

NIL-N : CARACTÉRISATION DE RÉGIONS CHROMOSOMIQUES POUR AUGMENTER L'EFFICACITÉ D'UTILISATION DE L'AZOTE ET LA TENEUR EN PROTÉINES CHEZ LE BLÉ

Mickaël THROUDE

PARTENAIRES



FsoV

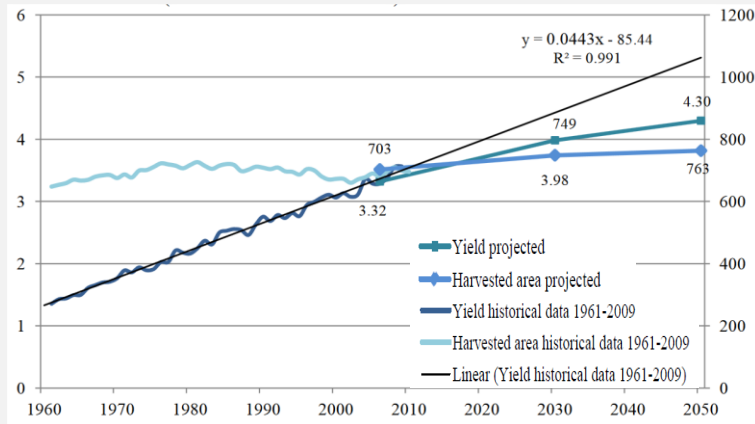
L'ENJEU LE PROJET



L'ENJEU : AMÉLIORER L'EFFICIENCE D'UTILISATION DE L'AZOTE ET LA TENEUR EN PROTÉINES

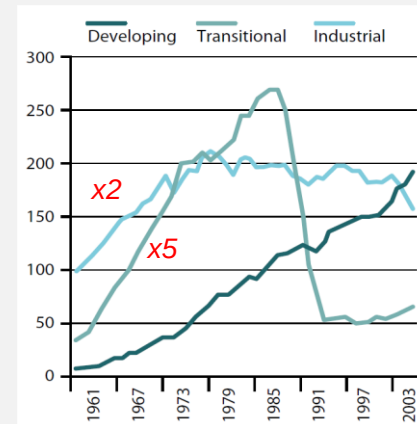
- Produire plus en limitant l'impact environnemental

Production mondiale céréales



FAO, 2012

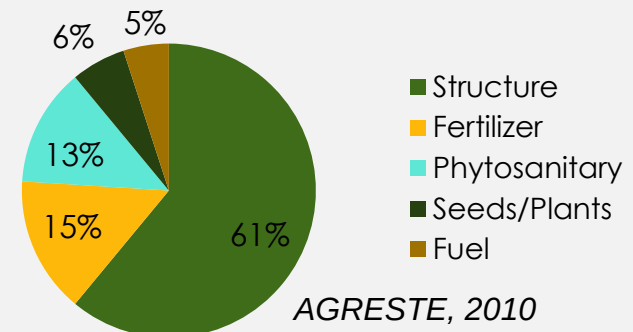
Tendances d'utilisation des engrais (N + P₂O₅+K₂O)



FAO, 2009

- Réduire les coûts pour les agriculteurs

Coûts de fertilisation Azotée = 2nd dépense

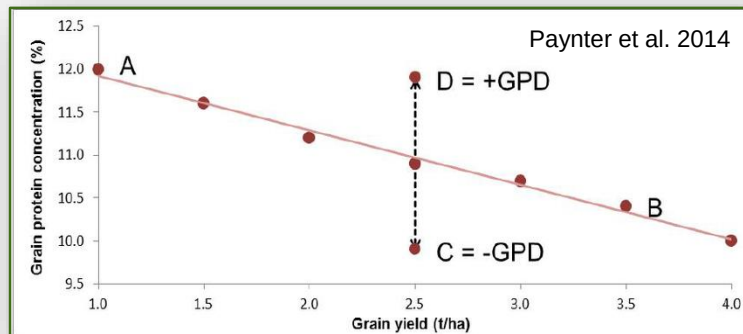


AGRESTE, 2010



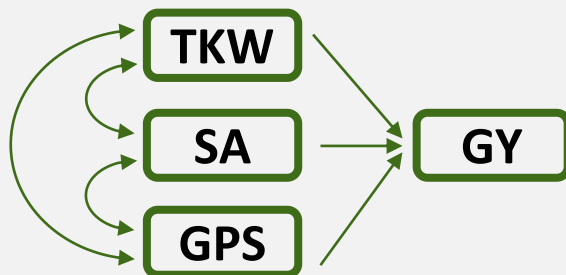
L'ENJEU : AMÉLIORER L'EFFICIENCE D'UTILISATION DE L'AZOTE ET LA TENEUR EN PROTÉINES

- Améliorer la teneur en protéines du grain (GPC) et maintenir un indice GPD positif



GPD : Grain Protein Deviation

- Intérêt fort en sélection, à l'inscription et en post-inscription
- Mieux maîtriser les composantes du rendement et leurs interactions



Evaluation of reduced-tillering (tin) wheat lines in managed, terminal water deficit environments
Mitchell et al. 2013

Journal of
Experimental
Botany
www.jxb.oxfordjournals.org

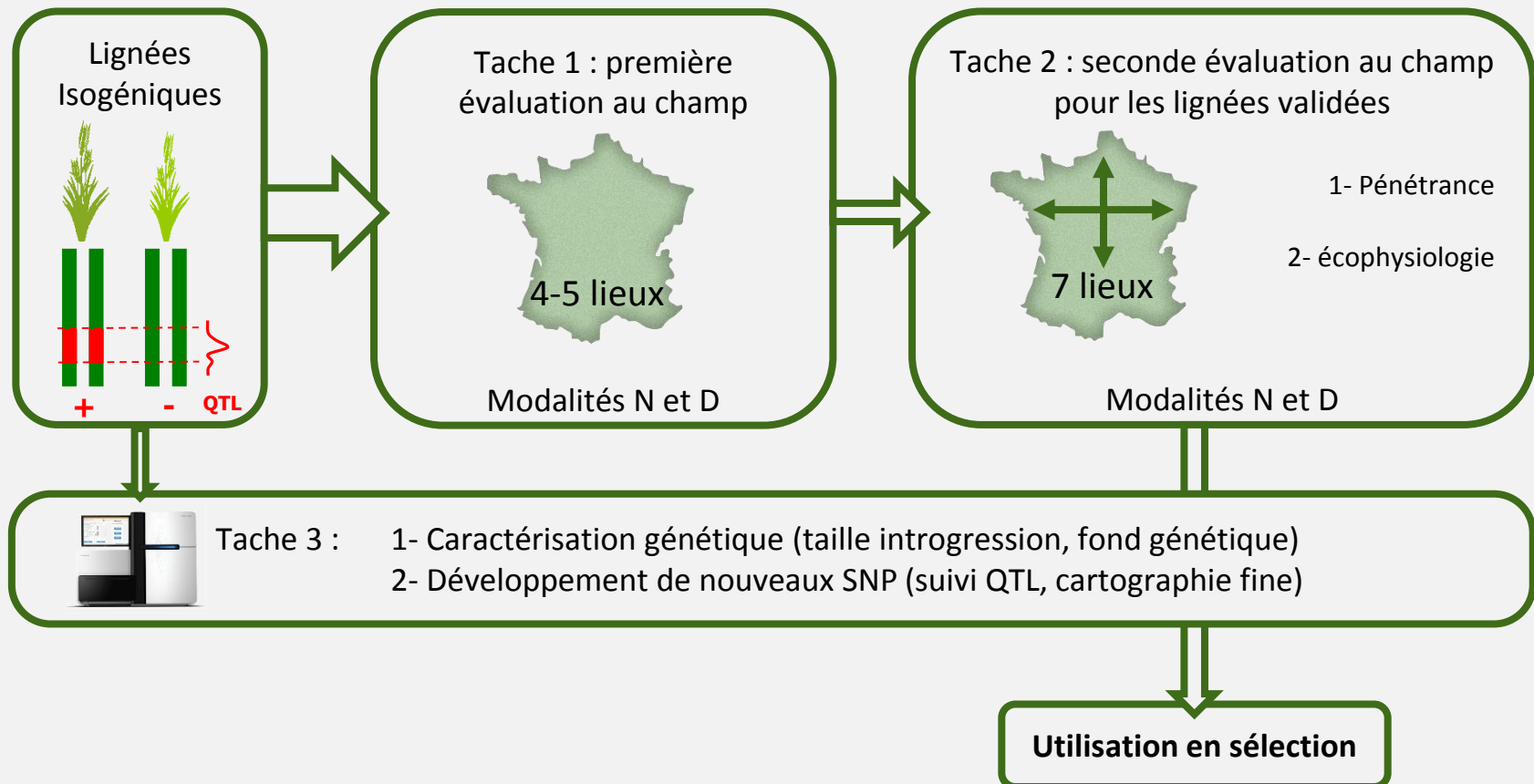
A tillering inhibition gene influences root-shoot carbon partitioning and pattern of water use to improve wheat productivity in rainfed environments
Hendriks et al. 2015

Journal of
Experimental
Botany



LE PROJET : CARACTÉRISATION DE RÉGIONS CHROMOSOMIQUES D'INTÉRÊT

- Caractérisation agronomique, écophysiological et moléculaire



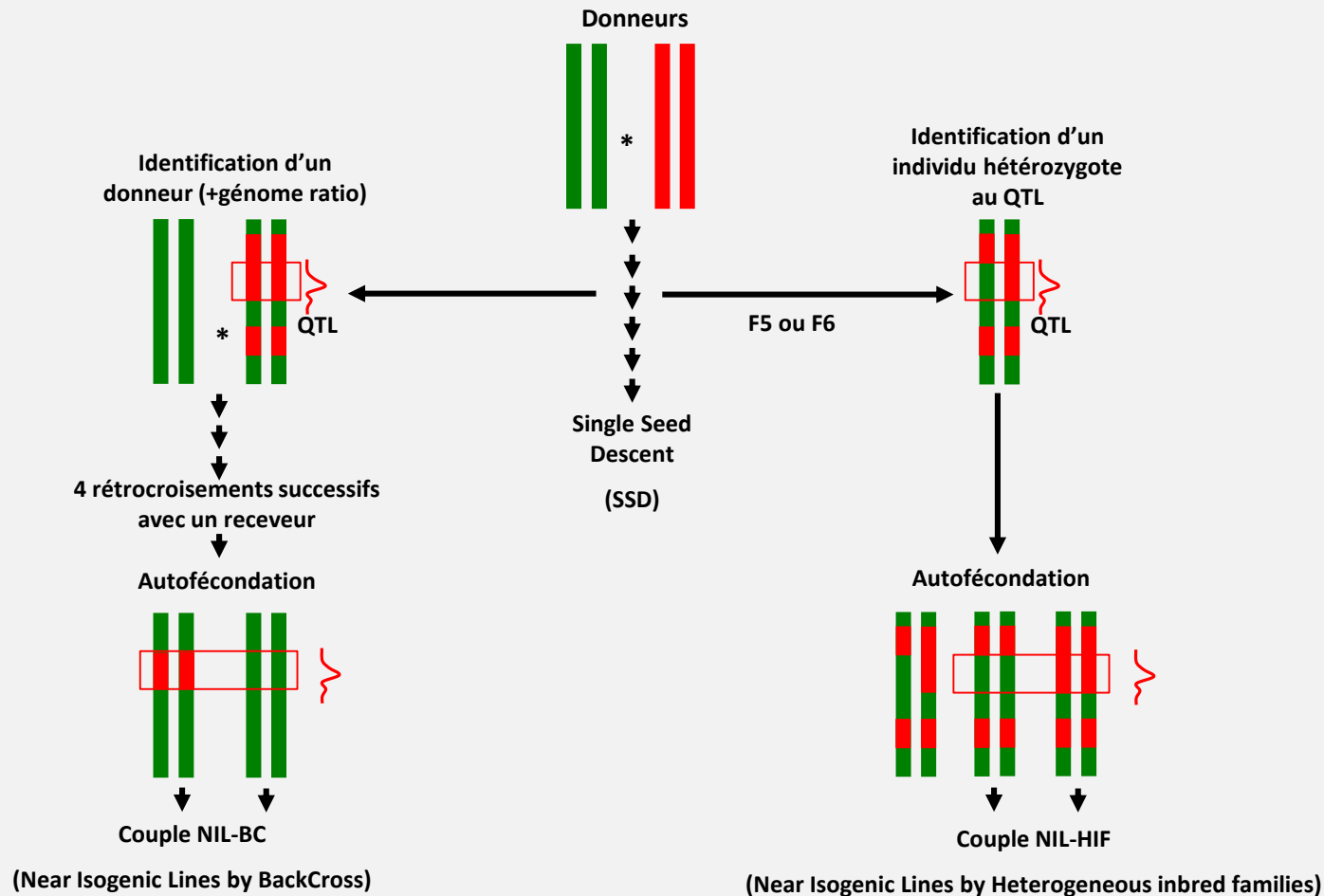
MÉTHODE MATÉRIEL GÉNÉTIQUE RÉSEAU D'ESSAI



MÉTHODE : UNE LIGNÉE ISOGÉNIQUE, C'EST QUOI ?

NIL-BC

NIL-HIF



16 RÉGIONS CHROMOSOMIQUES



Efficienne d'utilisation de
l'azote, GPC, GPD

Composantes du
rendement, tallage

2 Régions ARE / NUE

- **Origine** : Population Arche x Récital
- **BGAazo1B.3** : QTL détecté en situation faible N pour rendement et azote, biomasse aérienne
- **BGAazo7A.2** : QTL détecté au champ (PMG, GPC) et en conditions contrôlées (Absorption d'azote). Zone aussi détectée dans les populations Récital x Renan et Apache x Ornicar
- **12 couples NIL** : 3 rétrocroisements (BC) + génome ratio
- **Fonds receveurs** : Arche et Recital

azo1B.3
6 NIL

azo7A.2
6 NIL

16 RÉGIONS CHROMOSOMIQUES

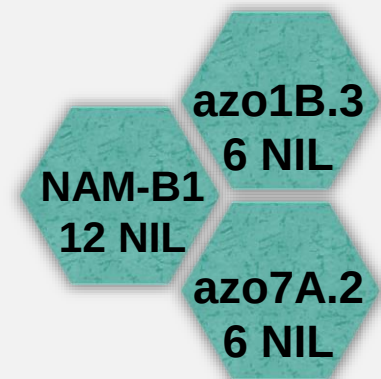


Efficienne d'utilisation de
l'azote, GPC, GPD

Composantes du
rendement, tallage

Gène NAM-B1 / GPC

- Augmente GPC en accélérant la remobilisation de l'azote (+ fer et zinc)
- Clonage du gène à partir d'une population *T. durum* × *T. dicoccoides* (Uauy et al 2006)
- **Origine** : 3 lignées de blé tendre de printemps fournies par J. Dubcovsky (Anza, Kern, Yecora Rojo)
- **12 couples NIL** : 3 Rétrocroisements (BC)
- **Fonds receveurs** : 4 fonds génétiques hiver : Arlequin et Récital (GPD-), Premio et Skerzzo (GPD+)



16 RÉGIONS CHROMOSOMIQUES



Efficienne d'utilisation de
l'azote, GPC, GPD

Composantes du
rendement, tallage

Région TIN-1A / TALLAGE

- QTL expliquant environ 50% de la variation pour le nombre de talles: Tiller Inhibitor
- Origine** : population Oligoculm // Orsay / Centruk 37



- 3 couples NIL** : rétrocroisements (BC)
- Fonds receveurs** : 3 fonds génétiques hiver: Apache, Koreli, Caphorn

TIN-1A
3 NIL

azo1B.3
6 NIL

NAM-B1
12 NIL

azo7A.2
6 NIL

16 RÉGIONS CHROMOSOMIQUES

Efficienne d'utilisation de
l'azote, GPC, GPD

Composantes du
rendement, tallage

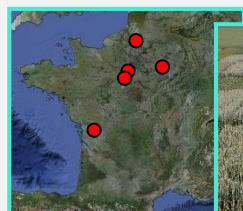
12 Régions Metapop / NUE, GPD, CR, Tallage

- Origine : population diallèle Metapop

QTL	Q5	Q28	Q29	Q30	Q36	Q54	Q59	Q60	Q65	Q76	Q81	Q82
chr.	1A	3B	3B	3B	4A	6A	6B	6B	6D	7A	7D	7D

- Détection QTL et construction NIL dans des projets ANR-génoplande

5 lieux / 2005 à 2007



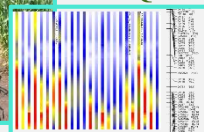
614 HD



35 envi

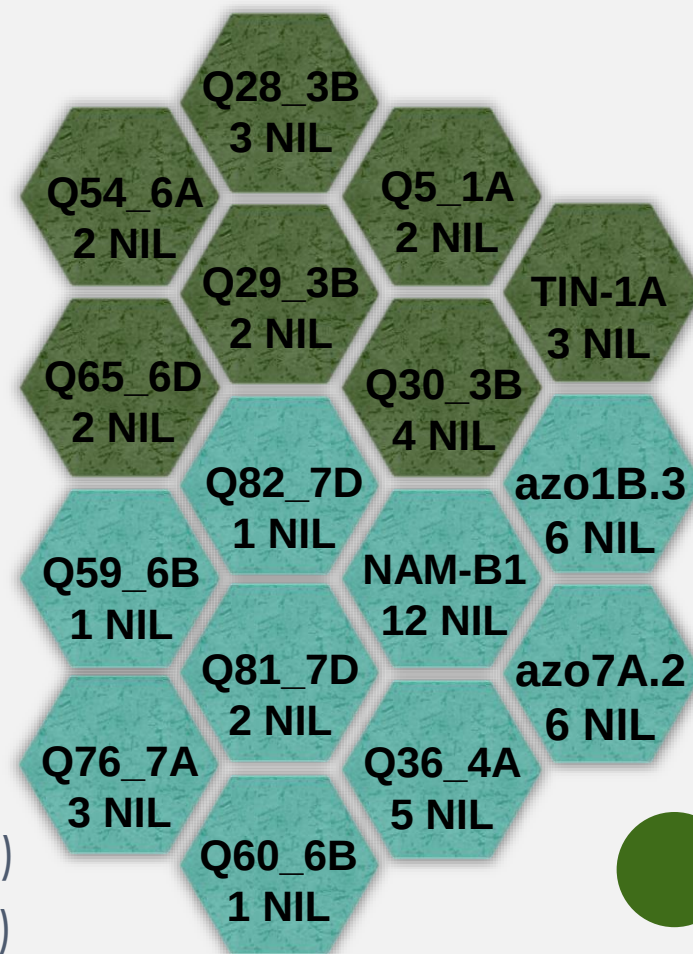


1802 QTL



82 Meta QTL

- 7 couples NIL : rétrocroisements (BC)
- 21 couples NIL : famille hétérozygote (HIF)
- Fonds receveurs : Apache, Cezanne (BC) et Aztec, Autan et Uli (HIF)



○ Caractérisation écophysiological et agronomique



○ Arvalis, INRA, Limagrain

- 20 essais
- 10 lieux
- 3 années (2015 à 2017)
- 15 variables phénotypiques mesurées

○ Deux dispositifs expérimentaux :

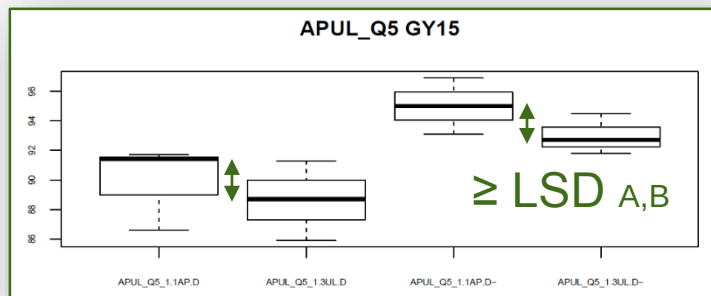
- Caractérisation du tallage et des composantes du rendement sous 3 modalités de densité de semis
- Dynamiques d'absorption / remobilisation de l'azote sous 2 à 3 modalités d'apports azotés

MÉTHODE : ANALYSE STATISTIQUE

Test LSD, Test Metafor

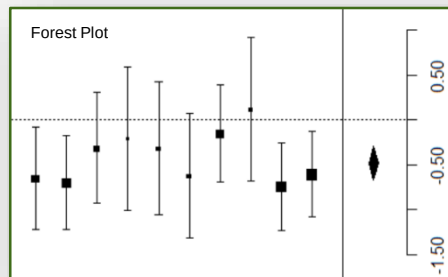
Fiche synthèse

- Objectif 1 : Identifier des **effets significatifs** au sein d'un **couple isogénique** par **modalité, lieu, année**.



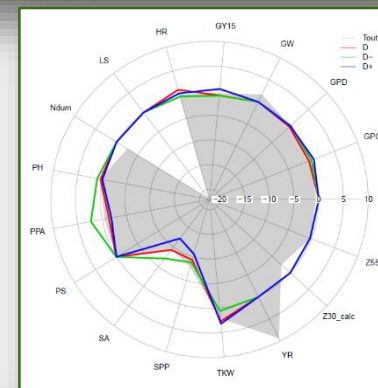
Test de Fisher's LSD (Least Significant Difference test)

- Objectif 2 : Identifier des **effets significatifs** multi-lieux et multi-années



5039_Q5_2.2D Vs 5039_Q5_2.5R

	Indiv	QTL	NIL_name	NIL_type	Donneur_Receveur	Z55	PH	SA	GY	PMG	GPC
11	5039_Q5_2.2D	Q5	5039_Q5	BC	D						
12	5039_Q5_2.5R	Q5	5039_Q5	BC	R			+		+	



	GL	GPC	GPD	GW	GY15	HR	LS	Ndam	PH	PPA	PS	SA	SPP	TKW	YR	Z30_calc	Z55
NDEN_15ARvii_v2t D	0	-0.2	0	0	-3.41	-0.17	0	0	0.85	7.62	0	-47.62	-0.54	2.96	0	-3.22	-1.33
NDEN_15ARvii_v2t D-	0	-0.43	0	0	-4.37	0.01	0	0	0.35	3.49	0	-37.46	-0.94	-0.02	0	-3.27	-1.67
NDEN_15ARvii_v2t D+	0	0	0	0	-6.09	0	0	0	0.16	-6.03	0	-94.29	-0.3	1.85	0	-0.96	-0.67
NDEN_15ARvii_v2t toute D	0	-0.21	0	0	-4.63	-0.05	0	0	0.45	1.69	0	-53.75	-0.59	1.4	0	-2.48	-1.22
NDEN_17ARvrott D	0	0	0	0	1.83	1	-0.93	-0.63	0.8	-26.23	0	-101.57	-0.03	0	0	0	0.67
NDEN_17ARvrott D-	0	0	0	0	-0.83	-0.37	0	-0.33	0.87	-5.7	0	-58.73	-0.17	0	0	0	-0.33
NDEN_17ARvrott toute D	0	0	0	0	0.5	0.32	-0.47	-0.48	0.83	-15.97	0	-80.15	-0.1	0	0	0	0.17
NDEN_17ARvrott D+	0	-0.17	0	0	-3.08	0	0	0	0.57	6.03	0	-57.47	0	1.47	0	0	-0.33
NDEN_17ARvrott D-	0	-0.03	0	0	5.07	0.17	0	0	0	7.27	0	-3.8	0	0.7	0	0	-0.33
NDEN_17ARvrott D+	0	0.13	0	0	3.17	0.03	0	0	0	-14.3	0	-58.7	0	1.53	0	0	-0.33
NDEN_17ARvrott toute D	0	-0.02	0	0	1.35	0.07	0	0	-0.33	-39.99	0	1.23	0	0	0	0	-0.33
NDEN_17ARvrott D-	-0.04	0.6	0	0.07	1.17	0	0	0	0	-39	-2	-70.33	0.13	1.38	0	0	-0.33
NDEN_17ARvrott D+	0.01	0.1	0.3	0.08	2.3	0	0	-1.67	-35	-5.67	-87.67	0.09	1.29	0	0	0	0
NDEN_17ARvrott D-	-0.03	-0.16	0	0.04	1.5	0	0	-1.67	-0.67	0.33	-73	-0.21	1.04	0.33	0	0	-0.33
NDEN_17ARvrott D+	-0.02	0.18	0	0.06	1.66	0	0	-1.11	-24.85	-2.44	-77	0	1.24	0.11	0	0	-0.22
NDEN_17INRmott D	0	-0.2	-0.3	0	-1.5	0	0	-2.33	-10.33	0.37	-42	-0.08	-0.13	0	0	0	-0.33
NDEN_17INRmott D-	0	0.03	0.21	0	1.87	0	0	1	-21.33	0.43	-71	0.05	0.85	0	0	0	0
NDEN_17INRmott D+	0	-0.33	0	-1.23	0	0	0	0.33	-54.33	-0.2	-61	0.18	-0.06	0	0	0	0
NDEN_17INRmott D-	0	-0.17	-0.04	0	-0.29	0	0	-0.33	-28.67	0.2	-58	0.05	0.22	0	0	0	-0.11
NDEN_17LIMhaut D	0	0.03	0	0	1.43	0.11	0	2.67	14.67	-0.1	-60.67	-0.44	1.03	0	0	0	0
NDEN_17LIMhaut D-	0	0.07	0	0	-8.97	-0.12	0	1	18	-0.4	-29	-1.13	-0.37	0	0	0	-0.33
NDEN_17LIMhaut D+	0	0.05	0	0	-3.77	-0.01	0	1.83	16.33	-0.25	-44.83	-0.75	0.33	0	0	0	-0.17
NDEN_17LIMvert D	0	0	-0.08	0	-0.93	0.02	0	0	22	-0.07	-48.33	-0.71	0.97	0	0	0	-0.67
NDEN_17LIMvert D-	0	0.1	0.05	0	-0.5	-0.1	0	0.67	7	0.03	6	-0.45	0.73	0	0	0	-0.33
NDEN_17LIMvert D+	0	0.05	-0.01	0	-0.72	-0.04	0	0.33	14.5	-0.02	-21.17	-0.58	0.85	0	0	0	-0.5

	GL	GPC	GPD	GW	GY15	HR	LS	Ndam	PH	PPA	PS	SA	SPP	TKW	YR	Z30_calc	Z55
Tout	-0.03	-0.02	-0.05	0.06	-0.48	0	-0.82	-0.39	0.3	-0.96	0.06	-52.53	-0.3	0.91	0.12	-2.22	-0.37
D-		-0.06	-0.22		-0.87	0.11			0.23	-2.93	0.05	-54.65	-0.28	1.14			-0.35
D+		0	0.11		-0.93	-0.04			0.72	2.16	0.04	-34.91	-0.49	0.26			-0.42
		0.06			0.44	0.03			-0.05	-5.03		-74.07	-0.25	1.48			-0.43

Meta-analyse : package 'R' **Metafor (rma.mv)**



RÉSULTATS

CARACTÉRISATION AGRONOMIQUE

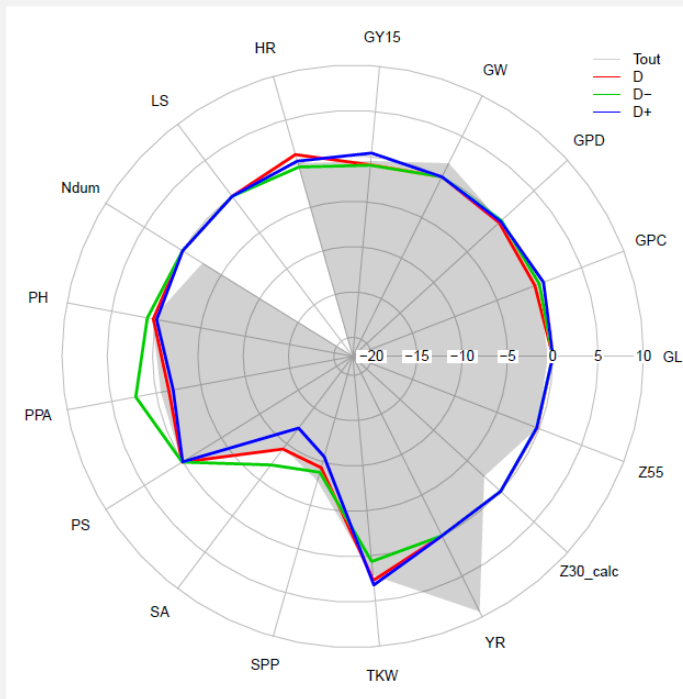


CARACTÉRISATION : QTL METAPOPOP (3 ANNÉES)

○ QTL_5 tallage

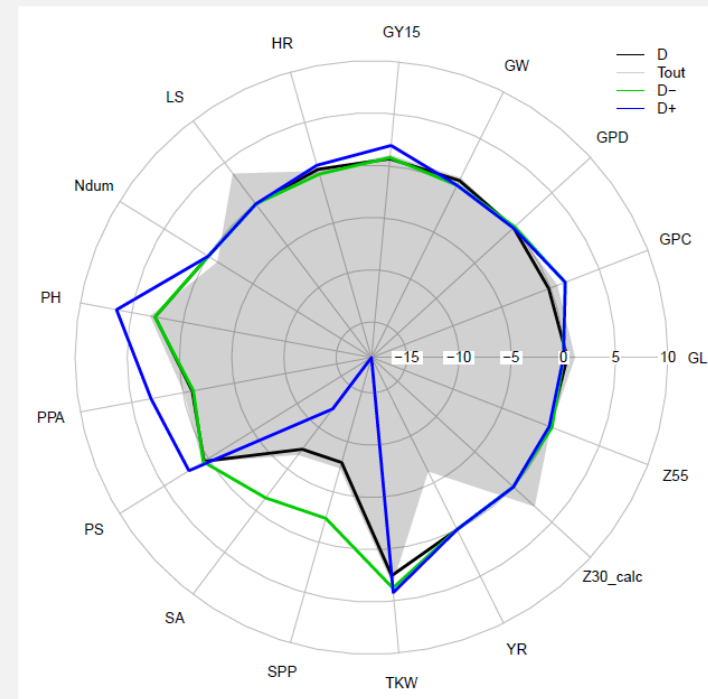
5039_Q5_2.2D Vs 5039_Q5_2.5R

	Indiv	QTL	NIL_name	NIL_type	Donneur_Receveur	Z55	PH	SA	GY	PMG	GPC
11	5039_Q5_2.2D	Q5	5039_Q5	BC	D					+	
12	5039_Q5_2.5R	Q5	5039_Q5	BC	R			+			



APUL_Q5_1.3UL Vs APUL_Q5_1.1AP

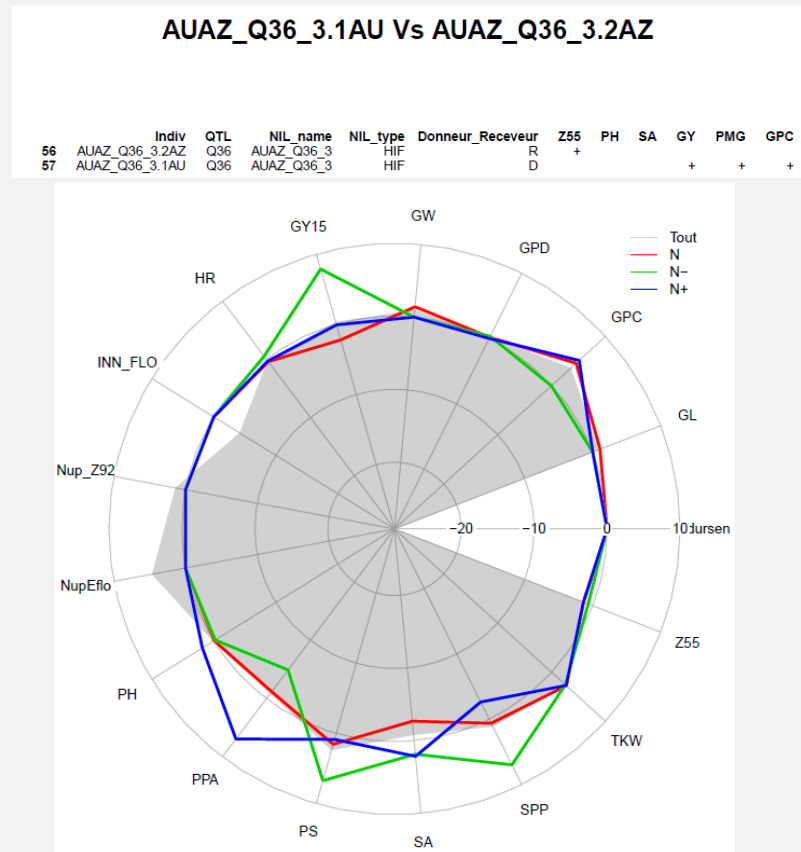
	Indiv	QTL	NIL_name	NIL_type	Donneur_Receveur	Z55	PH	SA	GY	PMG	GPC
48	APUL_Q5_1.3UL	Q5	APUL_Q5	HIF	D					+	
49	APUL_Q5_1.1AP	Q5	APUL_Q5	HIF	R			+			



- chromosome 1A, effet allèle Autan dans Apache //effet allèle Uli3 vs Apache
- SA : réduction de -8% à -10% (plus la densité de semis est forte, plus l'effet sur le tallage est conséquent (de -13 à -15 % pour la modalité D+)
- TKW : +1g sans induire d'effet négatif sur GY et GPC

CARACTÉRISATION : QTL METAPOP

QTL_36 Azote



- chromosome 4A, effet allèle Autan vs Aztec
- Augmentation TKW et GPC de +3% (sauf N-), accompagnée d'une perte de GY (sauf N-, GY +4,4q/ha)

QTL METAPOPOP : SYNTHÈSE DES RÉSULTATS 15-16-17

- Meta-analyse Metafor essais « densité » toute modalité D et année

Couple NIL	GL	GW	GPC	GPD	GY15	PH	SA	SPP	TKW	PS	Z30	Z55
5039_Q5	-0,04	0,06	-0,02	-0,05	0,48	0,30	-52,53	-0,30	0,91	0,06	-2,22	-0,38
APAU_Q76	0,02	0,01	0,33	0,32	0,22	-0,22	-33,66	-0,18	0,59	0,33	-6,74	-1,20
APAZ_Q28	0,11	0,01	0,19	0,18	0,98	0,56	-5,06	0,00	1,10	-0,18	NA	-0,11
APUL_Q5	0,07	0,03	0,09	0,11	0,92	2,75	-37,03	-0,24	1,41	0,50	2,53	-0,01

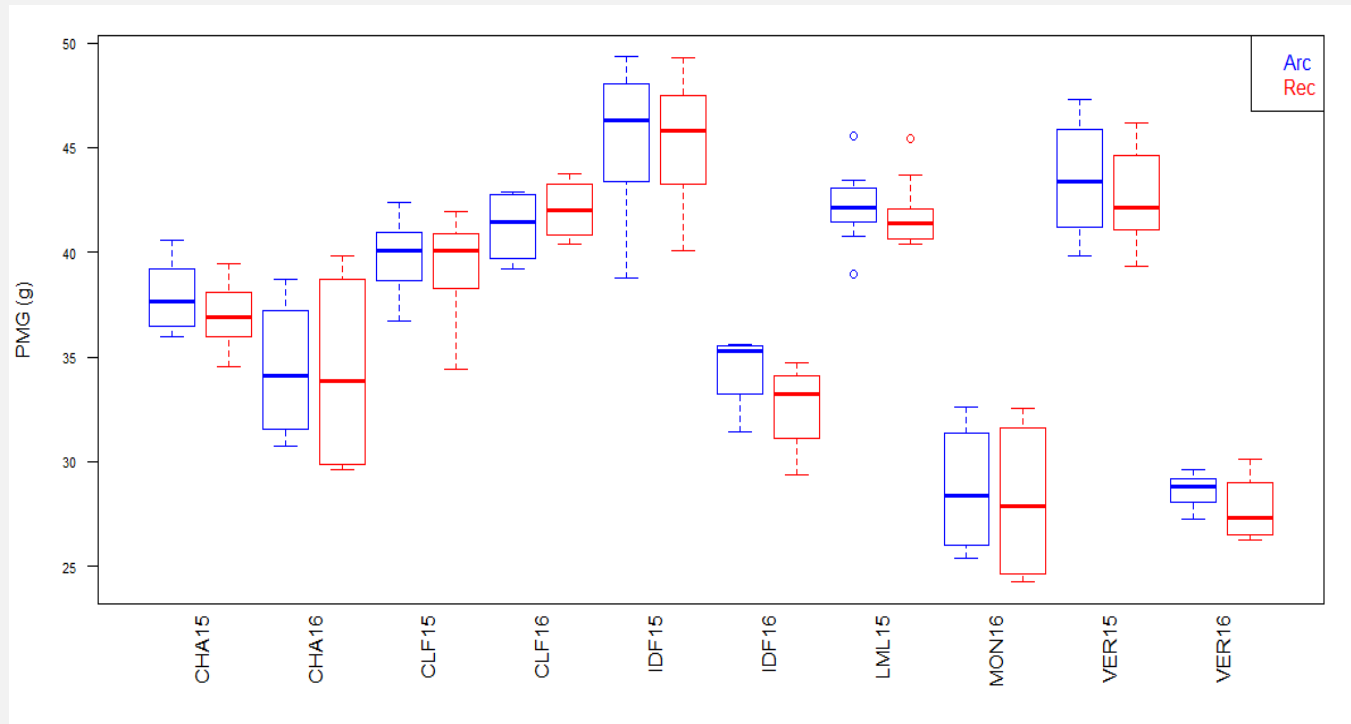
- Meta-analyse Metafor essais « azote » toute modalité N et année

Couple NIL	GL	GW	GPC	GPD	GY15	PH	SA	SPP	TKW	PS	Z55	dursen	INN_FLO
5197_Q60	-0,12	0,06	0,35	0,70	0,36	7,46	12,76	0,11	1,45	4,05	-0,56	NA	NA
APAU_Q76_3	0,00	0,00	0,33	0,23	0,19	-0,32	11,97	0,20	0,79	0,34	-0,57	-4,77	0,04
APAZ_Q81	0,00	0,05	0,27	0,42	0,44	-0,44	10,40	-0,01	0,56	2,06	-1,64	NA	NA
AUAZ_Q36_3	0,05	0,04	0,35	0,26	0,03	-0,02	-8,41	0,02	1,19	2,19	-1,57	-32,72	-0,04

- 6 QTLs avec effets significatifs au champ (3 années), QTL 5, 28, 76, 36, 60 et 81
- Résultats en accord avec les effets attendus aux QTL
- Augmentation des valeurs GPC et indice GPD sans altération du rendement

CARACTÉRISATION : RÉGIONS ARE

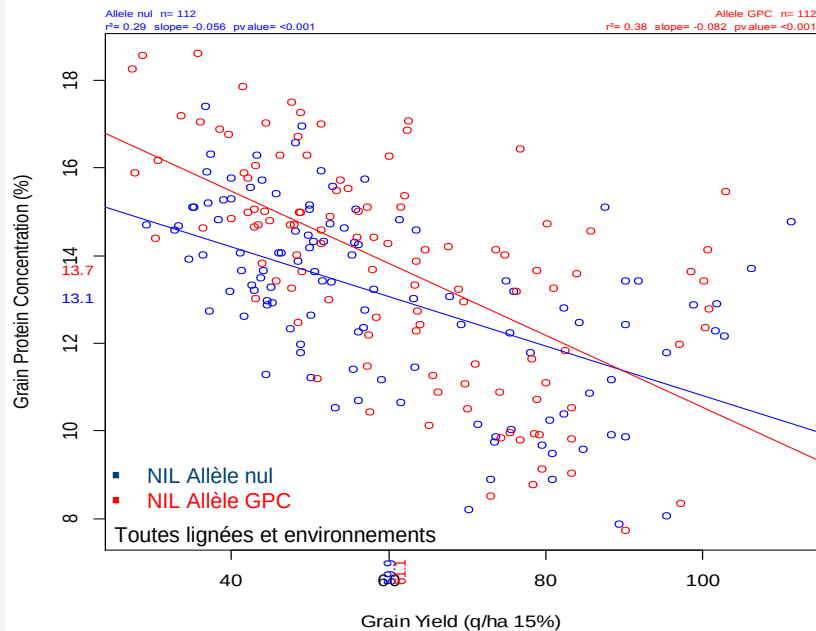
- QTL BGAzo7A.2



- QTL azo7A.2 et 1B.3 : pas d'effet observé sur le rendement
- QTL azo7A.2, allèle Arche : + 0.5 g sur le PMG

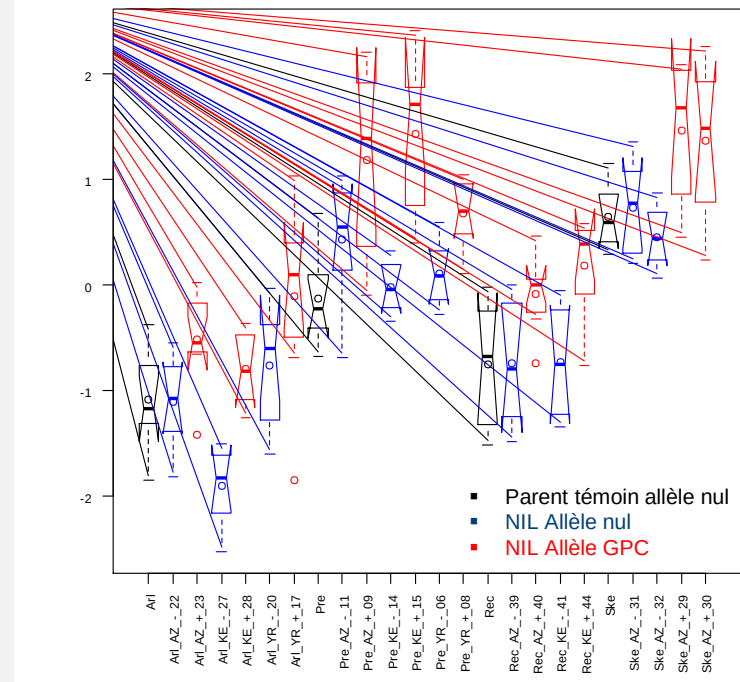
CARACTÉRISATION : NAM-B1 (2 ANNÉES)

Teneur en protéines



- Allèle fonctionnel : + 0,6% GPC
- Diminution de l'impact quand le rendement augmente

Indice GPD

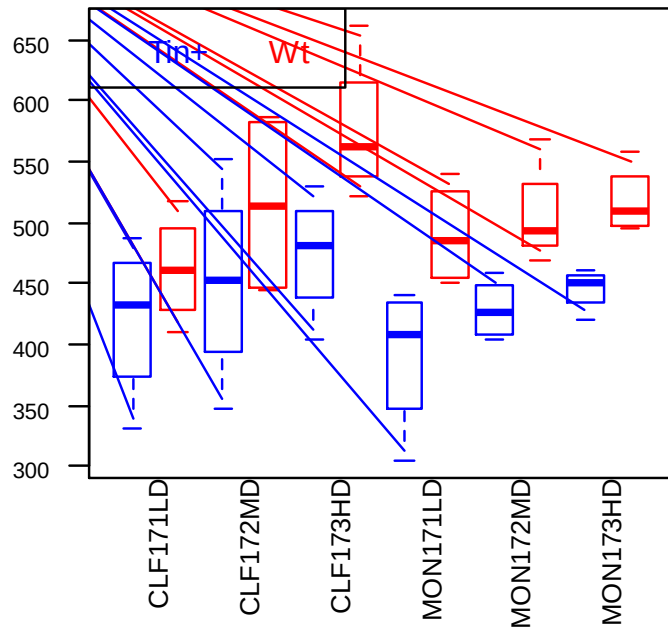


- Variations en fonction des combinaisons receveur-donneur
- Allèle GPC : effet GPD démontré dans plusieurs fonds

CARACTÉRISATION : TIN-1A (1 ANNÉE)

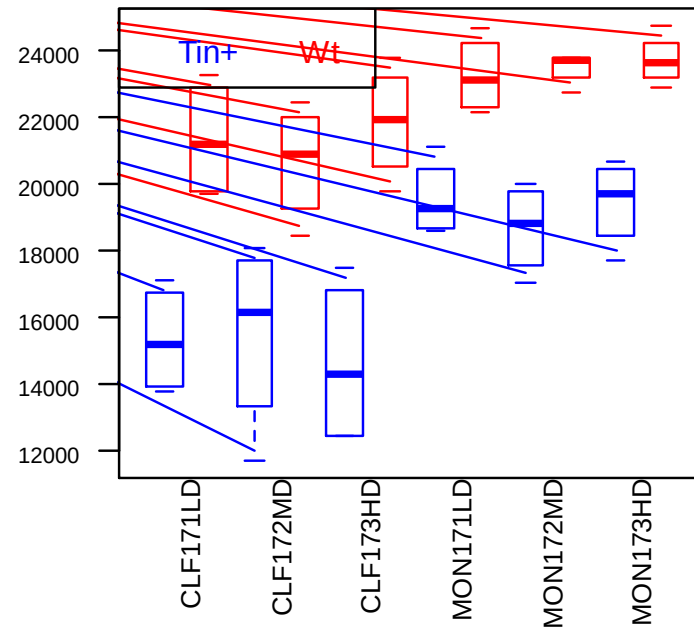
Tallage

SA



Grains par m²

GPA



- Interactions allèle *Tin* et fond génétique : Korelli > Apache

Fond caphorn exclus (peu tolérant froid)

- Allèle *Tin* : - 76 épi/ m² , - 5000 grains / m²
- Impact négatif sur le rendement (-11 q/ha), + 0.7 sur le GPC

Conclusion : effet fort sur le tallage démontré, comportement dans environnements à forte contrainte thermique et hydrique à évaluer



F_{SOV}

RÉSULTATS CARACTÉRISATION MOLÉCULAIRE

CARACTÉRISATION GÉNÉTIQUE DU MATÉRIEL

Objectifs

- Marquage hors zone QTL pour évaluer la « pureté » des lignées isogéniques
- Marquage zone QTL pour caractériser la taille des zones introgressées
- Développement de nouveaux marqueurs dans la zone QTL

Génotypage GBC

- Sélection des SNP

9802 marqueurs sélectionnés
9278 génotypés (94,7 %)

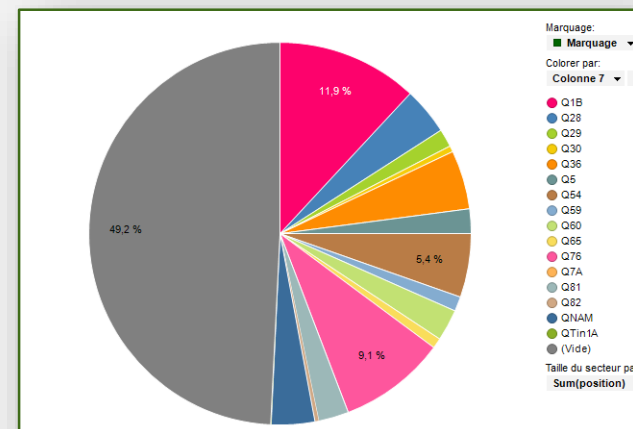
2723 90K

3240 420K

**3305 BGA &
10 INRA**

Répartition homogène
Position Physique et ou génétique
Densification zones QTL

- Répartition SNP



VISUALISATION DU NIVEAU D'HOMOLOGIE DES NIL



● Valeur de l'index de similarité : 96 %

SYNTHÈSE DU NIVEAU D'HOMOLOGIE DES NIL

○ Tableau de synthèse

QTL	TYPE	Parent_A	Parent_B	taille introgression	pureté	index similarité % marqueurs totaux
NAM_B1	BC	Yecora Rojo GPC	Premio	20%	ok	96,723
NAM_B1	BC	Yecora Rojo GPC	Premio	20%	ok	
NAM_B1	BC	Yecora Rojo GPC	Premio	20%	ok	
NAM_B1	BC	Yecora Rojo GPC	Premio	20%	ok	
NAM_B1	BC	Anza GPC	Premio	130%	pb 2B et 6B	96,389
NAM_B1	BC	Anza GPC	Premio	130%	pb 2B et 6B	
NAM_B1	BC	Anza GPC	Premio	130%	pb 4B, 2B, 1A	
NAM_B1	BC	Anza GPC	Premio	130%	pb 4B, 2B, 1A	
NAM_B1	BC	Kern GPC	Premio	130%	pb 3D	97,833
NAM_B1	BC	Kern GPC	Premio	130%	pb 3D	
NAM_B1	BC	Kern GPC	Premio	130%	pb 3D	
NAM_B1	BC	Kern GPC	Premio	130%	pb 3D	
NAM_B1	BC	Kern GPC	Premio	130%	pb 3D	99,342
NAM_B1	BC	Kern GPC	Premio	130%	pb 3D	97,898

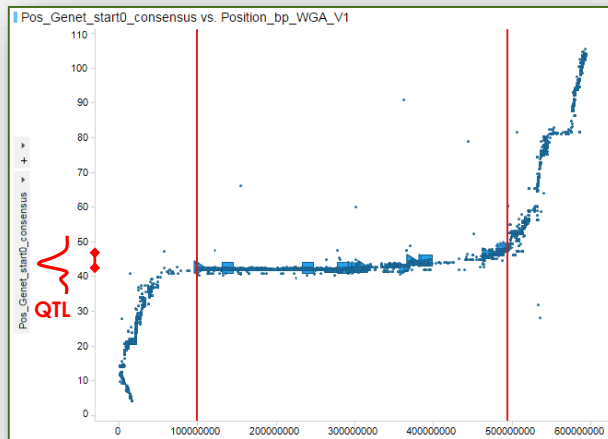
○ Conclusion

- NIL Metapop, ARE et NAM-B1 : Index de similarité 90-95 %
- NIL TIN-1A : Index de similarité 50-60 %
- Sélection des NIL les mieux fixés
- Arrêt des NIL comportant des problèmes de fixation
- Informations pour l'utilisation en sélection : visualisations graphiques de l'homologie et index de similarité, marqueurs SNP

ANCRAGE PHYSIQUE ET CARTOGRAPHIE FINE

Ancrage WGA_V1

- Des centimorgans aux paires de bases ...



QTL	Chromosome	SNP sélectionnés
QTL_5	Chr 1A	59
QTL_28	Chr 3B	24
QTL_36	Chr 4A	16
QTL_60	Chr 6B	25
QTL_76	Chr 7A	19
QTL_81	Chr 7D	25
total :		168

Densification en marqueurs de 6 QTL Metapop

- Sélection des SNP (imputation de 300K marqueurs)

SNP_ID	APACHE	AUTAN	AZTEC	CEZANNE	ULI3
AX-89580009	C	C	C	T	T
AX-89580058	A	A	A	A	A
AX-89580118	A	G	G	A	G
AX-89580137	C	A	A	C	C
AX-89580186	A	A	A	A	A
AX-89580193	T	A	A	T	T
AX-89580236	T	T	T	T	T

- Maximisation du nombre de croisements polymorphes

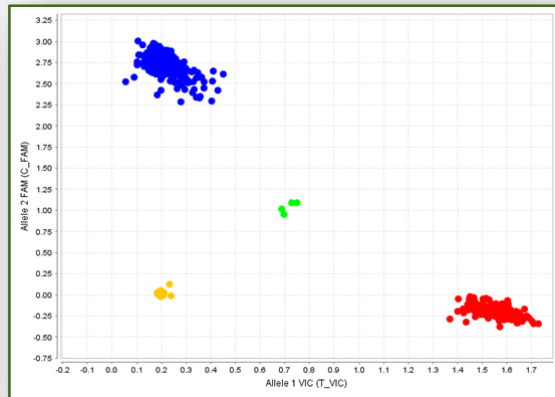
SNP_ID	chrom_WGA_V1	Position_bp	APAU	APCE	APUL	AUCE	AZAU	AZCE	AZUL	ULCE	nb_pop_poly
AX-89599810	chr1A	108904373	NP	P	P	P	NP	P	P	NP	5
AX-89412504	chr1A	121109565	NP	P	P	P	P	NP	NP	NP	4
AX-89450090	chr1A	129869624	P	P	P	NP	P	P	P	NP	6
AX-89464277	chr1A	130072247	NP	P	P	P	P	NP	NP	NP	4
AX-89316433	chr1A	146638626	NP	P	P	P	NP	P	P	NP	5
AX-89339730	chr1A	155080432	P	NP	NP	P	P	NP	NP	NP	3

- Génotypage de 168 nouveaux SNP sur la population de détection des QTL

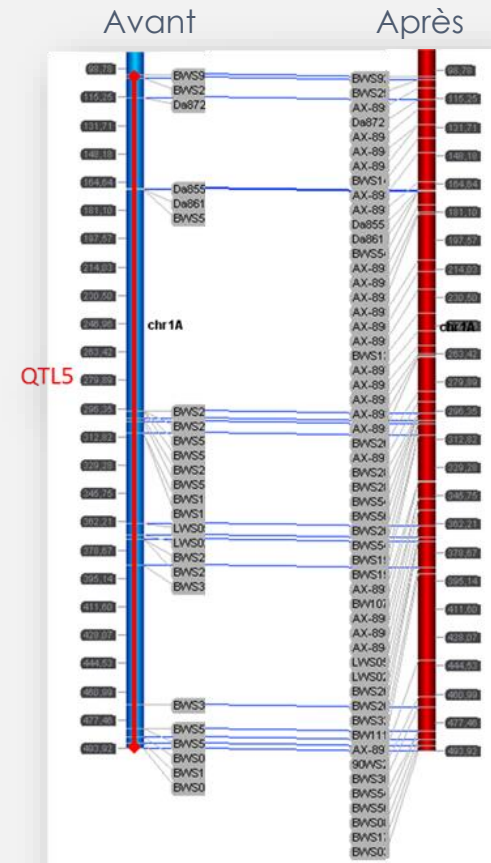
RÉSULTATS DE LA DENSIFICATION EN SNP

Génotypage SNP KASP 551 individus Metapop

Exemple de densification du QTL5 (chr1A)

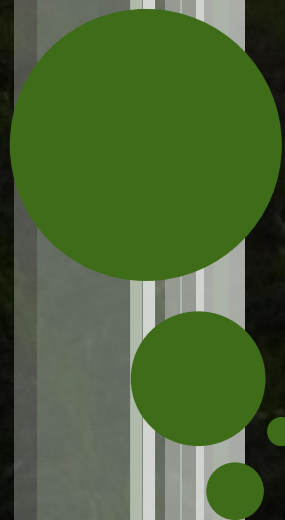


QTL	Chromosome	SNP sélectionnés	SNP génotypés
QTL_5	Chr 1A	59	52
QTL_28	Chr 3B	24	20
QTL_36	Chr 4A	16	11
QTL_60	Chr 6B	25	20
QTL_76	Chr 7A	19	12
QTL_81	Chr 7D	25	22
	total :	168	148



- Nouvelle détection QTL envisageable en fonction de l'intérêt de réduire ou cloner certains QTL

CONCLUSIONS PERSPECTIVES



CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

○ Large catalogue de QTL étudiés

- Des effets significatifs démontrés au travers d'un large réseau d'essai et l'utilisation de lignées NIL (beaucoup d'échanges entre les partenaires sur les dispositifs expérimentaux et méthodes d'analyse)
- Des zones améliorant le GPC et l'indice GPD, le tallage et les autres composantes du rendement
- Un jeu de données conséquent, des analyses complémentaires à envisager (interactions allèle x environnement, compensations entre variables, path analysis ...)
- Une bonne caractérisation agronomique et génétique du matériel pour l'utilisation en sélection

○ Des perspectives de valorisation

- NAM-B1 : une publication envisagée, introduction dans un programme de sélection INRA
- De nouveaux environnements à tester à partir du matériel développé
- Cartographie fine ou clonage de certains QTL

REMERCIEMENTS



Julien CONSTANT
Olivier PINAY
GNIS ...



Jacques LE GOUIS
Jérôme SALSE
Caroline PONT
Séverine ROUGEOL
Didier TROPEE
Emmanuel HEUMEZ
Alain CHASSIN ...



Jérémy DERORY
Céline DUQUE
Franck LACOUDRE
Les expérimentateurs ...



Katia BEAUCHENE
David GOUACHE
Jean-Pierre COHAN
Les expérimentateurs ...



Stéphane LAFARGE
Sébastien PRAUD
Lenaick JEHANNIN
Nadine DURANTON
Lauriane CHASSAING
Hervé DUBORJAL
Gaëtan, Agathe, Fabien, Guylaine,
Martial, Florian, Jonathan ...

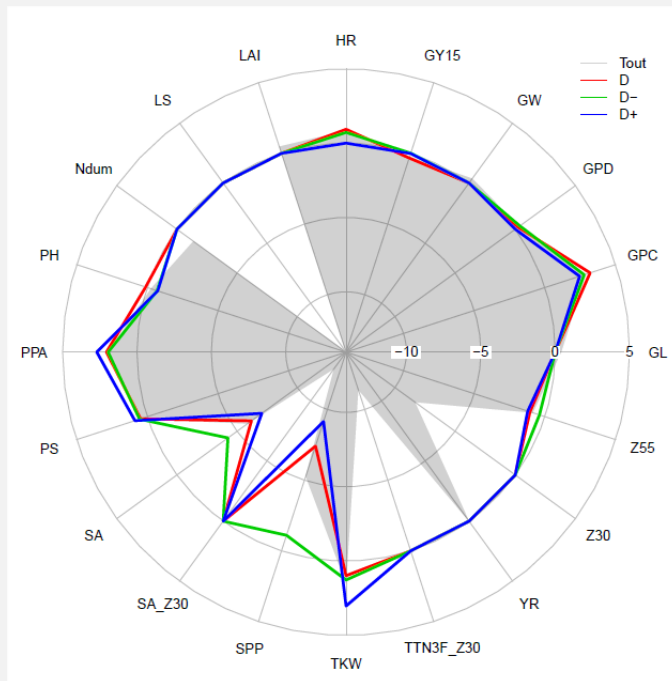


CARACTÉRISATION : QTL METAPOP

○ QTL_76 tallage & Azote

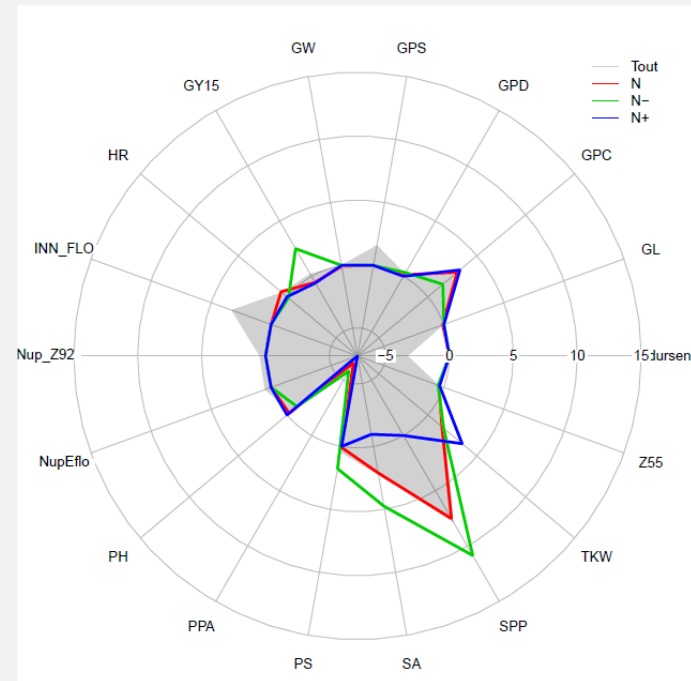
APAU_Q76_1.2AU Vs APAU_Q76_1.1AP

	Indiv	QTL	NIL_name	NIL_type	Donneur_Receveur	Z55	PH	SA	GY	PMG	GPC
30	APAU_Q76_1.1AP	Q76	APAU_Q76	HIF	R	+					
31	APAU_Q76_1.2AU	Q76	APAU_Q76	HIF	D						+



APAU_Q76_3.1AU Vs APAU_Q76_3.2AP

	Indiv	QTL	NIL_name	NIL_type	Donneur_Receveur	Z55	PH	SA	GY	PMG	GPC
32	APAU_Q76_3.2AP	Q76	APAU_Q76_3	HIF	R	+					
33	APAU_Q76_3.1AU	Q76	APAU_Q76_3	HIF	D						+



- chromosome 7A, effet allèle Autan vs Apache (deux couples isogéniques)
- GPC +3% et GPD +
- TKW : augmentation-maintien
- Augmentation GY / modalité N- (à confirmer sur plus d'essais, car année 2016)