



**HAL**  
open science

# Déterminisme génétique de caractères complexes chez les arbres forestiers : un exemple chez les peupliers

Véronique V. Jorge

► **To cite this version:**

Véronique V. Jorge. Déterminisme génétique de caractères complexes chez les arbres forestiers : un exemple chez les peupliers. Master. Master bioingénieur Gestion des forêts et des espaces naturels (Déterminisme génétique de caractères complexes chez les arbres forestiers : un exemple chez les peupliers), 2014. hal-02798078

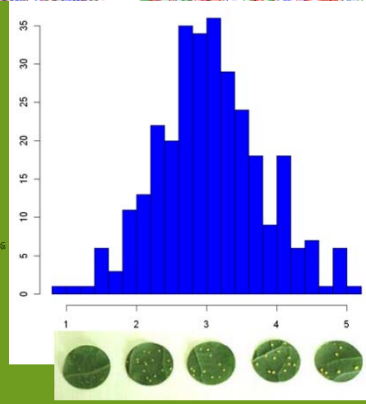
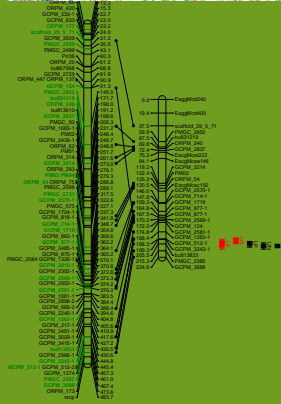
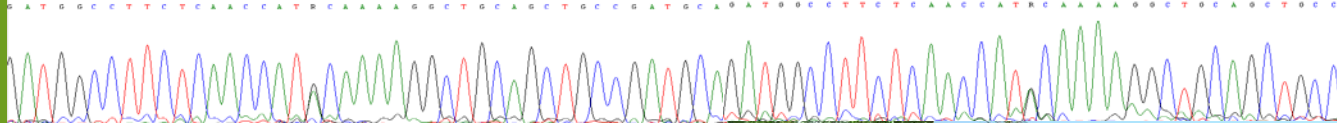
**HAL Id: hal-02798078**

**<https://hal.inrae.fr/hal-02798078v1>**

Submitted on 5 Jun 2020

**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.



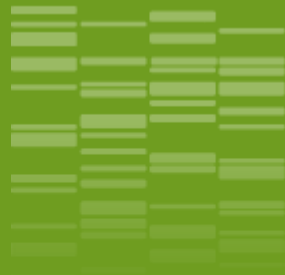
# Déterminisme génétique de caractères complexes chez les arbres forestiers

Un exemple chez les peupliers



# SOMMAIRE

- ❖ Les peupliers
- ❖ L'amélioration génétique chez les peupliers.
- ❖ La cartographie génétique.
- ❖ La sélection assistée par marqueurs.
- ❖ Le déséquilibre de liaison
- ❖ Le clonage de gènes
- ❖ La génétique d'association

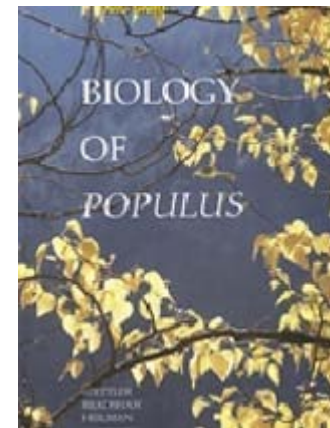


**\_01**

# LES PEUPLIERS

# Le genre *Populus*

6 sections et 29 espèces



Bradshaw et al. 1996  
doi: 10.1139/9780660165066



*Populus nigra* var 'Italica'



*Populus nigra* L.



*Populus alba* L.



*Populus tremula* L.

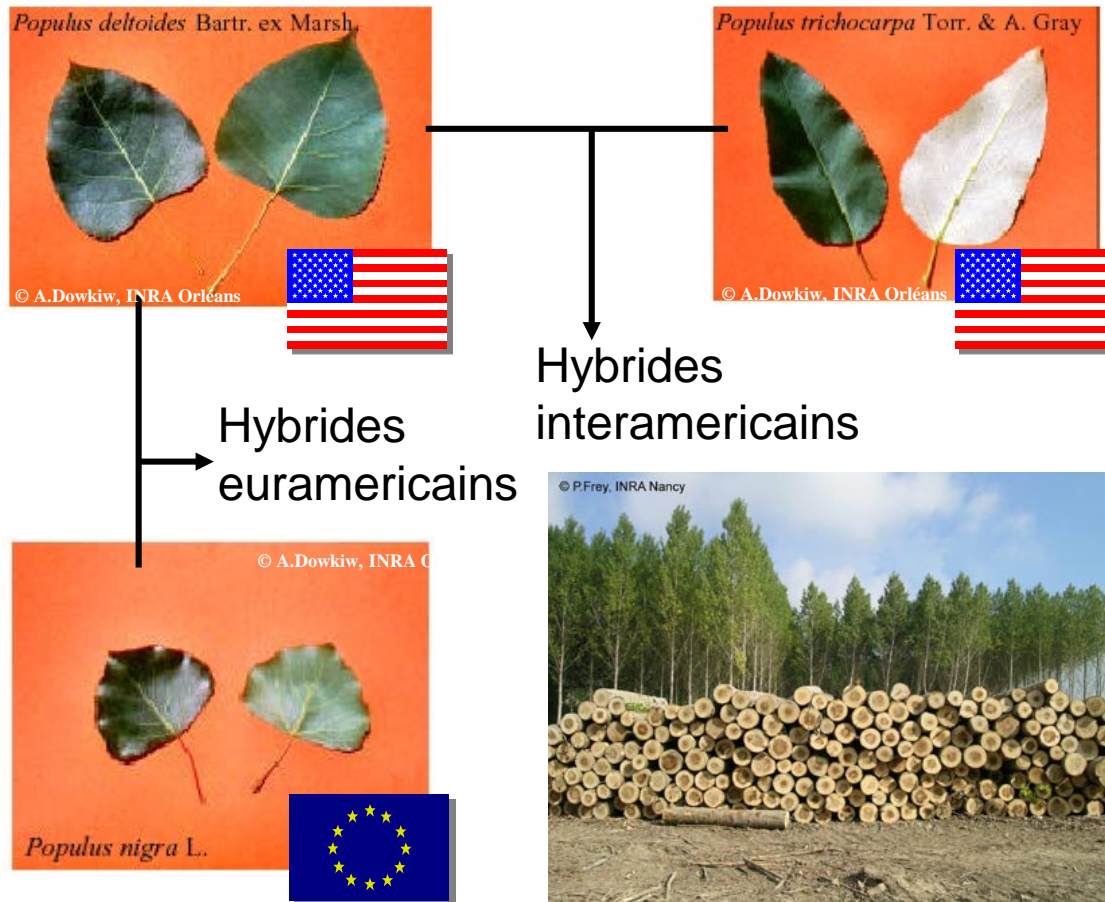


*Populus trichocarpa* Torr. & A. Gray

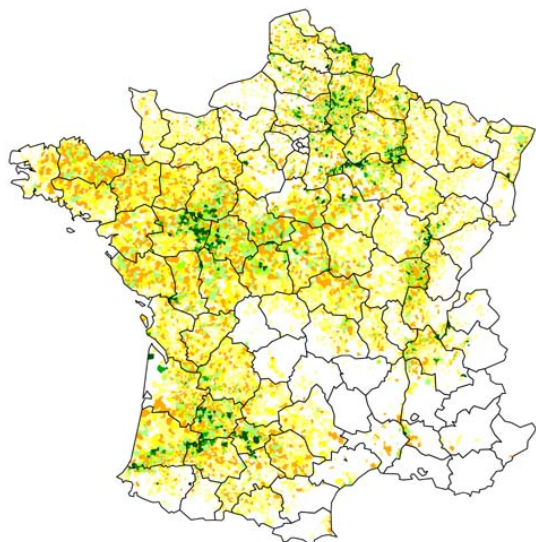


*Populus deltoides* Bartr. ex Marsh.

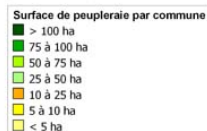
# Les peupliers cultivés sont des hybrides interspécifiques



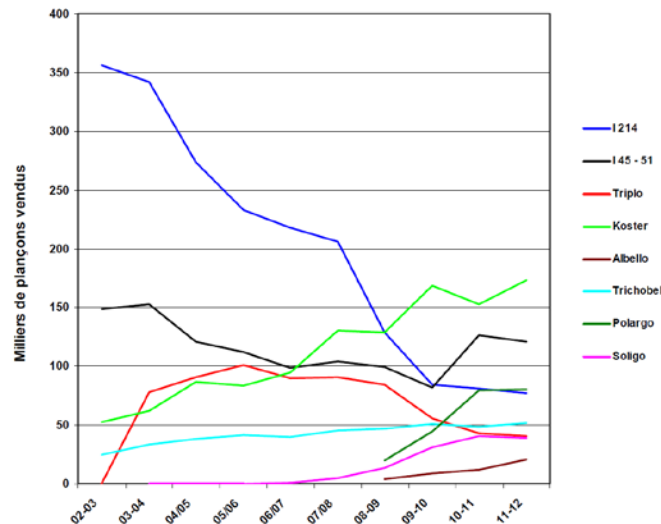
# La populiculture en France, quelques statistiques



Source cadastre 2003



- **Ventes : 500 000 plançons/an**
  - **236 000 ha plantés**
  - **1.422.523 m<sup>3</sup>**  
(chiffres CIP 2008)



(note de service DGPAAT/SDFB/N2013-3028)



Déroutage Emballage léger	Déroutage Contreplaqué	Déroutage Exportation	Sciage Palettes	Sciage Caisserie, litterie	Volume total
32,0 %	7,9 %	24,4 %	24,7 %	11,0 %	1.422.553 m <sup>3</sup>

Pâte à papier, bois-énergie ...

<http://www.peupliersdefrance.org>

# Arbre modèle pour la génomique

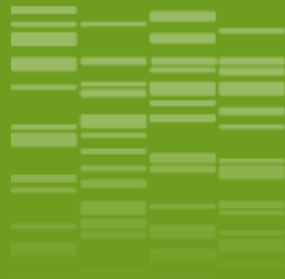
## ➤ **Modèle d'étude** pour de nombreuses raisons :

- croissance rapide
- polymorphisme génétique important
- hybridations interspécifiques possibles
- physiologie moléculaire bien caractérisée
- transformation génétique 'maîtrisée'

## ➤ **Génome de 480 Mpb ( $2n = 38$ ) séquencé** (Tuskan *et al.* 2006)



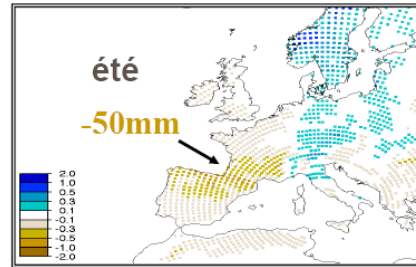




**\_02**

# L'amélioration génétique chez les peupliers

# Un programme d'amélioration innovant pour des besoins environnementaux et sociétaux changeants



**Gains génétiques continus**  
pour la production de bois

**Stabilité**  
des performances dans un environnement changeant

**Valeur ajoutée spécifique**

**Gestion durable**  
ressources génétiques

**Stratégies d'amélioration innovantes**

**Gestion de la diversité génétique**

**Nouveau critères de sélection**

**Déploiement spatial temporel**

**Interactions Ressources Nat. /Cult.**

# Critères de sélection

## Croissance



Hauteur



Diamètre



Branches syleptiques



Nb rejets

## Phénologie

### Débourrement



### Arrêt de croissance



## Résistances aux ravageurs



Rouille (Mlp)

### Marssonina brunnea



Chancre bactérien



### Résistances aux insectes

## Forme de la tige

### Rectitude



### Angle de branche



## Propriétés du bois

### Bois de tension

### Densité du bois

### Couleur

### Contenus en lignin/cellulose

## Efficience de l'utilisation de l'eau (C<sup>13</sup>)

## Tolérance à la sécheresse

# Estimer la variabilité génétique

## Ressources naturelles

*P. deltoides*



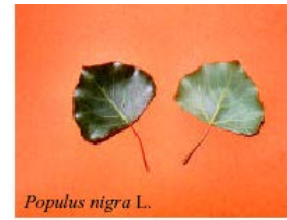
$n \cong 650$  clones

*P. trichocarpa*



$n \cong 600$  clones

*P. nigra*



$n \cong 880$  clones

*Populus ...*

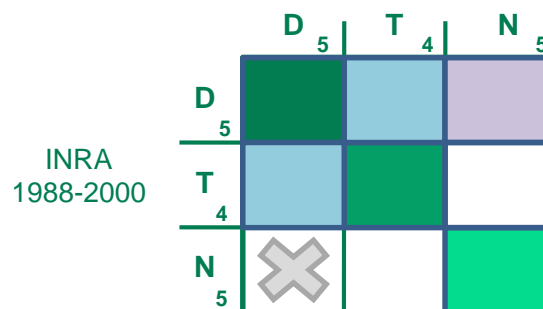


$n > 500$  clones

➤ Evaluation de populations d'amélioration pour les caractères d'intérêt

## Hybridation Inter-spécifique ( $h^2$ , AGC, ASC, intra vs inter, $V_F$ , $V_{ind}$ )

- 14 x 14 factorial mating design



**118** familles PF, **3480** clones

- Single-pair matings

**DxN** : **28** FS families - **1480** clones

**DxT** : **21** FS families - **830** clones

- Backcrosses D x (DxT)

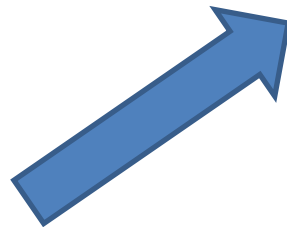
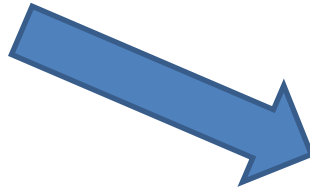
**6x4 factorial mating design**

**14** FS families - **1078** clones

# Croisements



Rameaux florifères mâles en cage ...



Crédits photos : M. Villar, M. Juteau, A. Dowkiw, N. Chenault (INRA Orléans)

# Décomposition des caractères

## Exemple de la résistance à la rouille (1)

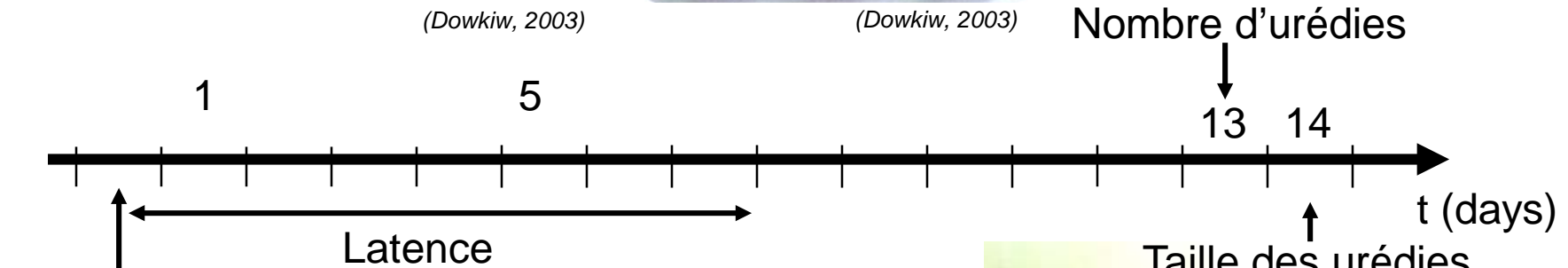
En chambre de culture ...



(Dowkiw, 2003)



(Dowkiw, 2003)

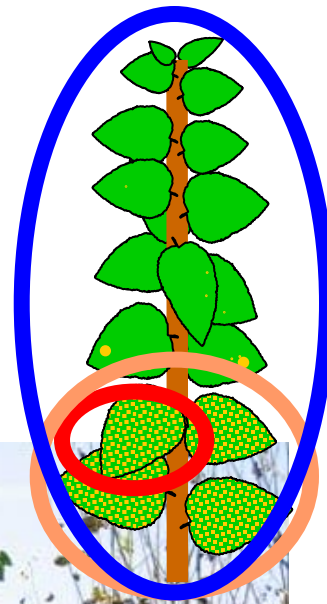


(Dowkiw, 2003)

# Décomposition des caractères

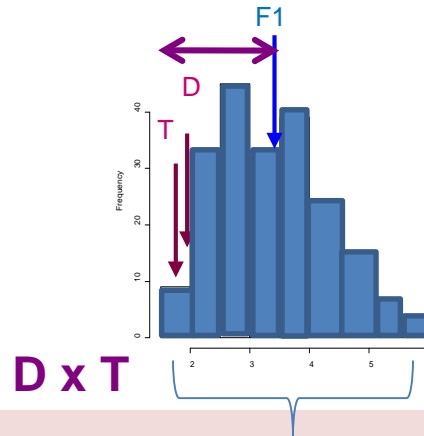
Exemple de la résistance à la rouille (2)

... en champ



# Composantes de la variation génétique chez les hybrides interspécifiques

*Hétérosis et transgressions...*



**D x N**

	Hétérosis moyenne	Gamme familiale
Hauteur	46%	+21% - +61%
Diamètre	61%	+43% - +73%
Angle de branche	0 ns	- 3% - +5%
Rouille resistance	- 28%	- 35% - -15%

	Hétérosis moyenne	Gamme familiale
Hauteur	32%	+23% - +41%
Diamètre	53%	+35% - +68%
Angle de branche	0 ns	- 7% - +11%
Rouille resistance	-12%	- 18% - -6%



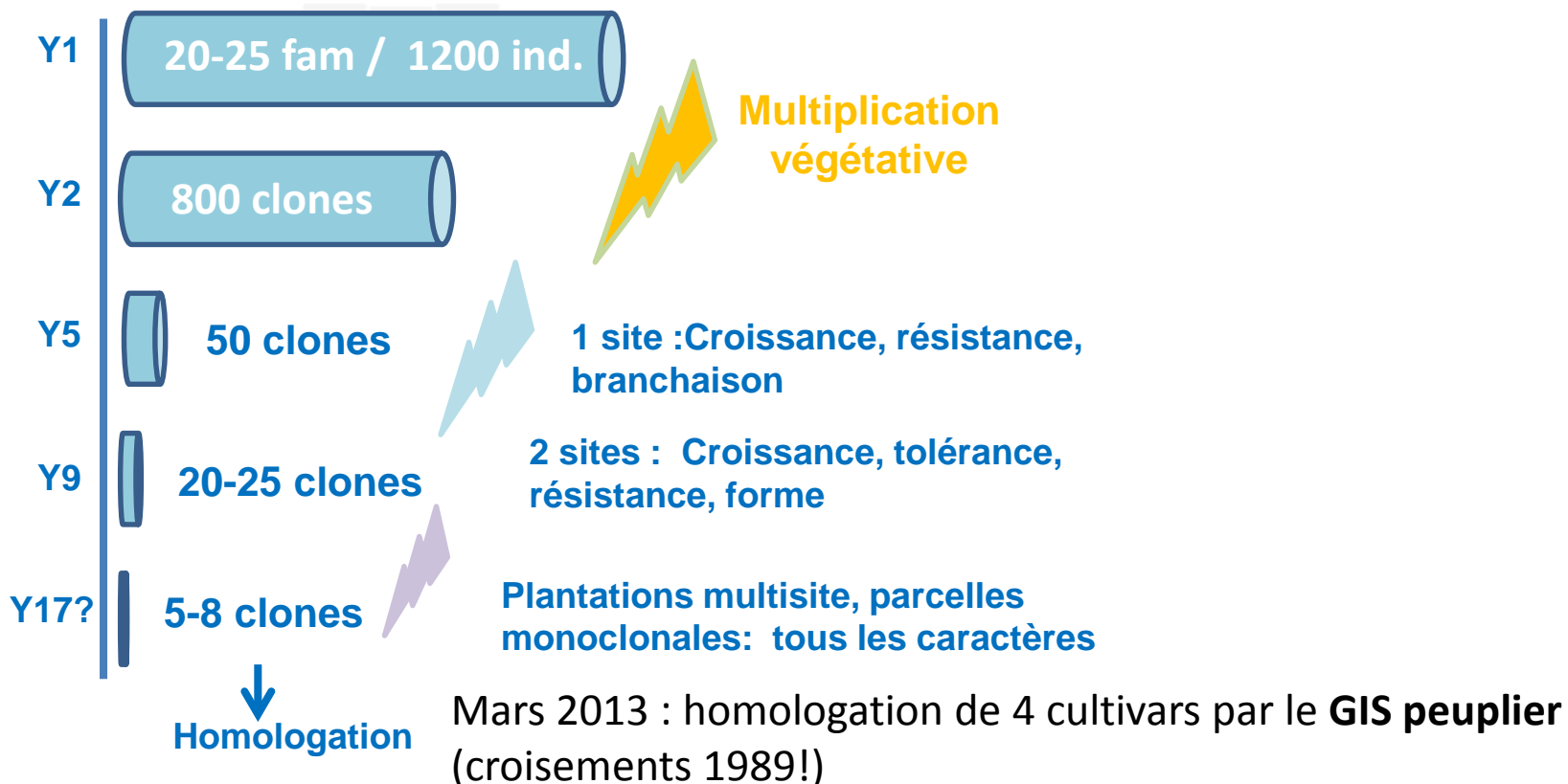
# Ages optimaux de sélection



- (1) Longueur du cycle de sélection
- (2) Capacités limitées pour une sélection en conditions multisites
- (3) Contrôle des corrélations défavorables dans schéma à plusieurs étapes

# Sélection clonale à plusieurs étapes

## 1 série



Delrive



Delvignac



Dellinois



Delgas

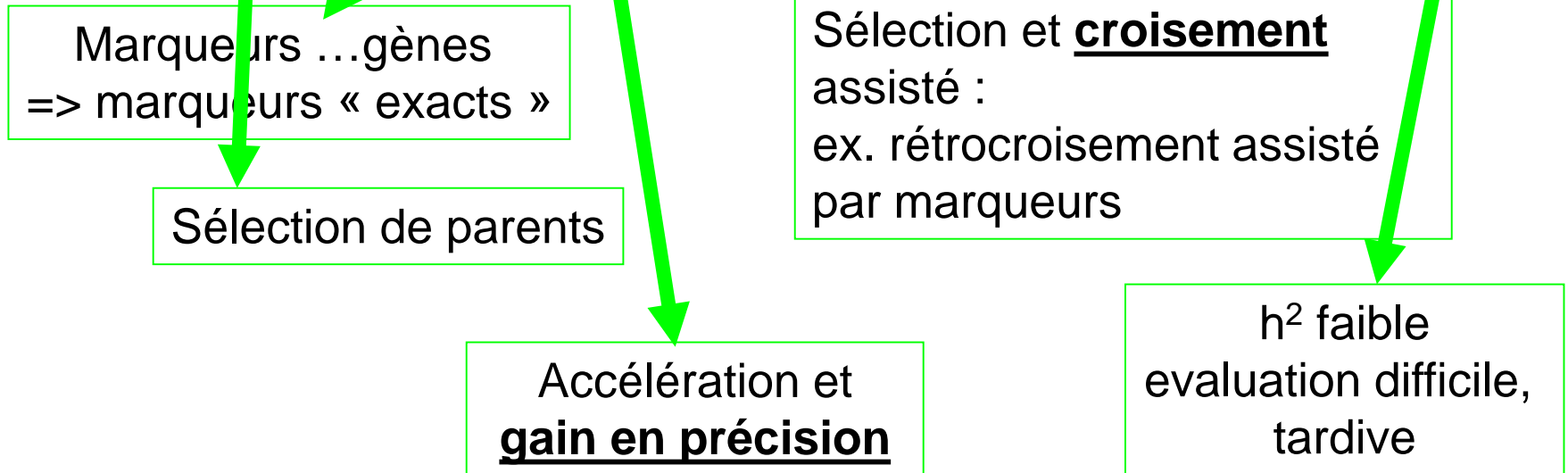
Crédit photos : V. Bourlon, Irstea

# Utilisation des marqueurs moléculaires pour une sélection précoce

## La Sélection Assistée par Marqueurs: Une définition

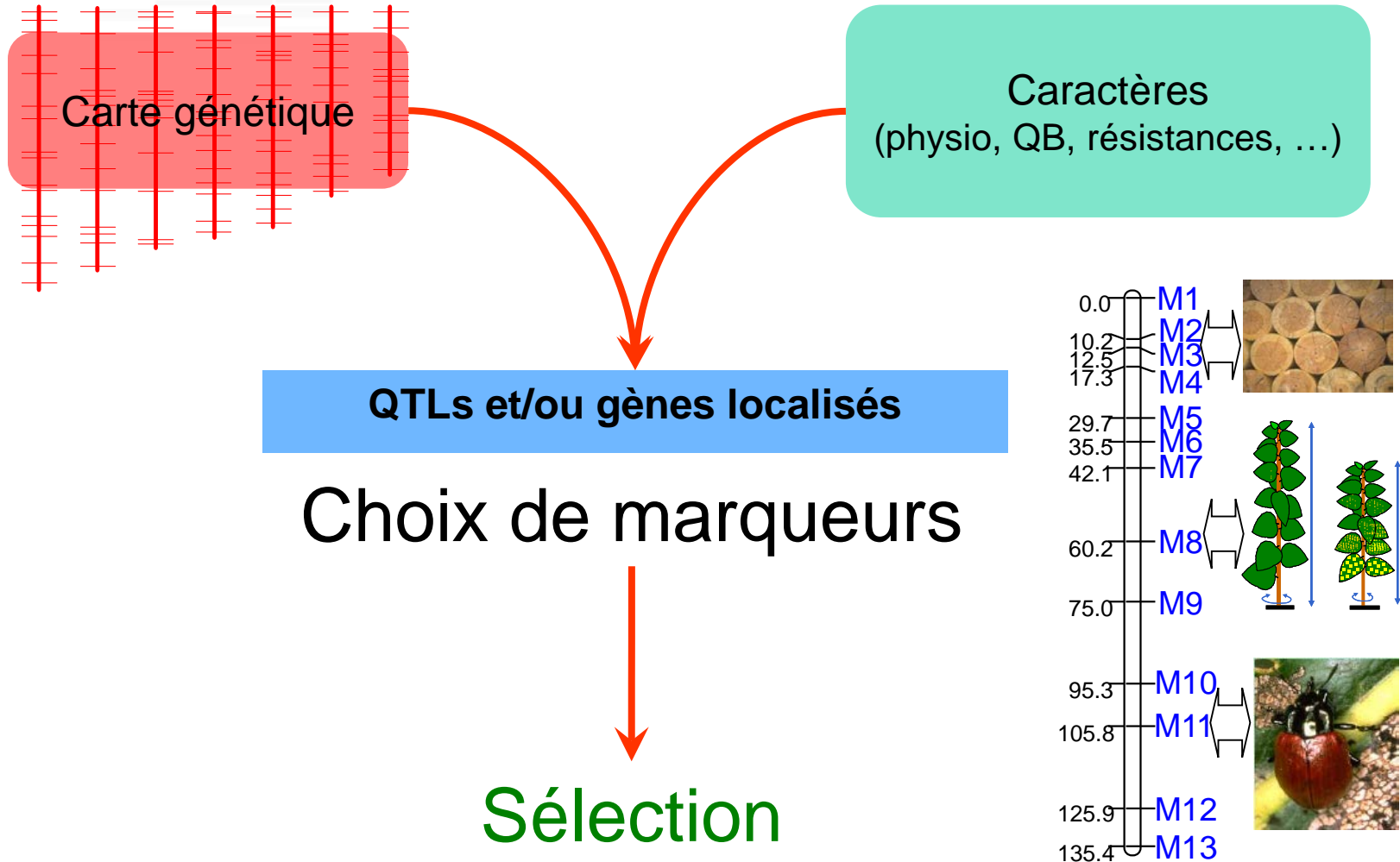
« a method that uses **molecular markers** for indirect **selection** of **difficult traits** at the **seedling stage**, **speeding** up the process of conventional plant breeding and facilitating the improvement of traits that cannot be easily selected using conventional methods »

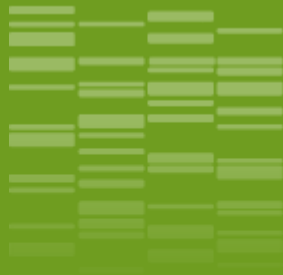
Varshney *et al.* 2003 Trends in Pl. Sc. 10(12) : 621-630



# Postulat initial :

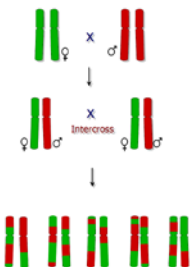
Quantitative Trait Loci (QTL), gènes majeurs localisés sur une carte





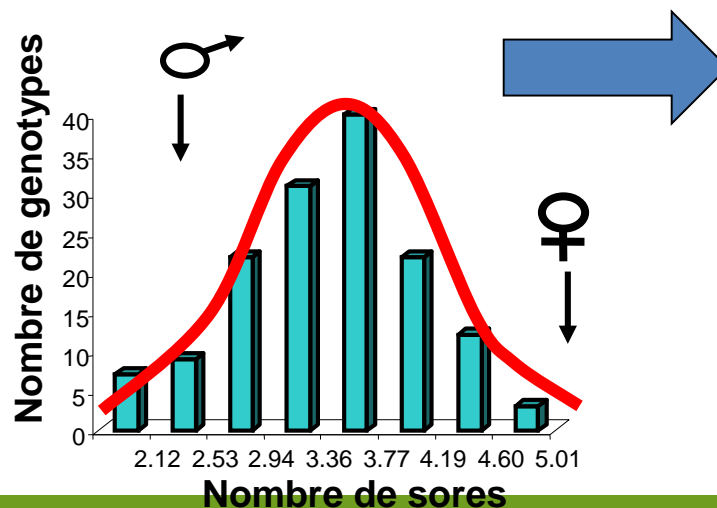
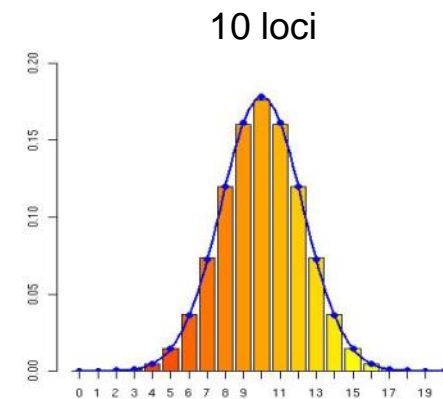
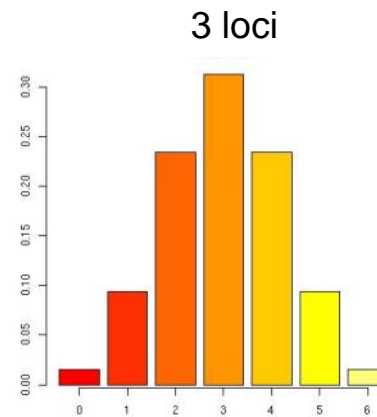
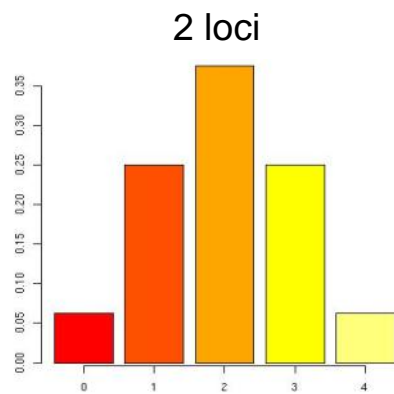
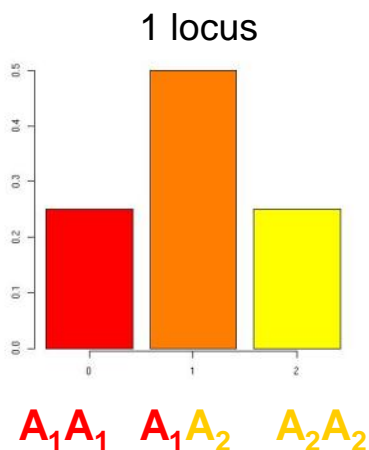
# \_03

## La cartographie génétique.



# Déterminisme génétique d'un caractère complexe dont la variabilité est continue

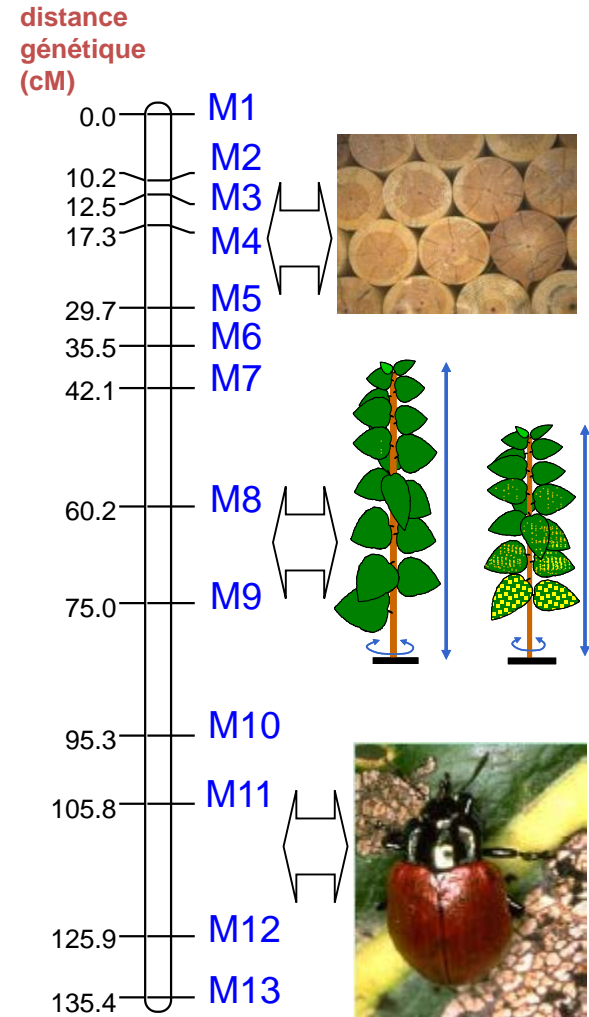
Exemple de distribution théorique dans une descendance F2



Nombre de loci ?  
 Localisation ?

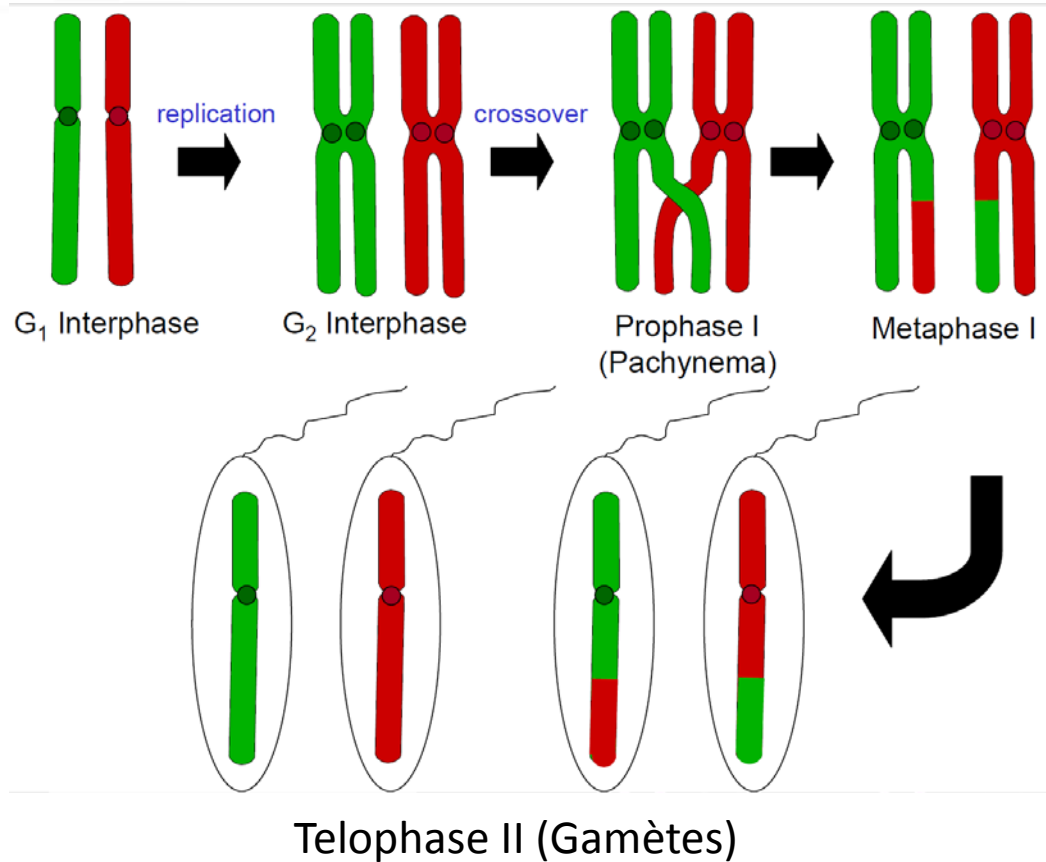
# Construction d'une carte génétique

- Ensemble de repères (marqueurs) disposés le long de chaque chromosome.
- Ces repères permettent de **localiser** et de **dénombrer** les gènes contrôlant le caractère d'intérêt.  
= Relier le polymorphisme des marqueurs aux variations d'un caractère quantitatif



# Construction d'une carte génétique

## Petit rappel de la méiose

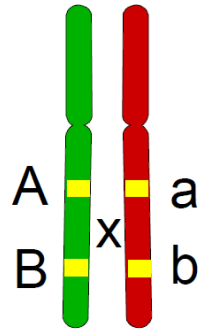




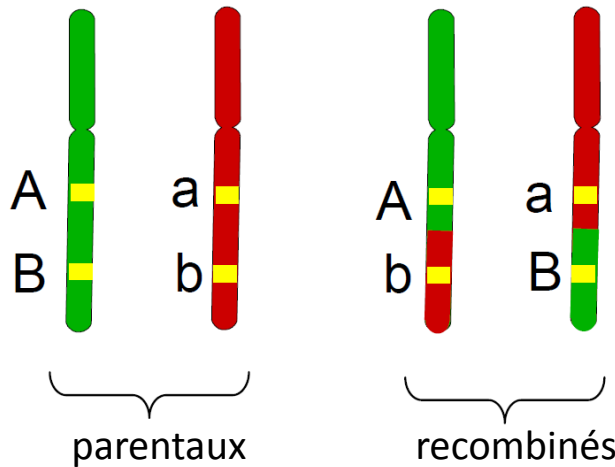
# Construction d'une carte génétique

Soit 2 loci (A et B) à 2 allèles :

Chromosomes parentaux



**Postulat de départ:** La fréquence des crossing-over entre deux sites dépend de la distance chromosomique physique entre les deux sites.



**Carte génétique**

= Carte de recombinaison méiotique

**Unité de distance génétique :** % de recombinaison / centiMorgan (cM)

Gamètes de type :

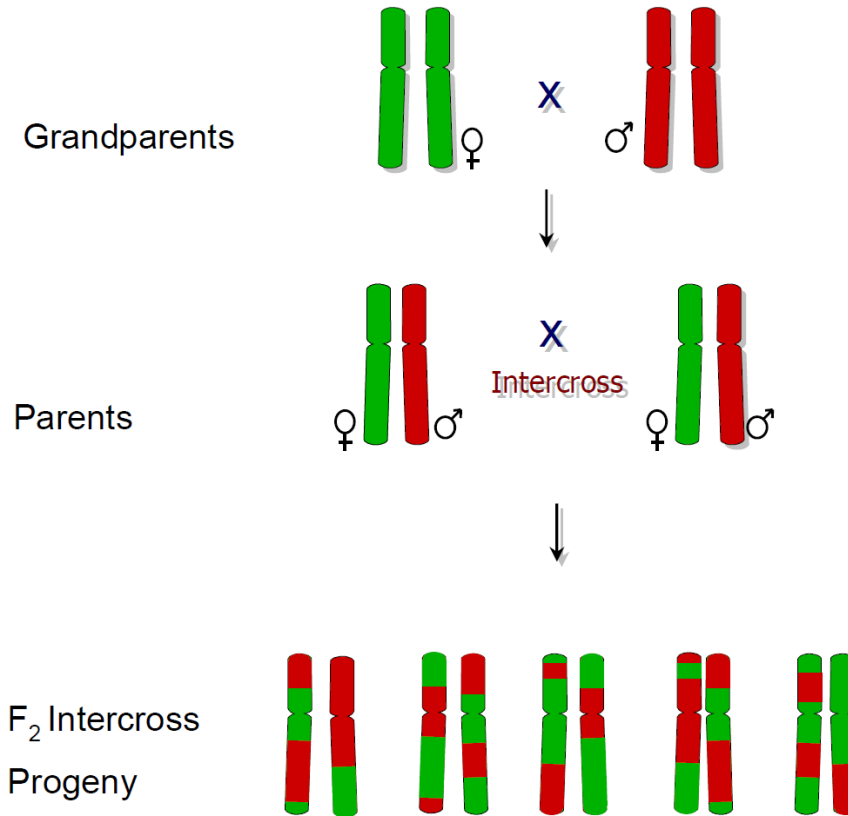
parentaux

recombinés

# Construction d'une carte génétique

Comment accéder aux gamètes ?

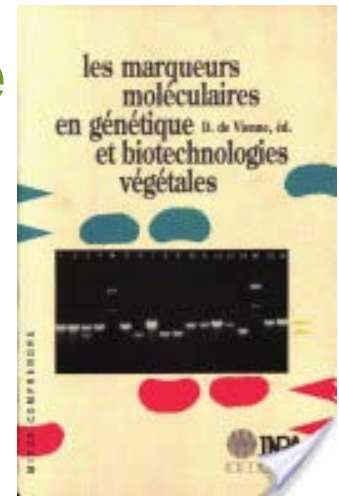
→ Croisement



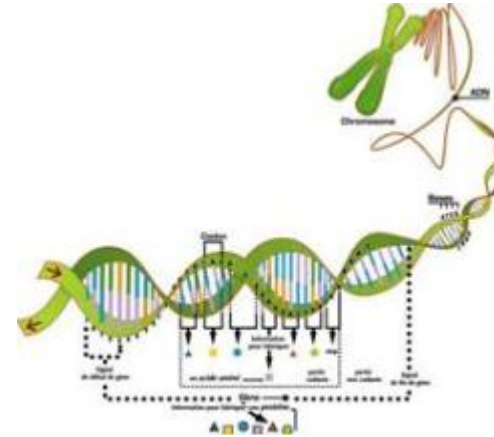
Comment suivre les fragments chromosomiques ?

# Construction d'une carte génétique

## Les marqueurs moléculaires



(D. de Vienne, 1998)



AFLP, AP-PCR, CAPS, DAF,  
 DGGE, ISSR, MAAP,  
 tecMAAP, RAPD, RFLP, SCAR,  
 SNP, SSR, STS, VNTR  
 ..... ZZZZ

### Critère moléculaire

(type de polymorphisme)

Séquence

Nb de répétitions

RFLP  
 SNP

Microsatellites

AFLP  
 RAPD

ISSR

Marqueurs codominants  
 Révélés individuellement

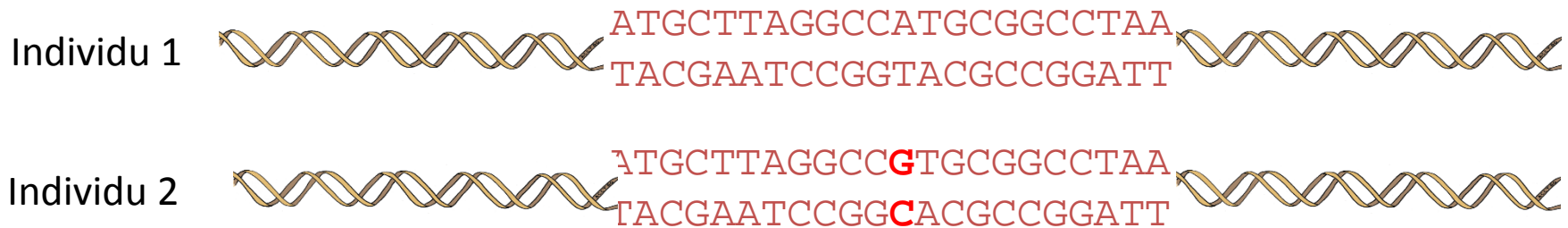
Marqueurs dominants  
 Révélés en masse

Critère  
 génétique

# Les marqueurs moléculaires

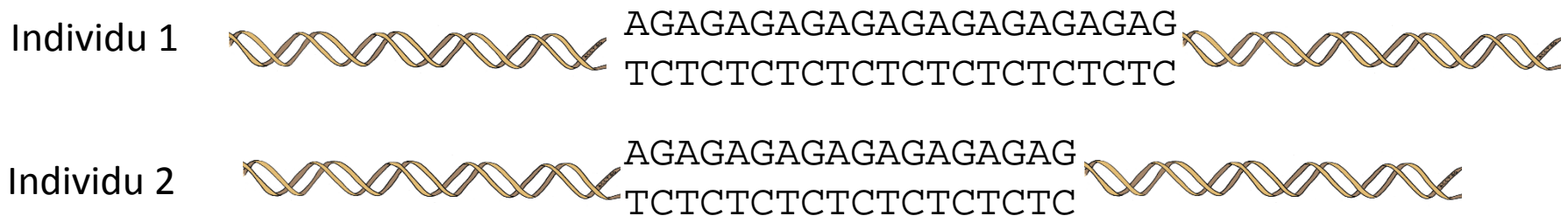
## Exemples

### → Polymorphisme de séquence



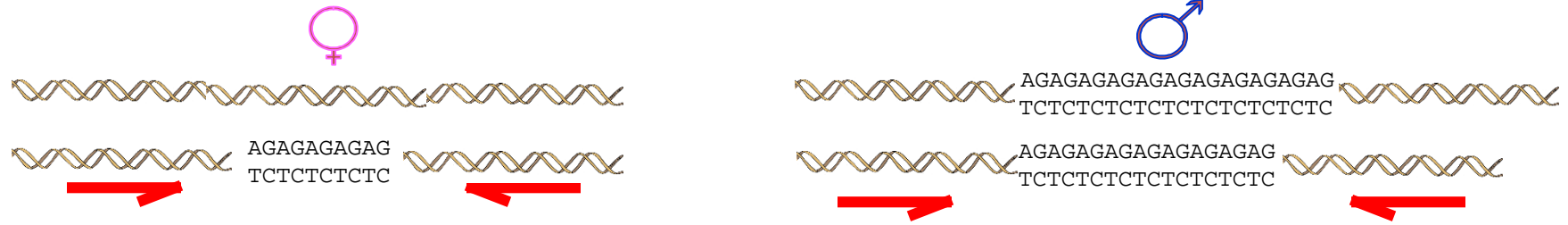
### → Polymorphisme de nombre d'unités de répétition

(AG)<sub>n</sub>

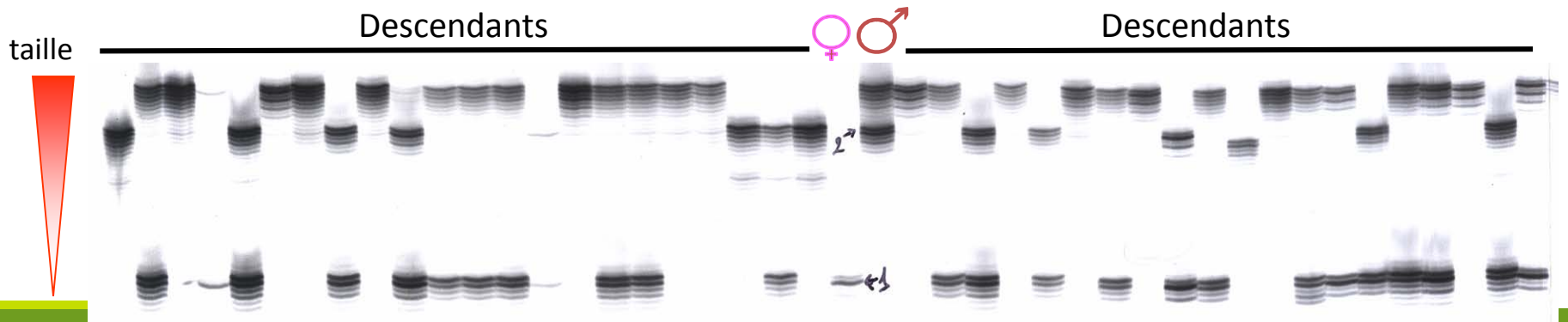


# Les marqueurs moléculaires

## Microsatellites



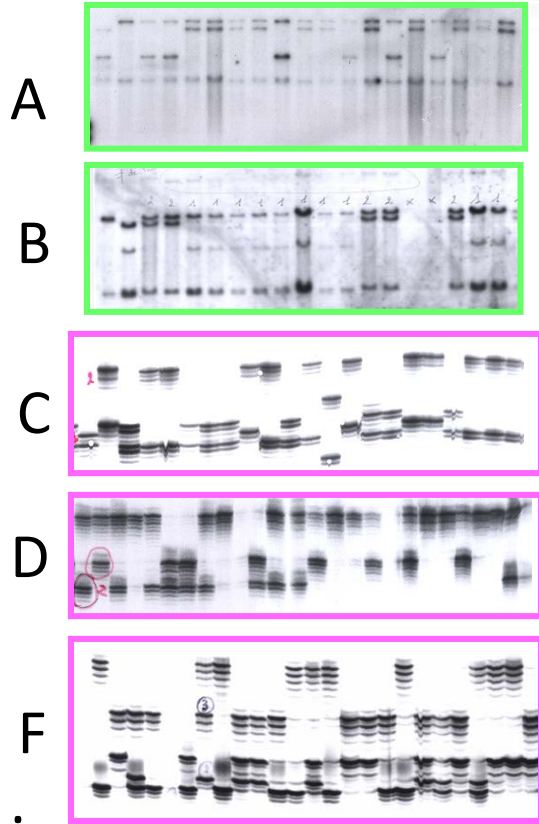
Amplification PCR  
Séparation par électrophorèse



(PMGC576, Faivre-Rampant et al.)

# Construction d'une carte génétique

Lecture  
codage 0/1



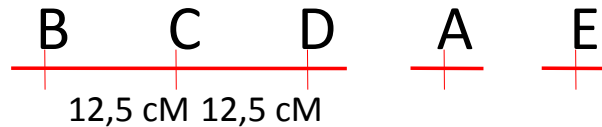
~300 marqueurs

Calcul du taux de recombinaison

% recombines => distance entre marqueurs

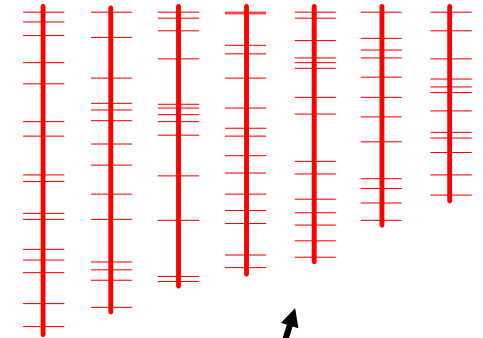
	A	B	C	D
B	0.50			
C	0.50	0.125		
D	0.50	0.25	0.125	
E	0.50	0.50	0.50	0.50

Groupes



Ordre

Carte  
génétique

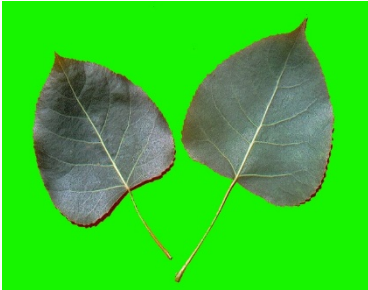


En théorie, nb de groupes de liaison = nb de chromosomes

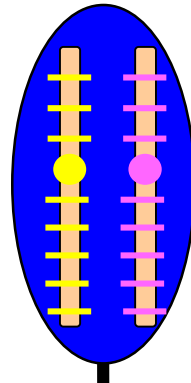
# Construction d'une carte génétique

## Chez les peupliers

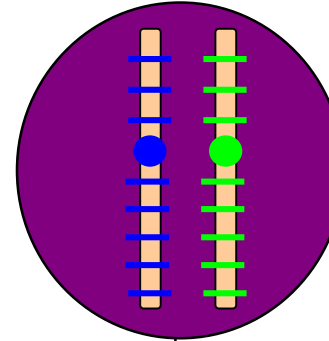
♀  
*Populus deltoides*  
73028-62



♂  
*P. trichocarpa*  
101-74



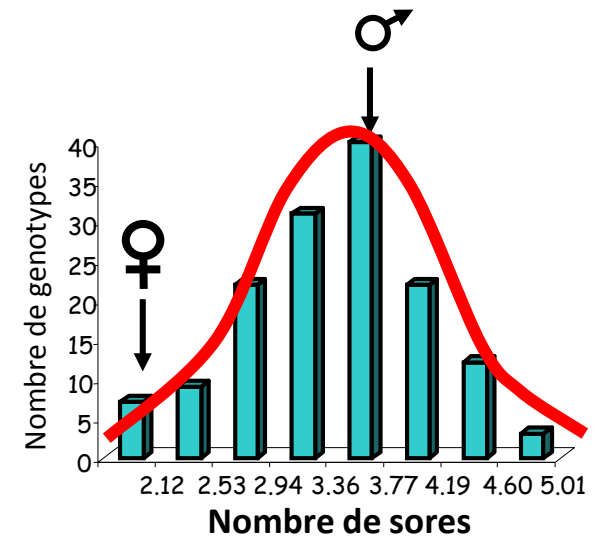
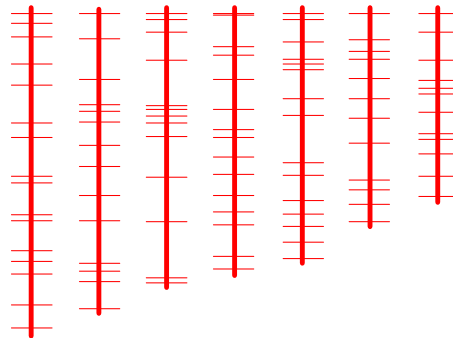
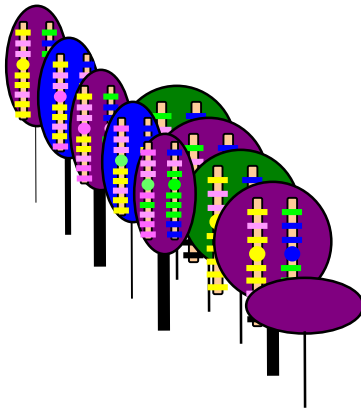
Résistance  
complète  $R_1$



Résistance  
Partielle

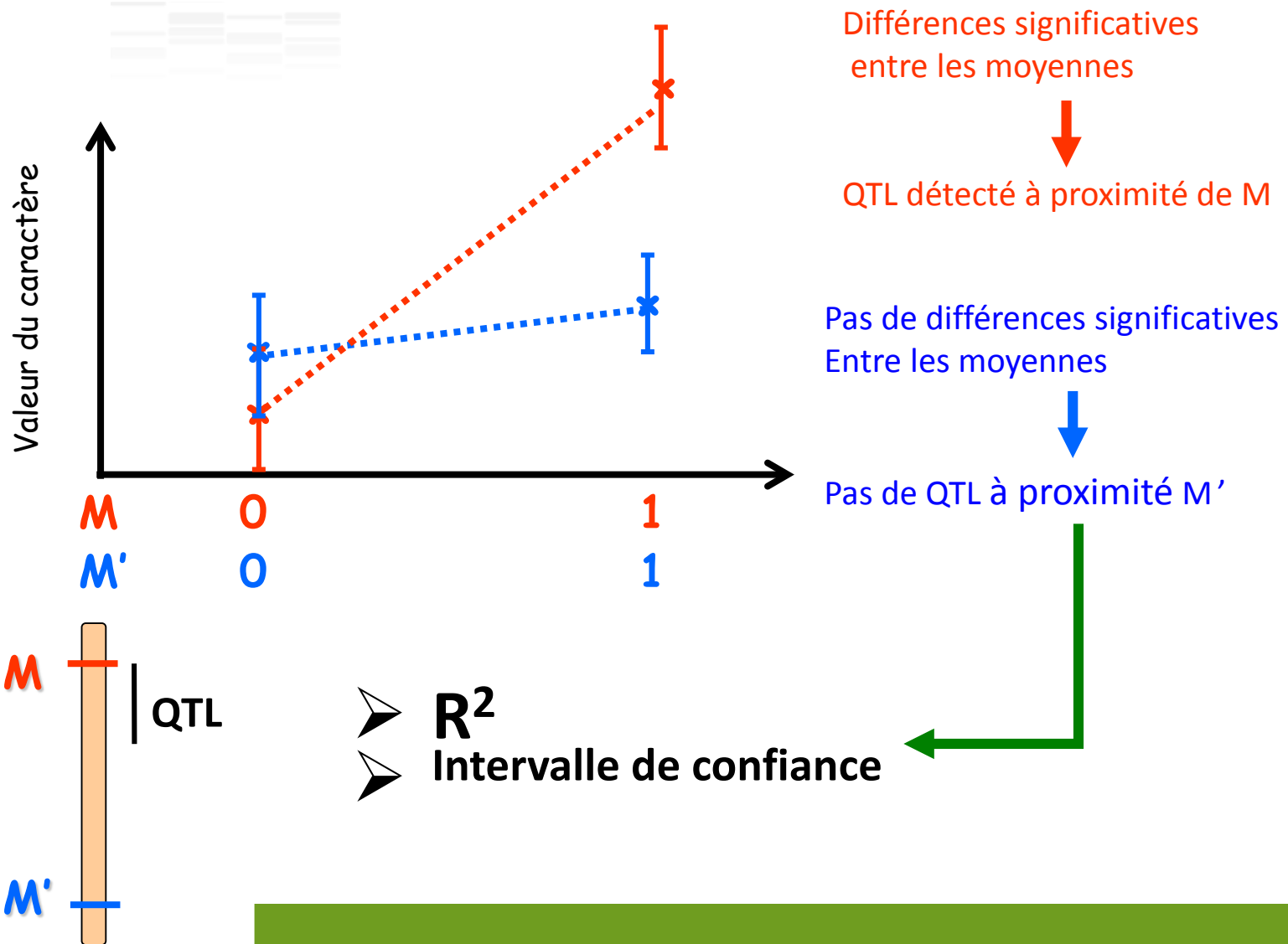


336 descendants



# QTL (Quantitative Trait Loci)

Loci contrôlant des caractères quantitatifs





# QTL (Quantitative Trait Loci)

## Exemples QTL/gènes cartographiés

*P. deltooides*

$R_1$



$r_1$



*P. trichocarpa*

$R_{us}$



$r_{us}$



LG XIX

3% - 76%

0.0 — E4M1-10  
13.4 —  $R_1$   
16.0 — ORPM277  
24.7 — M03/M04\_480



60.1 — E1M2-8

12% - 73%

98.1 — rE7M6-8  
109.0 — rE2M4-8  
118.8 — E7M6-4  
130.6 — E1M7-6  
154.9 — L2-1050  
174.1 — P1221



3 sites

LG?

5% - 81%

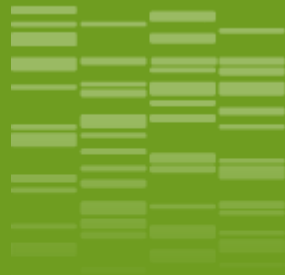
0.0 — E4M2-7  
8.2 — E5M5-7  
11.1 —  $R_{us}$   
28.3 — PMGC667-2



17% - 35%



3 sites



**\_04**

# La Sélection Assistée par Marqueurs.

# La Sélection Assistée par Marqueurs

A- Choix des marqueurs associés à **plusieurs caractères, plusieurs composantes**

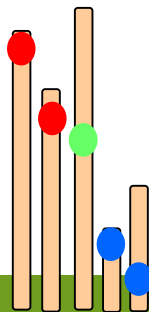


B- Sélection rapide à l'aide de ces marqueurs des géotypes combinant le plus de caractères favorables

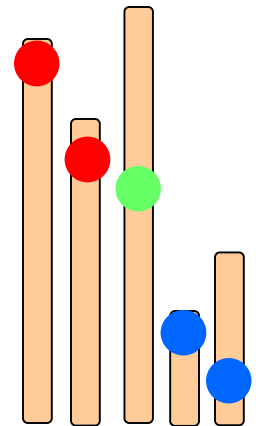
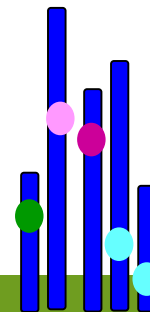
=

**idéotype**

C- Croisements et S.A.M. supplémentaires pour combiner l'ensemble des caractères



X



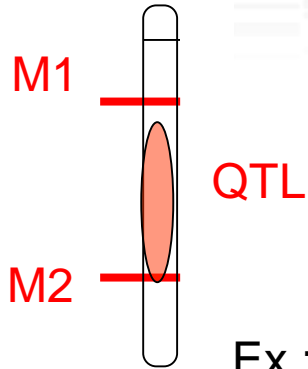
# La SAM : méthodes

Sélection et Recombinaison  
assistés par marqueurs

Appliqué  
aux esp.  
autogames  
(lignées)

- Utilisation de marqueurs aux QTLs
- Introgression par retrocroisement
- Pyramidage

# Utilisation de marqueurs aux QTLs



Prérequis : Cartographie de loci contrôlant des caractères quantitatifs

Ex.:

Han et al. 1997 Mol. Breed. 3: 427-437  
Orge, qualité brassage



Comparaison de différentes stratégies: SAM, phénotypique  
Sélection sur 2 QTLs : QTL1, QTL2.

Résultats :

QTL1 SAM > Phénotypique

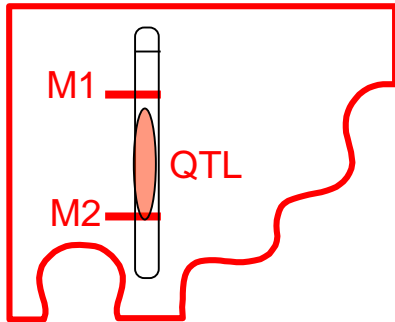
QTL2 pb d'expression dans un fond génétique différent.

+ Liaison marqueur-caractère spécifique du croisement utilisé

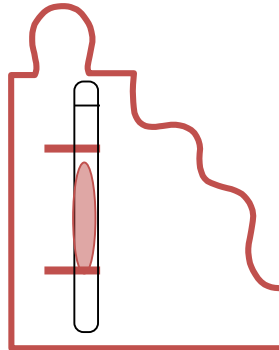
# Décomposition du caractère complexe et SAM

Ex: Tolérance aux stress hydrique

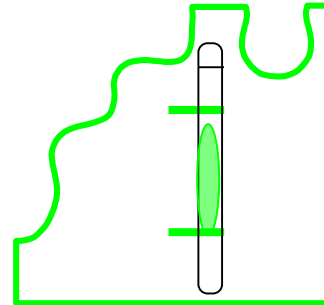
Évitement  
(décalage phase  
de croissance)  
géotype 1



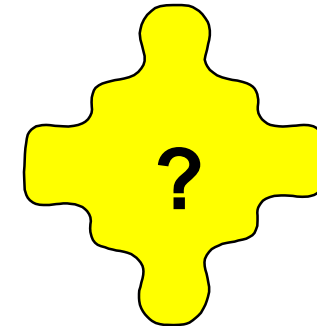
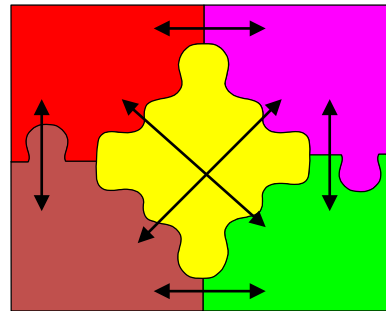
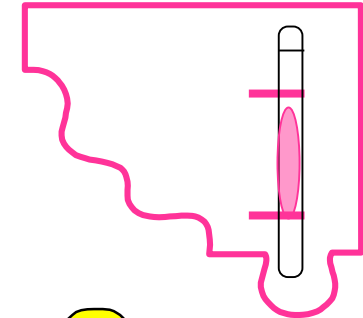
Résistance à la  
perte d'eau  
(fermeture stomates...)  
géotype 2



Mécanisme  
de tolérance  
(ajustement  
osmotique...)  
géotype 3



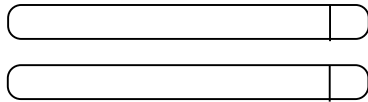
Mécanisme de tolérance  
« a posteriori »  
(résistance  
à la dessiccation...)  
géotype 4



- Antagonisme pour la SAM : Conserver association marq/QTL + recombinaison entre QTLs.
- QTL non identifiés
- interactions non additives ?

# Introgression par rétrocroisement

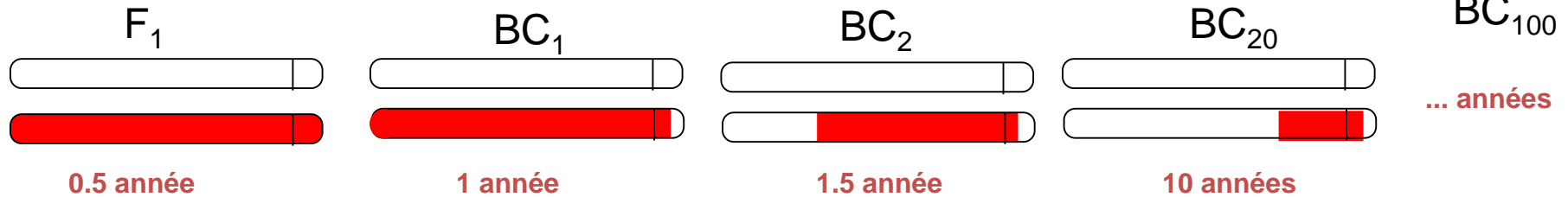
Parent récurrent  
(qualités agronomiques)



Parent donneur  
(pas de qualités agronomiques mais porteur d'un caractère recherché)



Méthode traditionnelle



Rétrocroisement assisté par marqueurs



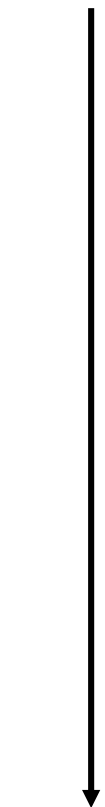
AB-QTL Analysis Tanksley et Nelson 1996 TAG 92 : 191-203

Tomate, .... mais résultats mitigés orge, blé, riz ....

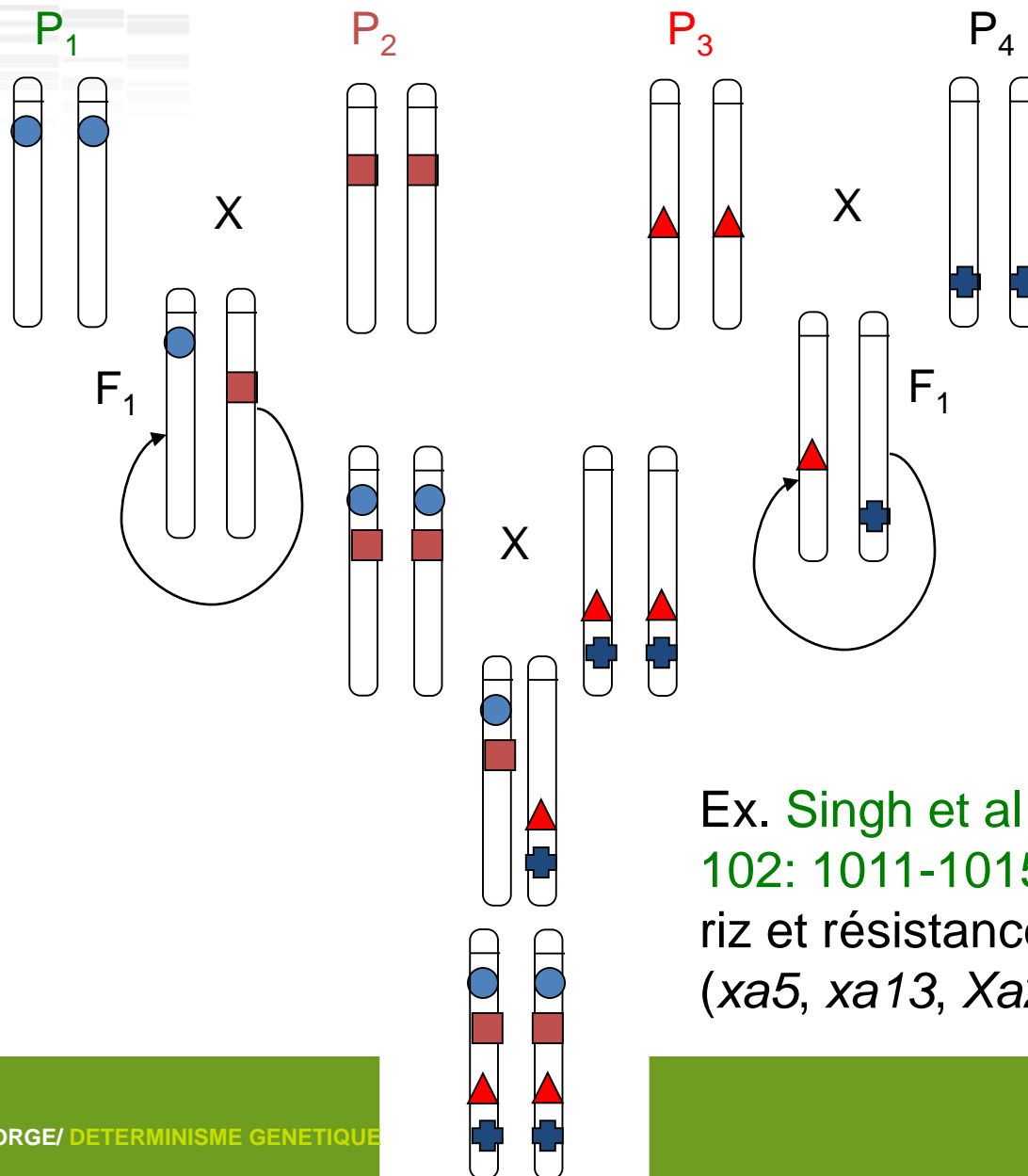
# Pyramidage assisté par marqueurs

Pour des loci à effet majeur, très bien localisés

Départ



Arrivée



Ex. Singh et al . (2001) TAG  
102: 1011-1015  
riz et résistance à la bactériose  
(*xa5*, *xa13*, *Xa21*)



# Application de la Sélection Assistée par Marqueurs chez les arbres forestiers ?

Verrous biologiques, socioéconomiques, techniques

Tree Genetics & Genomes  
DOI 10.1007/s11295-014-0790-5

REVIEW

**Potential for marker-assisted selection for forest tree breeding:  
lessons from 20 years of MAS in crops**

H. Muranty • V. Jorge • C. Bastien • C. Lepoittevin •  
L. Bouffier • L. Sanchez

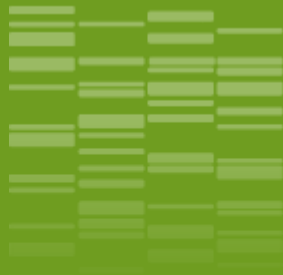
**Un verrou biologique / technique : la liaison marqueur-caractère**

- spécifique du croisement utilisé
- peut être rompue au cours de la sélection

**Deux outils pour lever le verrou**



**Le clonage de gènes  
La génétique d'association**



**\_05**

# Le déséquilibre de liaison.

# Le déséquilibre de liaison

Il décrit les associations préférentielles entre allèles de deux locus

## Haplotypes

or gametes	Locus 1	Locus 2	Locus 3
1	<u>A</u> ATGCCTAAGTGCC <u>T</u> CCATACTAAGCGATTAAC <u>G</u>		
2	<u>A</u> ATGCCTAAGTGCC <u>T</u> CCATACTAAGCGATTAAC <u>G</u>		
3	<u>A</u> ATGCCTAAGTGCC <u>T</u> CCATACTAAGCGATTAAC <u>G</u>		
4	<u>A</u> ATGCCTAAGTGCC <u>T</u> CCATACTAAGCGATTAAC <u>C</u>		
5	<u>A</u> ATGCCTAAGTGCC <u>T</u> CCATACTAAGCGATTAAC <u>C</u>		
6	<u>A</u> ATGCCTAAGTGCC <u>T</u> CCATACTAAGCGATTAAC <u>C</u>		
7	<u>T</u> ATGCCTAAGTGCC <u>C</u> CCATACTAAGCGATTAAC <u>G</u>		
8	<u>T</u> ATGCCTAAGTGCC <u>C</u> CCATACTAAGCGATTAAC <u>G</u>		
9	<u>T</u> ATGCCTAAGTGCC <u>C</u> CCATACTAAGCGATTAAC <u>G</u>		
10	<u>T</u> ATGCCTAAGTGCC <u>C</u> CCATACTAAGCGATTAAC <u>C</u>		
11	<u>T</u> ATGCCTAAGTGCC <u>C</u> CCATACTAAGCGATTAAC <u>C</u>		
12	<u>T</u> ATGCCTAAGTGCC <u>C</u> CCATACTAAGCGATTAAC <u>C</u>		

## Contingency tables

		Locus 1	
		A	T
Locus 2	T	6	
	C		6

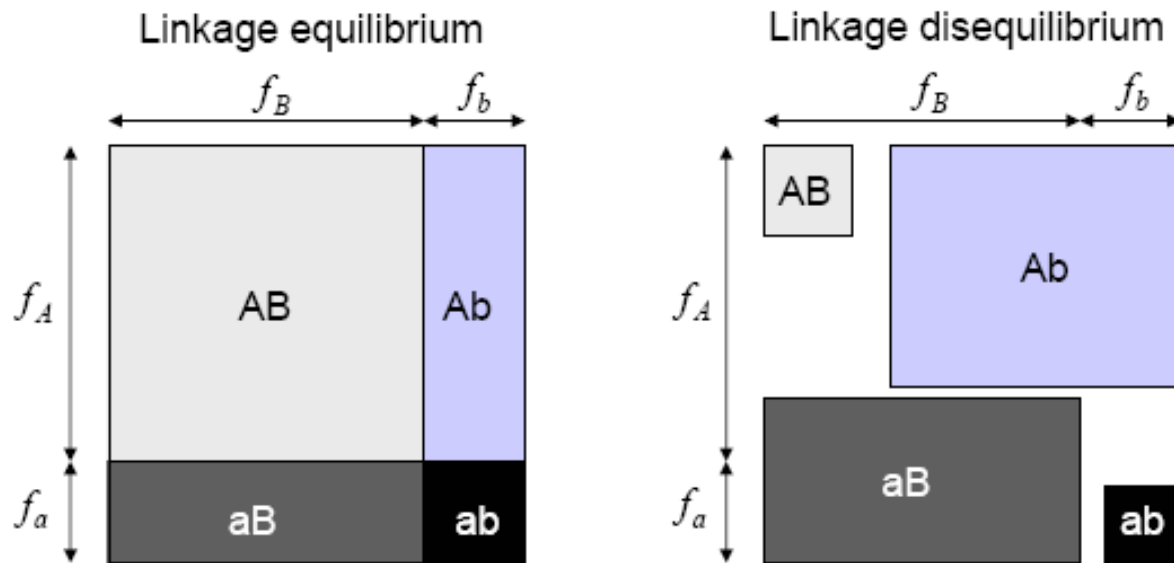
		Locus 2	
		T	C
Locus 3	G	3	3
	C	3	3

En déséquilibre complet = 1

À l'équilibre = 0

# Une mesure du DL

## Allelic associations and linkage disequilibrium



$$D_{AB} = f_{AB} - f_A f_B$$

$$= -D_{Ab} = -D_{aB} = D_{ab}$$

$r^2$  (Hill & Robertson, 1968)

$$r^2 = \frac{(D_{AB})^2}{p_A p_a p_B p_b}$$

McVean, 2001

# Variation du déséquilibre de liaison

## La mutation

La mutation est le phénomène évolutif qui va créer le polymorphisme qui pourra être en déséquilibre, c'est donc le moteur de la création du DL

## La sélection

La sélection sur un locus va pouvoir entraîner une augmentation locale du déséquilibre de liaison

Les **facteurs démographiques**, la dérive génétique, les goulots d'étranglement

La **recombinaison** est le facteur majeur de dissipation du déséquilibre de liaison

Chez les arbres forestiers, le déséquilibre de liaison est faible et décroît rapidement

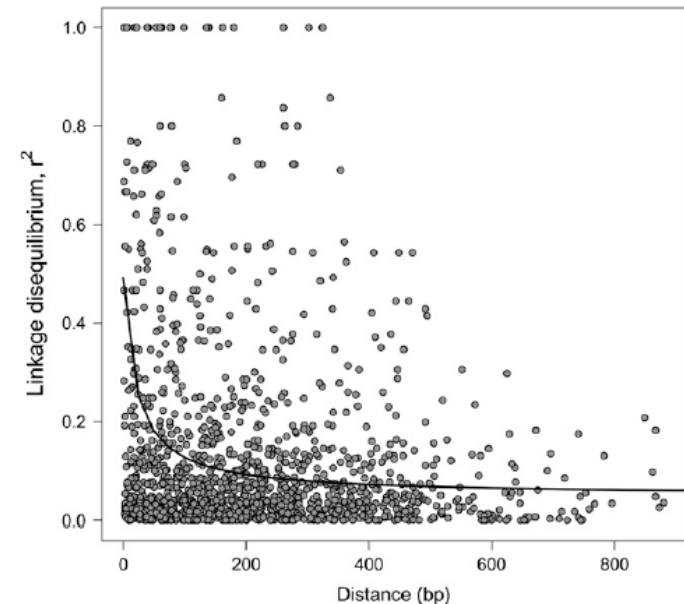
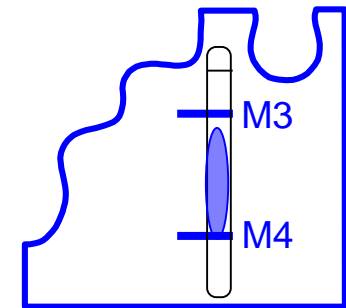
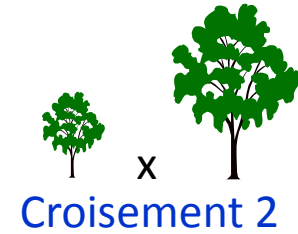
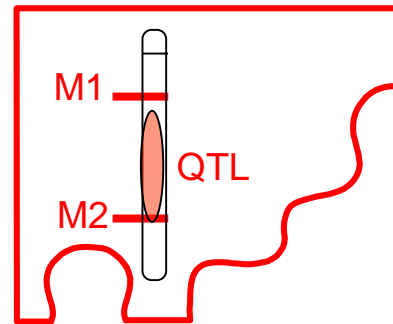
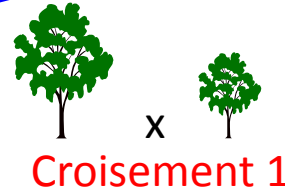
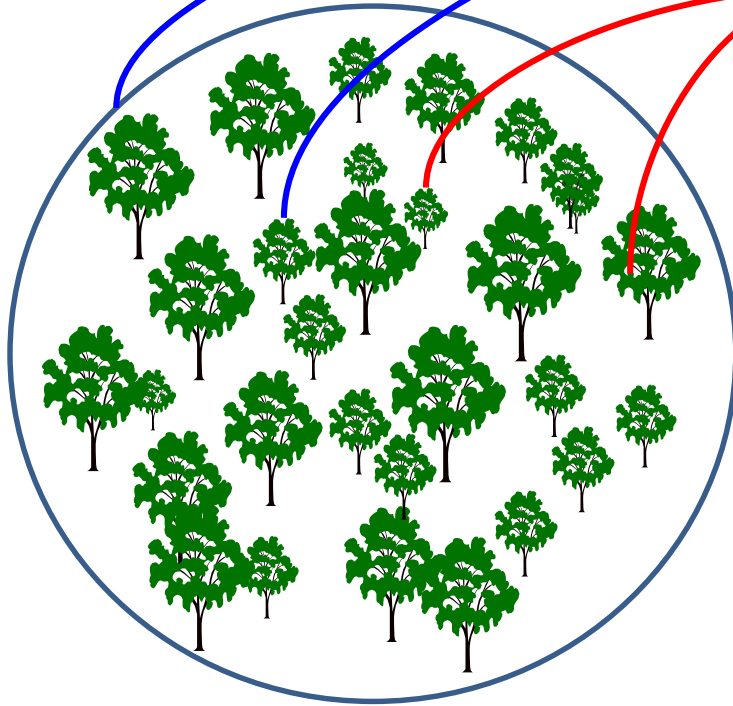


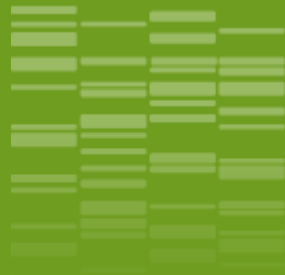
FIGURE 2.—Linkage disequilibrium (within genes) as a function of the distance between sites pooled across the 77 genes. The solid line is the theoretical expectation of  $r^2$  (from Equation 1 in INGVARSSON 2005b). Only mutations with frequencies exceeding 10% are included.

Ingvarson 2008

# Le DL et la liaison marqueur-caractère

Populations naturelles  
D'arbres forestiers

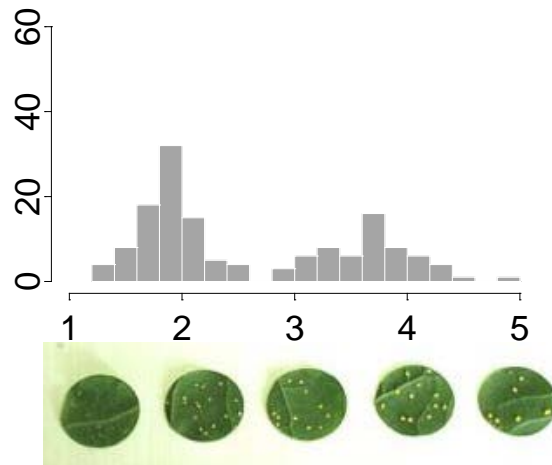
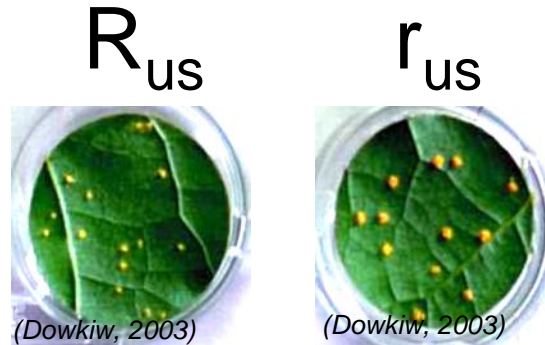




**\_06**

# Le clonage de gènes.

# Clonage d'un facteur majeur de résistance partielle



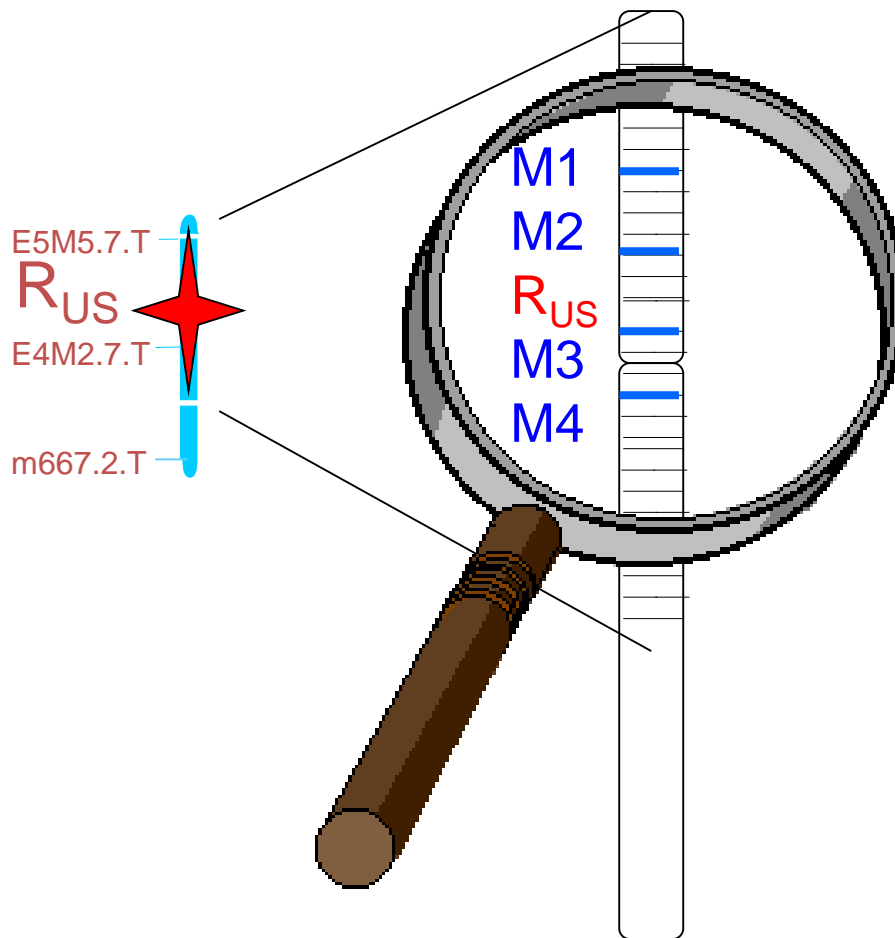
Quelle est la localisation précise et la nature de  $R_{US}$  ?



# 1- Préciser la localisation

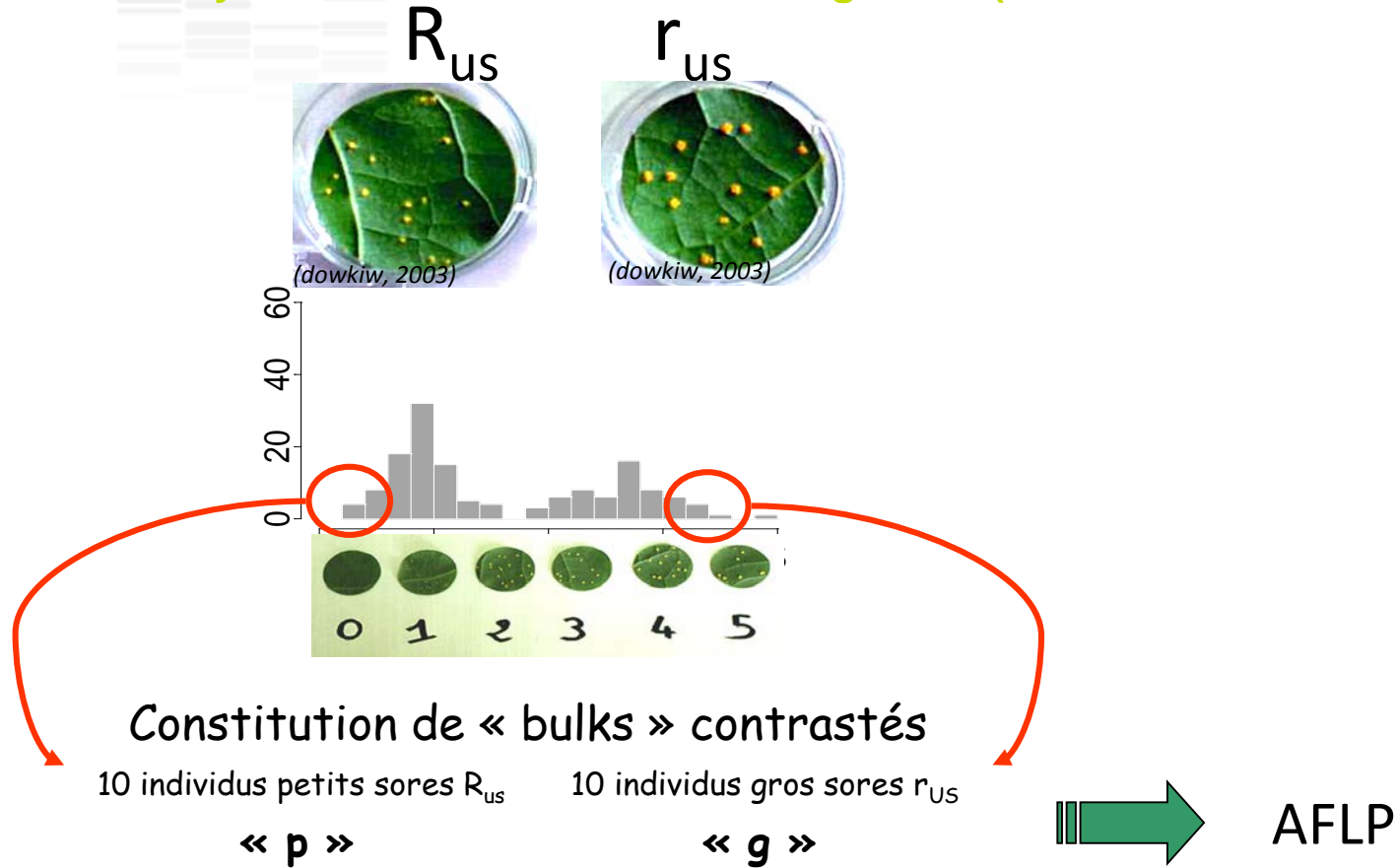
En ajoutant des repères (marqueurs) sur la carte génétique  
En augmentant le nombre d'individus dans la descendance

Analyse des descendants en mélange  
Cartographie fine



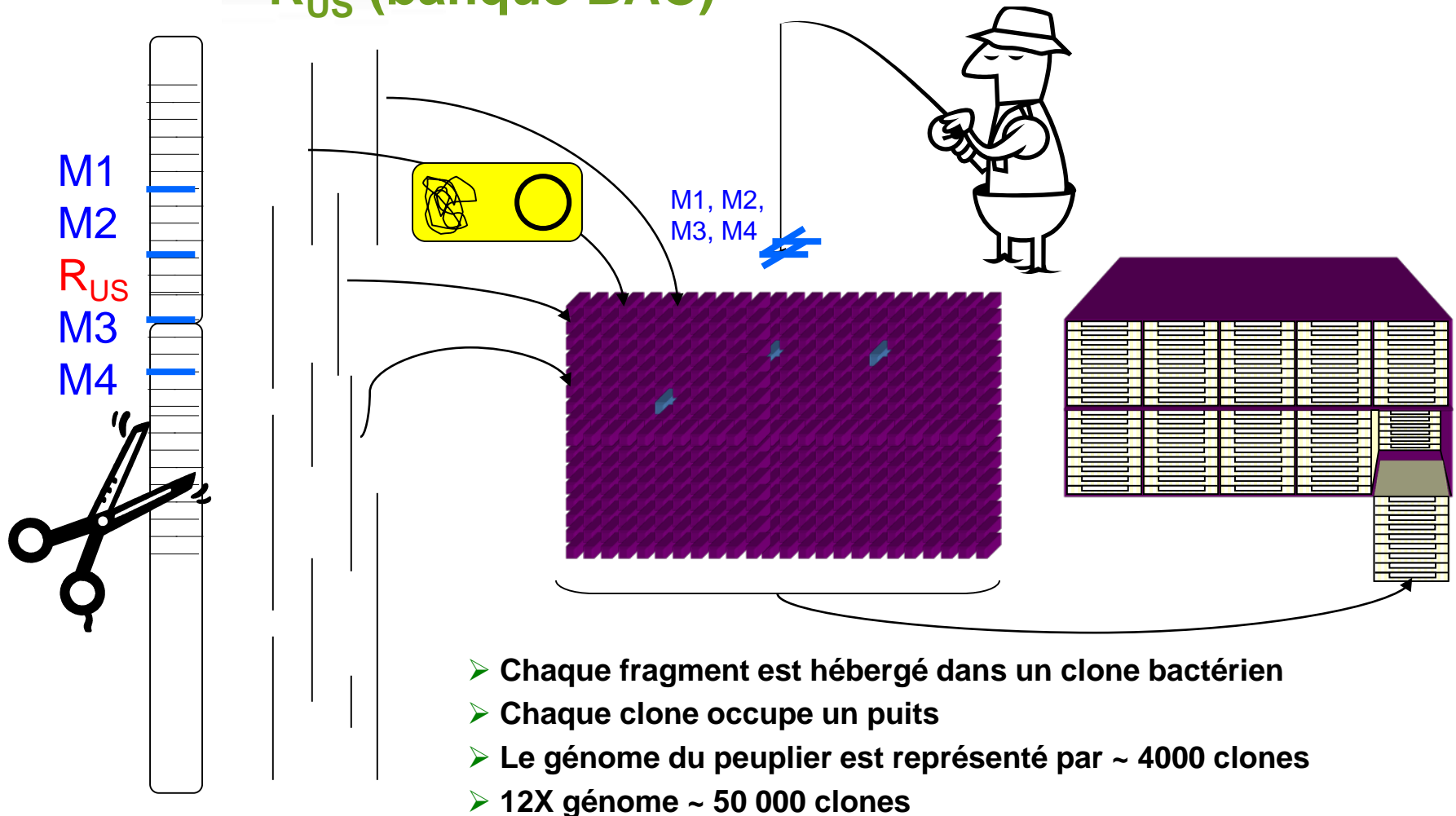
# 1- Préciser la localisation

Analyse des descendants en mélange BSA (Michelmore et al 1991)

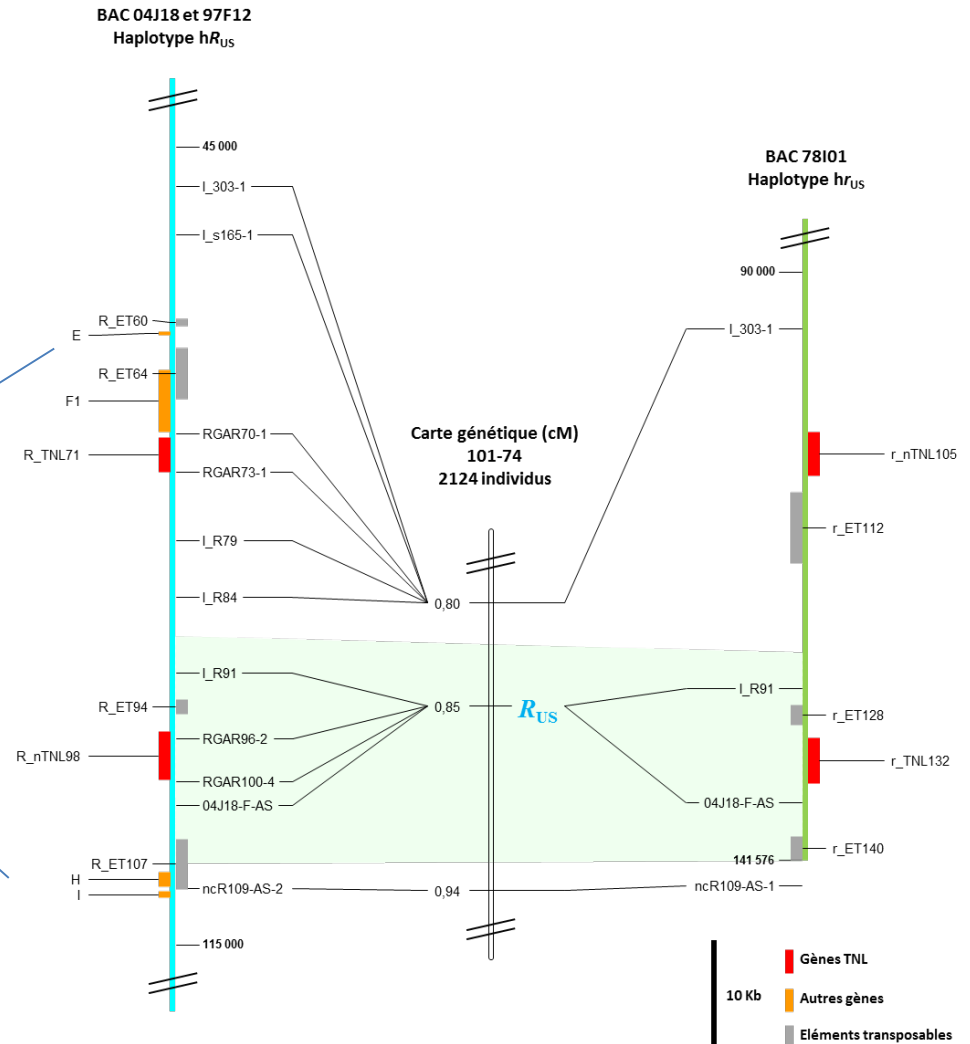
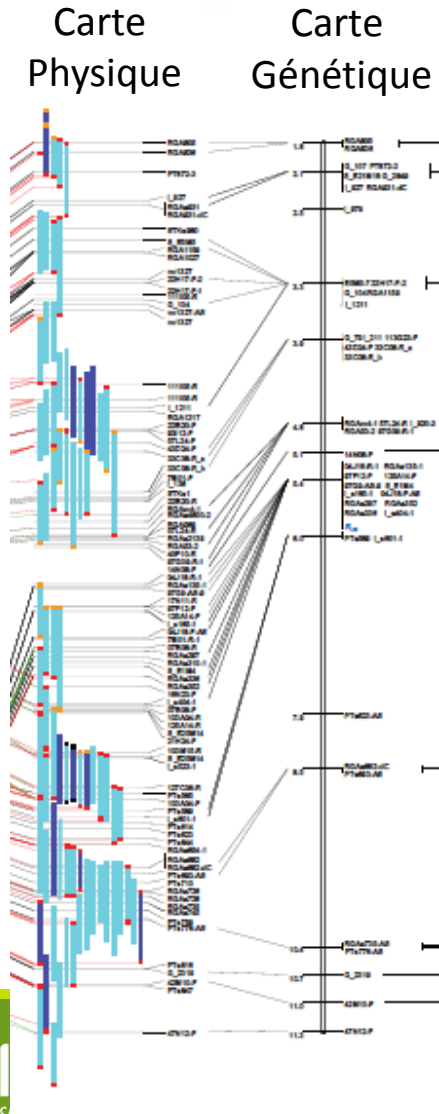


> Identification rapide de marqueurs liés à une région du génome

## 2 - Construction d'une collection de grands fragments du génome de l'individu porteur de $R_{US}$ (banque BAC)

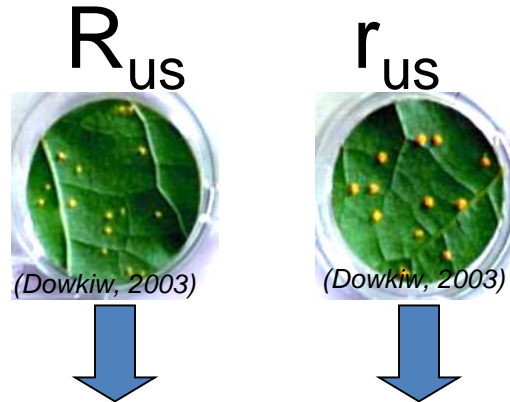


# 3- Identification et séquençage des fragments portant $R_{US}$



# Quelle est la fonction réelle de RUS ?

## - Etude de l'expression des gènes



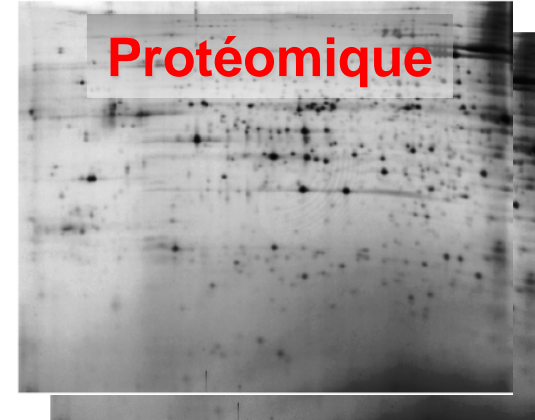
Extraction des ARN messagers et des protéines



High density filter (Kholer et al 2003)

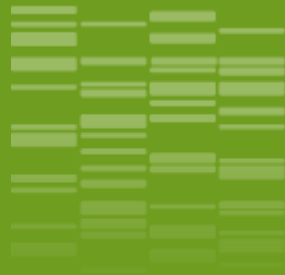
Analyse différentielle

« Gène candidats »



2D Electrophoresis, Poplar xylem  
(Pionneau et al 1998)

## - Validation fonctionnelle par transgènesè ...

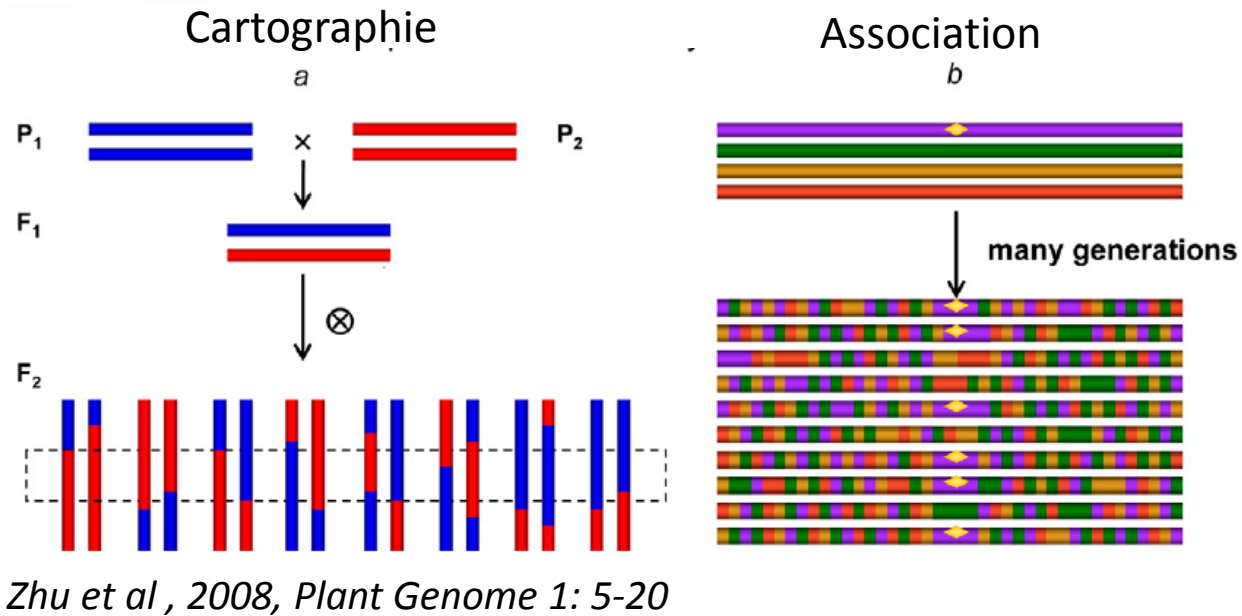


**\_07**

# La génétique d'association.

# La génétique d'association

Tester la liaison marqueur-caractère dans des populations naturelles



- Cribler plus d'allèles
- Plus de précision

- De nombreux marqueurs nécessaires
- Sensible à la structure/apparentement

# La génétique d'association

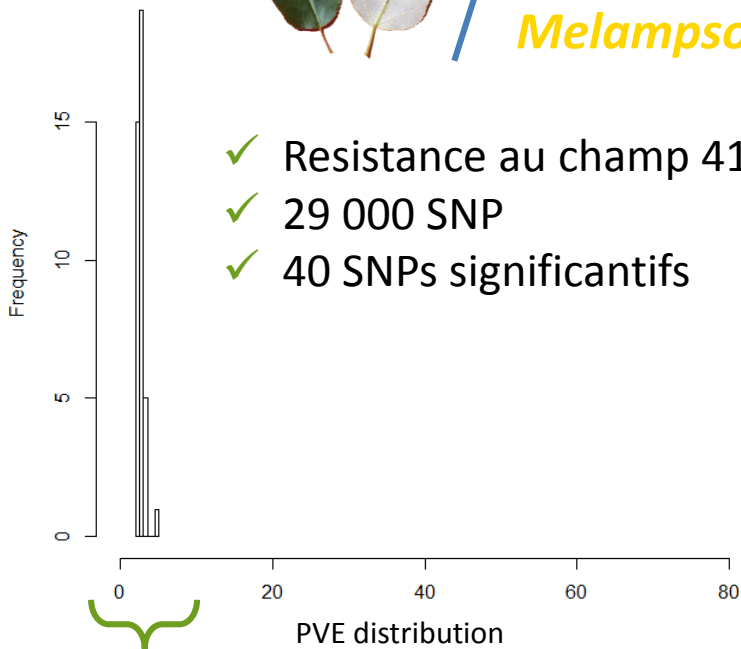
## Chez les peupliers



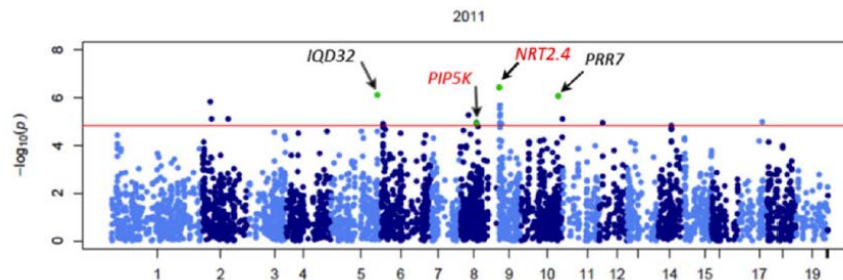
### Resistance à *Melampsora x columbiana*

LaMantia et al. PlosONE 2013

- ✓ Resistance au champ 412 *P. trichocarpa*
- ✓ 29 000 SNP
- ✓ 40 SNPs significatifs



! Pourcentage de  
variation expliquée (R2)





# Application de la Sélection Assistée par Marqueurs chez les arbres forestiers ?

Tree Genetics & Genomes  
DOI 10.1007/s11295-014-0790-5

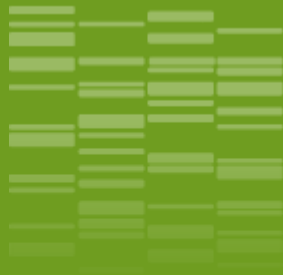
REVIEW

## Potential for marker-assisted selection for forest tree breeding: lessons from 20 years of MAS in crops

H. Muranty · V. Jorge · C. Bastien · C. Lepoittevin ·  
L. Bouffier · L. Sanchez

Perspectives ouvertes par la **sélection génomique** ...

<http://www.inra.fr/Chercheurs-etudiants/Dossiers/les-rencontres-du-SIA-2014/Rencontre-SIA-2014-selection-genomique>



Demain ...



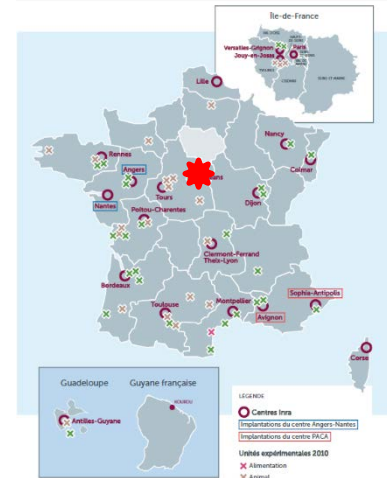
# Marqueurs moléculaires chez les arbres forestiers

Utilisation pour la caractérisation des ressources génétiques du peuplier noir



# Unité Amélioration Génétique et Physiologie Forestières

Dir. Gilles PILATE



3 équipes

Physiologie Moléculaire  
de la Formation du Bois

Prédiction et Gestion de la Diversité  
des Génomes et des Populations

Génétique et Physiologie  
de l'Adaptation

Plateforme Régionale Génobois



**Pôle Amélioration**

2 axes de recherche

Amélioration des connaissances sur l'élaboration du phénotype de l'arbre

Valorisation des ressources génétiques forestières

<http://www6.val-de-loire.inra.fr/uragpf>