

[Pmg-TILL] Identification des gènes impliqués dans le Poids de Mille Grains par une approche innovante (TILLING)

Valérie LAURENT^{1*}, Cristobal UAUY², Laure DUCHALAIS³, Chris BURT³

1 - Florimond DESPREZ - BP41, 59242 Cappelle en pévèle

2 - JOHN INNES CENTRE - NR4 7UH, Colney, Norwich United Kingdom

3 - R2N - Route d'Epincy, 28150 Louville La Chenard

* **Coordinatrice** : Valérie LAURENT, valerie.laurent@florimond-desprez.fr

1. Introduction

Selon la FAO, le blé représentait 21% de la production mondiale de céréales en 2012 (soit plus de 675 millions de tonnes). Une proportion croissante de blé est utilisée pour l'alimentation animale dans les pays industrialisés (45% de son usage total dans l'UE). L'utilisation de blé par habitant dans les pays en développement, essentiellement pour l'alimentation humaine, a continué d'augmenter, et la plupart de ces pays sont de plus en plus dépendants des importations. Le recours aux importations par les pays en développement (à l'exception de l'Argentine et de l'Uruguay, qui sont exportateurs) devrait continuer de s'intensifier et les importations nettes de blé devraient passer de 51 millions de tonnes par an en 2012 à 160 millions en 2030. Pour répondre à cette demande mondiale l'agriculteur français doit continuer à produire plus tout en adoptant des pratiques culturales différentes plus en respect avec l'environnement. L'amélioration d'une des composantes du rendement, le Poids de Mille Grains (PMG), est une solution permettant de répondre aux attentes des agriculteurs.

Le PMG est un facteur complexe de type quantitatif, déterminant pour le rendement grain. Ce caractère influe également sur la qualité de l'utilisation finale du blé en affectant le contenu du grain en protéines et le rendement en farine. Un certain nombre d'études, en particulier dans le modèle céréales-riz, ont été menées afin de déterminer les fondements génétiques et moléculaires de ce caractère. Elles ont conduit à l'identification de plusieurs gènes qui régulent la taille du grain de riz, comme *qSW5* (Shomura *et al.*, 2008), *DW5* (Weng *et al.*, 2008), *MIC 1* (Wang *et al.*, 2008), *Ghd7* (Xue *et al.*, 2008) et *GS3* (Fan *et al.*, 2006 ; Takano *et al.*, 2009). Le blé tendre (*Triticum aestivum* L.) possède un grand génome (17 000 Mo) avec trois groupes homéologues et d'abondantes séquences répétées. Actuellement, des dizaines de QTL liés au PMG ou au rendement ont été identifiés sur presque tous les 21 groupes de liaison dans différentes populations de cartographie (Kato *et al.*, 2000; Borner *et al.*, 2002; Groos *et al.*, 2003; McCartney *et al.*, 2005 ; Quarrie *et al.*, 2005; Huang *et al.*, 2006; Li SS *et al.*, 2007; Gegas *et al.*, 2010; Peleg *et al.*, 2011). Récemment, Su *et al.* (2011) ont développé des marqueurs proches du gène *TaGW2* (gène orthologue de *OsGW2* chez le riz).

L'approche TILLING (Targeting Induced Local Lesions IN Genomes) permet de cibler plus facilement des gènes potentiellement impliqués dans l'expression d'un caractère; elle a déjà été utilisée avec succès par Slade *et al.* (2012) qui ont obtenu des grains de blé dur et de blé tendre fortement enrichis en amylose par mutations des gènes *SBEIIa* sur les génomes A, B et D. De même, Sestili *et al.* (2010) ont également eu une approche de TILLING pour les gènes (*Sgp-1* et *Wx*) impliqués dans la synthèse de l'amidon.

Des études préliminaires obtenues par le John Innes Centre ont permis de montrer que plusieurs mutations du gène *TaGW2* présentes sur le génome A de la variété Kronos permettaient d'augmenter en moyenne de 6,7% le PMG avec, dans certains cas une augmentation de plus de 10%. Ce projet vise à identifier des

mutations permettant d'influencer favorablement la morphologie du grain à partir de populations de TILLING. Ces mutations ont été introduites dans 4 lignées élites françaises par backcross et les descendances ont été phénotypées en serre et au champ pour valider l'effet de ces mutations. Des mutants doubles et triples combinant des mutations de différents gènes ont également été produits pour cumuler les effets sur le PMG. Des marqueurs SNP liés aux mutations ont parallèlement été développés pour permettre aux sélectionneurs de disposer d'un outil d'identification des haplotypes favorables dans les variétés élites.

2. Matériel et méthode

► Matériel

Deux populations de TILLING obtenues pour le blé tendre alternatif Cadenza et le blé dur Kronos par le John Innes Centre ont été utilisées pour la recherche de mutations impactant le PMG.

Les gènes mutés identifiés ont été introgressés par backcross dans 4 fonds génétiques élites français : Cellule, Oregrain, Rubisko et RGT_Mondio. Cellule a un petit PMG (cotation 3), Oregrain et RGT_Mondio sont des variétés à PMG intermédiaire bas (cotation 4) et Rubisko a un assez gros PMG (cotation 6). Ces 4 variétés ont des origines génétiques différentes, Cellule et Oregrain proviennent du programme de sélection de Florimond Desprez et Rubisko et RGT_Mondio proviennent de celui de RAGT.

Les donneurs des mutations sont un génotype BC5F3 de la variété Paragon porteur de la mutation du gène *TaGW2A* de Cadenza, le mutant Cadenza1441 pour la mutation de *TaGW2D* et le mutant Kronos T4-341 pour *TaGW2B*. Pour les mutations de *TaARF2.1*, les donneurs sont les mutants Cadenza0148 pour le gène *ARF2.1_A*, Cadenza1403 pour *ARF2.1_B* et Cadenza1274 pour *ARF2.1_D*.

► Méthodes

Identification des mutations

A partir des séquences de 1535 mutants de TILLING de Kronos et de 1200 mutants de Cadenza (www.wheat-tiling.com), la recherche de mutations a été réalisée *in silico*, par le JIC, pour les gènes *TaGW2* des génomes B et D et les gènes *DST* et *ARF2.1* des trois génomes L'objectif était d'identifier des mutations et des troncatures sur chaque génome homéologue. Les meilleurs mutants (codon stop, acide aminé responsable d'une modification de la fonction de la protéine, etc...) ont été sélectionnés et croisés avec les variétés élites.

Développement des marqueurs

Une fois le polymorphisme de séquence de chaque gène homéologue identifié (pour les génomes A, B et D), des marqueurs SNP KASPar ont été développés afin de faciliter l'identification de leurs variants alléliques et permettre leur transfert dans les variétés élites.

A chaque génération, le génotypage avec le marqueur de la mutation a permis de sélectionner les plantes porteuses de la mutation. Pour les 2 premières générations de rétrocroisements, le choix des plantes a également été effectué à partir de marqueurs du fonds génétique pour accélérer le retour vers le parent récurrent.

Croisements

Les mutations ont été introduites par backcross dans les lignées élites à raison de 2 générations par an en serre jusqu'au stade BC2F2 et BC3F2.

Ce schéma a été et est en cours d'application pour les 6 allèles *TaGW2-A*, *TaGW2-B* et *TaGW2-D*. Ces trois mutations seront cumulées par deux puis par trois dans un même génotype.

Phénotypage

Afin de valider l'effet et l'intérêt de ces mutations lorsqu'elles sont présentes dans des fonds génétiques élites, l'effet des gènes introgressés (seuls et/ou cumulés) a été évalué sur la morphologie des grains en serre. Il sera évalué ensuite pour le rendement au champ.

Au stade BC2F3 et BC3F2, un phénotypage sur 15 épis pour chacune des populations d'individus homozygotes pour la mutation: la taille du grain a été mesurée à l'aide d'un Marvin grain analyser (GTA Sensorik GmbH, Allemagne) et le nombre d'épillet/épi ainsi que le nombre de grain/épi ont été évalués.

Trois descendances des plantes BC2F2 homozygotes pour le gène *TaGW2* muté ont été et seront phénotypées au champ en épi ligne. La hauteur et le rendement seront relevés

Les descendances BC2F4, BC3F3 et BC3F4 ont été et seront regroupées (en bulks) avec ou sans le gène *TaGW2* muté pour une étude des composantes du rendement au champ, dont le PMG. Les essais au champ des bulks BC2F4 et BC3F4 pour la mutation de *TaGW2A* ont été semés en automne 2018.

3. Résultats

► Identification et caractérisation des mutations responsables de la taille et du poids du grain

Des mutations des gènes *TaGW2*, *DST* et *ARF2.1* ont été recherchées sur la variété Cadenza sur les 3 génomes A, B et D.

Les mutations du gène *TaGW2*

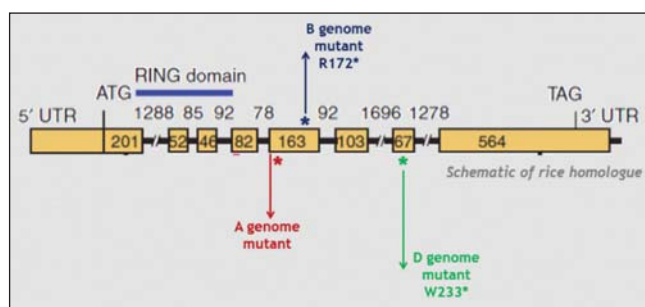


Figure 1 : Représentation de la localisation des mutations du gène *TaGW2A*

La mutation originale du gène *TaGW2-A1* a été identifiée dans la lignée de TILLING T4-2235, elle correspond à une transition G>A au début de l'exon 5, au niveau du site d'épissage. L'allèle *TaGW2-B* vient du mutant de blé dur Kronos T4-0341, qui porte une transition C>T à la position 2557 et un codon stop prématuré. Une mutation stop du gène *TaGW2-D1* a été identifiée chez le mutant Cadenza 1441 au niveau du 7^{ème} exon (cf Fig. 1).

Tous ces génotypes présentent des caractéristiques intéressantes sur la taille et le poids des grains par rapport au génotype d'origine (cf Fig. 2 et Tab. 1).

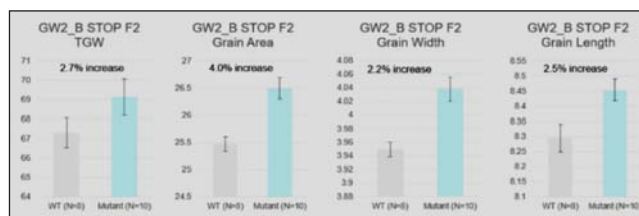


Figure 2 : Effet de l'allèle muté *gw2-B* du mutant de blé dur Kronos T4-0341 sur le PMG et la taille du grain

ID	Seed/Spike	Yield/Spike	TGW(g)	ØArea	ØWidth	ØLength	Spike Length	Viable Spikelets	Seeds/Spikelet
Cadenza	49.09	2.06	41.99	18.23	3.42	6.72	9.89	18.09	2.7121
C1441_1-1	41	2.53	61.71	22.35	4.14	6.87	9.8	16	2.5625
C1441_1-2	39	2.45	62.82	22.34	4.05	6.98	9.4	18	2.1667

Tableau 1 : Effet de l'allèle muté *gw2-D* du mutant Cadenza sur le PMG, la taille du grain et les caractéristiques de l'épi.

Les mutations des gènes *DST*

Le gène *DST* régule l'expression de la cytokininé oxydase 2 (*OsCKX2*) chez le riz. Un allèle mutant tronqué dominant de ce gène chez le riz agit comme un régulateur négatif de l'*OsCKX2*, provoquant une augmentation de la production de grains (Li *et al.*, 2013). Les auteurs ont montré que l'expression ectopique de cet allèle mutant de riz dans le blé conduit, en serre, à une augmentation de la taille des épis et du nombre d'épillets.

Sur le génome A du blé, 24 mutations du gène *DST* ont été identifiées dont une est un codon stop pour le mutant T4-622. Sur le génome B, 30 mutations ont été découvertes dans le gène *DST* mais aucune ne provoquant de codon stop. Malheureusement, aucun grain de la lignée mutante T4-622 n'a donné une plante viable. Cette voie d'amélioration du PMG à l'aide des gènes *DST* est donc sans issue.

Les mutations des gènes *ARF*

Les gènes *ARF* des facteur de réponse à l'auxine agissent sur la taille du grain chez *Arabidopsis* et des résultats préliminaires semblent indiquer le même effet chez le blé dur. Les mutants de *TaARF2.1*, Cadenza0148 (*ARF2.1_A*), Cadenza1403 (*ARF2.1_B*) et Cadenza1274 (*ARF2.1_D*) ont été obtenus.

► Croisements mutants de *TaGW2* x lignées élites :

Mutant du gène *TaGW2-A1*

Le génotype Parangon-*TaGW2A* a été croisé avec les parents receveurs. Pour 20 plantes BC1 par lignée récurrente, sélectionnées par marqueurs pour la présence du gène *TaGW2A*, la taille de l'introgession a été évaluée par marquage à l'aide de 7 marqueurs SSR du chromosome 6A. Trois et quatre plantes BC1 avec une introgression de moins de 30 cM autour du gène *TaGW2A* ont été retenues pour poursuivre les rétrocroisements. Les BC3 et BC2F1 ont produit des descendants avec la mutation à l'état homozygote. Ces individus ont été testés pour les gènes de développement *ppD-D1*, *VrnA1* et *VrnB1* ainsi que *Rht1* et *Rht2* de façon à ne retenir que les individus de type hiver. Le gène *VrnD1* n'a pas été testé car le donneur printemps Parangon porte l'allèle hiver *vrnD1* à ce gène.

Mutant du gène *TaGW2-D1*

Les plantes BC2 ont été sélectionnées pour leur retour vers le génotype du receveur pour 13 des 20 marqueurs SNP du chromosome 6D testés et pour leur homozygotie pour le type hiver (*vrnA1* et *vrnB1*), *RhtB1* et l'insensibilité à la photopériode (*Ppd-D1*). Le stade BC3F3 a été atteint en 2018 en serre. Les grains obtenus des plantes homozygotes mutées et homozygotes sauvages seront semés aux champs en 2019 pour évaluation de leur rendement.

Mutant du gène *TaGW2-B1*

Une tentative de croisement entre le mutant stop du gène *GW2-B1*, identifié dans le blé dur Kronos, et les lignées élites a été réalisée mais les hybrides n'ont pas germés ou n'ont pas survécu après la vernalisation (dans Oregrain cf. Fig. 3). La mutation a toutefois pu être stabilisée à l'état hétérozygote dans le blé tendre Paragon (à gauche sur la photo). Ces plantes ont été utilisées en croisement pour introduire la mutation dans les 4 variétés élites.

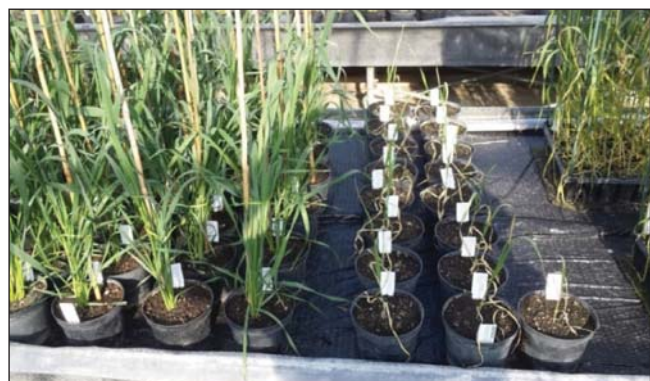


Figure 3 : Incorporation de l'allèle mutant *gw2-B1* du blé dur dans les blés tendres Paragon (gauche) et Oregrain (au centre).

Sept individus BC2 portant la mutation *gw2B* à l'état hétérozygote ont été obtenus avec la variété élite Cellule. Un témoin homozygote sauvage sera également conservé pour comparaison de l'effet de la mutation au champ.

Mutants doubles et triples

Des plantes BC3F2 homozygotes pour la mutation *gw2-A1* ont été croisées avec des plantes hétérozygotes pour la mutation *gw2-D1* BC2 pour cumuler les mutations dans Cellule. Les doubles hétérozygotes ont été croisés avec les BC1 *gw2-B1* (hétérozygotes). Six individus cumulant les 3 mutations à l'état hétérozygote ont été obtenus. Ils sont en cours d'autofécondation pour essayer de fixer les mutations à l'état homozygote.

Mutations *gw2B* obtenues dans Cellule suite au croisement 3 voies

F1 (*gw2A/wt*; *gw2B/wt*) 17 individus
 F1 (*gw2D/wt*; *gw2B/wt*) 8 individus
 F1 (*gw2A/wt*; *gw2D/wt*; *gw2B/wt*) 6 individus

Des doubles mutants *gw2-A1 / gw2-B1* tétraploïdes sont en cours d'évaluation aux champs au JIC mais aussi aux USA et au Mexique. Ces évaluations permettront d'obtenir une estimation des effets d'un mutant nul pour ces deux gènes chez le blé.

Autres mutants

Les mutants de *TaARF2.1* ont été croisés avec les 4 lignées élites jusqu'au stade BC1.

► Effet de la mutation du gène *TaGW2-A1*

NILs BC4 dans Paragon

Les NILs BC4 dans Paragon ont été testées en 5 répétitions d'essai rendement de 6 m² à Church Farm, Norwich UK (cf Fig. 4). On observe un effet significatif de la mutation sur le PMG (7.96%; $P < 0.001$), sur la largeur du grain (2.03%; $P < 0.001$) mais aussi sur sa longueur (2.66%; $P < 0.001$).

Aucun effet sur le rendement n'est mis en évidence (-0.75%, $P = 0.44$) ni sur le tallage, la date de maturité ou le Poids Spécifique.

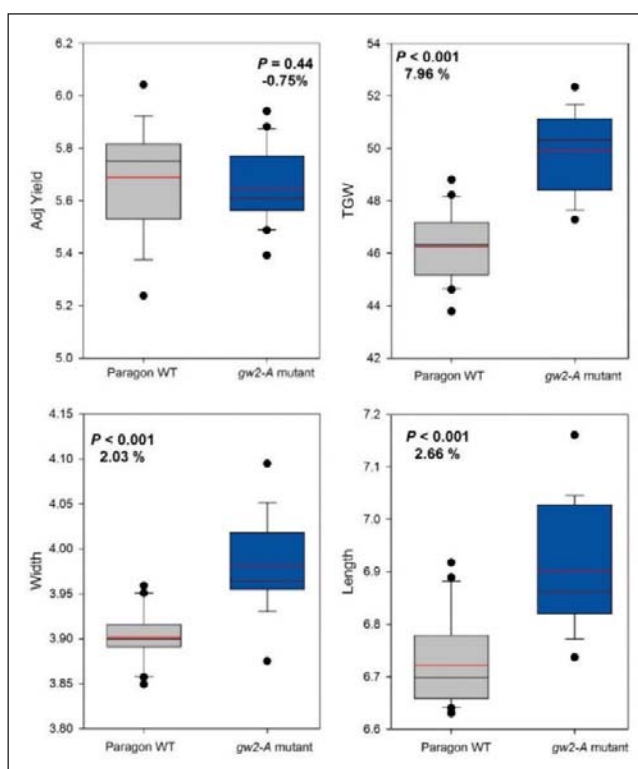


Figure 4 : Effet de l'allèle mutant de *gw2-A1* sur le rendement ajusté (Adj Yield), le PMG (TGW), la largeur et la longueur du grain dans les essais. Les NILs avec l'allèle mutant sont en bleu et les NILs avec l'allèle *GW2-A1* sauvage fonctionnel sont en gris.

Descendances BC2F2, BC3F3 et BC2F3 dans Cellule et Oregrain

La taille des grains des plantes BC2F2 dans Cellule et Oregrain, a été estimée par une mesure sur le MARVIN grain analyser.

ID	Main Seeds	Weight(g)	TGW(g)	ØArea	ØWidth	ØLength
PARAGON TAGW2A	50	1.05	21.00	13.98	2.87	5.88
CELLULE	55	1.61	29.27	14.33	2.97	5.98
WFS1-7-17-31	79	2.71	34.30	15.15	3.10	6.15
WFS1-7-9-72	339	8.83	26.05	13.67	2.81	6.18
WFS1-7-17-34	265	9.69	36.57	15.17	3.08	6.20
OREGRAIN	55	1.88	34.18	15.96	3.17	6.16
WFS1-50-42-34	161	9.1	56.52	20.12	3.70	6.92

Tableau 2 : Effet de la mutation *gw2-A1* dans les descendances BC2F2 de Cellule et Oregrain.

On observe bien une augmentation de la taille des grains par rapport au receveur élite (cf Tab. 2) ; mais comme nous n'avons pas de témoin négatif (avec le gène *TaGW2A* à l'état sauvage) il n'est pas possible de déterminer dans quelle mesure l'augmentation de taille est due au fond génétique résiduel du donneur ou bien au gène muté.

Les stades BC3F3 et BC2F3 ont été atteints. Ces stades ont la mutation à l'état homozygote, ils ont été semés au champ pour évaluer leur rendement. Des lignées BC3F3 avec le gène à l'état sauvage ont été évaluées en même temps de façon à pouvoir cibler plus précisément l'effet de la mutation. La date d'épiaison, la hauteur et le PMG ont été phénotypés. Sur 15 épis, le nombre de grains par épis, le nombre d'épillets par épis et la taille du grain ont également été évalués avec le Marvin grain analyser sur 50 grains.

On remarque, que la mutation du gène *TaGW2A* a bien produit une augmentation de la taille des grains et du PMG pour les 4 descendances portant la mutation *gw2-A1* (cf Tab.3). Les résultats pour les nombre d'épillets et de grains par épi ne sont pas homogènes.

ID	Statut	Allele	Background	Epiasion	Hauteur	Poids	PMG	nb épilletts/épi	nb grains/épi	surface grain	largeur grain	longueur grain
Wf152001-9-72-1	BC2F3	gw2-A1	Cellule	144	90	1158.5	47	18.47	52.27			
Wf152001-17-31-1	BC2F3	gw2-A1	Cellule	141	95	139.8	43	19.07	52.73			
Wf152001-17-34-1	BC2F3	gw2-A1	Cellule	143	95	1039	45	17.87	46.47			
Wf152002-42-34-1	BC2F3	gw2-A1	Oregrain	144	95	321.3	42	18.53	41.33			
Wf162001a-M	BC3F2	GW2-A1	Cellule	141	95	809.9	41	18.13	50.73	16.10	3.32	6.03
Wf162001b-M	BC3F2	gw2-A1	Cellule	143	100	809.4	44	16.47	40.80	17.11	3.44	6.23
Wf162001c-M	BC3F2	GW2-A1	Cellule	142	95	711.3	40	17.64	43.00	16.29	3.35	6.07
Wf162001d-M	BC3F2	gw2-A1	Cellule	142	95	790.4	45	18.00	49.07	17.12	3.43	6.24
Wf162003e-M	BC3F2	GW2-A1	Oregrain	140	90	408.2	41	20.60	58.33	17.02	3.29	6.38
Wf162003f-M	BC3F2	gw2-A1	Oregrain	140	90	739.4	43	19.20	47.67	17.47	3.43	6.28
CELLULE	Temoin			143	90							
OREGRAIN	Temoin			143	90							

Tableau 3 : Effet de la mutation gw2-A1 dans les descendance BC2F3 et BC3F3 de Cellule et Oregrain.

Descendances BC2F3 dans RGT_Mondio

Dans RGT_Mondio, 7 lignées avec la mutation (TaGW2+) et 6 lignées sans (TaGW2-) ont été comparées en une parcelle de rendement traité en 2017/2018 à Louville-la-Chenard. L'ANOVA met en évidence un effet de la mutation TaGW2-A1 sur le PMG, le rendement et sur le nombre de grains/épi dans RGT_Mondio (cf Tab.4).

Y (numerical)	X (categorical)	p-value	FStat	S2Btwn	S2Wthn	dfBtwn	dfWthn	n
NB GRAINS/EPI	TaGW2	0.00173	15.44204251	318.72456	268.3206758	1	13	15
NB EPILLETTS/EPI	TaGW2	0.34100	0.975701176	0.64421894	8.583413008	1	13	15
NB EPIS/M²	TaGW2	0.47600	0.538179079	1680.17143	40585.42857	1	13	15
RDT %T	TaGW2	0.01620	7.620070694	102.080185	174.1509301	1	13	15
Hauteur	TaGW2	0.30200	1.155555556	7.61904762	85.71428571	1	13	15
EE	TaGW2	0.86700	0.029082774	0.0297619	13.30357143	1	13	15
SPW	TaGW2	0.87000	0.027922008	0.0447344	20.82755893	1	13	15
PMG Récolte	TaGW2	0.01130	6.457525295	42.0803571	42.36	2	13	16

Tableau 4 : Effet de la mutation gw2-A1 dans les descendance BC2F3 dans RGT_Mondio

Comme attendu, la mutation de TaGW2-A1 a un effet positif sur le PMG mais elle est également liée à une diminution du rendement qui s'explique par la diminution du nombre de grains/épi (cf Fig. 5).

Descendances BC3F3 dans RGT_Mondio et Rubisko

Dans RGT_Mondio, 11 lignées TaGW2+ et 10 lignées TaGW2- ont été comparées en pépinière en 2017/2018 en 4 épis lignes. Contrairement aux résultats obtenus sur les BC2F3, aucun effet de ce gène n'a été mis en évidence par ANOVA sur les 3 composantes de rendement étudiées (Nb de grains/épi, nb d'épillets/épi et PMG).

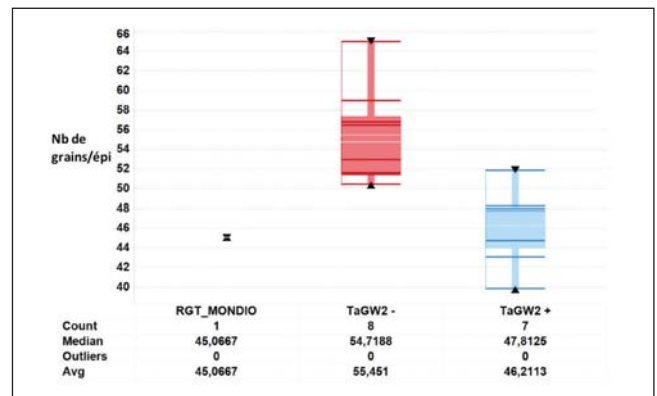
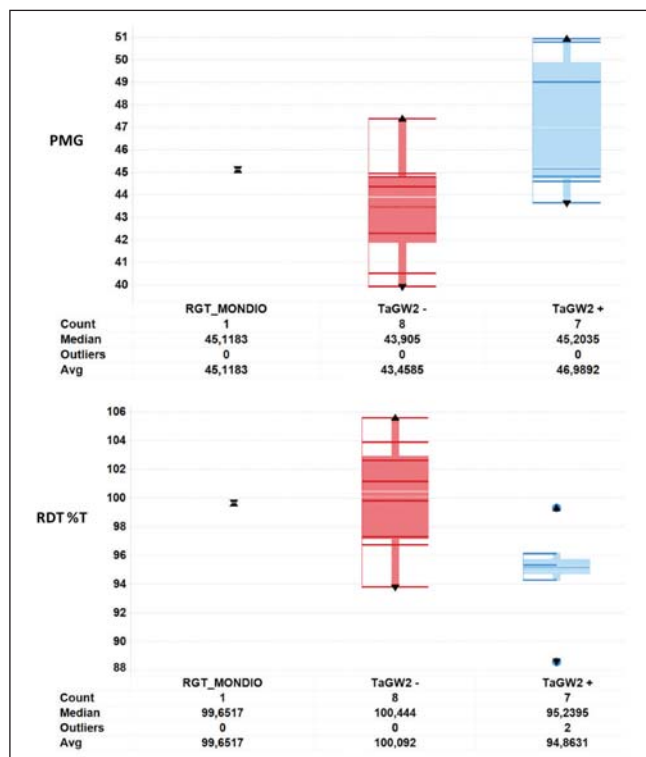


Figure 5 : Effet de la mutation gw2-A1 sur le PMG, le rendement et le nombre d'épillets dans les descendance BC3F3 dans RGT_Mondio. TaGW2+ : individus avec la mutation, TaGW2- : individus sans la mutation.

Dans Rubisko, la comparaison de 7 lignées TaGW2+ et 6 lignées TaGW2- a mis en évidence par ANOVA un très léger effet de la mutation de TaGW2-A1 sur le nombre d'épillets/épi (p-value=0.0171, Fstat= 7.87).

La mutation de TaGW2-A1 a un effet négatif sur cette composante (cf Fig. 6).

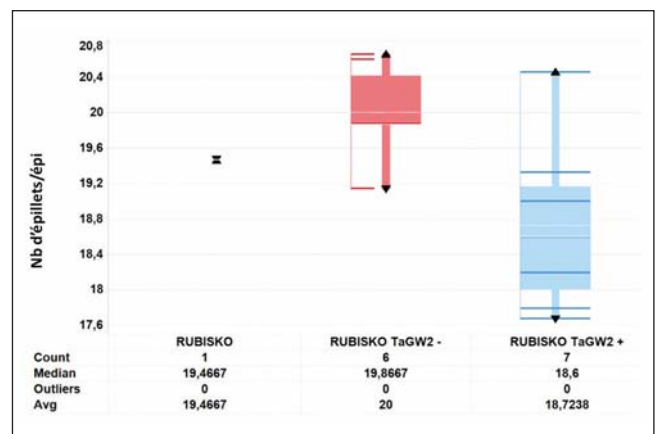


Figure 6 : Effet de la mutation gw2-A1 sur le nombre d'épillets dans les descendance BC3F3 dans Rubisko. TaGW2+ : individus avec la mutation, TaGW2- : individus sans la mutation.

► Effet de la mutation du gène TaGW2-D1

Une population F2 a été développée entre le mutant Cadenza 1441 et le génotype Cadenza d'origine. Dix-neuf plantes F2 ont l'allèle muté et 24 l'allèle sauvage. Les F2 mutantes ont un PMG moyen de 55.9 ± 0.9 , ce qui représente une augmentation de 4.1% par rapport aux F2 sauvages (PMG 53.7 ± 0.8). Cela suggère que cette mutation permet également d'augmenter le PMG (cf. figure 7).

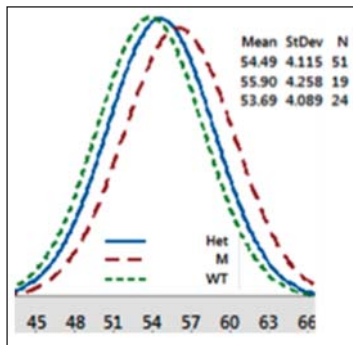


Figure 7 : Distribution du PMG dans la population F2 ségrégeant pour la mutation *gw2-D1*. Les plantes homozygotes pour l'allèle mutant (rouge) ont un PMG moyen 4.1% plus élevé que les plantes F2 homozygotes pour l'allèle sauvage (vert) et que les plantes hétérozygotes (bleu). Ces variations sont cohérentes avec le dosage des allèles.

4. Discussion

L'ensemble des résultats de phénotypage obtenus pour les gènes *TaGW2* semblent confirmer que l'action de ce gène cible spécifiquement le PMG mais pas le rendement. Il semble en effet que l'augmentation de la taille des grains se fait au détriment du nombre de grains par épi, ce qui induit une baisse de rendement, mise ici en évidence dans le fonds génétique RGT_mondio. Un QTL majeur pour le rendement et le PMG a

été identifié dans la zone du gène *TaGW2A* à partir d'un croisement Spark x Rialto (Simmonds *et al.*, 2014). Intégré dans des NILs, ce QTL permet une augmentation du rendement de 5.5% et du PMG de 5.1%. Il semble toutefois qu'il ne s'agisse pas du gène *TaGW2A* car les 2 parents ont le même allèle pour ce gène *TaGW2A*. Cet autre gène, quand il sera identifié, pourrait peut-être permettre de cumuler augmentation du PMG et augmentation du rendement.

5. Conclusion

Malgré la multiplicité des fonds génétiques testés et des lieux, les premières années de phénotypage confirment que les mutations du gène *TaGW2A* si elles ont bien un effet positif sur le PMG, semblent plutôt avoir un effet négatif sur les composantes liées à l'épi : nombre d'épillets/épi, nombre de grains/épi et rendement.

L'évaluation des descendance constituées est poursuivie hors projet jusqu'en 2021 pour vérifier au niveau d'essais avec répétitions l'impact du cumul de ces mutations des gènes *TaGW2* sur le rendement. Une étude des descendance des mutants ARF2.1 sera également entreprise pour vérifier la nature de la relation entre la taille du grain, le PMG et le rendement.

Références bibliographiques

- Borner A, Schumann E, Furste A, Coster H, Leithold B, Roder M, Weber W** (2002) Mapping of quantitative trait loci determining agronomic important characters in hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 105: 921-936
- Fan C, Xing Y, Mao H, Lu T, Han B, Xu C, Li X, Zhang QF** (2006) GS3, a major QTL for grain length and weight and minor QTL for grain width and thickness in rice, encodes a putative transmembrane protein. *Theoretical and Applied Genetics* 112: 1164-1171
- Gegas VC, Nazari A, Griffiths S, Simmonds J, Fish L, Orford S, Sayers L, Doonan JH, Snape JW** (2010) A genetic framework for grain size and shape variation in wheat. *Plant Cell* 22: 1046-1056
- Groos C, Robert N, Bervas E, Charmet G** (2003) Genetic analysis of grain protein-content, grain yield and thousand-kernel weight in bread wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 106: 1032-1040
- Huang XQ, Cloutier S, Lycar L, Radovanovic N, Humphreys DG et al.** (2006) Molecular detection of QTLs for agronomic and quality traits in a doubled haploid population derived from two Canadian wheats (*Triticum aestivum* L.). *Theor Appl Genet* 113: 753-766.
- Kato K, Miura H, Sawada S** (2000) Mapping QTLs controlling grain yield and its components on chromosome 5A of wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 101: 1114-1121
- Li SS, Jia JZ, Wei XY, Zhang XC, Chen HM, Sun HY, Zhao XH, Lei TD, Xu YF, Jiang FS et al.** (2007) An intervarietal genetic map and QTL analysis for yield traits in wheat. *Molecular Breeding* 20: 167-178.
- Li S, Zhao B, Yuan D, Duan M et al.** (2013) Rice zinc finger protein DST enhances grain production through controlling *Gn1a/OsCKX2* expression." *Proceedings of the National Academy of Sciences*: 201300359
- McCartney CA, Somers DJ, Humphreys DJ, Lukow O** (2005) Mapping quantitative trait loci controlling agronomic traits in the spring wheat cross RL 4452 · AC 'Domain'. *Genome* 48: 870-883
- Mir RR, Kumar N et al.** (2012) Genetic dissection of grain weight in bread wheat through quantitative trait locus interval and association mapping." *Molecular Breeding* 29: 963-972
- Peleg Z, Fahima T, Korol AB, Abbo S, Saranga Y** (2011) Genetic analysis of wheat domestication and evolution under domestication. *Journal of Experimental Botany* 62: 5051-5061
- Quarrie SA, Steed A, Calestani C et al.** (2005) A high-density genetic map of hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) from the cross Chinese Spring/SQ1 and its use to compare QTLs for grain yield across a range of environments. *Theor Appl Genet* 110: 865-880
- Sestili F, Botticella E et al.** (2010) Production of novel allelic variation for genes involved in starch biosynthesis through mutagenesis. *Molecular Breeding* 25: 145-154
- Shomura A, Izawa T, Ebana K, Ebitani T, Konishi S, Yano M** (2008) Deletion in a gene associated with grain size increased yields during rice domestication. *Nature Genetics* 40: 1023-1028
- Simmonds J, Scott P, Leverington-Waite M, Turner AS, Brinton J et al.** (2014) Identification and independent validation of a stable yield and thousand grain weight QTL on chromosome 6A of hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.). *BMC Plant Biology* 14:191
- Slade A J, McGuire C et al.** (2012) Development of high amylose wheat through TILLING. *Bmc Plant Biology* 12: 69-69
- Su Z, Hao C et al.** (2011) Identification and development of a functional marker of *TaGW2* associated with grain weight in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 122: 211-223
- Takano KN, Jiang H, Kubo T, Sweeney M, Matsumoto T, Kanamori H, Padhukasahasram B et al.** (2009) Evolutionary history of GS3, a gene conferring grain length in rice. *Genetics* 182:1323-1334
- Wang E, Wang J, Zhu XD, Hao W, Wang LY, Li Q, Zhang LX, He W, Lu BR, Lin HX** (2008) Control of rice grain-filling and yield by a gene with a potential signature of domestication. *Nature Genetics* 40: 1370-1374
- Weng J, Gu S, Wan X, Gao H, Guo T, Su N, Lei C, Zhang X, Cheng Z, Guo X** (2008) Isolation and initial characterization of *GW5*, a major QTL associated with rice grain width and weight. *Cell Research* 18: 1199-1209
- Xue WY, Xing YZ, Weng XY, Zhao Y, Tang WJ, Wang L, Zhou HJ, Yu SB, Xu CG, Li XH** (2008) Natural variation in *Ghd7* is an important regulator of heading date and yield potential in rice. *Nature Genetics* 40: 761-767
- Zhang, H. P., N. C. Turner, et al.** (2010) Source-sink balance and manipulating sink-source relations of wheat indicate that the yield potential of wheat is sink-limited in high-rainfall zones. *Crop & Pasture Science* 61: 852-861
- Zhang L, Zhao YL et al.** (2012) *TaCKX6-D1*, the ortholog of rice *OsCKX2*, is associated with grain weight in hexaploid wheat. *New Phytologist* 195: 574-584