

Architecture génétique des caractères cibles pour la culture du peuplier en taillis à courte rotation : identification de gènes candidats impliqués dans la composition chimique du bois par une approche QTL

Redouane EL MALKI

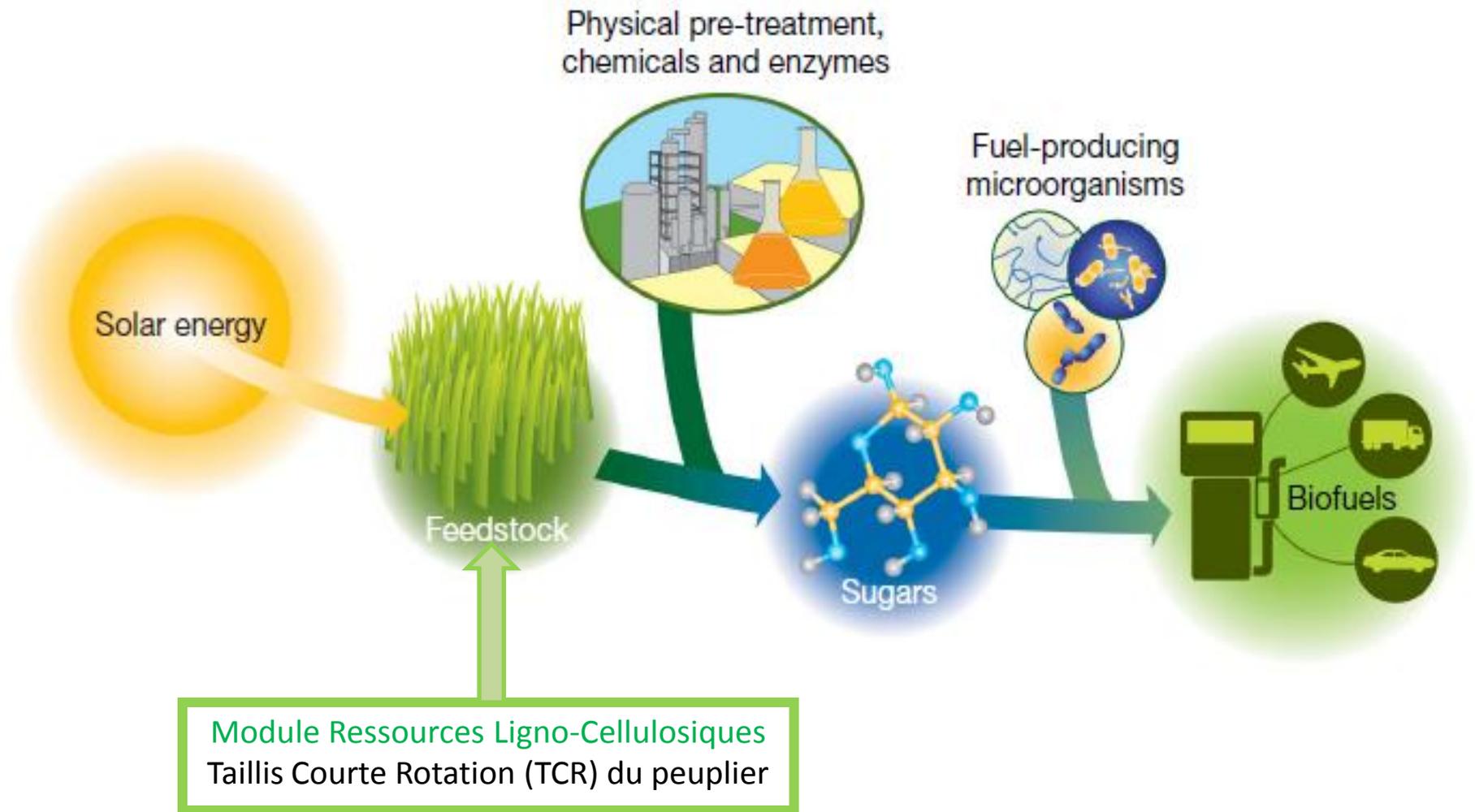
Directrice de thèse : Catherine Bastien

Co-encadrante : Véronique Jorge

Co-encadrant : Vincent Segura

Thèse des bois 05.07.12





Quelques chiffres

Le peuplier :

- Genre cultivé en UE depuis longtemps pour un objectif «bois d'oeuvre »
- Clones issus de programmes d'amélioration Hybrides *inter- et eur-américains* : *P. trichocarpa*, *P. deltoides*, *P. nigra*

Importance économique considérable :

- ~ 4 000 000 ha cultivés dans le monde
- 210 000 ha cultivés en France
- 3^{ème} essence feuillue en volume de bois récolté
- 950 ha de TCR et TtCR en France pour l'industrie papetière et/ou l'énergie
- Production de cèpée multi-tige (10 à 15 t MS/ha/an)



Problématique

➤ Prélèvements importants (par rapport à des peuplements forestiers classiques) :

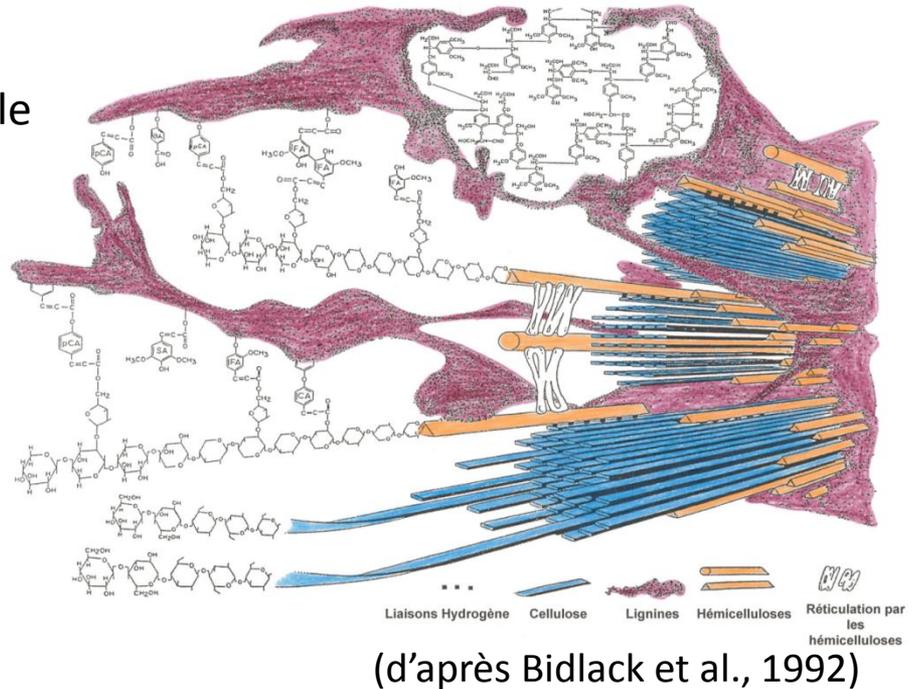
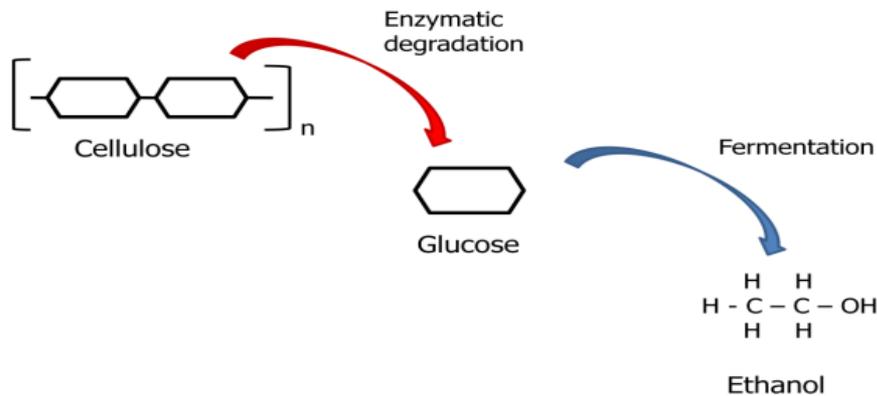
- Appauvrissement possible du milieu
- Nécessité d'optimiser et de maintenir la production tout en préservant le milieu

➤ Caractéristiques attendues du matériel végétal :

- Productivité juvénile et tolérance à la compétition
- Efficience d'utilisation de l'eau et de l'azote
- **Adaptation : tolérance aux maladies**
- **Qualité intrinsèque du matériau bois**
 - * Propriétés physiques du bois (densité, angles des microfibrilles)
 - * Teneur en bois de tension
 - * ***Composition chimique du bois : teneur en cellulose, lignines***

Composition chimique du matériau bois

Cellulose : polymère de glucose fermentescible



(d'après Bidlack et al., 1992)

Lignines : accessibilité réduite à la cellulose

Chen et Dixon, 2007 : Modification de la teneur en lignines dans des peupliers transgéniques => modification du rendement en saccharification.

Studer et al., 2011 : Variabilité des teneurs en lignines et de la qualité des lignines (S/G) dans des populations naturelles *P. trichocarpa* => variabilité dans la libération des sucres

Un important réservoir de variabilité génétique naturelle

Composition chimique du bois de quelques essences végétales (d'après Sannigrahi et al., 2010)

	Monterey Pine	Eucalyptus	Peuplier	Switchgrass	Cannes de maïs
Cellulose	42	48	42 - 49	34	37
Hémi-cellulose	21	13	17 - 23	27	24
Lignine	26	26	21 - 29	17	18

Les teneurs sont exprimés en pourcentage massique de la matière sèche

Variabilité pour le contenu en lignine, 16 à 28 % chez *P. trichocarpa* (Studer et al., 2011)

Une étude pour l'industrie papetière sur des clones de peuplier :
Variabilité pour le contenu en cellulose 48 à 56 % (75 clones de 3 ans)
Variabilité pour le contenu en lignine 21 à 25 % (20 clones de 8 ans)
(Vallette et Choudens, 1992)

Objectifs

Compléter les connaissances disponibles sur la **variabilité génétique** et le **déterminisme génétique** de la composition chimique du bois chez *P. nigra*

Développer des **Marqueurs (moléculaires et phénotypiques)** pour caractériser le potentiel des **ressources génétiques** actuelles permettant ainsi une **sélection efficace**

Démarche

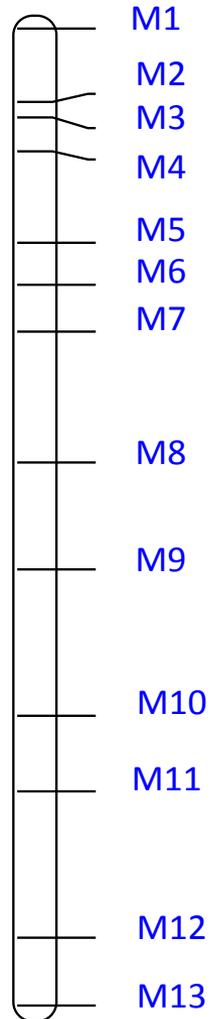
Phénotypage

Méthode indirecte pour le phénotypage à haut débit



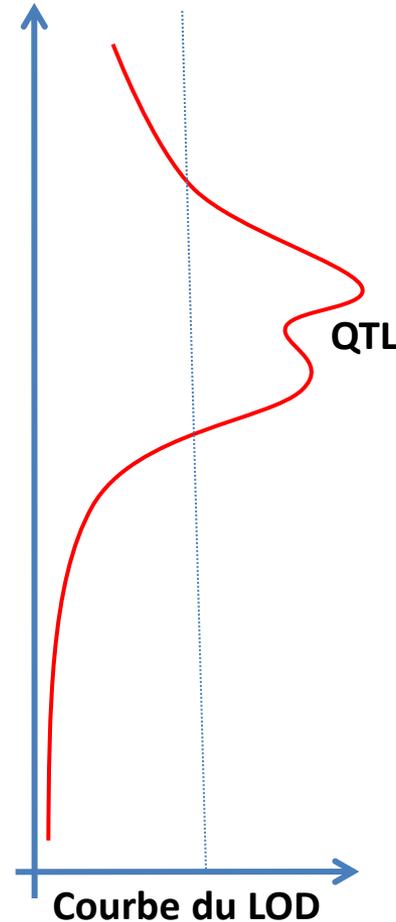
Carte génétique

Jalonner le génome de marqueurs moléculaires



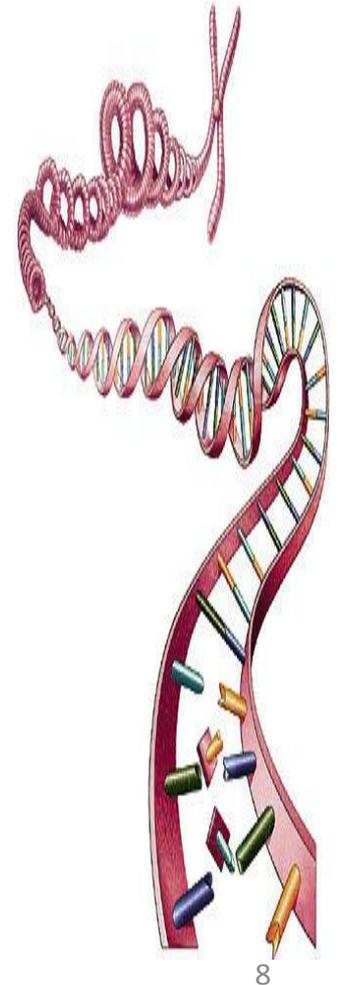
Cartographie QTL

Association statistique entre le changement d'un phénotype et la variation d'un marqueur



Déterminisme génétique

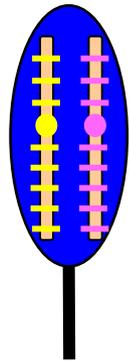
Ancrage sur génome de référence



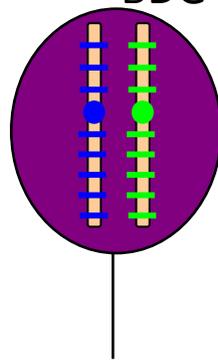
Matériel d'étude : un pedigree de cartographie et réalisation de carte génétique

Croisement

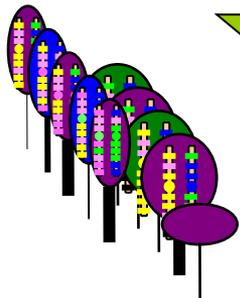
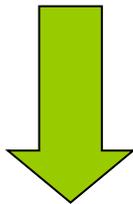
♀ Mère
P. nigra
71072-501



♂ Père
P. nigra
BDG



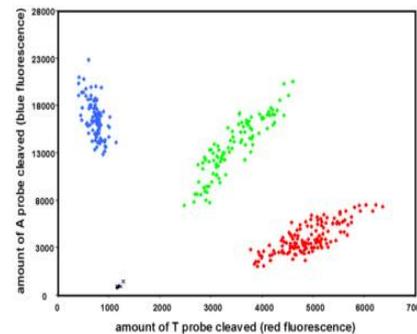
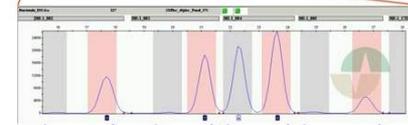
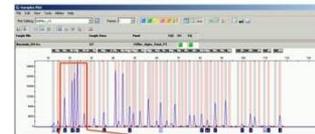
Polymorphisme



324 descendants

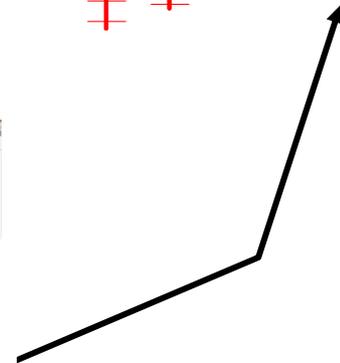
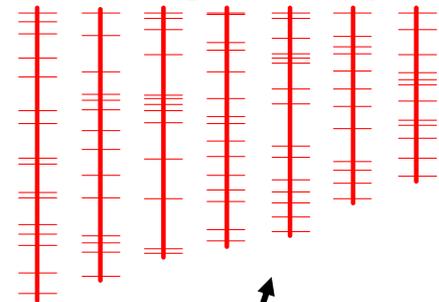
Génotypage

Lecture et codage



~300 marqueurs

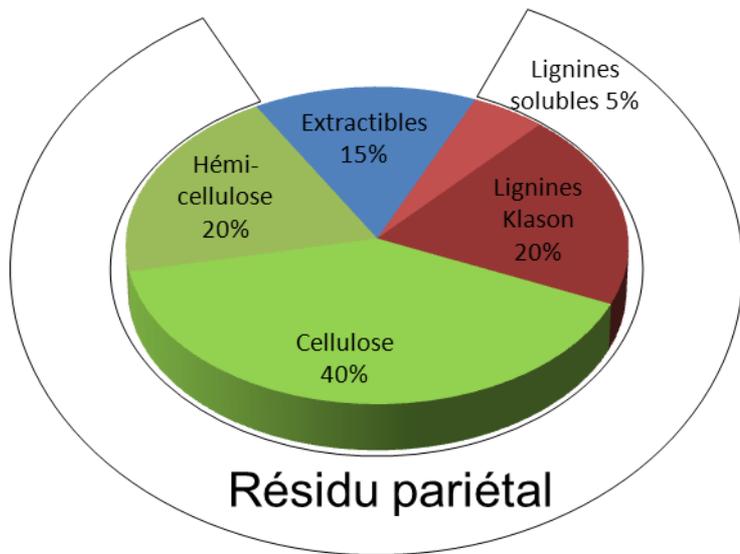
Carte génétique



Phénotypage de la qualité du bois

Composition chimique

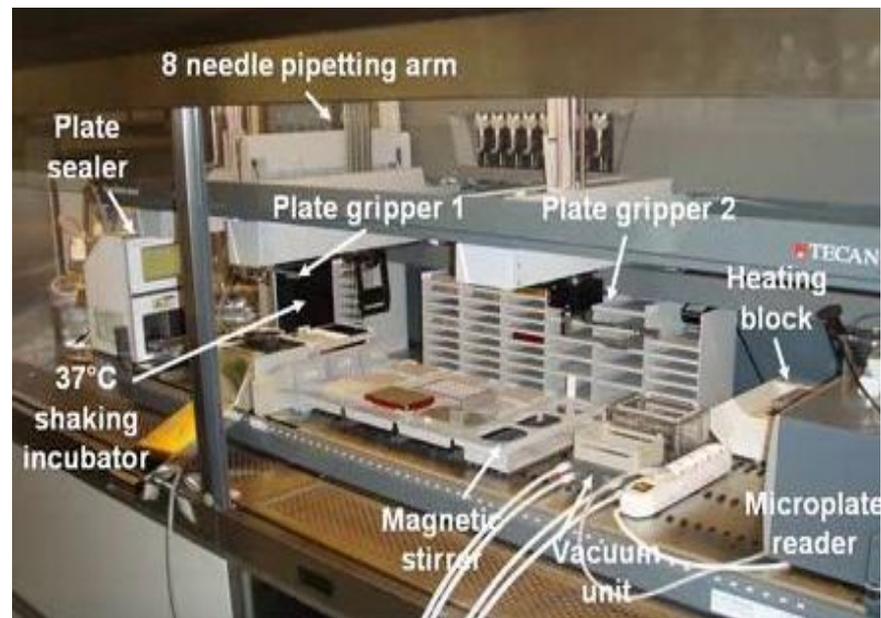
- Préparation du résidu pariétal
- Lignine Klason et lignine soluble
- Holo-celulose = matière sèche totale – (lignine totale + extractibles)



Jean Paul Charpentier
Kevin Ader

Saccharification

- Dosage des sucres et du glucose soluble avant et après hydrolyse enzymatique



Navarro et al., 2010



Biotechnologie des Champignons Filamenteux
Jean Guy Berrin
David Navarro

Phénotypage de la qualité du bois haut débit

Spectrométrie Proche InfraRouge : méthode **indirecte** de phénotypage



479 échantillons
de 2 ans

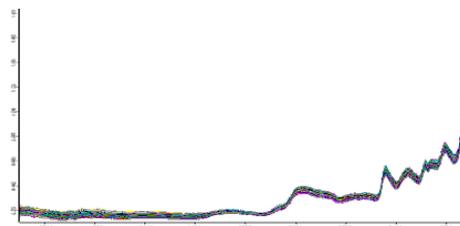
Pedigree F1

Modèles de
calibration

Phénotypes
prédits



Acquisition des spectres



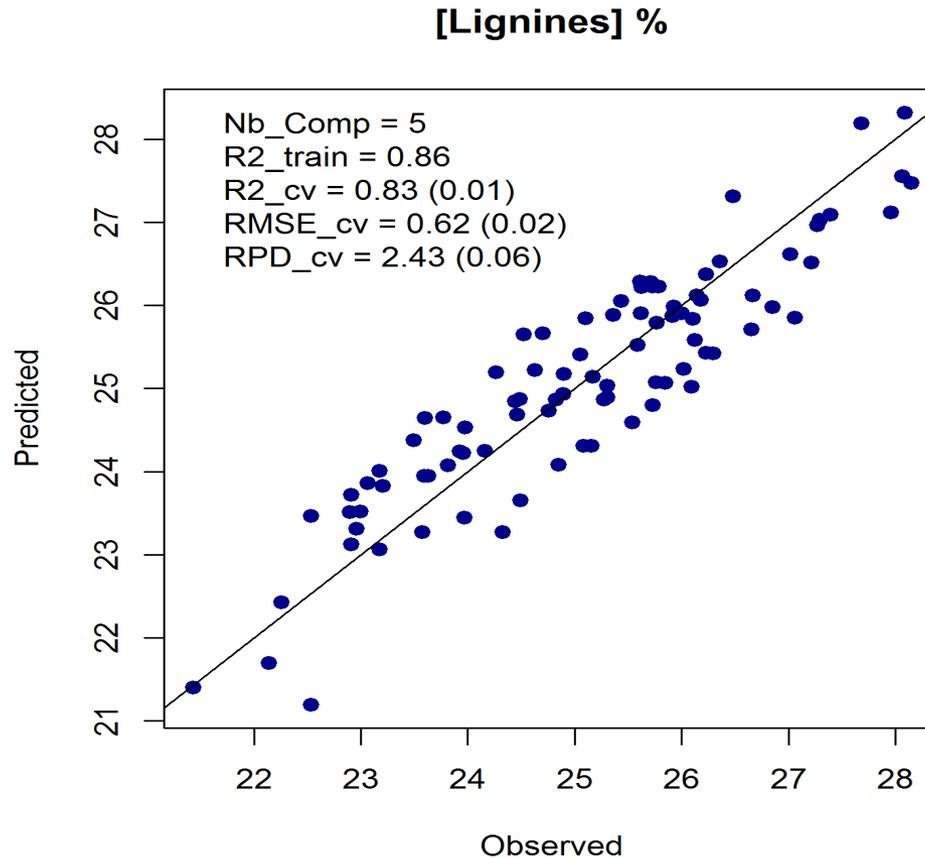
Lot d'étalonnage
100 échantillons
les plus **représentatifs** de
la gamme de variabilité
spectrale

Dosages avec les méthodes
de référence : taux de lignine,
holocellulose et sucres

Equation
prédictive

$$y = \sum x_v \beta_v + \varepsilon$$

Modèles de calibration

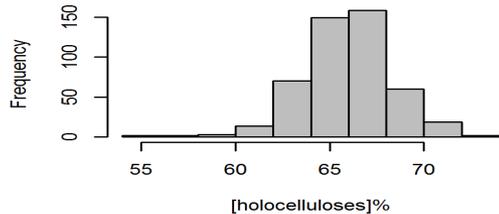
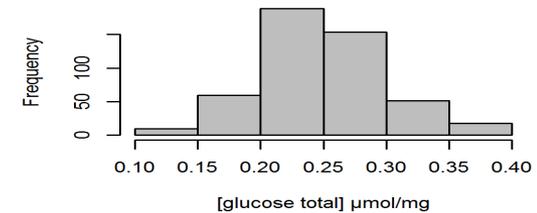
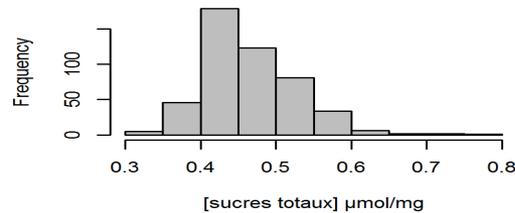
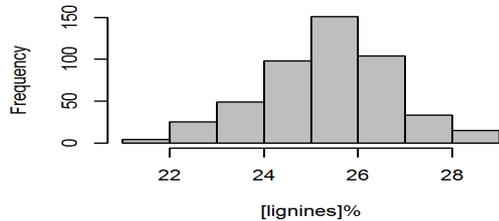
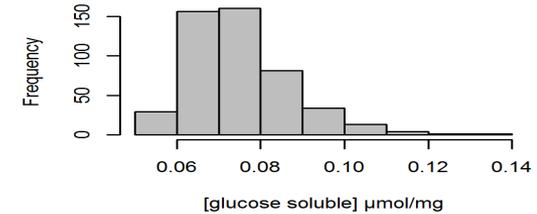
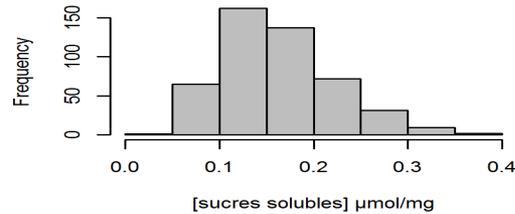
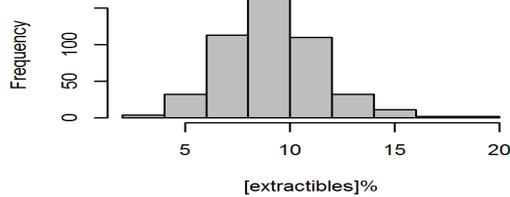


Modèles de calibration établis pour 14 caractères :

Nombre de composantes varie entre 4 et 6

R2 de validation croisée varie de 0,78 et 0,88

Variabilité des caractères prédits dans le pedigree



Gamme de variabilité des sucres en µmol/mg :

Sucres solubles [0,032 – 0,38]

Glucose soluble [0,05 – 0,13]

Sucres totaux [0,33 – 0,77]

Glucose total [0,11 – 0,39]

Gamme de variabilité des constituants du bois en % de MS

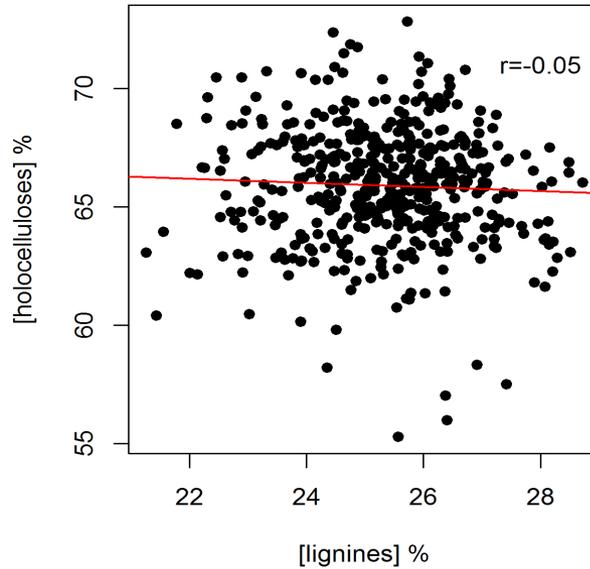
Extractibles [3 - 18]

Lignines [21 - 28]

Holo-cellulose [55 - 73]

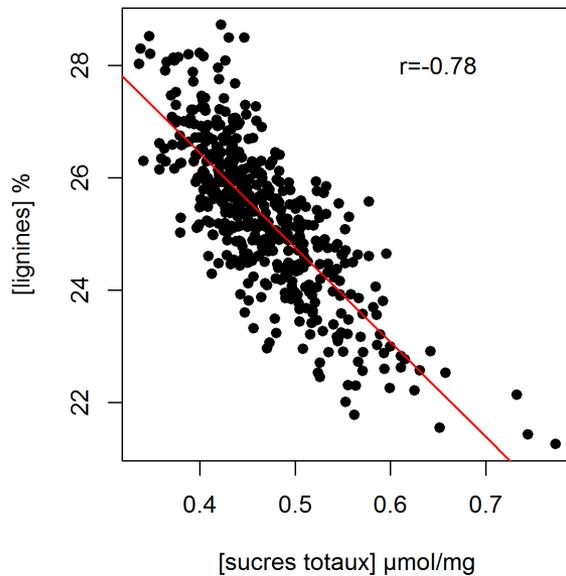
- **Héritabilité** au sens large varie entre 0,48 et 0,75 (élevée par rapport à la littérature, Novaes et al., 2009)
- La **variabilité** est **d'origine génétique** -> intérêt pour la **sélection**
- Possibilité de détecter des **QTLs**

Corrélations entre caractères prédits

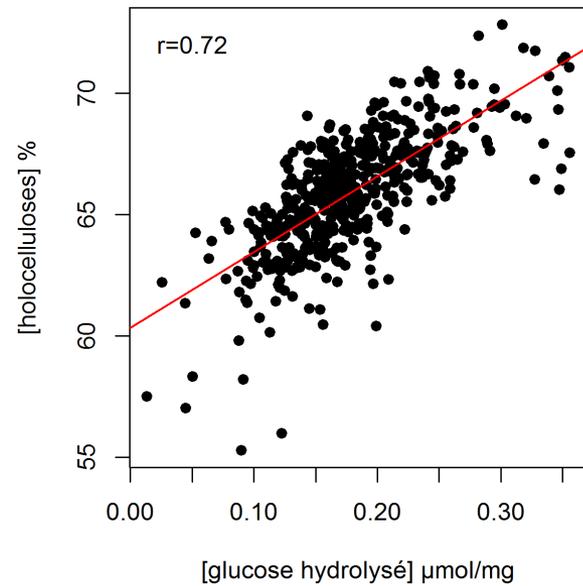


Pas de liaison entre la teneur en lignine et la teneur en holo-cellulose

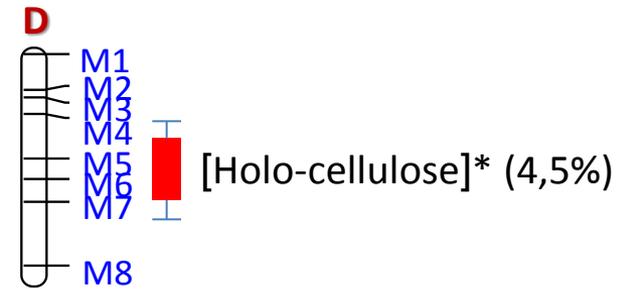
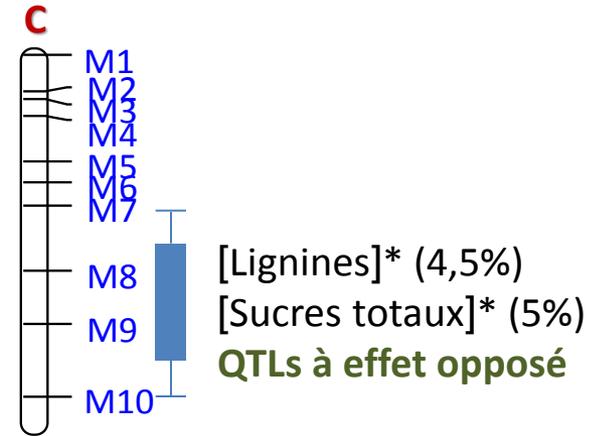
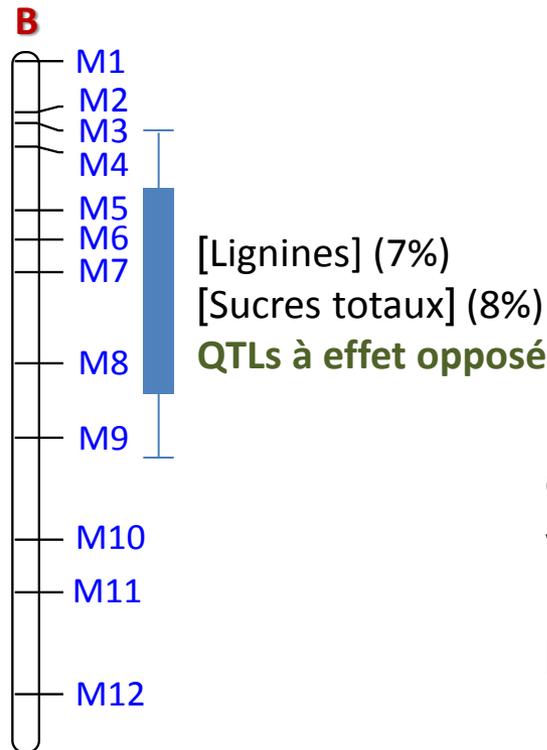
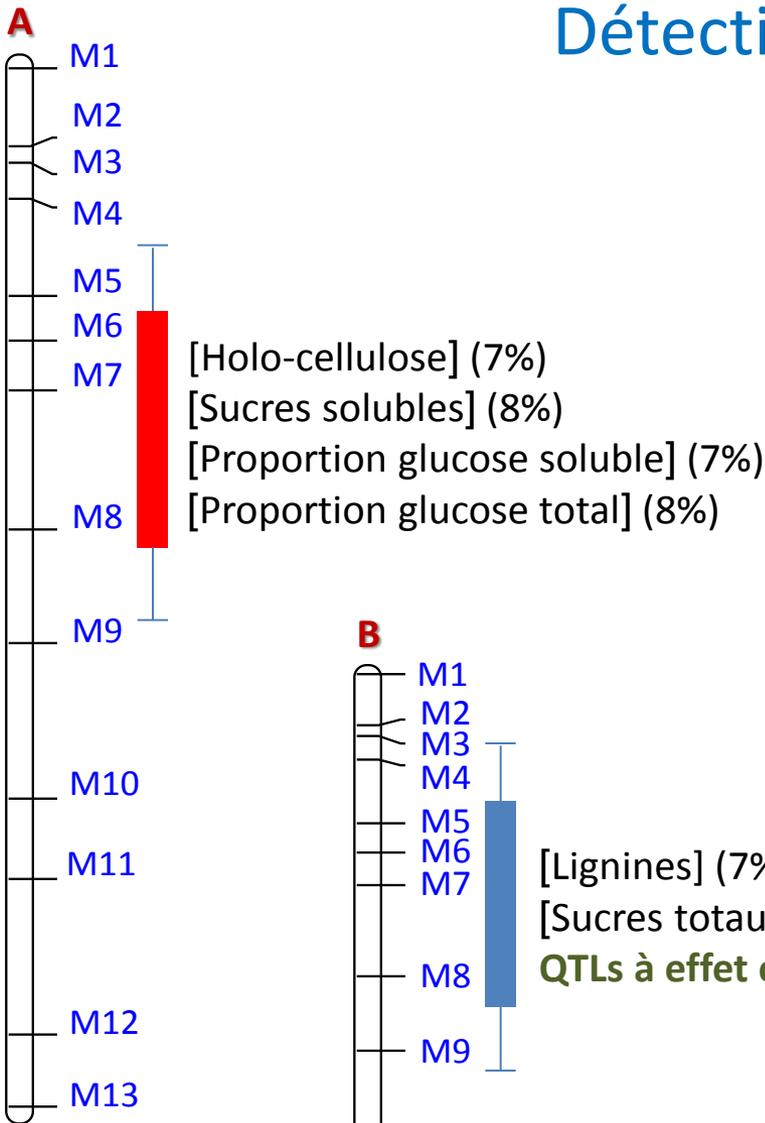
La teneur en lignines est corrélée négativement avec la quantité des sucres totaux (solubles et hydrolysés)



La teneur en holo-cellulose est corrélée positivement avec la teneur du glucose hydrolysé



Détection de QTL



* Détekté uniquement sur la carte femelle

QTLs expliquent une faible part de variance / valeurs d'héritabilité

Déterminisme génétique complexe

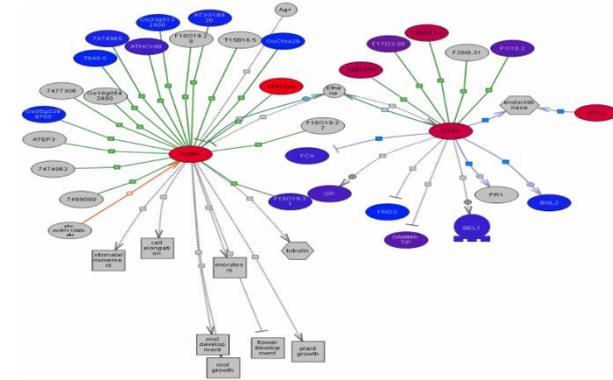
Synthèse

- Intérêt du phénotypage à haut débit :
 - => Du SPIR à la composition chimique du bois et le rendement de la saccharification
- Variabilité génétique et valeurs d'héritabilité élevées pour l'ensemble des caractères
 - => QTLs à effet faible
 - => Architecture génétique complexe
- Les corrélations observées entre les variables ont du sens
- Les QTLs des lignines et sucres totaux ont des effets opposés confirmant la corrélation négative observée et l'antagonisme entre la teneur en lignines et le rendement de la saccharification

Perspectives

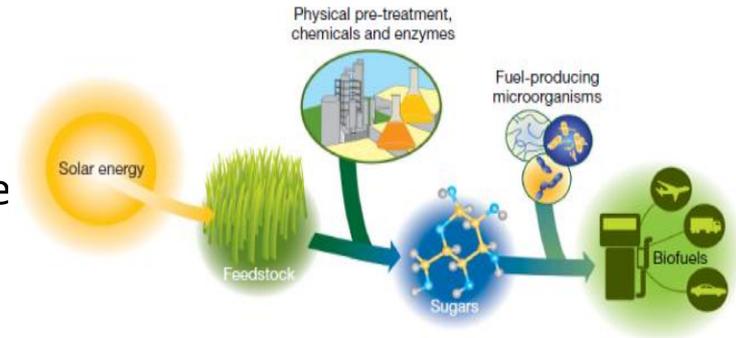
- Pour la thèse :

- Analyse des gènes sous jacents les QTLs par ancrage sur génome de référence
- Modèle de calibration en cours de validation



- Pour le projet Futurol :

- Effet du pré-traitement :
 - ✓ QTLs [lignines] à confirmer
 - ✓ QTLs [holo-cellulose] pas remis en cause



- Pour l'amélioration génétique du peuplier :

- Phénotypage haut débit via SPIR
 - Absence de corrélation Lignine / Holo-cellulose
- => QTLs différents, intéressant pour amélioration génétique car il serait possible de sélectionner pour les 2 caractères simultanément
- Étendue de la gamme de variabilité dans plusieurs fonds génétiques



	Pt	Pd	Pn
Pt	○	○	○
Pd	○	○	○
Pn	✗	○	○



Remerciements

❑ FUTUROL PROCETHOL 2G



❑ INRA UAGPF Unité d'amélioration génétique et physiologie forestière



❑ Plateau technique Génoboïs



❑ INRA UMR 1163 de Marseille
Biotechnologie des Champignons
Filamenteux



Merci de votre attention