies foliaires (FNAMS, 2001). On note à la récolte une différence de biomasse suite à cette défoliation dans les témoins non traités en réponse à des différences de remplissage des gousses. Ainsi, à Lusignan le rendement des parcelles non traitées a été de 869 kg/ha de graines avec 4.5 t/ha de biomasse, tandis que le rendement moyen des parcelles avec un traitement fongicide a été de 1036 kg/ha de graines avec 5.1 t/ha de biomasse. De même, à Etoile les parcelles non traitées ont eu un rendement grainier de 1270 kg/ha avec 10.32 t/ha en biomasse, alors que le rendement moyen des parcelles avec traitement fongicide était de 1497.3 kg/ha de graines avec une production moyenne de 11.58 t/ha en biomasse. Ces résultats sont cohérents avec d'autres expériences. Ainsi, Hart et Close (1976) ont observé une augmentation de la production de graines passant de 300 kg/ha à 430 kg/ha quand la production de la biomasse passe

de 3.9 à 4.5 t/ha. Cette augmentation de la biomasse a été obtenue grâce à un contrôle des maladies foliaires par un traitement avec du benomyl.

Ainsi, la perte importante de feuilles (principaux organes sources de la plante) limite la quantité d'assimilats disponibles et, en conséquence, diminue aussi le rendement grainier. Cette réduction en assimilats, issue de la restriction photosynthétique, est surtout observée si la défoliation se produit quand les organes reproductifs sont encore dans la phase de divisions cellulaires de l'embryon, *i.e.*, pendant la phase de latence de la croissance des graines (Genter *et al.*, 1997). Dans ce cas des avortements de graines et de gousses pourront intervenir.

4.3.5 La relation entre biomasse et rendement grainier comme outil de diagnostic.

La droite de régression de la relation entre le rendement grainier et la biomasse (courbe issue de la moyenne de deux variétés), obtenue dans 29 conditions environnementales différentes (Figure 4.1), peut être utilisée comme outil de diagnostic pour le rendement grainier chez la luzerne. Ainsi, les cas où les seuls facteurs limitants sont ceux qui limitent la biomasse vont se trouver près de la droite de régression. Par contre, des rendements en graines situés sensiblement en dessous de la droite indiquent une mauvaise conduite de la culture ou des accidents culturaux avant, pendant ou après la floraison. Ceci inclut aussi les problèmes climatiques influant sur la pollinisation ou la nouaison.

A titre d'illustration, on a positionné sur la figure les résultats de l'essai 3 réalisé par la FNAMS à Montpellier. Ceci était rendu possible par le fait que les variétés utilisées étaient proches de celles de nos études avec Résis similaire à Europe et Cinna à Magali. La plupart des rendements en graines sont inférieurs à ceux attendus d'après la biomasse accumulée (Figure 4.4). Effectivement, cet essai avait été fortement infesté par un ravageur qui s'attaque directement aux gousses et aux graines déjà bien développées, *Bruchophagus roddi*. Les données de l'essai ne suivent donc pas la régression entre rendement en graines et biomasse. Si on analyse de façon plus fine les données de cet essai, on voit que les 6 points proches de la droite de régression correspondent à la troisième année de cette expérimentation. Or, seule cette troisième année a été presque indemne de *Bruchophagus roddi*.

Cette régression peut donc être utilisée comme outil de diagnostic des cultures porte-graines afin d'identifier si les facteurs limitant le rendement ont affecté essentiellement la production de biomasse ou son allocation au bénéfice de la production grainière.

En conclusion, l'importance de la corrélation entre la biomasse aérienne et le rendement en graines montre que l'analyse des effets du milieu sur le rendement en graines doit être traitée par l'analyse de des effets du milieu sur l'accumulation de la biomasse, depuis le semis ou la coupe précédente jusqu'au stade de récolte des graines.

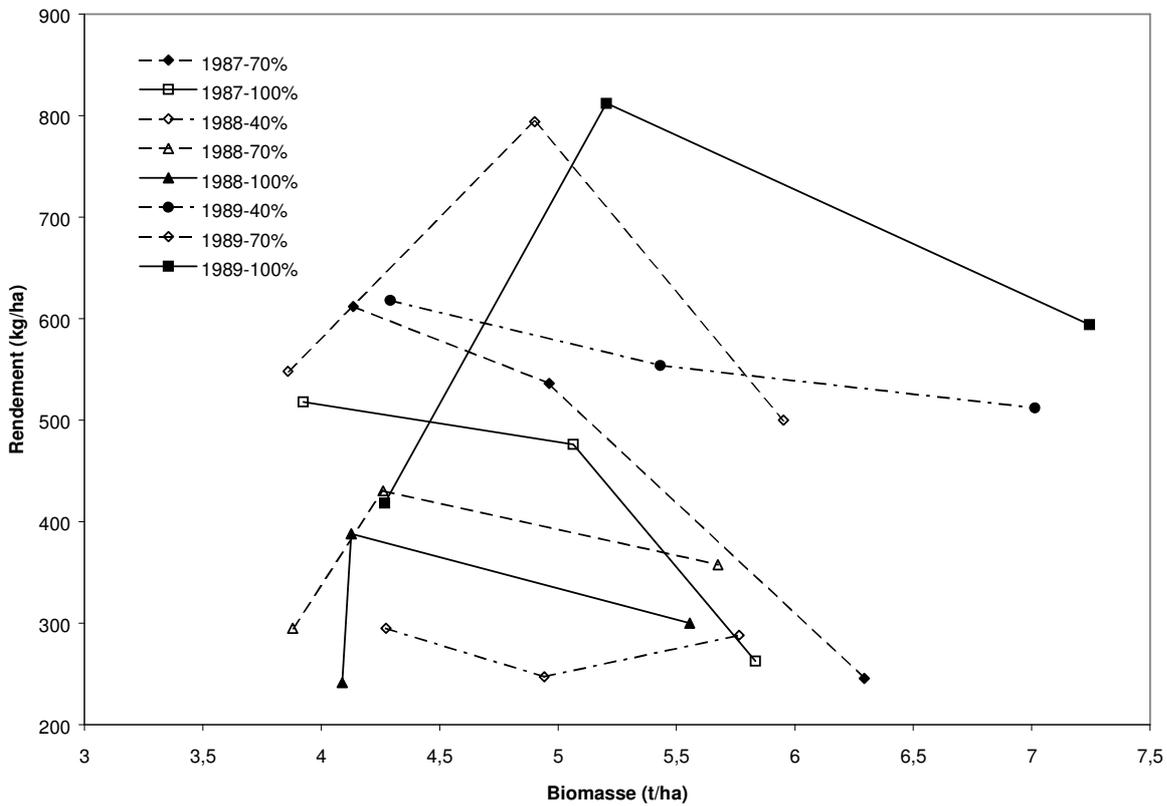


Figure 4.3 Relation entre la biomasse et la production de graines avec différents traitements d'irrigation: Remplacements d'eau sur des pourcentages (40,70 et 100%) de l'évapotranspiration totale cumulé depuis la précoupe (D'après Steiner *et al.*, 1992).

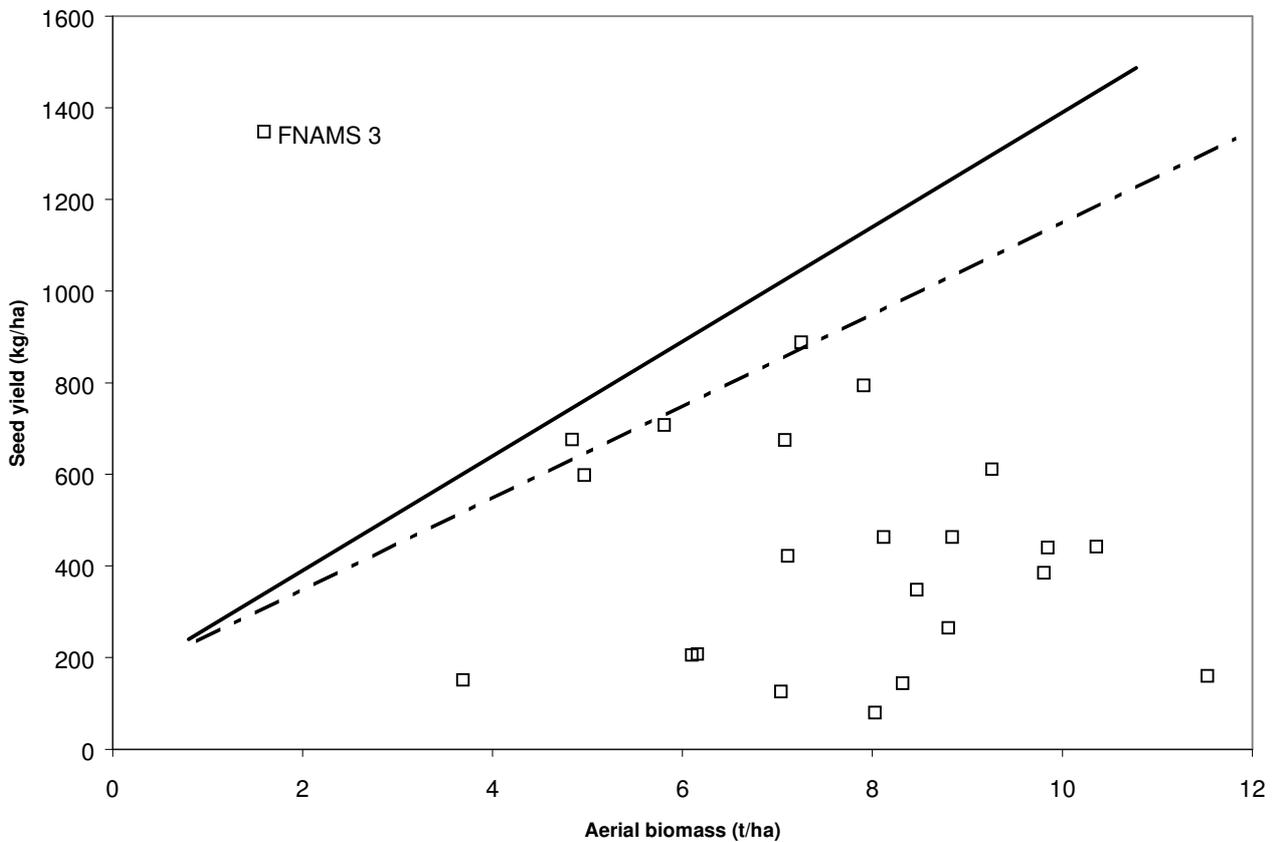


Figure 4.4 Relation entre la biomasse et le rendement grainier pour les données issues de la FNAMS (essai 3). Les droites de régression sont issues de l'étude agronomique de la thèse et correspondent aux variétés Europe et Magali.

**CONCLUSION GENERALE
et PERSPECTIVES**

Conclusion générale

Cette thèse était basée sur les deux hypothèses suivantes :

1) *Il est possible d'augmenter le rendement grainier chez la luzerne en utilisant des critères de sélection faciles à mettre en œuvre sur des plantes isolées ;*

2) *L'identification de l'effet des conditions environnementales sur la production de graines permettra de proposer des conditions de culture qui maximisent le rendement.*

Considérant que le progrès pour la production de graines est affecté par des facteurs du milieu, des facteurs génétiques et par des pratiques agronomiques (Falcinelli, 2000), cette thèse a été dirigée pour répondre à trois questions principales : Quelles sont les parts respectives de la génétique et du milieu dans les variations observées pour des caractères liés au rendement grainier en couverts denses porte-graines ? Quel est le contrôle génétique des caractères impliqués ? Quelle est la relation entre la biomasse aérienne et la production de graines en couverts denses porte-graines ? Ces questions ont été résolues, de manière respective, à travers l'étude de l'effet du cultivar et du milieu sur la production de graines (Chapitre II), l'étude génétique (Chapitre III) et l'étude agronomique (Chapitre IV).

L'étude du Chapitre II réalisée sur des couverts denses de luzerne porte-graines, avec 12 cultivars et 12 conditions environnementales, a mis en évidence deux sources de variation pour la production de graines ; une liée au cultivar et une autre liée aux conditions environnementales (lieu, année de récolte, âge de la culture). Entre cultivars, les variations pour le rendement grainier sont expliquées par l'indice de récolte et le poids de graines par inflorescence. D'un point de vue pratique, la mesure de l'indice de récolte sur un grand nombre de génotypes n'est pas envisageable. En revanche, le poids de graines par inflorescence est un caractère facile à mettre en œuvre, et de plus il présente une héritabilité élevée et une importante variabilité génétique. Entre conditions environnementales, les variations pour le rendement grainier sont reliées aux variations pour la biomasse aérienne à la récolte des graines.

Ces résultats ont conduit à développer une étude génétique et une étude agronomique.

L'étude génétique a produit deux résultats majeurs : d'une part, une importante variabilité génétique pour toutes les composantes du rendement en graines étudiées en plantes isolées, dont le poids de graines par inflorescence, d'autre part, une héritabilité principalement additive de ces caractères. Malgré l'importante variabilité génétique, les héritabilités ont été faibles à cause des variances de l'erreur élevées. Ces variances d'erreur sont une conséquence probable de la taille réduite des échantillons. Par ailleurs, cette étude génétique a mis en évidence une héritabilité au sens strict plus élevée pour le poids de graines par inflorescence que les autres caractères évalués. Ces résultats sont très favorables à l'amélioration du rendement grainier chez la luzerne puisque les méthodes de sélection utilisent de la variance génétique additive.

Ainsi le poids de graines par inflorescence est le caractère à prendre en compte dans les schémas de sélection. Comme son contrôle génétique est similaire pour les différentes sources de variation génétique, la population de départ d'un schéma de sélection peut être formée soit par des variétés soit par des génotypes individuels. Il semble crucial pour favoriser le progrès génétique de valoriser la variabilité à l'intérieur des populations. On a pu montrer que le poids de graines par inflorescence mesuré sur des plantes isolées est corrélé au poids de graines par inflorescence mesuré sur des couverts denses. D'autre part, le poids de graines par inflorescence en couverts denses est corrélé à la production grainière en couverts denses. Cela indique que la sélection de plantes isolées ayant de forts poids de graines par inflorescence permet d'augmenter la production grainière en couverts denses porte-graines. Le poids de graines par inflorescence peut même être remplacé par un critère plus facile à mesurer, le poids moyen d'une inflorescence avant battage.

Sur ces bases, un schéma de sélection est donc proposé (Chapitre III).

L'étude agronomique (Chapitre IV) a confirmé, sur 2 variétés dans 29 conditions environnementales, que la production de biomasse était corrélée à la production de graines pour chaque variété. Ces résultats ont pu aussi être validés par des données issues d'essais plus anciens conduits dans d'autres conditions environnementales, avec des pratiques agronomiques différentes mais des variétés proches de celles de notre étude. Ceci confirme que les pratiques agronomiques qui maximisent la production de graines sont celles qui maximisent la production de biomasse.

Ainsi, cette étude a permis d'accéder à deux résultats essentiels et originaux : (1) le poids de graines par inflorescence, ou le poids de l'inflorescence elle-même, sont des critères de sélection pour augmenter le rendement grainier en couverts denses porte-graines; (2) la production de biomasse aérienne à la récolte explique une part essentielle des variations de rendement induites par le milieu et les pratiques agronomiques et peut être un outil de diagnostic pour la production de graines.

Perspectives

Les études présentées dans cette thèse ont permis de répondre à plusieurs questions importantes tant sur le plan scientifique que pour leurs applications pratiques en sélection et en production. Elles permettent aussi d'envisager d'autres travaux sur ce thème de la production de graines chez la luzerne, d'une part en génétique, et d'autre part en agro-physiologie.

Les études génétiques pourront être complétées par la recherche de marqueurs moléculaires, voire des gènes, impliqués dans les caractères étudiés. La cartographie des locus à effets quantitatifs (QTL) fait maintenant partie de la routine du généticien. L'utilisation du marquage moléculaire serait intéressante pour avoir accès aux déterminants génétiques et moléculaires des mécanismes impliqués dans la production de graines. Cependant, il serait judicieux de limiter cette recherche aux caractères les plus simples d'un point de vue physiologique, à savoir le nombre de graines par gousse ou aux plus héréditaires, comme le poids de graines par inflorescence. La difficulté majeure de cette approche est l'auto-tétraploïdie de la luzerne, qui complique les approches de marquage, de

cartographie et de recherche de QTLs. Néanmoins, des études de cartographie tant théoriques qu'expérimentales ont été publiées chez plusieurs espèces auto-polyploïdes d'intérêt agronomique (pomme de terre, canne à sucre, luzerne) par Wu *et al.* (1992), Yu et Pauls (1993), Hackett *et al.* (1998), Ripol *et al.* (1999), Skinner *et al.* (2000) et Luo *et al.* (2000). Une carte génétique de la luzerne a été proposée par Brouwer et Osborn (1999). Une autre carte est en cours de construction à l'INRA de Lusignan sur du matériel génétique travaillé en Europe de l'Ouest (Julier *et al.*, 2001). Cette démarche de cartographie et de recherche de QTL est donc possible chez la luzerne, et cette approche est potentiellement enrichie par les études fondamentales menées en France et aux Etats-Unis chez la légumineuse modèle *M. truncatula*, une luzerne annuelle.

A l'aide des marqueurs ou QTL identifiés pour les caractères de production de graines, il serait possible de mettre en place une sélection assistée par marqueurs afin de maximiser le progrès génétique par cycle de sélection. Cependant, cette démarche ne se justifie peut-être pas pour la production de graines puisque l'héritabilité des composantes est élevée. Cependant, si des marqueurs sont aussi identifiés pour d'autres caractères (composition biochimique liée à la valeur alimentaire, résistance à des maladies ou des insectes, caractères morphologiques liés à la croissance...), le surcoût dans les schémas de sélection pourra être modéré face aux progrès génétiques engendrés.

De plus, à partir des QTL identifiés, les gènes ou les séquences régulatrices intervenant dans la réalisation des caractères pourront être recherchés. Les connaissances acquises sur *M. truncatula* seront alors de première importance.

La variabilité pour des composantes en amont de la production grainière pourra être recherchée. Ainsi, des fertilités mâle (pollinique) et femelle élevées sont nécessaires, mais non suffisantes, pour maximiser le rendement grainier. Des études d'amont ont été menées au laboratoire, montrant la variabilité génétique pour les deux caractères, et l'absence de corrélation entre eux (Leneguer, 1997; Bodin, 1998; Auriel, 1998). La liaison entre les fertilités mâles et femelles et les composantes du rendement grainier devra être étudiée. La recherche de marqueurs moléculaires et la localisation de QTLs peuvent constituer des outils précieux pour analyser et comprendre ces relations. Au laboratoire, des premiers marqueurs associés à la fertilité pollinique ont été identifiés au sein d'une population de cartographie constituée de plantes F1 issues du croisement entre une plante de la variété Magali et une plante issue de sélection dans la variété Mercedes de type Flamande (Julier *et al.*, 2001).

Dans une approche agrophysiologique, il faudra chercher à comprendre l'élaboration du rendement grainier dans le peuplement.

Tout d'abord, la distribution de la matière sèche entre les différents organes de la plante, au cours de la croissance de l'appareil reproducteur est méconnue chez la luzerne. Pourtant, durant cette période, trois types d'organes co-existent : partie aérienne végétative, partie aérienne reproductrice et partie souterraine. Au cours de la phase de croissance végétative, avant la floraison, les flux d'assimilats entre organes aériens et souterrains sont bien décrits, avec un compartiment racinaire

source en début de repousse, et puits en fin de repousse, alors que le compartiment aérien est puits en début de repousse et source en fin de repousse. La floraison correspond à la mise en place d'un puits supplémentaire (les gousses). Une étude préliminaire sur deux variétés et deux années de suivi montre que pendant la phase d'accumulation rapide de la matière sèche dans les organes reproducteurs, la biomasse aérienne végétative n'augmente plus. Cependant, pendant cette phase, une forte accumulation de matière sèche a été notée dans les organes racinaires sans que l'on puisse pour autant conclure à une compétition pour les assimilats (Bolaños-Aguilar *et al.*, 2001). Cette analyse de la répartition de la matière sèche pourra également porter de façon plus fine sur le compartiment reproducteur en détaillant la cinétique de croissance des inflorescences, des gousses et des graines, afin de situer les phases de croissance pondérale par rapport aux phases critiques de développement de la graine telles que le stade limite d'avortement des graines.

Les résultats de notre étude mettent en évidence le rôle central de l'accumulation de la matière sèche dans l'élaboration du rendement grainier. Il serait important de pouvoir analyser finement l'ensemble des paramètres qui concourent à cette accumulation. En effet, peu de travaux dans ce domaine ont été conduits sur les peuplements porte-graines, l'essentiel ayant été consacré au fonctionnement des cultures destinées à la production de fourrage. Deux points mériteraient une attention particulière. Il s'agit tout d'abord de l'élaboration de l'indice foliaire et de son impact sur l'absorption du rayonnement. En effet, les cultures porte-graines étant conduites à grand écartement, l'analyse et la modélisation de ces étapes comportent des difficultés spécifiques (Sinoquet, 1989). Le second point concerne la fin du cycle. En effet, la fin de la croissance des graines et des gousses correspond à une période où une part importante des organes foliaires entrent en sénescence. Le suivi de la production d'assimilats, de leur allocation ainsi que les pertes par sénescence est difficile.

D'autre part, un peuplement résulte de la croissance simultanée de nombreux individus. Selon l'échelle choisie, le peuplement peut être considéré comme un ensemble de tiges feuillées ou comme un ensemble de plantes qui sont alors génétiquement différentes dans le cas de la luzerne où on cultive des variétés synthétiques. Il n'est pas *a priori* évident si l'unité de croissance pertinente dans un peuplement porte-graines est la tige feuillée ou la plante. Ces individus sont en compétition pour les assimilats et les ressources en eau ou en nutriments.

Si on se concentre sur le niveau d'organisation qu'est la tige feuillée, la compétition conduit à une structure de peuplement dans lequel on trouve des tiges dominantes et des tiges dominées. L'analyse de la structuration spatiale du peuplement porte-graines peut porter à la fois sur la dimension verticale et la dimension horizontale. Des études en ce sens ont été initiées au sein du laboratoire (Huyghe *et al.*, 1998, 1999, 2000).

L'analyse de la structuration verticale (distribution du rendement le long des tiges dominantes) nous renseignera sur trois points importants.

Elle permettra de valider la méthode d'échantillonnage proposée tout au long de cette étude en documentant la relation entre les inflorescences très développées que l'on collecte sur les premiers

entre-nœuds fructifères et celles qui sont produites aux nœuds supérieurs. Les premiers résultats acquis confortent la stratégie d'échantillonnage.

Elle permettra également de connaître sur la base des tiges dominantes le nombre de nœuds fructifères portés et ainsi de déterminer la période de reproduction effective.

Sur la base de ce nombre et de la masse de chaque inflorescence, des éléments importants relatifs à la cinétique d'accumulation de la matière sèche dans chaque composants du compartiment reproducteur seront alors disponibles.

L'analyse de la structuration horizontale (distribution du rendement entre tiges du peuplement) permettra de valider la représentativité des tiges dominantes et fournira des éléments essentiels sur la façon dont se fixe la population des tiges contribuant au rendement grainier. Des résultats préliminaires ont montré qu'un nombre important de tiges, mais nombre variable selon le milieu, ne contribuait aucunement au rendement grainier. Il sera alors particulièrement utile de comprendre comment le milieu et les pratiques culturales modifient le nombre de tiges feuillées en croissance avant la floraison et déterminent le nombre de tiges fructifères.

Si on s'intéresse au niveau d'organisation qu'est la plante, la contribution des plantes au rendement d'un peuplement porte-graines de luzerne est la somme des contributions individuelles de chacune des tiges. Dans un peuplement, la contribution des différentes plantes au rendement grainier pourra donc être très variable, dépendant du nombre de tiges que chacune d'entre elles porte et de la contribution de chaque tige. La compétition inter-plante durant le cycle grainier, mais aussi au cours des cycles précédents conditionnera fortement la structure de chaque plante. Des travaux préliminaires au niveau du laboratoire ont permis de montrer qu'au terme de deux années de culture porte-graines le nombre de plantes par unité de surface avait peu varié. Par contre, leur contribution au rendement était très variable, la variation s'accroissant avec l'âge de la culture.

Si l'aptitude à la compétition est déterminée par certaines composantes physiologiques, il est important d'identifier ces composantes et le déterminisme génétique de ces composantes. Pour l'ensemble des peuplements fourragers, on peut faire l'hypothèse que la morphogenèse, en particulier dans ces composantes que sont les rythmes d'apparition des feuilles et la vitesse d'allongement des tiges, est un élément déterminant de l'aptitude à la compétition d'une plante. Dans la mesure où ces mécanismes sont également à l'œuvre dans les peuplements destinés à la production de fourrages, il serait intéressant de valider qu'une plante apte à la compétition dans les conditions de production de fourrages l'est également dans les conditions de production de semences, c'est à dire à des densités plus faibles mais sur des durées de cycles plus longues.

Si une évolution génétique est possible en conséquence d'une aptitude génétique à la compétition, alors il est important de se préoccuper de l'évolution génétique possible des variétés au long des générations de multiplication. Dans la mesure où les semences commerciales correspondent à des Syn 4, il conviendrait de quantifier les risques de dérive génétique selon la structuration au sein

du peuplement. On pourrait alors envisager d'adapter les conduites culturales à la fois pour optimiser le rendement grainier mais aussi pour réduire autant que possible les risques de dérive génétique qui pourrait résulter de la compétition entre les plantes.

Ainsi, ce travail de thèse a permis de produire des résultats importants et originaux et ils ouvrent des perspectives nouvelles pour comprendre le fonctionnement des peuplements de plantes fourragères.

**REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES**

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abdelguerfi A., Laouar M., 1999. Aspects of the variability of *Medicago intertexta* populations and their relations with factors of the origin environment. XIII Eucarpia *Medicago spp.* Group Meeting. Lucerne and Medics for the XXI Century. Veronesi F., Rosellini D. (Eds). Perugia, Italy. p. 385-391.
- Abdelkefi A., 1980. Analyse des paramètres de la fertilité en croisement *in vivo* et semis *in situ* chez la luzerne (*Medicago sativa* L.). *Ann. Amélior. Plantes* **30**, 285-307.
- Abu-Shakra S., Akhtar M., Bray D.W., 1969. The influence of irrigation interval and plant density on alfalfa seed production. *Agron. J.* **61**, 569-571.
- Abu-Shakra S., Bhatti M.L., Ahmed H., 1977. Effect of forage harvest frequency on subsequent seed production. *Agron. J.* **69**, 428-431.
- Agreste Chiffres et Données Agriculture, 2001. Statistique agricole annuelle. Résultats provisoires 2000. **130**, 137.
- Amthor J.S. 1984. The role of maintenance respiration in plant growth. *Plant Cell Environ.* **7**, 561-569.
- Andersen S., 1981. Relationship between dry matter and seed yield in grsses. In: G. van Bogaert (Ed.), Breeding High Yielding Forage Varieties Combined with High Seed Yield. Rep. Meeting, Eucarpia Fodder Crops Section, Merelbeke, Belgium. p. 49-56.
- Annicchiarico P., Piano E., 2000. Response of white clover genotypes to evaluation environments of dense and spaced planting, and implication for selection. *Euphytica* **111**, 111-120.
- Annicchiarico P., Piano E., Rhodes I., 1999. Heritability of, and genetic correlations among, forage and seed traits in Ladino white clover. *Plant Breeding* **118**, 341-346.
- Arnaud J.D., 1996. Le marché des semences fourragères en France: évolution des espèces et variétés utilisées par les éleveurs. *Fourrages*. **147**, 199-208.
- Asay K.H., Johnson D.A., Rumbaugh M.D., 1999. Genotype by competition level interaction in alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Int. J. Plant Sci.* **160**, 129-134.
- Askarian M., Hampton J.G., Hill M.J., 1995. Effect of row spacing and sowing rate on seed production of luzerne (*Medicago sativa* L.) cv. Granssland Oranga. *N. Z. J. Agric. Res.* **38**, 289-295.
- Auriel P.H., 1998. Etude de la fertilité des gamétophytes mâles et femelles chez la luzerne (*Medicago sativa* L.). Diplôme d'Agronomie Approfondie. ENSA Toulouse. 31 p.
- Avice J.C., Ourry A., Lemaire G., Volence J.J., Boucaud J., 1997. Root protein and vegetative storage protein are key organic nutrients for alfalfa shoot regrowth. *Crop Sci.* **37**, 1187-1193.
- Bean E. W., 1972. Clonal evaluation for increased seed production in two species of forage grasses, *Festuca arundinacea* Schreb and *Phleum pratense* L. *Euphytica* **21**, 377-383.
- Blondon F, Cambier B, Dattee Y., Guy P., 1979. Influence de la température sur la fertilité mâle et femelle de luzernes témoins, mâle-stériles et « mainteneurs ». *Ann. Amélior. Plantes* **29**, 89-96.
- Boçsa I., Buglos J. 1983. Seed yield and some factors influencing seed setting at the variety level in luzerne. *Z. Pflanzenzüchtg.* **90**, 172-176.
- Boçsa I., Pummer L., 1997. Seed production and breeding for stability of fertility. In: Chloupek O., Simon U. (Eds). Seed Production of Luzerne, Prague. p. 87-93.
- Bodin C., 1998. Fertilité des gamétophytes mâle et femelle chez la luzerne (*Medicago sativa* L.) en fonction de leur position sur la plante et de conditions environnementales. Rapport de stage de Maîtrise de biologie cellulaire et physiologie, Université de Rennes I. 19 p.
- Bolaños-Aguilar E.D., Huyghe C., Julier B., Ecalle C. 2001. Dry matter accumulation and partitioning between vegetative and reproductive organs in alfalfa (*Medicago sativa* L.). In: XIX International Grassland Congress. 11-21 February São Pedro, São Paulo, Brazil. p. 143-145.
- Bolton B.P., Goplen and Baenziger H. 1972. World distribution and historical developments. In C.H. Hanson (ed.). Alfalfa science and technology. *Agron. Monogr.* 15, p. 1-34.

- Bowley S., McKersie B.D., Erickson L.R. 1996. The advantages of alfalfa biotechnology. *Agri-Food Research in Ontario*. **19**, 2-6.
- Bradner N.R., Childers W.R., 1968. Cytoplasmic male sterility in alfalfa. *Can. J. Plant Sci.* **48**, 111-112.
- Brouwer D.J., Osborn T.C., 1999. A molecular marker linkage of tetraploid alfalfa (*Medicago sativa* L.) *Theor. Appl. Genet.* **99**, 1194-1200.
- Bugge G., 1987. Selection for seed yield in *Lolium perenne* L. *Plant Breeding*. **98**, 149-155.
- Busso C.A., Fernandez O.A., Fresnillo-Fedorenko D.E., 1998. Dry weight production and partitioning in *Medicago minima* and *Erodium cicutarium* under water stress. *Ann. Bot.* **82**, 217-227.
- Cain M.L., Kahn B., Silander J.A. Jr., Reynolds H.L., 1995. Genetic variability and tradeoffs among reproductive traits in white clover (*Trifolium repens*). *Can. J. Bot.* **73**, 505-511.
- Campbell T.A., He Y., 1997. Factorial analysis of self-incompatibility in alfalfa. *Can. J. Plant Sci.* **77**, 69-73.
- Charmet G., Balfourier F., Ravel C., Denis J.B., 1993. Genotype x environment interactions in a core collection of French perennial ryegrass populations. *Theor. Appl. Genet.* **86**, 731-736.
- Chesneaux M., Demarly Y., Genier G., Guy P., Porcheron A., 1970. Sélection appliquée. La luzerne. *Fourrages* **41**, 137-141.
- Childers W.R., Lennan M.C., 1960. Inheritance studies of a completely male-sterile character in *Medicago sativa* L. *Can. J. Genet. Cytol.* **2**, 57-65.
- Christophe C. 1973. Action de la densité de plantation sur des paramètres génétiques de la luzerne. *Ann. Amélior. Plantes* **23**, 67-76.
- Crochemore M.L., Huyghe C., Ecalle C., Julier B., 1998. Structuration of alfalfa genetic diversity using agronomic and morphological characteristics. Relationship with RAPD markers. *Agronomie* **18**, 79-94.
- Crochemore M.L., Huyghe C., Kerlan M.C., Durand F., Julier B., 1996. Partitioning and distribution of RAPD variation in a set of populations of the *Medicago sativa* complex. *Agronomie* **16**, 421-432.
- Cross H. Z., Zuber M.S., 1972. Prediction of flowering dates in maize based on different methods of estimating thermal units. *Agron. J.* **64**, 351-355.
- Dattée Y., 1972. Analyse quantitative de l'auto- et de l'interfertilité chez quelques familles de luzerne. *Ann. Amélior. Plantes* **22**, 5-21.
- Dattée Y., 1976. Facteurs génétiques liés à la fertilité chez la luzerne. In: *Eucarpia groupe Luzerne* Piestany, 17 - 21 mai, p. 156-169.
- Davidson H.R., Campbell C.A., 1983. The effect of temperature, moisture and nitrogen on the rate of development of spring wheat as measured by degree days. *Can. J. Plant Sci.* **63**, 833-846.
- Davis W.H., Greenblatt I.M., 1967. Cytoplasmic male sterility in alfalfa. *J. Heredity* **58**, 301-305.
- Debrand M, Cornuet J M, Dattée Y., Guy P., 1979. Etude *in vitro* de la compétition pollinique chez quelques génotypes de luzerne (*Medicago sativa* L.). *Ann. Amélior. Plantes* **29**, 63-77.
- Demarly Y., 1957. Biologie et exploitation de la luzerne. *Ann. Amélior. Plantes* **3**, 247-272.
- Desclaux D., 1996. De l'intérêt de génotypes révélateurs de facteurs limitants dans l'analyse des interactions génotype*milieu chez le soja (*Glycine max.* L. Merrill). Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse. 227 p.
- Duru M., Langlet A., 1988. Indice foliaire, structure du peuplement de tiges et biomasse des repousses d'une luzerne irriguée. *Agronomie* **8**, 39-47.
- Djukic H.G. (1992). Microspore derived embryogenesis. In: Sexual plant reproduction, Cristi M., Tiezzi A. (Eds), Springer-Verlag. p. 1-16.
- Dobrenz A.K., Massengale M.A., 1966. Change in carbohydrates in alfalfa (*Medicago sativa* L.) roots during the period of floral initiation and seed development. *Crop Sci.* **6**, 604-607.

- Dobrenz A.K, Massengale M.A., Phillips W.S., 1965. Floral initiation in alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Crop Sci.* **5**, 572-575.
- Donald C.M., Hamblin J., 1976. The biological yield and harvest index of cereals as agronomic and plant breeding criteria. *Adv. Agron.* **28**, 361-405.
- Dovrat A., Levamon D., Waldman M., 1969. Effect of plant spacing on carbohydrates in roots on components of seed yield in alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Crop Sci.* **9**, 33-34.
- Dumas C., Knox R.B., 1983. Callose and determination of pistil variability and incompatibility. *Theor. Appl. Genet.* **67**, 1-10.
- Egli D.B., Fraser J.E., Leggett J.E., Poneleit C.G., 1981. Control of seed growth in soya beans [*Glycine max* (L.) Merrill]. *Ann. Bot.* **48**, 171-176.
- Egli D.B., Guffy R.D., Leggett J.E., 1985. Partitioning of assimilates between vegetative and reproductive growth in soybean. *Agron. J.* **77**, 917-922.
- Egli D.B., Leggett J.E., Cheniae A., 1980. Carbohydrate levels in soybean leaves during reproductive growth. *Crop Sci.* **20**, 468-473.
- Egli D.B., Leggett J.E., Duncan W.D., 1978. The influence of nitrogen stress on leaf senescence and nitrogen redistribution in soybeans. *Agron. J.* **70**, 43-47.
- Egli D.B., Ramsur E.L., Zhen-Wen Y., Sullivan C.H., 1989. Source-sink alterations affect the number of cells in soybean cotyledons. *Crop Sci.* **29**, 732-735.
- Elgersma A., 1990a. Seed yield related to crop growth and to yield components in nine cultivars of perennial grass (*Lolium perenne* L.). *Euphytica* **49**, 141-154.
- Elgersma A., 1990b. Spaced-plant traits related to seed yield in plots of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) *Euphytica* **51**, 151-161.
- Elgersma A., van Wijk A.J.P., 1997. Breeding for higher seed yields in grasses and forage legumes. In: Fahey D.T., Hampton J.G. (Eds), *Forage Seed Production*. Vol 1, Temperate species. Cab International, Cambridge. p. 243-270.
- Elgersma A., Winkelhorst G.D., Den Nijs A.P.M. 1994. The relationship between progeny seed yield in drilled plots and maternal spaced-plant traits in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Plant Breeding* **112**, 209-214.
- Evans D.R., Williams T.A., Davies W.E., 1986. Potential seed yield of white clover varieties. *Grass For. Sci.* **41**, 221-227.
- Falcinelli M., 2000. Temperate forage seed production: conventional and potential breeding strategies. *International Herbage Seed Production Research Group* **31**, 7-15.
- FNAMS, 2000. Techniques culturales, marché et réglementation. Luzerne porte-graine, guide pratique. 35 p.
- FNAMS, 2001. Lutte contre les maladies foliaires stratégies fongicides, In: Légumineuses porte-graines. Compte-rendu de synthèse campagne 1999-2000. p. 13-16.
- Fraser J., Acharya S. N., 1997. Improvement of forage and seed yields in orchard grass in western Canada. *XVIII International Grassland Congress*. June 8-19, Saskatoon, Saskatchewan, Canada. Vol. II. p. 13-14.
- Gallais A., 1990. Théorie de la sélection en amélioration de plantes, Masson, Paris.
- Gallais A., 1992. Pourquoi faire des variétés synthétiques? *Agronomie* **12**, 601-609.
- Gardner A., Davis R.L., 1966. Effect of self-compatibility on chance crossing in *Medicago sativa* L. *Crop Sci.* **6**, 61-63.
- Gayraud P., 1994. The seed production and the development of modern cultivars. In: Management and Breeding of perennial lucerne for diversified purposes. *Eucarpia Meeting*. Lusignan, France, 4-8 Septembre. p 264-270.
- Geber M.A., 1985. The relationship of plant size to self-pollinisation in *Mertensia ciliata*. *Ecology* **66**, 762-772.

- Genter T., 1995. Contribution à l'étude de l'élaboration du rendement grainier de la luzerne (*Medicago sativa* L.): analyse du rôle du pivot dans la gestion des réserves carbonées et azotées de la plante. Thèse de Doctorat de l'I.N.A. Paris-Grignon, 112 p.
- Genter T., Deléens E., Fleury A., 1997. Influence of photosynthetic restriction due to defoliation at flowering on seed abortion in lucerne (*Medicago sativa* L.). *J. Exp. Bot.* **48**, 1815-1823.
- Gifford R.M., Evans L.T., 1981. Photosynthesis, carbon partitioning and yield. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **32**, 485-509.
- Gosse G., Varlet-Grancher C., Bonhomme R., Chartier M., Allirand J.M., Lemaire G., 1986. Production maximale de matière sèche et rayonnement solaire intercepté par un couvert végétal. *Agronomie* **6**, 47-56.
- Gregorius H.R., 1977. The genotype x environment to phenotype relationship. *Theor. Appl. Genet.* **49**, 165-176.
- Griffith S., 2000. Changes in dry matter, carbohydrate and seed yield resulting from lodging in three temperate grass species. *Ann. Bot.* **85**, 675-680.
- Guldan S.J., Brun W.A., 1985. Relationship of cotyledon cell number and seed respiration to soybean seed growth. *Crop Sci.* **25**, 815-819.
- Gurgis R.Y., Rowe D.C., 1981. Variability of seed set in alfalfa and correlations with some pollen and ovule characteristics. *Can. J. Plant Sci.* **61**, 319-323.
- Guy P., Blondon F., Durand J., 1971. Action de la température et de la durée d'éclairement sur la croissance et la floraison de deux types éloignés de luzerne cultivée, *Medicago sativa* L. *Ann. Amélior. Plantes* **21**, 409-422.
- Guy P., Ecalte C., Fosset M., Sikora Y., 1975. Critère de la productivité en semences de la luzerne. *Fourrages* **62**, 32-35.
- Hackett C.A., Bradshaw J.E., Meyer R.C., McNicol J.W., Milbourne D., Waugh R. 1998. Linkage analysis in tetraploid species: a simulation study. *Genet. Res., Camb.*, **71**, 143-154.
- Hacquet J., 1986. La luzerne porte-graines. *Bulletin Semences (Suppl)* **94**, 28-31.
- Hacquet J., 1987. Luzerne : le raisonnement de la précoupe. *Bulletin Semences* **99**, 32-35.
- Hacquet J., 1990. Genetic variability and climatic factors affecting lucerne seed production. *J. Appl. Seed Prod.* **8**, 59-67.
- Hacquet J., 1998. Pollinisation de la luzerne. Vive notre faune sauvage! *Bulletin Semences* **142**, 12-14.
- Hampton J.G., Fairey D.T., 1997. Components of seed yield in grasses and legumes. In: Fairey D.T., Hampton J.G. (Eds), Forage Seed Production. Vol 1, Temperate species. Cab International. Cambridge. p. 45-69.
- Hardy A., Huyghe C., Papineau J., 1997. Dry matter accumulation and partitioning, and seed yield in indeterminate Andean lupin (*Lupinus mutabilis* Sweet). *Aust. J. Agric. Res.* **48**, 91-101.
- Hart R.I.K., Close R.C., 1976. Control of leaf diseases of lucerne with benomyl. *Proceedings of the New Zealand Weed and Pest Control Conference* **29**, 42-45.
- Heinrichs D.H., 1965. Selection for higher seed yield in alfalfa. *Can. J. Plant Sci.* **45**, 177-183.
- Hulmel M., 1999. Expliquer l'interaction génotype*milieu par des génotypes révélateurs chez le blé tendre d'hiver. Thèse de Doctorat de l'ENSA de Rennes, 152 p.
- Hurst R.L., Pedersen M.W., 1964. Alfalfa seed production as a function of genetic and environmental characteristics. *Advancing Frontiers in Plant Science* **8**, 41-54.
- Hutmacher R.B., Steiner J.J., Vail S.S., Ayars J.E., 1991. Crop water stress index for seed alfalfa: influences of within-season changes in plant morphology. *Agric. Water Manag.* **19**, 135-149.
- Huyghe C., 1997. Evolution des variétés de luzerne depuis 1977. Rapport de l'A.G. SNDF. 30 janvier Paris. p 43-55.

- Huyghe C., 1998. Genetics and genetic modifications of plant architecture in grain legume: a review. *Agronomie* **18**, 383-411.
- Huyghe C., 2000. Les semences fourragères. *In*: Etat des lieux filière fourrage. Document provisoire. INRA. p. 42-51.
- Huyghe C., Julier B., Bolaños-Aguilar E.D., Escalle C., 2000. Relationship between seed yield and biomass in alfalfa seed crops. *In*: 37th North American Alfalfa Improvement Conference, Madison, Wisconsin. July 16-19. p. 330.
- Huyghe C., Julier B., Harzic N., Papineau J. 1994. Yield and yield components of indeterminate autumn-sown white lupin (*Lupinus albus*) cv Lunoble. *Eur. J. Agron.* **3**, 154-152.
- Jessen D.L., Carlson I.T., 1985. Response to selection for seed and forage traits in smooth brome grass. *Crop Sci.* **25**, 502-505.
- Jones R.J., Simmons S.R., 1983. Effect of altered source-sink ratio on growth of maize kernels. *Crop Sci.* **23**, 129-134.
- Julier B., Henri D., Escalle C., Huyghe C., 2001. Tetraploid alfalfa mapping using AFLP markers and research of markers of pollen fertility. *Eucarpia Meeting Congress, Medicago* section, in press.
- Julier B., Huyghe C., Escalle C., 2000. Within- and among-cultivar genetic variation in alfalfa: forage quality, morphology and yield. *Crop Sci.* **40**, 365-369.
- Julier B., Huyghe C., Papineau J., 1993. Dry matter and nitrogen accumulation and seed yield in determinate autumn-sown white lupins (*Lupinus albus* L.). *Agronomie* **13**, 877-888.
- Julier B., Huyghe C., Papineau J., 1994. Dry matter and nitrogen accumulation in indeterminate autumn-sown white lupin (*Lupinus albus*) cv. Lunoble. *Eur. J. Agron.* **3**, 153-160.
- Julier B., Porcheron A., Escalle C., Guy P., 1995. Genetic variability for morphology, growth and forage yield among perennial diploid and tetraploid lucerne populations (*Medicago sativa* L.). *Agronomie* **15**, 295-304.
- Katepa-Mupondwa F.M., Barnes D.K., Smith S.R. Jr., 1996. Influence of parent and temperature during pollination on alfalfa seed weight and number of seeds per pod. *Can. J. Plant Sci.* **76**, 259-262.
- Kearsey M.J., Pooni H.S., 1998. The genetical analysis of quantitative traits. Stanley Thornes Ltd(Publishers), Cheltenham, UK. 381 p.
- Kephart K.D., Twidwell E.K., Bortnem R., Boe A., 1992. Alfalfa yield component responses to seeding rate several years after establishment. *Agron. J.*, **84**, 827-831.
- Khaiti M., Lemaire G., 1992. Dynamics of shoot and root growth of lucerne after seeding and after cutting. *Eur. J. Agron.* **1**, 241-247.
- Kim T.H., Ourry A., Boucaud J., Lemaire G., 1993. Partitioning of nitrogen derived from N₂ fixation and reserves in nodulated *Medicago sativa* L. during regrowth. *J. Exp. Bot.* **44**, 266, 555-562.
- Knapp E.E., Teuber L.R., 1990. Environmental factors and plant phenotype affect alfalfa floret tripping. *Crop Sci.* **30**, 270 – 275.
- Knapp E.E., Teuber L.R., 1993. Outcrossing rate of alfalfa populations differing in ease of floret tripping. *Crop Sci.* **33**, 1181-1185.
- Knapp E.E., Teuber L.R., 1994. Selection progress for ease of floret tripping in alfalfa. *Crop Sci.* **34**, 323-326.
- Kowithayakorn L., Hill M.J., 1982. A study of seed production of lucerne (*Medicago sativa*) under different plant spacing and cutting treatments in the seeding year. *Seed Sci. Technol.* **10**, 3-12.
- Kreitner G.L., Sorensen E.L., 1985. Structure of the keel-locking mechanism in insect-pollinated and self-pollinated alfalfa species. *Crop Sci.* **25**, 631-634.
- Kristek Y., 1979. Higher seed yield of alfalfa varieties as a result of breeding. *Zb-Rad Pol. Jopr-Inst. Osijek* **91**, 127-133.
- Krogman K.K., Hobbs E.H., 1977. Irrigation management of alfalfa for seed. *Can. J. Plant Sci.* **57**, 891-896.

- Lehman W.F., Puri Y.P., Garber M.J., 1969. Effect of environment on quality characteristics of alfalfa (*Medicago sativa* L.) pollen. *Crop Sci.* **9**, 560-563.
- Lenéguer R., 1997. Etude de la relation entre les fertilités mâle et femelle chez la luzerne (*Medicago sativa* L.). Rapport de stage de l'ENSA Toulouse.
- Lesins K., Lesins I., 1979. Genus *Medicago* (Leguminosae). A taxogenetic study. Junk bv Publishers. The Hague, 228 p.
- Lewis J., 1970. Reproductive growth in *Lolium*. 1. Evaluation of genetic differences within an established variety by means of a diallel cross. *Euphytica* **19**, 470-479.
- Li Y., Min J., 1998. The effect of irrigation times and sowing density on the growth and seed production of alfalfa. *Acta Prataculturae Sinica* **3**, 29-33.
- Lonnet P., 1996. Objectifs et critères actuels de la sélection des luzernes pérennes. *Fourrages* **147**, 303-308.
- Lorenzetti F., 1981. Relationship between dry matter and seed yield in leguminous forage plants. In Breeding high yielding forage varieties combined with high seed yield. Report of the meeting of the Fodder Crops Section, Merelbeke-Gent (Belgium). *Eucarpia*, 8-10 September. p. 57-74.
- Lorenzetti F., 1993. Achieving potential herbage seed yields in species of temperate regions. *Proceeding of the XVII International Grassland Congress*. Perugia, Italy. p. 1621-1628.
- Luo Z.W., Hackett C.A., Bradshaw J.E., McNicol J.W., Milbourne D., 2000. Predicting parental genotypes and gene segregation for tetrasomic inheritance. *Theor. Appl. Genet.* **100**, 1067-1073.
- Marcelis L.F.M., 1996. Sink strength as a determinant of dry matter partitioning in the whole plant. *J. Exp. Bot.* **47**, 1281-1291.
- Marshall C., 1985. Developmental and physiological aspects of seed production in herbage grasses. *J. Appl. Seed Prod.* **3**, 43-49.
- Marshall, A.H., James I.R., 1988. Effect of plant density on stolon growth and development of contrasting white clover (*Trifolium repens* L.) varieties and its influence on the components of seed yield. *Grass For. Sci.* **43**, 313-318.
- Martiniello P., 1998. Influence of agronomic factors on the relationship between forage production and seed yield in perennial forage grasses and legumes in a Mediterranean environment. *Agronomie* **18**, 591-601.
- Martiniello P., De Santis G., Iannucci A., 1996. Effect of phenological stages on plant dry matter partitioning and seed production in berseem (*Trifolium alexandrinum* L.). *J. Agron. Crop Sci.* **177**, 39-48.
- Martiniello P., Ciola A., 1994. The effect of agronomic factors on seed and forage production in perennial legumes sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) and French honeysuckle (*Hedysarum coronarium* L.). *Grass For. Sci.* **49**, 121-129.
- Massengale M.A., Medler J.T., 1958. Some responses of alfalfa (*Medicago sativa* L.) to different lengths of day and growth regulations in the greenhouse. *Agron. J.* **50**, 377-380.
- Mauriès M., 1994. La luzerne aujourd'hui. Editions France Agricole. 254 p.
- McGraw R.L., Beuselink P.R., Ingram K.T., 1986. Plant population density effects on seed yield of birdsfoot trefoil. *Agron. J.* **78**, 201-205.
- McKersie B.D., Bowley S.R., 1993. Synthetic seeds of alfalfa. Synseeds: applications of synthetic seeds to crop improvement. CRC Press Inc, Boca Raton, USA. p. 231-255.
- McLennan H.A., Childers W.R., 1964. Transfer of genetic male sterility from tetraploid to diploid alfalfa, In: Canadian Soc. Agron. 10th Annual Meeting, Frederickton, New Brunswick, 22-25 juin. p 79.
- Melton B., 1969. Comparative seed and forage yield in crosses of selected alfalfa clones as compared to polycross progeny. *Crop Sci.* **9**, 253-255.
- Menut L., 1999. Nouaison et remplissage des gousses chez la luzerne. Mémoire de fin de stage.

- Michaud, R., Lehman W.F., Rumbaugh M.D., 1988. World distribution and historical development. In: A.A. Hanson *et al.* (Eds). *Alfalfa and Alfalfa Improvement*. Agron. Monogr. 29. ASA, CSSA and SSSA, Madison, WI. p. 25-91.
- Munier-Jolain N.G., Munier-Jolain N.M., Roche R., Ney B., Duthion C., 1998. Seed growth rate in grain legumes. I. Effect of photoassimilate availability on seed growth rate. *J. Exp. Bot.* **49**, 1963-1969.
- Munier-Jolain N.G., Ney B., Duthion C., 1993. Sequential development of flowers and seeds on the main stem of an indeterminate soybean. *Crop Sci.* **33**, 768-771.
- Navarro L., 1996. Fruit-set and seed weight variation in *Anthyllis vulneraria* subsp. *Vulgaris* (Fabaceae). *Plant Syst. Evol.* **201**, 139-148.
- Ney B., Duthion O., Fontaine E., 1993. Timing of reproductive abortions in relation to cell division, water content and growth of pea seeds. *Crop Sci.* **33**, 267-270.
- Ney B., Duthion C., Turc O., 1994. Phenological response of pea to water stress during reproductive development. *Crop Sci.* **34**, 141-146.
- Nguyen H.T., Sleper D.A., 1983. Theory and application of half-sib matings in forage grass breeding. *Theor. Appl. Genet.* **64**, 187-196.
- Nittler L.W., Kenny T.J., 1964. Induction of flowering in alfalfa, birdsfoot trefoil, and red clover as an aid in testing for varietal purity. *Crop Sci.* **4**, 187-190.
- Ouattar S., Jones R.J., Crookston R.K., 1987. Effects of water deficit during grain filling on the pattern of maize kernels growth and development. *Crop Sci.* **27**, 726-730.
- Pasumarty S.V., Matsumura T., Higuchi S., Yamada T., 1993. Cultivar variation for seed development in white clover (*Trifolium repens* L.) *Euphytica* **65**, 211-217.
- Pasumarty S.V., Thomas R.G., 1998. Limitations to seed set in white clover (*Trifolium repens* L.). IV. Effect of canopy density and artificial shading in the field. *J. Appl. Seed Prod.* **16**, 31-37.
- Pedersen M.W., Barnes D.K., 1973. Alfalfa pollen production in relation to percentage of hybrid seed produced. *Crop Sci.* **13**, 652-656.
- Pedersen M.W., Petersen G. E., Bohart G.E and Levin M.D., 1956. A comparison of the effect of complete and partial cross-pollination of alfalfa on pod set, seeds per pod, and pod and seed weight. *Agron. J.* **48**, 177-180.
- Pedersen M.W., Stucker R.E., 1969. Evidence of cytoplasmic male sterility in alfalfa. *Crop Sci.* **9**, 767-770.
- Pigeaire A., Duthion C., Turc O., 1986. Characterisation of the final stage in seed abortion in indeterminate soybean, white lupin and pea. *Agronomie* **6**, 371-378.
- Quiros C.F., Bauchan G.R., 1988. The genus *Medicago* and the origin of the *Medicago sativa* complex. In: Hanson A.A. *et al.* (Eds), *Alfalfa and alfalfa improvement*. Agronomy, No 29, Madison, Wisconsin, USA. p: 93-124.
- Rausch H., 1964. Causes of infertility in lucerne (*Medicago media* Pers). Investigations on correlations between factors determining yields. *Zeitsch. Pflanzen.* **51**, 141-166.
- Regambert M., Nardi L., 1998. 20 ans après, la luzerne refait surface. *Bulletin Semences* **145**, 21-22.
- Rice J.S., Wang C.L., Gray E. 1970. Relationship of pollen and pistil characteristics with self and cross-compatibility in alfalfa. *Crop Sci.* **10**, 59-61.
- Rincker C.M., Marble V.L., Brown D.E. Johansen C.A., 1988. Seed production practices. In: Hanson A.A. *et al.* (Eds), *Alfalfa and alfalfa improvement*. Agron. Monogr. No. 29, Madison, Wisconsin, USA. p. 985-1021.
- Ripol M.I., Churchill G.A., da Silva J.A.G., Sorrells M. 1999. Statistical aspects of genetic mapping in autopolyploids. *Gene* **235**, 31-41.
- Robertson A.W., 1992. The relationship between floral display size, pollen carryover and geitonogamy in *Myosotis colensoi* (Kirk) Macbride (Boraginaceae). *Biol. J. Linn. Soc.* **46**, 333-349.
- Rodet G., 1998. Qualité grainière et pollinisation. *Bulletin Semences.* **143**, 3-4.

- Rosellini D., Lorenzetti F., Bingham E.T., 1998. Quantitative ovule sterility in *Medicago sativa*. *Theor. Appl. Genet.* **97**, 1289-1295.
- Rosellini D., Veronesi F., Falcinelli M., 1994. Componenti de la produzione di seme in linee selezionate di erba medica (*Medicago sativa* L.). *Rivista di Agronomia.* **28**, 43-49.
- Rotili P., 1979. Contribution à la mise au point d'une méthode de sélection de la luzerne prenant en compte les effets d'interférences entre les individus. I. Etude expérimentale de la structure de la luzernière. *Ann. Amélior. Plantes* **29**, 353-381.
- Rotili P., Zannone L., 1975. Principaux aspects d'une méthode de sélection de la luzerne basée sur des dispositifs qui utilisent la concurrence entre les plantes. *Ann. Amélior. Plantes.* **25**, 29-49.
- Rotili P., Zannone L., Gnocchi G., Proietti S., Scotti C. 1989. Analysis of the aerial part and roots of the lucerne crop to improve the breeding method. *Proceedings of 16th International Forage Congress.* Association Française pour la Production Fourragère, Nice, France. p 485-486.
- Rumbaugh M.D., 1963. Effects of population density on some components of yield of alfalfa. *Crop Sci.* **3**, 423-424.
- Sanderson M.A., Karnezos T.P., Matches A.G., 1994. Morphological development of alfalfa as a function of growing degree days. *J. Prod. Agric.* **7**, 239-242.
- Sangduen N, Sorensen E.L., Liang G.H., 1983. Pollen germination and pollen tube growth following self-pollination and intra- and interspecific pollination of *Medicago* species. *Euphytica* **32**, 527-534.
- Sayers E.R., Murphy R.P., 1966. Seed set in alfalfa as related to pollen tube growth, fertilization frequency, and post-fertilization ovule abortion. *Crop Sci.* **6**, 365-368.
- Semences et Progrès, 2001. Fourrages et gazons. Déshydratation. Revue trimestrielle. **106**, 95.
- Semences et Progrès, 1998. Semences fourragères: de la quasi-pénurie aux excédents. Revue trimestrielle **97**, 125-127.
- Sharratt B.S., Sheaffer C.C., Baker D.G., 1989. Base temperature for the application of the growing-degree-day model to field-grown alfalfa. *Field Crops Res.* **21**, 95-102.
- Silim S.N., Saxena M.C., 1992. Comparative performance of some faba bean (*Vicia faba*) cultivars of contrasting plant types. 2. Growth and development in relation to yield. *J. Agric. Sci.* **118**, 333-342.
- Singh S.M., 1978. Genetic basis of seed setting in alfalfa. *Theor. Appl. Genet.* **51**, 297-304.
- Sinoquet H., 1989. Modelling solar radiation interception in row crops. I Theoretical considerations. *Agronomie* **9**, 125-135.
- Sinoquet H., Bonhomme R., 1989. Modelling solar radiation interception in row crops. II Crop geometry and validation of the model. *Agronomie* **9**, 619-628.
- Skinner D.Z., Loughin T., Obert D.E. 2000. Segregation and conditional probability association of molecular markers with traits in autotetraploid alfalfa. *Mol. Breed.* **6**, 295-306.
- Smith S.E., Al-Doss A., Warburton M., 1991. Morphological and agronomic variation in north African and Arabian alfalfas. *Crop Sci.* **31**, 1159-1163.
- Smith S.E., Guarino L., Al-Doss A., Conta D.M., 1995. Morphological and agronomic affinities among middle eastern alfalfas – Accessions from Oman and Yemen. *Crop Sci.* **35**, 1188-1194.
- Staszewski Z., 1979. Final technical report: Genetic studies on cytoplasmic male sterility and heterosis in *Medicago sativa* L. and selection of germplasm sources suitable for hybrid breeding. Plant Breeding and Acclimatization Institute, Radzikow, Poland.
- Steiner J.J., Hutmacher R.B., Gamble S.D., Ayars J.E., Vail S.S., 1992. Alfalfa seed water Management: I. Crop reproductive development and seed yield. *Crop Sci.* **32**, 476-481.
- Strickler K., 1999. Impact of flower standing crop and pollinator movement on alfalfa seed yield. *Environm. Entomol.* **28**, 1067-1076.
- Strickler K., Freitas S., 1999. Interactions between floral resources and bees (*Hymenoptera: Megachilidae*) in commercial alfalfa seed fields. *Environm. Entomol.* **28**, 178-187.

- Suginobu K., 1979. Studies on the application of male sterility to heterosis breeding of alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Hokkaido Nogyo Shikenjo Kenkyu Hokoku*, 124, 1–79.
- Talamucci P., 1994. Lucerne role in farming systems, technical itineraries and management for different uses in diverse physical and socio-economic environments. *In: Management and Breeding of Perennial Lucerne for Diversified Purposes. Eucarpia Meeting*, 4-8 Septembre Lusignan, France. p. 6-16.
- Tasei J.N., 1978. Les insectes pollinisateurs de la luzerne (*Medicago sativa* L.) en France. *Apidologie* **9**, 175-194.
- Tasei J.N., 1978. Les insectes pollinisateurs de la luzerne (*Medicago sativa* L.) en France. *Apidologie*. **9**, 175-194.
- Taylor S.A., Haddock J.L., Pederson M.W., 1959. Alfalfa irrigation for maximum seed production. *Agron. J.* **51**, 357-360.
- Taylor A.J., Marble V.L., 1986. Lucerne irrigation and soil water-use during bloom and seed set on a red-brown earth in southeastern Australia. *Aust. J. Exp. Agric.* **26**, 577-581.
- Teuber L.R., Brick M.A., 1988. Morphology and anatomy. *In: Hanson A.A. et al. (Eds), Alfalfa and alfalfa improvement. Agron. Monogr. No. 29, Madison, Wisconsin, USA.* p. 125-162.
- Tiwana M.S., Puri K.P., 1997. Effect of time of final cutting and irrigation on lucerne (*Medicago sativa* L.) seed production. *J. Appl. Seed Prod.* **15**, 93-94.
- Veronesi F., Falcinelli M., 1987. Seed selection in *Medicago sativa* L. and correlated responses affecting dry matter yield. *Plant Breeding* **99**, 77-99.
- Veronesi F., Falcinelli M., Grando S., Lorenzetti F., 1986. Selection for high seed yield in *Medicago sativa* L. *Zeitsch. Pflanzen.* **96**, 189-192.
- Warringa J.W., Marinissen M.J., 1996. The effect of light intensity after anthesis on dry matter distribution and seed yield of *Lolium perenne* L. *Grass For. Sci.* **51**, 103-110.
- Weil, R.R., Ohlrogge A.J., 1975. Seasonal development of, and the effect of inter-plant competition on, soybean nodules. *Agron. J.* **67**, 487-490.
- Wolf D.D., Blaser R.E., 1971. Leaf development of alfalfa at several temperatures. *Crop Sci.* **11**, 479-482.
- Wu K.K., Burnquist W., Sorrels M.E., Tew T.L., Moore P.H., Tanksley S.D., 1992. The detection and estimation of linkage in polyploids using single-dose restriction fragments. *Theor. Appl. Genet.* **83**, 294-300.
- Yu K., Pauls K.P. 1993. Segregation of random amplified polymorphic DNA markers and strategies for molecular mapping in tetraploid alfalfa. *Genome* **36**, 844-854.
- Zambrana T., 1972. Components of seed yield in different varieties of alfalfa. *Revista Cubana de Ciencias Agricolas* **6**, 289-299.

Résumé : Etude génétique et agronomique de la production de graines chez la luzerne. Eduardo D. Bolaños-Aguilar

La production grainière est un facteur important du développement commercial des variétés de luzerne. Chez cette espèce, le potentiel génétique de production de semences a peu évolué depuis plusieurs décennies. Peu critères de sélection sont disponibles. L'objectif scientifique de ce travail a été de comprendre les bases agronomiques et génétiques du rendement grainier de la luzerne, en développant successivement trois études.

Une première étude sur l'effet du cultivar et de l'environnement, réalisée en couverts porte-graines, a montré que les principales sources de variation entre cultivars pour le rendement grainier étaient l'indice de récolte et le poids de graines par inflorescence. Entre environnements, la principale source de variation a été la biomasse aérienne disponible au moment de la récolte des graines.

L'étude génétique a permis d'évaluer la variabilité et le contrôle génétique pour les composantes du rendement grainier mesurées en plantes isolées. Toutes les composantes du rendement, évaluées au niveau de la plante, de l'inflorescence ou de la gousse, ont montré une large variabilité inter- et intra-population. L'aptitude générale à la combinaison est la principale source de variation génétique dans un plan diallèle 7x7. L'analyse d'un plan factoriel 7x7 a montré une héritabilité au sens strict particulièrement élevée pour le poids de graines par inflorescence. Entre variétés, le poids de graines par inflorescence mesuré en plantes isolées était corrélé à celui mesuré en couverts porte-graines. Un schéma de sélection combinée individu et famille, utilisant comme critère de sélection le poids de graines par inflorescence ou le poids de l'inflorescence, a été proposé pour la création de variétés de luzerne à fort potentiel de rendement grainier.

L'étude agronomique a permis de confirmer la relation entre la biomasse aérienne et la production grainière. Les environnements favorables à la production de biomasse maximisent aussi la production des graines. Des pratiques agronomiques pour augmenter la production de graines ont été proposées. La régression entre la biomasse aérienne et la production de graines peut servir d'outil de diagnostic dans les cultures porte-graines.

En perspective, des travaux sur les bases génétiques et moléculaires des composantes du rendement grainier sont évoqués. La description de la répartition tridimensionnelle du rendement grainier dans les couverts et la compréhension des mécanismes physiologiques sous-jacents sont envisageables.

Mots clés : *Medicago sativa*, luzerne porte-graines, rendement grainier, inflorescence, biomasse, critère de sélection, variabilité génétique, aptitude à la combinaison, héritabilité.

Abstract : Genetics and Agronomy of Alfalfa Seed Production.

Eduardo D. Bolaños-Aguilar

Seed production is critical for the commercial life of alfalfa varieties. In this species, the genetic potential for seed production had little changes over the last decades. Few selection criteria are available. The scientific aim of the present study was to understand the agronomic and genetic bases of alfalfa seed yield through three studies.

The first study, on the effect of cultivar and environment was performed in dense seed canopies and showed that the harvest index and the seed weight per inflorescence were genetically correlated to seed yield. Among the 12 environments under study, the variations in seed yield were mainly related to the variation in aerial biomass available at harvest.

The genetic study evaluated the genetic variability and the inheritance of the seed yield components measured in spaced plants. All seed yield components, and related to the plant, the inflorescence or the pod, exhibited a wide genetic variation both within- and between-populations. The General Combining Ability contributed most of the genetic variation in a 7x7 diallel mating design. The analysis of a 7x7 factorial design showed a high narrow sense heritability for the seed weight per inflorescence. Among cultivars, the seed weight per inflorescence measured in space plants was correlated with the one measured in seed crops. A breeding scheme combining individual and family selection and using the seed weight per inflorescence or inflorescence dry weight as selection criteria was proposed to breed for alfalfa varieties with a high seed yield potential.

The agronomic study confirmed the relationship between aerial biomass at harvest and the seed yield. The environmental conditions that maximised the production of biomass promoted high seed yields. Agronomic practices to increase seed yield are proposed. The regression between aerial biomass and seed yield could be used as a diagnostic tool in seed crops.

As prospects, researches on the genetic and molecular bases of seed yield components are proposed. The description of the 3D distribution of seed yield within canopies and the understanding of the underlying mechanisms are possible.

Key-words : *Medicago sativa*, alfalfa seed crops, seed yield, inflorescence, aerial biomass, selection criterion, genetic variation, combining ability, inheritance, heritability.