

Xylomic

au service des recherches sur
le bois, l'arbre et la forêt.

Rémy Petit & Camille Lepoittevin



Xylomic



Une des 6 plateformes de **Xyloforest**
Fait le lien forêt-arbre-bois-fibre

Deux unités impliquées :

- UMR BIOGECO (INRA & Univ. Bordeaux 1)
- UR AGPF (INRA Orléans)

Forêt

Arbre

Bois

Fibre



Contexte



Variations de
l'**environnement**

Génotypes, base des programmes
d'**amélioration génétique**



Bois



Cernes d'accroissement,
comprendre la
croissance

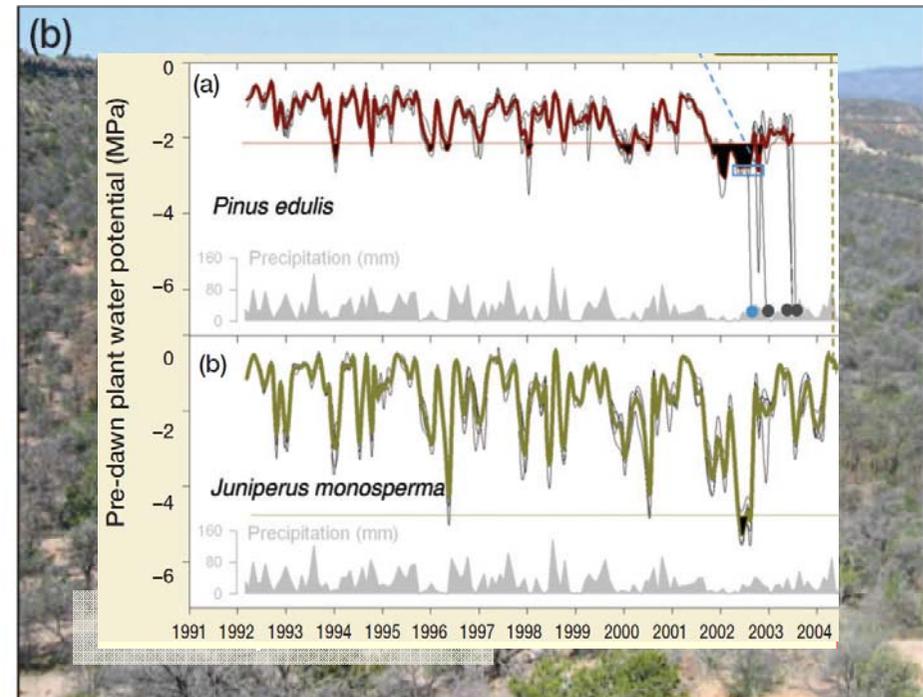
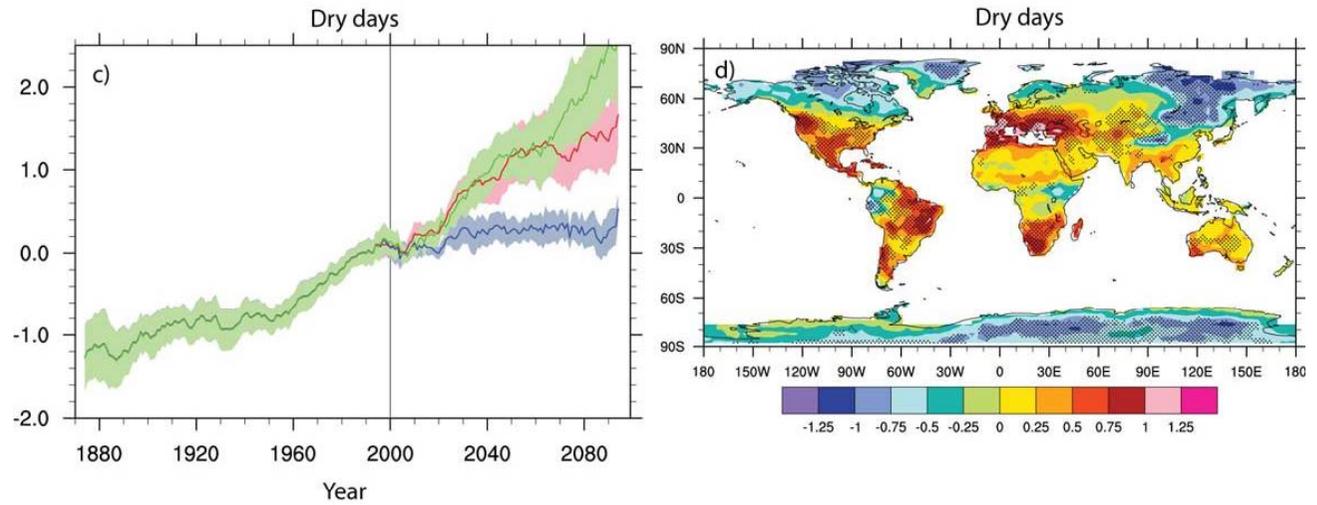


Résistance à la cavitation,
comprendre la tolérance à la
sécheresse

Le contexte



Le contexte



Breshears et al 2009 ; Allen et al 2010

Objectifs



Comprendre :

- les déterminants **environnementaux** et **génétiques** de la variabilité du bois.
- les processus **biologiques** et **écologiques** impliqués dans l'élaboration du bois.

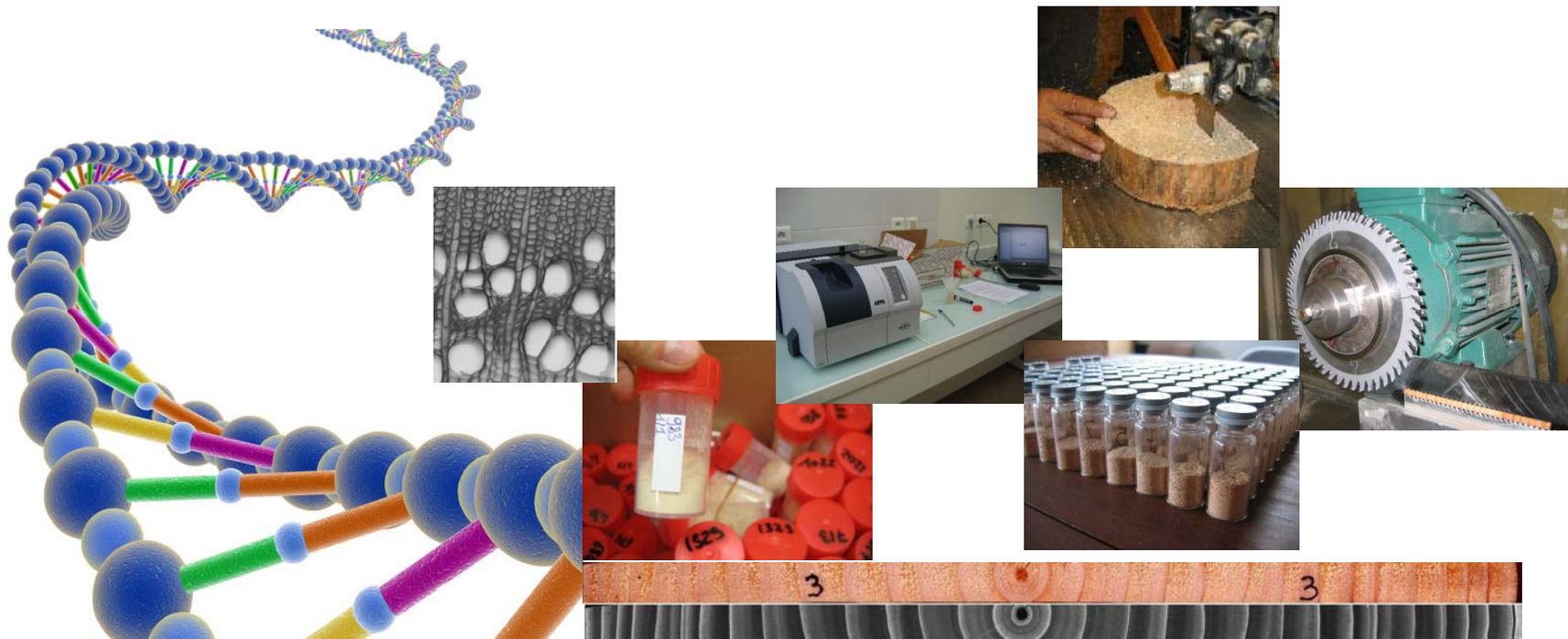
Identifier des **génotypes** performants pour la sylviculture, en se basant sur le programme d'**amélioration** à long terme.



L'ambition de **Xylomic**



Construire une **plateforme technique** de classe mondiale sur la génomique des arbres et le phénotypage fin des propriétés du bois et du fonctionnement des arbres.



Objectifs spécifiques



- **Analyses génomiques :**

- **Projet Génome-Transcriptome :**



- extraction d'ADN (>10,000 individus), génotypage robotisé,
 - séquençage 3^{ème} génération

- **Analyses phénotypiques :**

- **projet Genobois :**

- propriétés chimiques (SPIR),
 - micro-densitométrie (Rayon X),
 - xylologie, dendroécologie à haut débit



- **projet Caviplace :**

- résistance à la sécheresse par étude de la cavitation







**Unité Expérimentale
de l'Hermitage**

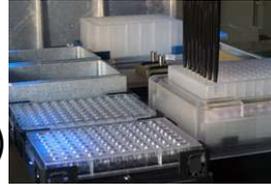


**Unité Expérimentale
de l'Hermitage**

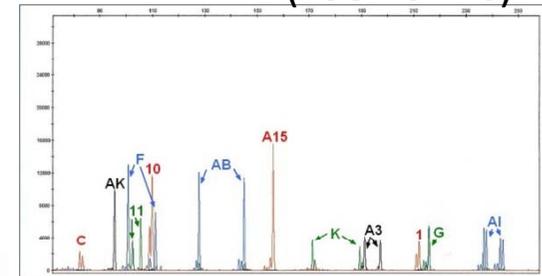


**Unité Expérimentale
de l'Hermitage**

- Extraction d'ADN végétal
- PCR, qPCR, robots pipeteurs
- Génotypage SNP (BeadXpress, Illumina)
- Génotypage microsatellites :
- 40.000 individus génotypés en 2009, 50.000 en 2010
- Bioinformatique associée



>10.000
individus en
2010
(x384 SNPs)



- Spécificité : - haut-débit d'analyses,
- faible taux d'erreurs
- Plateau technique au cœur du Réseau d'Excellence Européen EVOLTREE



- Perspectives :
 - Nouveaux locaux
 - EquipEx



- Extraction automatisée d'ADN
- PCR, robots pipeteurs
- Séquençage Sanger
- Recherche de mutations
- Dosage génique
- Très bonne implantation locale (nombreux utilisateurs ; 40.000 séquences en 2008, 45.000 en 2009)
- Séquençage nouvelle génération →
- Bioinformatique associée



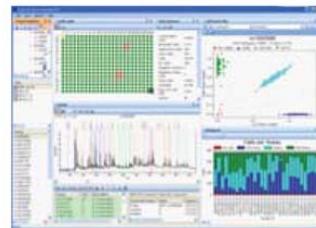
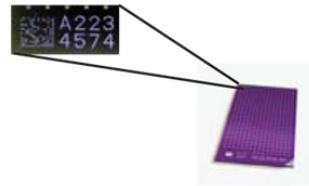
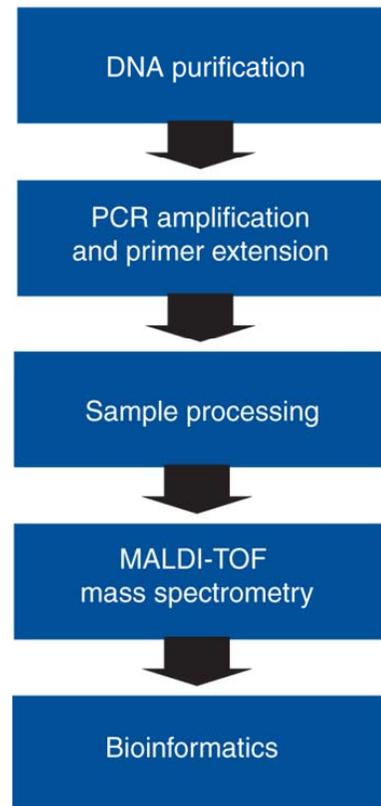
Carreire



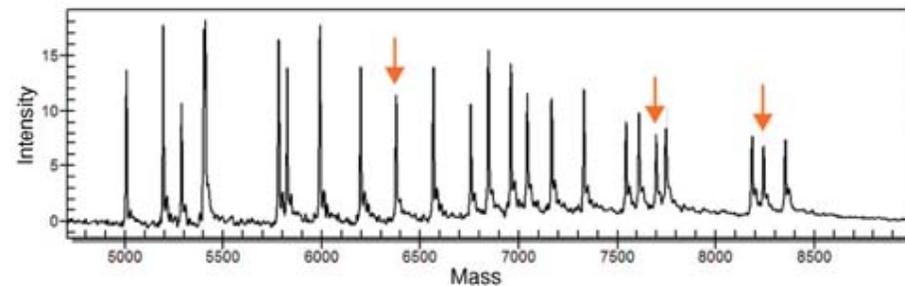
Genome Analyzer
d'Illumina

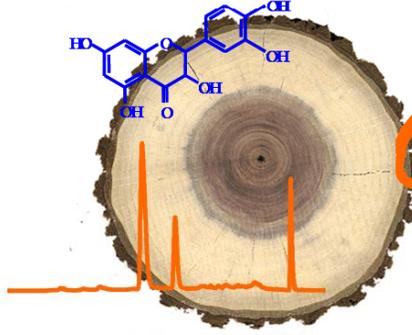


Nouveaux équipements

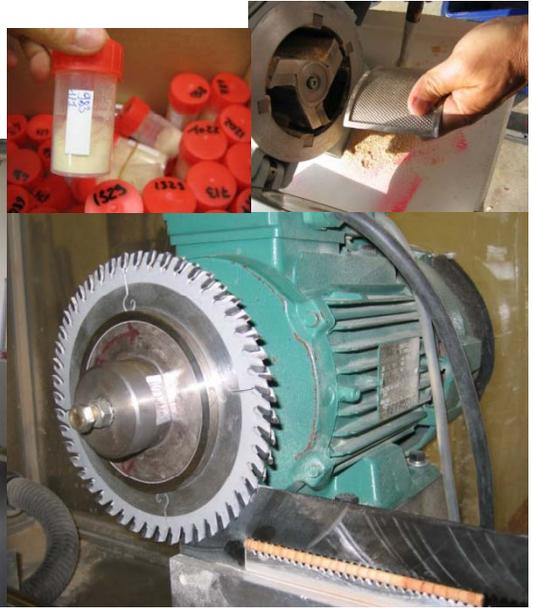


- ✓ Système de génotypage *haut débit* (>3000 génotypes/jour)
- ✓ Reconstruction de pédigrées, traçabilité, SAM





GENOBOTS



La structure GénoBois

✓ 2 sites : INRA Orléans – INRA Bordeaux Pierroton

✓ 3 unités de rattachement :

- o AGPF
- o BIOGECO
- o UE GBFor Orléans

✓ 4 entités d'expérimentation :

- o Laboratoire d'Analyses Biochimiques
- o Atelier Bois Ardon
- o Atelier Qualité du Bois Pierroton
- o Laboratoire d'Histologie



Les prestations : Laboratoire de Biochimie

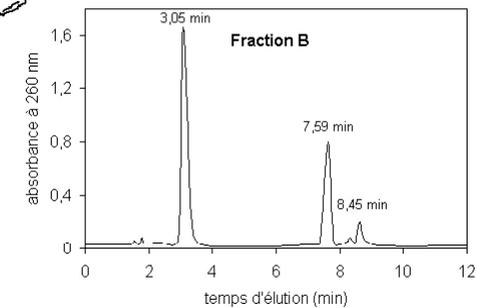
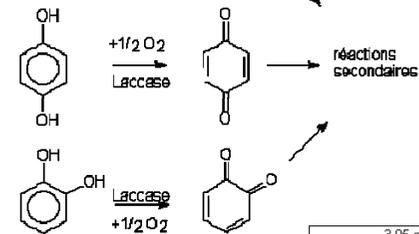
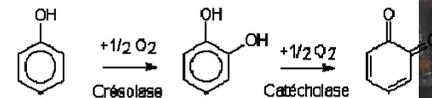
- **Extractions :**

- Polyphénols sur bois + tout organe plante
- Sucres solubles

- **Dosage et analyse polyphénols :**

- HPLC
- DO 280 nm (Polyphénols totaux)
- Réactif Folin (Polyphénols totaux)
- Réactif DMACA (Flavanols)

- **Dosage des sucres solubles** (méthode enzymatique)



Les prestations : Ateliers Bois Ardon et QB

- **Préparation d'échantillons**

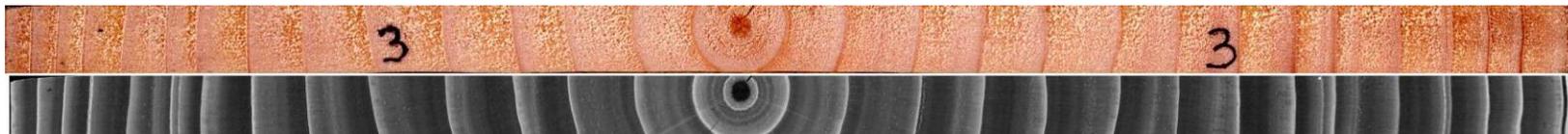
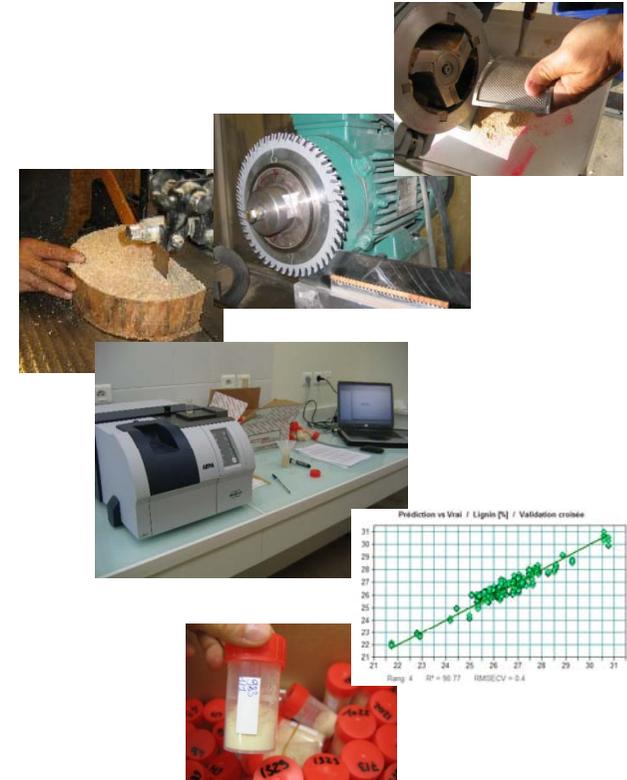
- Découpe / sciage
- Polissage et broyage
- Préparation de cubes normalisés pour les études de retrait

- **Spectrométrie PIR :**

- Acquisition de spectres PIR
- Mise au point de modèles de calibration pour l'évaluation indirecte de la composition chimique du bois

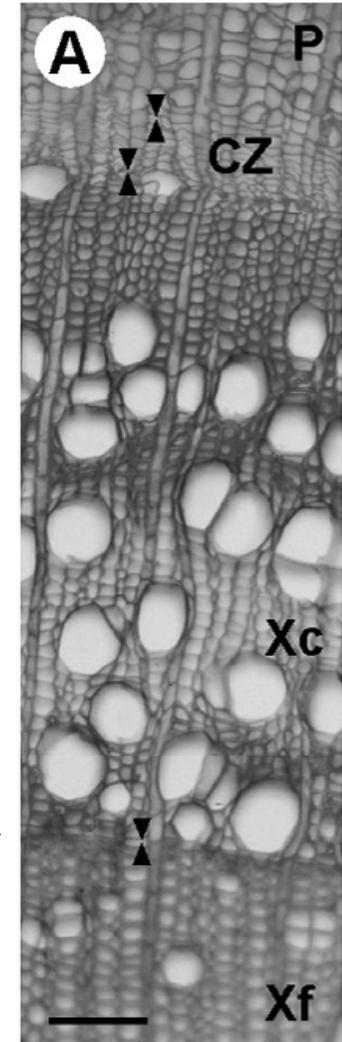
- **Microdensitométrie :**

- Dérésinage de planchettes et radiographie RX
- Analyse d'images sous Windendro, acquisition des profils microdensitométriques

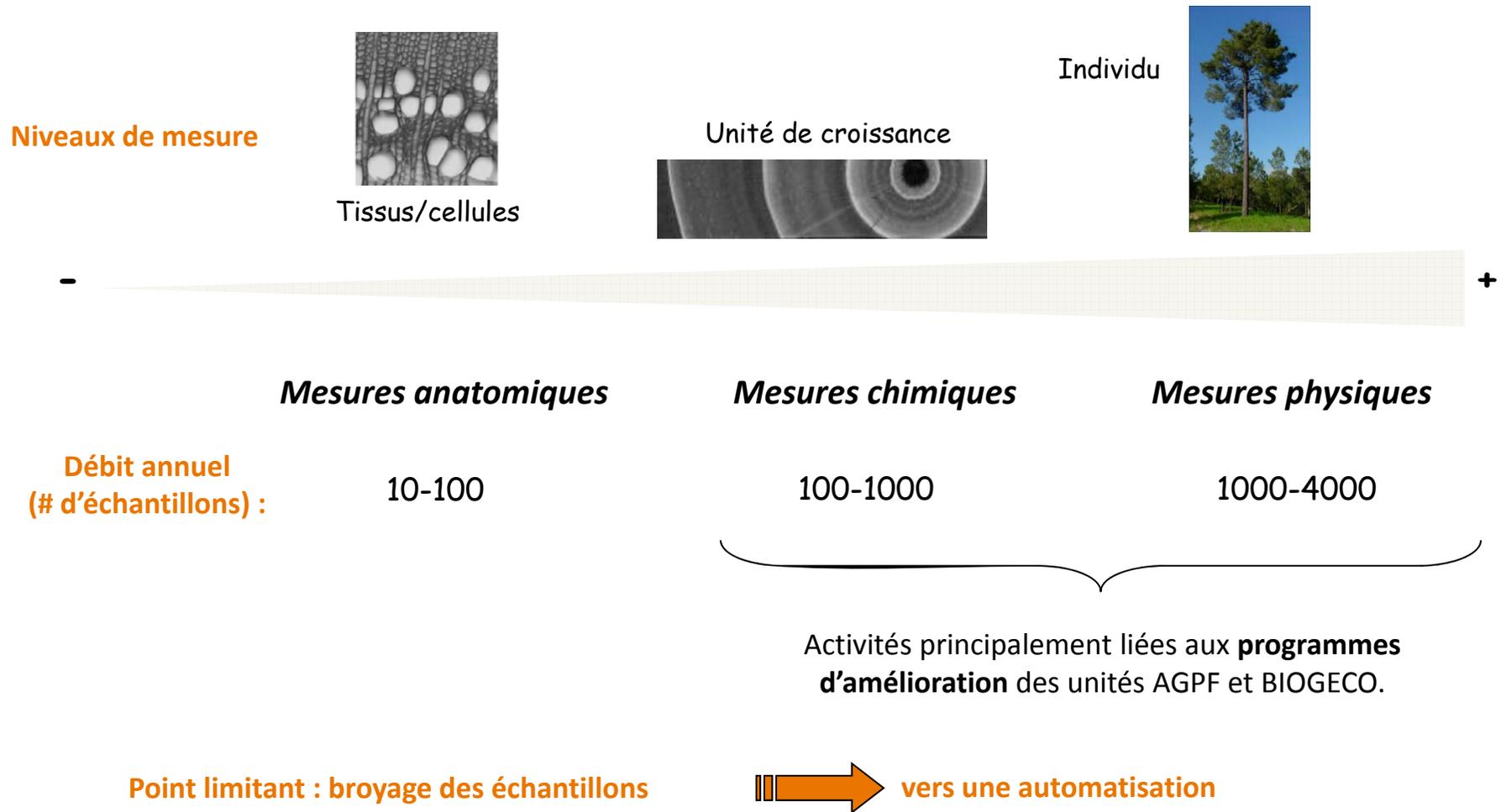


Les prestations : Laboratoire d'Histologie

- **Préparation des échantillons :**
 - Prélèvement et fixation aldéhydique
 - Inclusion en paraffine, en résines
- **Microtomie : réalisation de coupes**
 - Au microtome sur matériel frais, sur matériel inclus
 - Au cryostat sur matériel congelé
 - A l'ultramicrotome : coupes semi-fines et ultra-fines
- **Traitements des coupes**
 - Coloration de coupes semi fines sur matériel inclus ou non inclus
 - Contraste de coupes ultra-fines
 - Localisation par immunomarquage
 - Détection histochimique du gène rapporteur GUS sur matériel transgénique
- **Observations et analyses**
 - Observations en microscopie photonique
 - Prise de photos numériques
 - Interprétation et annotation des images



Unités de mesure, débits



Automatisation des analyses



Robots pour l'automatisation des broyages :

- ✓ de bois pour l'analyse des propriétés chimiques (SPIR)
- ✓ d'aiguilles, de feuilles pour l'extraction d'ADN

→ Augmentation des **débits**

Méthode actuelle



Exemples de projets



Programmes d'amélioration génétique pin, peuplier, eucalyptus...

- Profils microdensitométriques
- Analyse SPIR de la teneur en extractibles, en cellulose et lignines du bois
- Mise en évidence et évaluation du bois de tension par SPIR



Optimiser les critères de sélection pour l'amélioration génétique du peuplier exploité en TCR

- mise au point de modèle de calibration SPIR pour l'évaluation de la cellulose et des lignines



Partenariat avec la tonnellerie Radoux (2007-2009) :

- Extraction et analyse des ellagitannins du bois de chêne
- Modèle calibration SPIR pour l'évaluation en routine sur la chaîne de production des propriétés tanniques du bois.

Automatisation des analyses

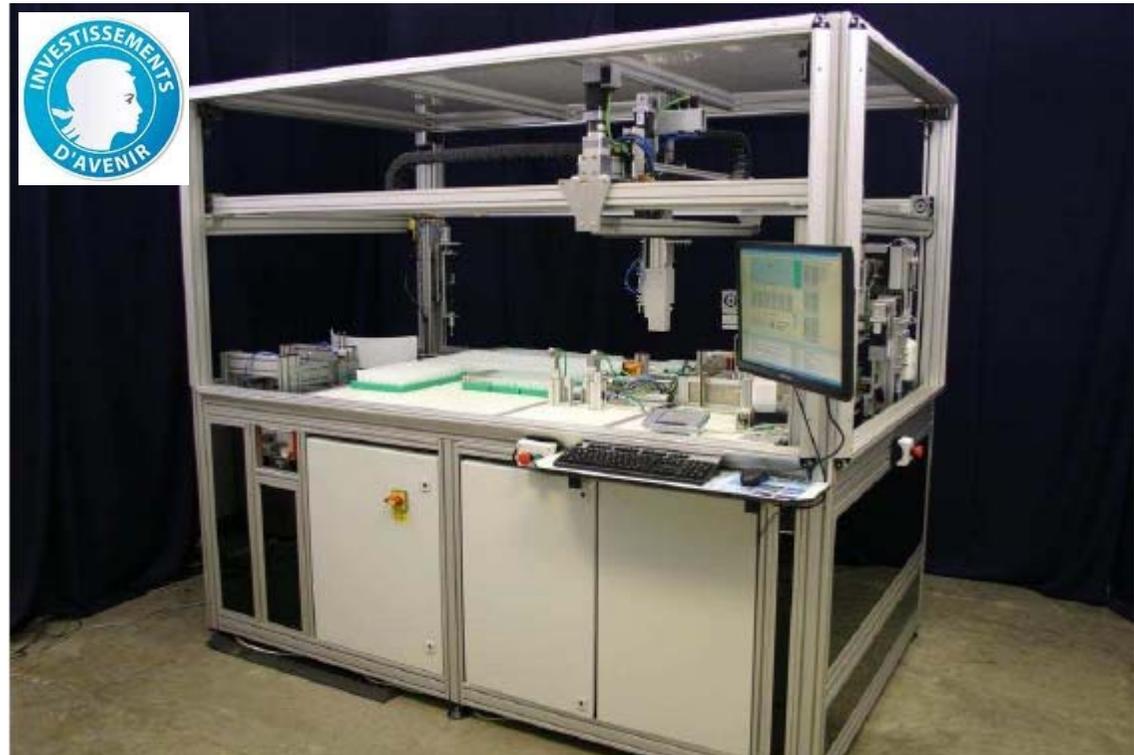


Robots pour l'automatisation des broyages :

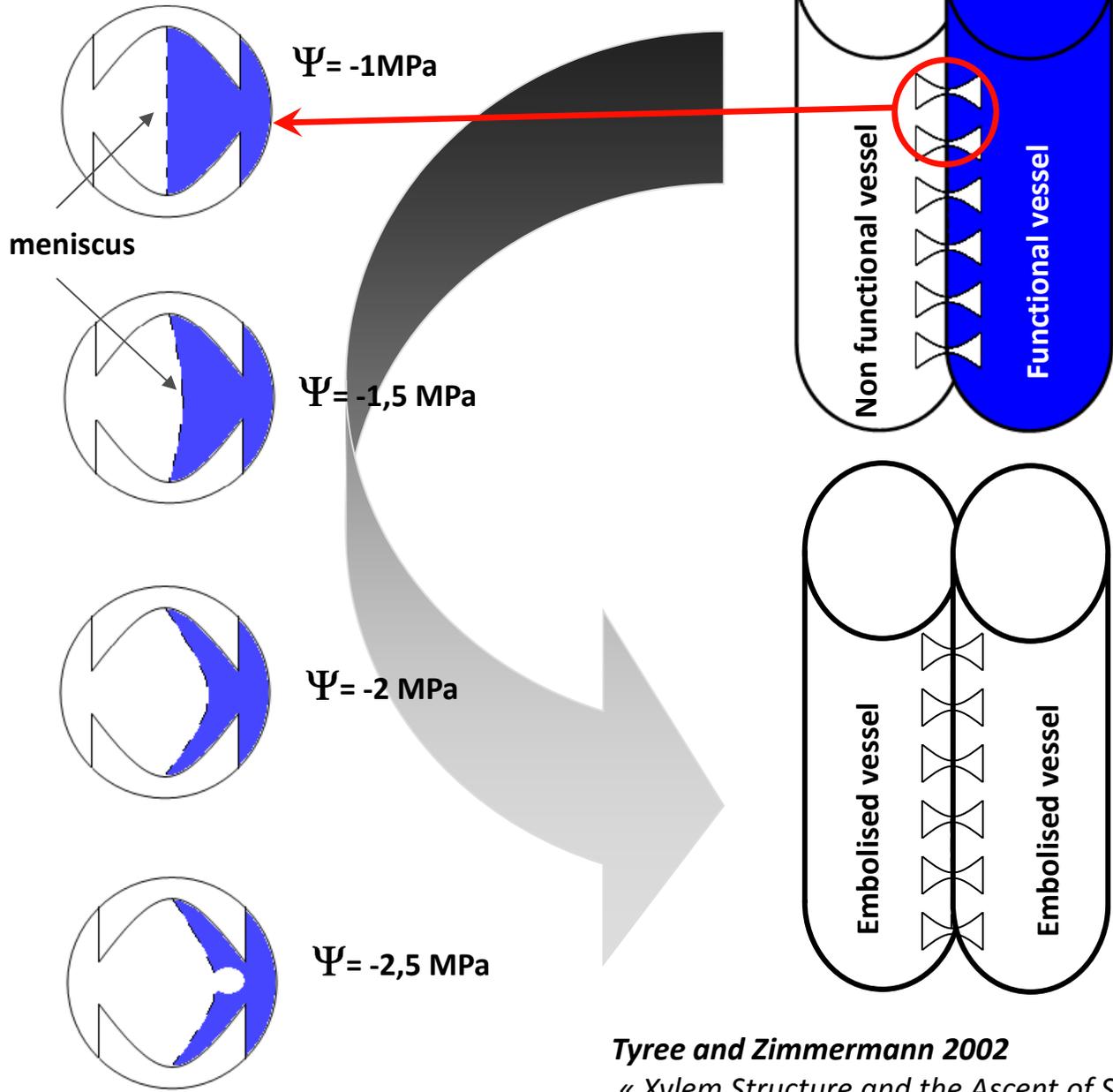
- ✓ de bois pour l'analyse des propriétés chimiques (SPIR)
- ✓ d'aiguilles, de feuilles pour l'extraction d'ADN

→ Augmentation des **débits**

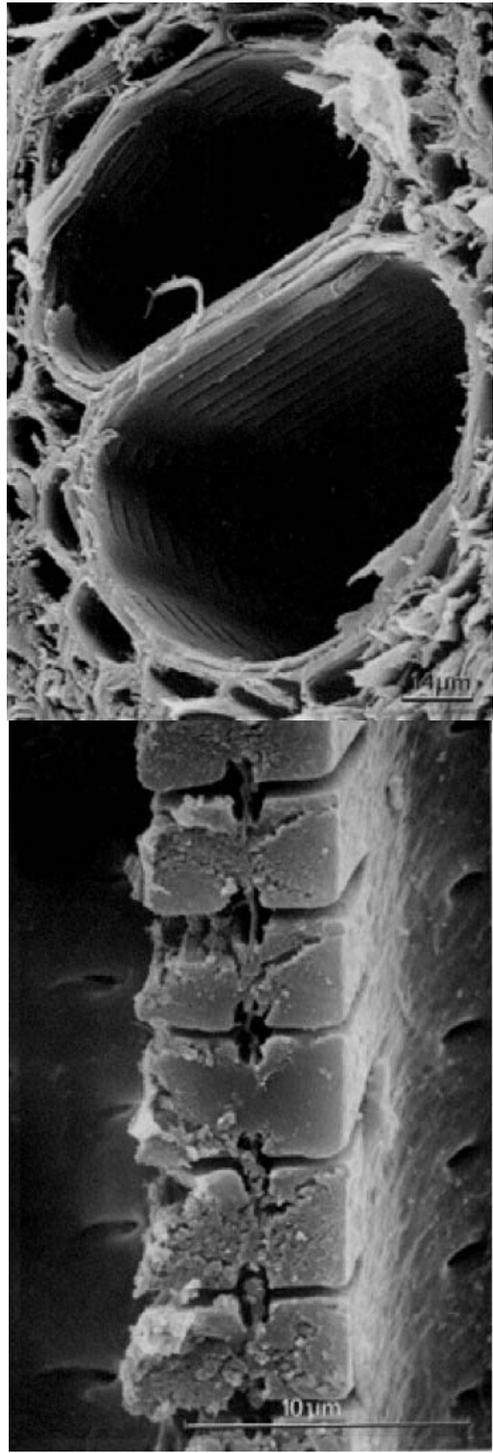
Méthode actuelle



Plateau Caviplace



Tyree and Zimmermann 2002
 « Xylem Structure and the Ascent of Sap »



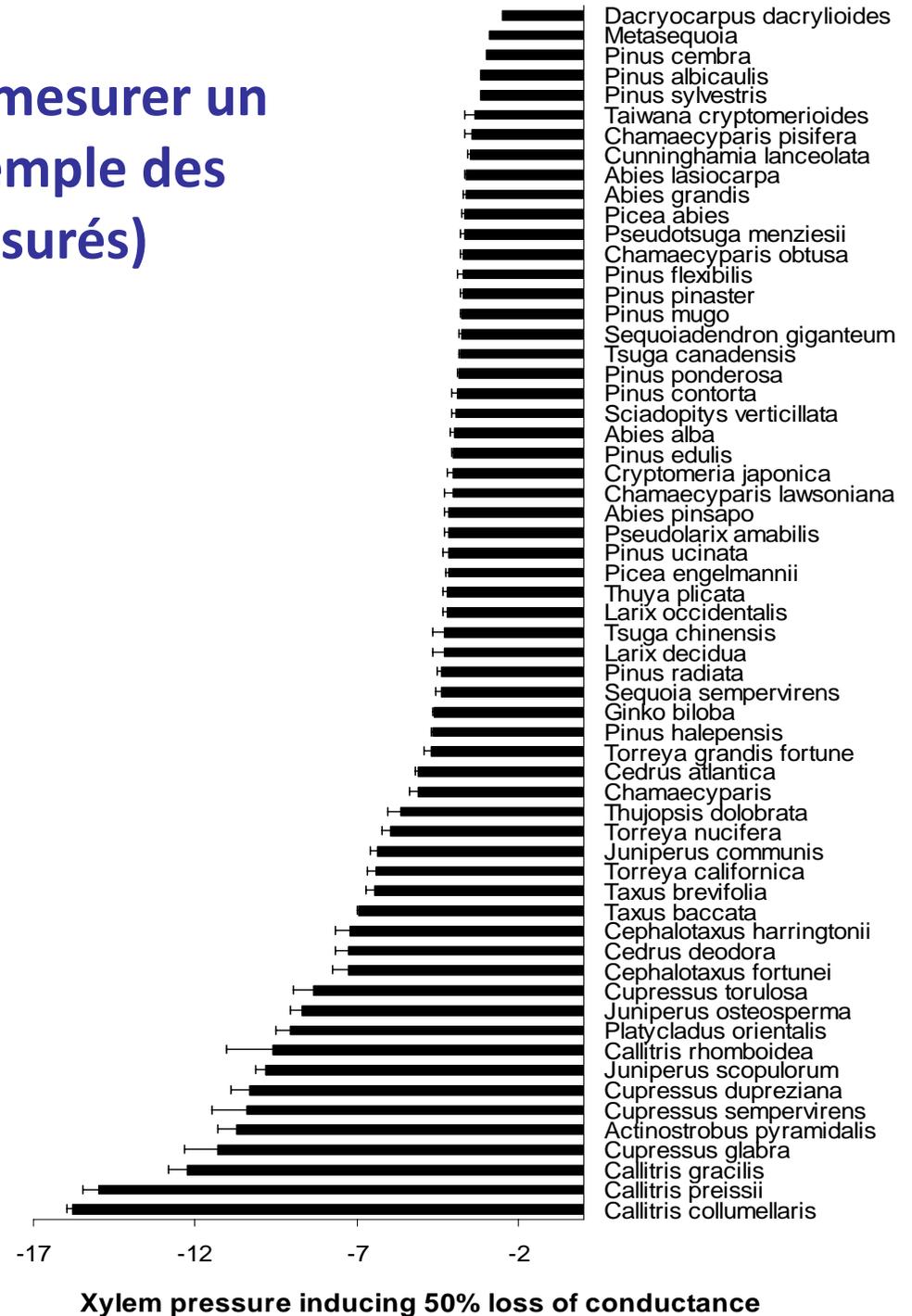
Exemple du prototype CAVITRON



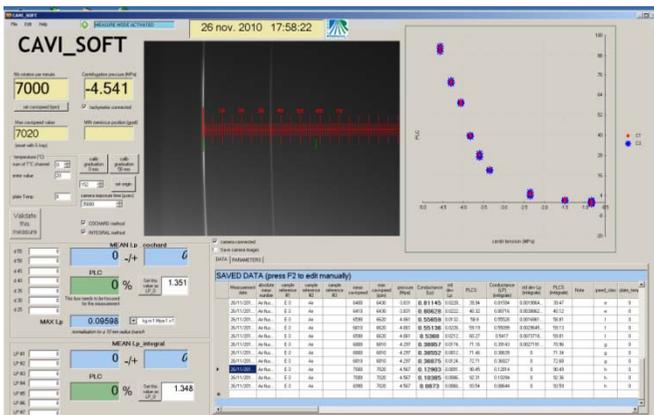
1. La plateforme permettra de mesurer un grand nombre d'espèces : exemple des conifères (109 espèces mesurés)



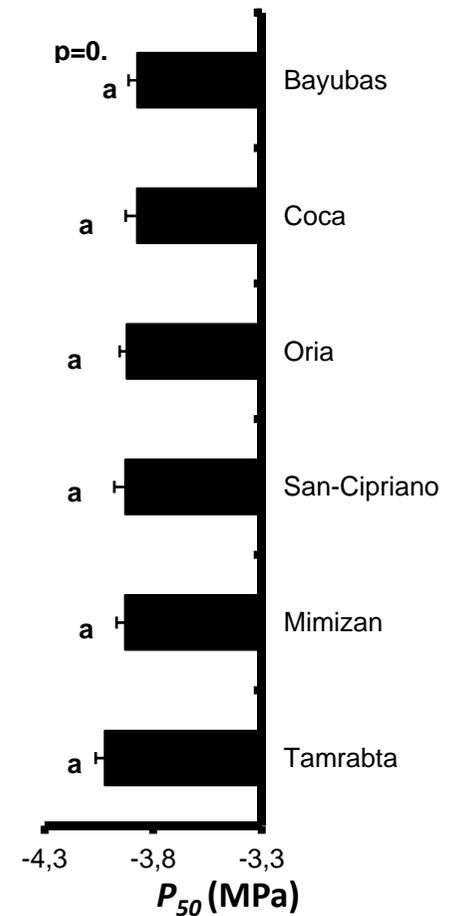
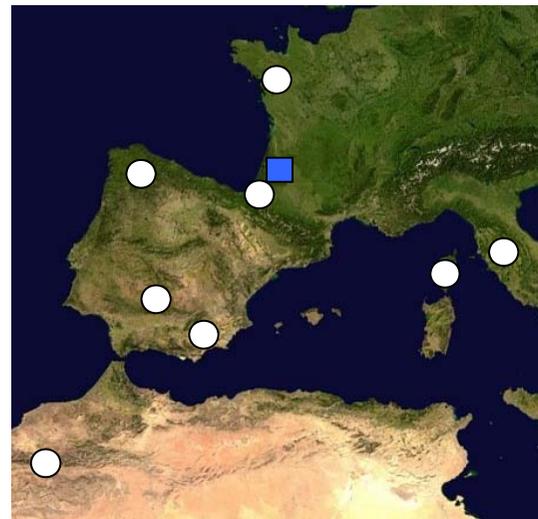
Grande variabilité pour la P_{50}
 de -2.9 MPa (*Metasequoia*)
 à -16.1 MPa (*Callitris*)



2. La plateforme permettra de mesurer un grand nombre de populations et de génotypes

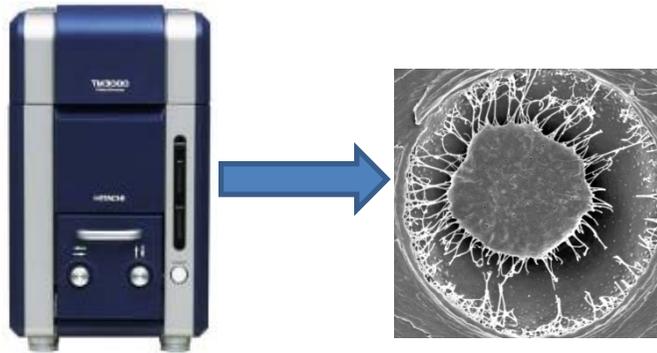


Identification de génotypes plus tolérants à la sécheresse : exemple chez le pin maritime; héritabilité, recherche de QTL

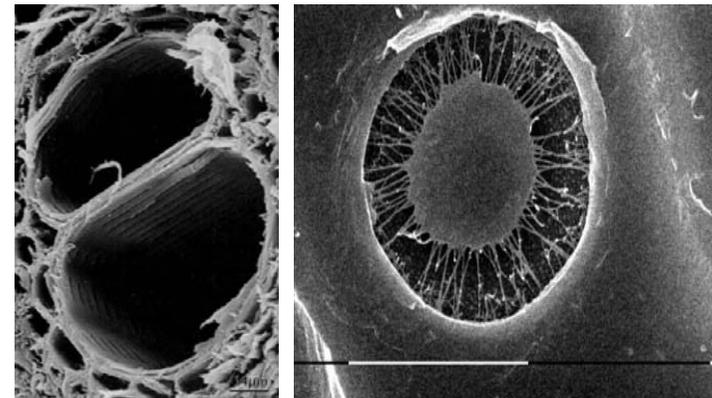


3. La plateforme permettra de faire le lien avec le lien de l'anatomie du xylème pour comprendre le mécanisme de cavitation

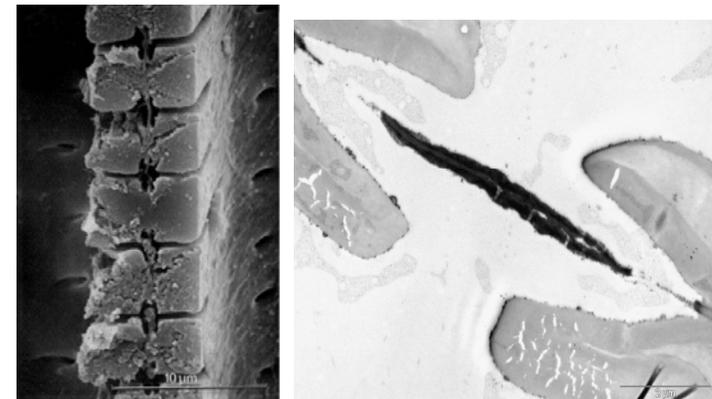
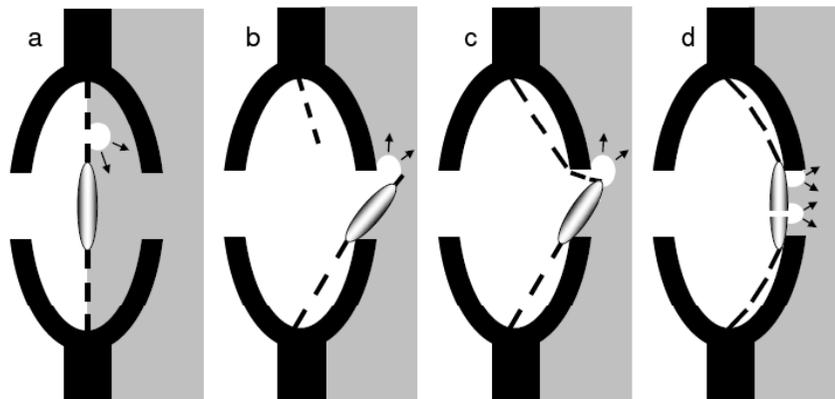
Observations micro-anatomiques



Anatomie du xylème



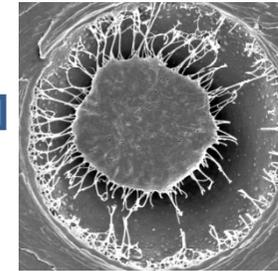
Mécanisme de cavitation



Exemples d'équipement



- Prototype pour caractériser la résistance à la sécheresse (cavitron) en relation avec l'anatomie du bois



- Phénotypage des capacités photosynthétiques et hydrauliques en condition contrôlée



Mise en œuvre

- Génome-Transcriptome : Cestas
 - 1 IR + 1AI
 - 1,36 M€ d'investissements
- Génoboïs : Cestas & Orléans
 - 0,48 M€
- Caviplace : Talence
 - 0,39 M€



Exemple de projet en cours



Projet NOVEL TREE Breeding strategies, FP7-211868

01/05/2008 – 30/04/2012 www.noveltree.eu



15 partenaires publics et privés, 4.1 M€



Objectifs (Pin maritime, Pin sylvestre, Epicea, Peuplier) :

- Trouver des critères de sélection adaptés à la foresterie durable
- Développer des outils de phénotypage et de génotypage haut débit
- Identifier des polymorphismes alléliques liés à des caractères d'intérêt
- Concevoir de nouvelles stratégies d'amélioration génétique
- Optimiser le déploiement des nouvelles variétés

Exemple de projet en cours



Projet NOVEL TREE Breeding strategies, FP7-211868

01/05/2008 – 30/04/2012 www.noveltree.eu



Réalisations :

■ **Phénotypage** :

- ✓ 1800 arbres du programme d'amélioration Pin maritime mesurés pour les **propriétés chimiques** et **mécaniques** du bois et pour la **croissance**
- ✓ mesure de la **cavitation** sur 200 arbres d'un pedigree de cartographie

■ **Génotypage** :

- ✓ **Détection ~10 000 mutations** dans le génome des populations Aquitaines de pin maritime
- ✓ **Génotypage pour ~1000 géniteurs** du programme d'amélioration

■ **Analyses en cours** :

- ✓ Etude des **interactions génotype – environnement**
- ✓ Recherche de **marqueurs moléculaires** impliqués dans la variation de la tolérance à la sécheresse, de la qualité du bois, de la croissance...
- ✓ Réflexion sur les **méthodes de sélection** adaptées à des objectifs multiples

Derrière les chiffres, des femmes et des hommes...



Fanny Demay – Sarah Monllor – **Joanna Jorly** – Jennifer Dupiot
Camille Lepoittevin – Cécile Brés – Virginie Garcia – Philippe Chaumeil – Christophe Boury – Geneviève Freyburger
Johann Petit – Franck Salin – Christophe Hubert – Rémy Petit