

# HEATWHEAT : ANALYSE DE LA DIVERSITÉ GÉNÉTIQUE DE LA RÉPONSE AU STRESS THERMIQUE VIA PHÉNOTYPAGE FIN ET GÉNÉTIQUE D'ASSOCIATION

Stéphane Lafarge (Biogemma)



# INTRODUCTION



- Impact du stress thermique : perte moyenne mondiale de rendement de 5.5%
- Evolution climatique met en évidence une augmentation de l'impact du stress thermique en Europe sur les cultures de blé
- Reste cependant à clairement identifier les types de stress les plus courants en France en fonction de la spécificité des régions.

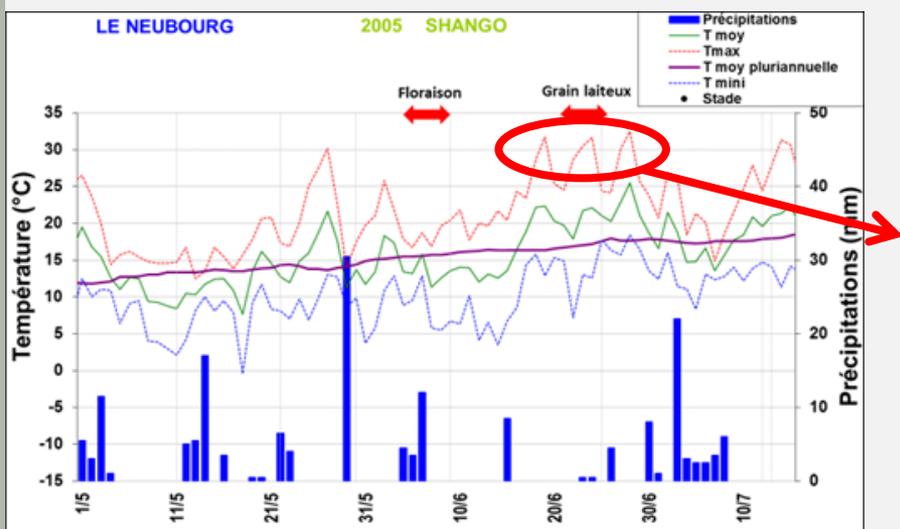
# OBJECTIFS HEATWHEAT



- Faire un panorama des différents types de scénarii de stress thermique en France
  - Mettre au point un protocole expérimental de stress thermique en serre permettant de caractériser le germplasm
  - Etudier la diversité de réponse au stress thermique du matériel Européen, identifier des génotypes d'intérêts ainsi que les allèles favorables/défavorables
  - Mieux comprendre les mécanismes sous jacents de tolérance/sensibilité au stress thermique
- => Outils de caractérisation et d'aide à la sélection pour améliorer la tolérance au stress thermique dans le matériel Français

# ANALYSE AGRO-CLIMATOLOGIQUE

- **Démarche:** tenter d'identifier des situations de pertes significatives de rendement attribuables à un stress thermique
- **Sources:** données d'observatoires Ecophysiologie Arvalis
  - 1<sup>ère</sup> méthode : analyse des composantes (PMG, Nb grains, HI) → trop bruités, trop de causes possibles
  - 2<sup>ème</sup> méthode : analyse d'une situation « avérée » → Hte Normandie 2005.



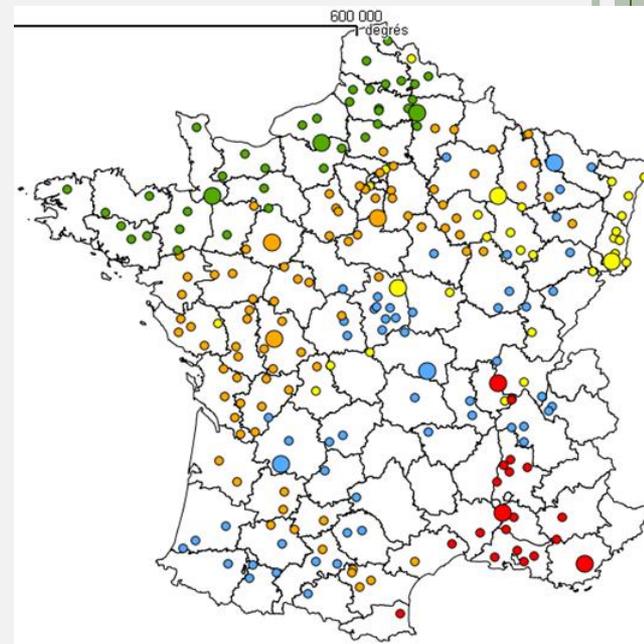
Cv	Z55	Rend.	PMG	Dens Epi	Grains /épi	IR
Soissons	18/05	86.7	38.5	544	41	0.44
Apache	21/05	87.0	41.8	534	39	0.45
Caphorn	23/05	101.6	40.7	500	50	0.48
Shango	30/05	75.8	32.6	489	48	0.36

**Hypothèse:**  $T_{max}$  proches de 30°C ont pénalisé le remplissage des grains

**Problème:** des conditions climatiques similaires dans d'autres essais n'aboutissent pas aux mêmes pénalités

# TPOLOGIE AGRO-CLIMATOLOGIQUE

- Analyse des données de **232 stations** météorologiques (valeurs moyennes 20 ans)
- **Calcul d'indicateurs phénoclimatiques**
  - (prise en compte de la phénologie locale): Tmin, Tmax, ETP, P-ETP, en différenciant début et fin remplissage
- **Classification** basée sur l'analyse de valeurs moyennes par station
- **Effet année supérieur au zonage géographique**
- **Conclusions :**
  - 5 scenarii moyens
  - Difficulté d'identifier des lieux propices au stress thermique en France (reproductible etc...)



Distribution des différents scenarii de stress thermique en France

=> Conditions contrôlées

## Caractéristiques phénologiques et climatiques

Arrivée tardive à Z30, montaison et remplissage plus rapide; moyennement échaudant, mais Tmin élevées; bilan hydrique plutôt favorable

Précocité médiane; températures chaudes rencontrées précocement dans le cycle; alimentation hydrique plutôt bonne

Précocité médiane, peu de températures élevées; conditions plutôt sèches

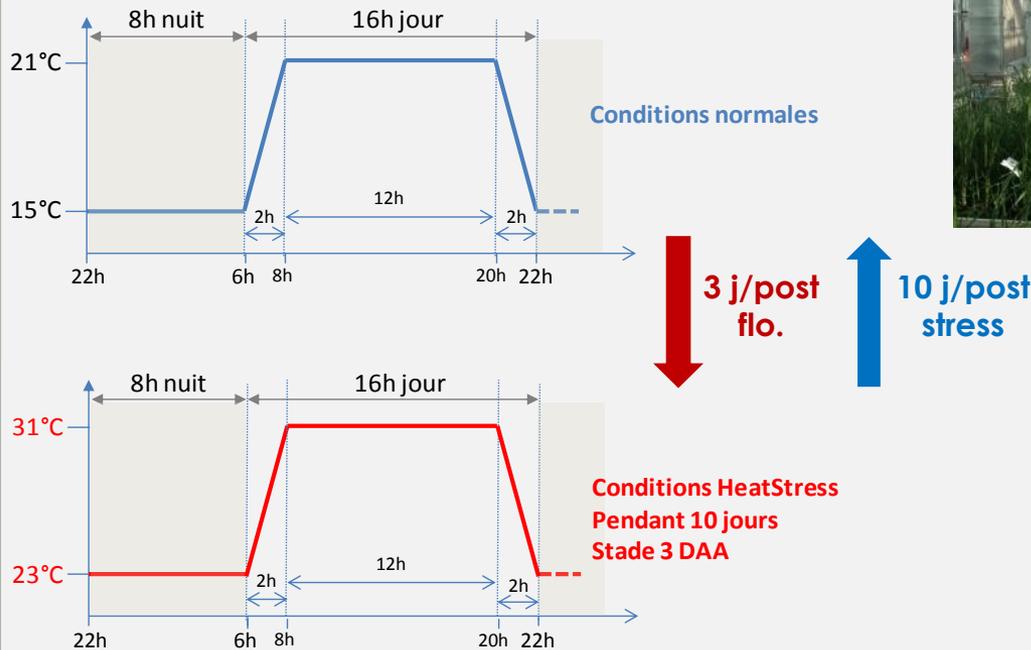
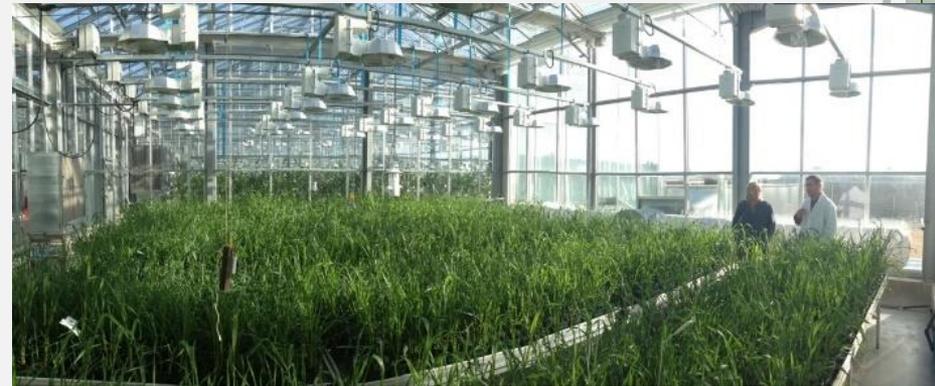
Phénologie précoce permettant de l'échappement; occurrence forte de journées à ETP élevée; déficit en eau pendant des montaison; températures nocturnes pas trop élevées

Phénologie plutôt tardive avec montaison et remplissage longs, peu de températures élevées, peu d'ETP élevées; éventuellement un peu sec en montaison

# ANALYSE DE LA DIVERSITÉ GÉNÉTIQUE EN CONDITIONS CONTRÔLÉES

## Panel BreedWheat

- Données de génotypage disponibles (Axiom420k BW)
- Données de phénotypage produites en conditions contrôlées (serre) par Arvalis (Montardon) et Biogemma (Chappes)
  - Stress thermique
  - Conditions hydriques optimales



**Objectif = Stress thermique post-floraison**

# ANALYSE DE LA DIVERSITÉ GÉNÉTIQUE EN CONDITIONS CONTRÔLÉES

- Dispositif expérimental : split plot avec 3 blocs répétés
  - 203 variétés BreedWheat, dont 3 témoins
  - 3 rép / variété / condition

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
A	1001	1101	1201	1301	1401	1501	1601	1701	1801	1901	2001	2101	2201	2301	2401	2501	2601	2701	2801	2901	3001	3101	3201	3301	3401	3501	3601	3701	3801	3901	4001	4101	4201	4301	4401	4501	4601	4701	4801	4901
B	5001	5101	5201	5301	5401	5501	5601	5701	5801	5901	6001	6101	6201	6301	6401	6501	6601	6701	6801	6901	7001	7101	7201	7301	7401	7501	7601	7701	7801	7901	8001	8101	8201	8301	8401	8501	8601	8701	8801	8901
C	9001	9101	9201	9301	9401	9501	9601	9701	9801	9901	10001	10101	10201	10301	10401	10501	10601	10701	10801	10901	11001	11101	11201	11301	11401	11501	11601	11701	11801	11901	12001	12101	12201	12301	12401	12501	12601	12701	12801	12901
D	13001	13101	13201	13301	13401	13501	13601	13701	13801	13901	14001	14101	14201	14301	14401	14501	14601	14701	14801	14901	15001	15101	15201	15301	15401	15501	15601	15701	15801	15901	16001	16101	16201	16301	16401	16501	16601	16701	16801	16901
E	17001	17101	17201	17301	17401	17501	17601	17701	17801	17901	18001	18101	18201	18301	18401	18501	18601	18701	18801	18901	19001	19101	19201	19301	19401	19501	19601	19701	19801	19901	20001	20101	20201	20301	20401	20501	20601	20701	20801	20901

## Phénotypage

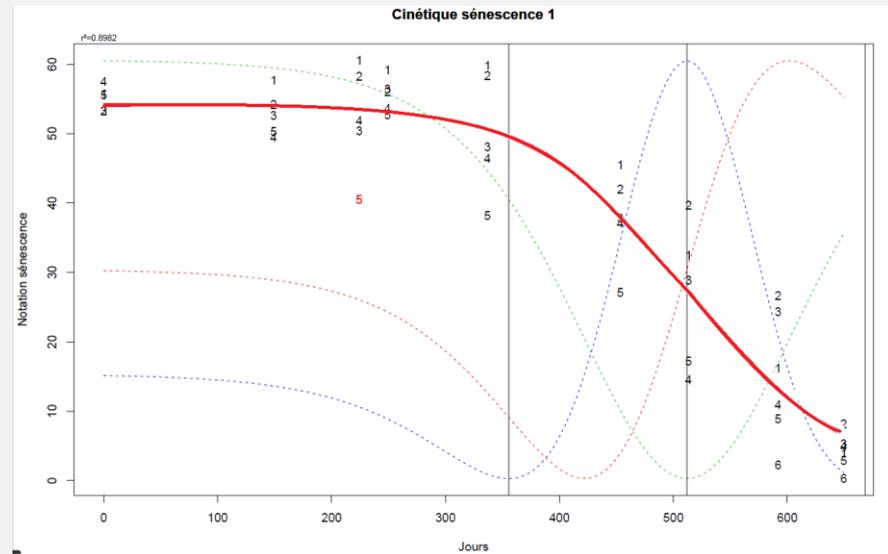
- Pour brin maître et talles secondaires de façon indépendante
  - Nombre de grain
  - Poids des grains
  - PMG
  - Composantes taille du grain (longueur, largeur, surface)



# ANALYSE DE LA DIVERSITÉ GÉNÉTIQUE EN CONDITIONS CONTRÔLÉES

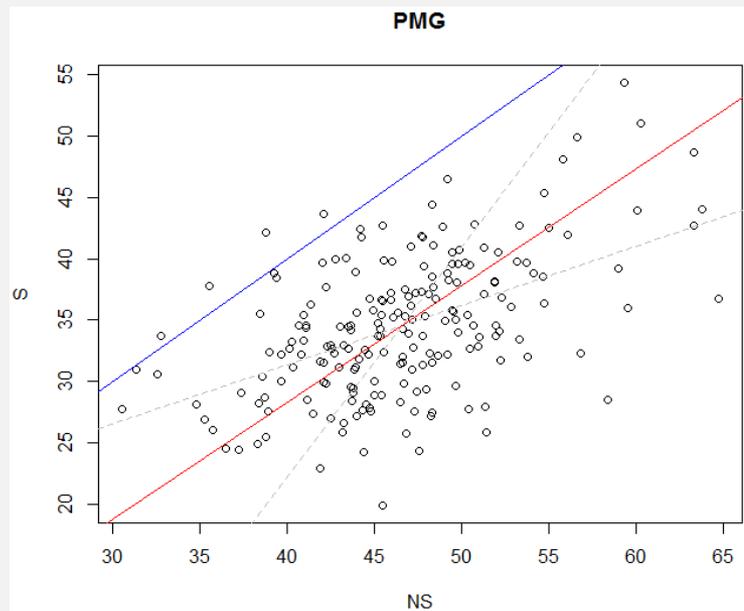
## ○ Phénotypage

- SPADS: pour mesure des paramètres de sénescence
  - Modèle logistique / 6 points de mesure en moyenne
  - Détermination de :
    - Début/Fin
    - Aire sous la courbe
    - ...

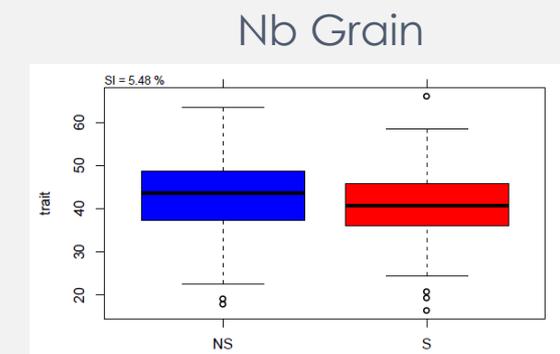
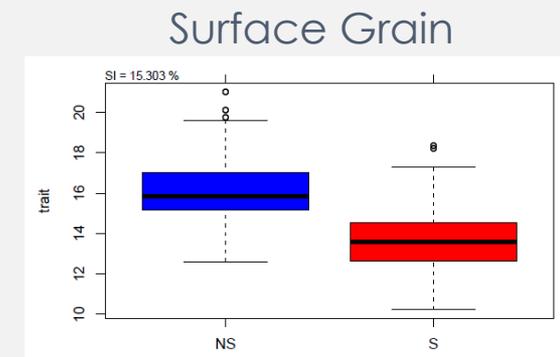
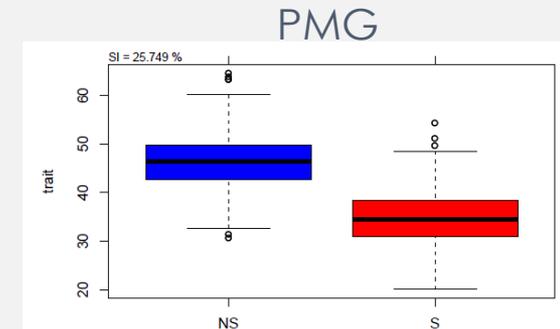


# ANALYSE DE LA DIVERSITÉ GÉNÉTIQUE EN CONDITIONS CONTRÔLÉES

- Expérimentation 2016
    - PMG : -26%
    - Surface grain : -15%
    - Nb de grain/épi : -5% (NS)
- => Stress remplissage du grain

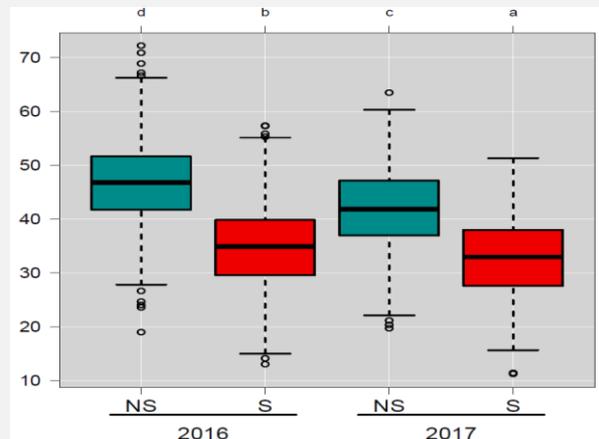


Données des PMG en conditions optimales (NS) ou stressées (S) lors de l'expérimentation 2016



# ANALYSE DE LA DIVERSITÉ GÉNÉTIQUE EN CONDITIONS CONTRÔLÉES

- Bilan impact sur les caractères pour les 2 années d'essais:
  - Pas (peu) d'impact sur le nb de grain
  - Impact fort sur le PMG : 26 et 22% de réduction en conditions stressantes (2016 & 2017)
  - Impact sur composantes du grain (surface...)
- Validation de nos essais => Stress lors du remplissage du grain

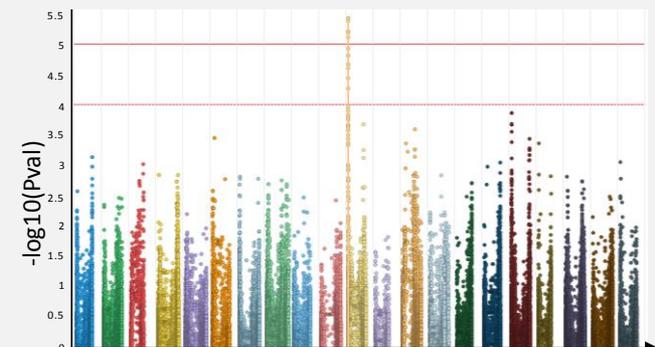


Impact du stress thermique sur le PMG lors des expérimentations 2016 et 2017.

(NS : boxplot des valeurs des plantes non stressées, S : idem pour les plantes stressées)

# GÉNÉTIQUE D'ASSOCIATION SUR UN PANEL DE DIVERSITÉ

- 219k SNP
- 24 caractères regroupant
  - traits agronomiques (floraison, PMG, longueur/largeur des grains...)
  - traits physiologiques liés à la sénescence (contenu en chlorophylle, *stay green*, vitesse de sénescence etc...).
- Effet interaction SNP x Traitement :
  - 196 associations significatives représentant 103 SNPs uniques
  - 41 zones d'intérêts
    - Spécifiques stress thermique
    - Communes avec des zones GWAS Stress hydrique (résultats BW)



Manhattan plot des résultats GWAS pour le PMG

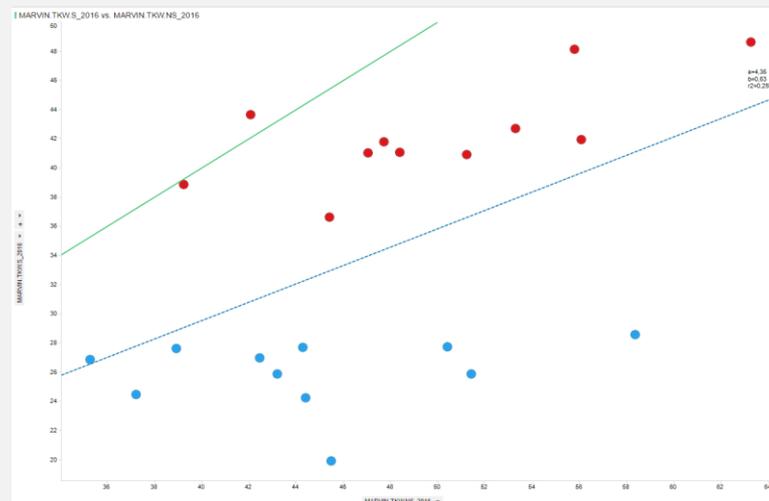


# CONCLUSIONS ANALYSE DIVERSITÉ ET GWAS

- Un protocole de stress thermique en serre a été mis au point pour caractériser un panel de lignées (200)
- Les données phénotypiques ont été produites et ont permis de caractériser la diversité de réponse au stress thermique du panel BreedWheat
  - Identification de lignées :
    - Résistantes/Sensibles au stress thermique => 18 pour validation en réseau d'essais
    - Étudiées en phénotypage fin : physiologique et moléculaire => 2 lignées
- Evaluation d'outils de phénotypage
- Production de données de GWAS :
  - Identification des marqueurs et de zones d'intérêts

# VALIDATION EN RESEAU D'ESSAIS

- 18 lignées sélectionnées : 9 Sensibles / 9 Tolérantes
- 6 sites en 2018 :
  - 3 pour Arvalis : Bergerac, Nîmes, Montardon
  - 2 pour Biogemma: (Castelnaudary(Limagrain)), Alixan (Helianthis)
  - 1 site INRA: Mauguio



Données des PMG en conditions optimales (NS) ou stressées (S) pour les 18 génotypes (rouge/tolérant ; bleu/sensible) lors de l'expérimentation 2016

- 2018 : pas de stress thermique identifié sur l'ensemble des essais  
=> validation impossible

# PHENOTYPAGE FIN : ANALYSES PHYSIOLOGIQUES ET MOLÉCULAIRES DE LA RÉPONSE AU STRESS THERMIQUE

## ○ Objectifs :

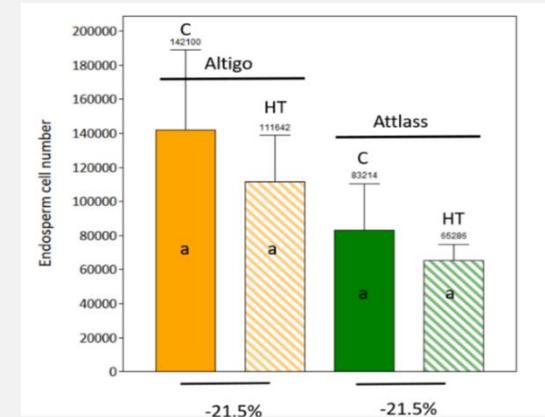
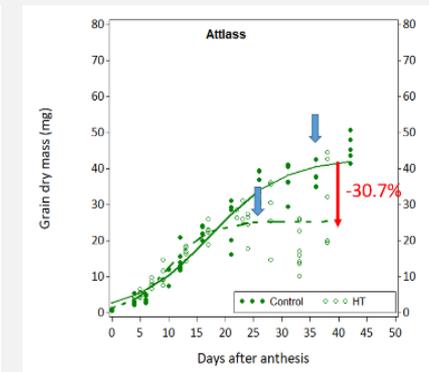
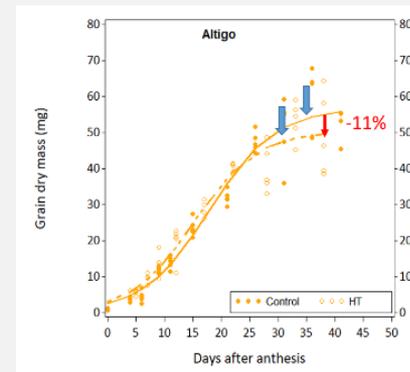
- Meilleure compréhension des mécanismes physiologiques de tolérance/sensibilité
  - Définir des gènes marqueurs de stress thermique potentiellement liés au niveau de tolérance.
- 
- Sur 2 génotypes sélectionnés lors de l'analyse de diversité en serre :
    - **Altigo (R)** et **Atflass (S)**
    - Analyse en conditions de chambre de culture : mêmes conditions d'applications de stress qu'en serre
    - Phénotypage fin en cinétique des grains individuels :
      - 14 stades de développement du grain de blé
      - dont 6 communs (0, 80, 120, 180, 220 et 500°C.d) pour les analyses physiologiques et transcriptomiques

# PHENOTYPAGE FIN : ANALYSES PHYSIOLOGIQUES ET MOLÉCULAIRES DE LA RÉPONSE AU STRESS THERMIQUE

- **Analyse physiologique** : masses, dimensions, nb cellules de l'albumen (taille potentielle), durée et vitesse de remplissage
- **Analyse transcriptomique** : L'expression de 40 gènes a été suivie en qRT-PCR à tous les stades, pour les 2 génotypes, pour les 2 conditions.
  - Sélectionnés dans la littérature comme répondant à l'élévation de température, 2 groupes de gènes ont été sélectionnés :
    - Métabolisme carboné
    - Voies de signalisation

# PHENOTYPAGE FIN : ANALYSES PHYSIOLOGIQUES ET MOLÉCULAIRES DE LA RÉPONSE AU STRESS THERMIQUE

- Impact sur le PMG : diminution significative ( $P < 0.05$ ) de la masse finale des grains, respectivement de **11.3 %** et **30.7%** pour les géotypes **Altigo** et **Atlass**
- Diminution similaire du nb de cellule de 21,5% (NS) ; effet non différent entre géotypes
- Diminution de la durée de l'accumulation de matière sèche dans les grains de :
  - **10%** (soit environ 4 jours de remplissage) pour le géotype **Altigo** (NS)
  - **30%** (soit environ 10 jours) pour le géotype **Atlass** (Significatif-5%)

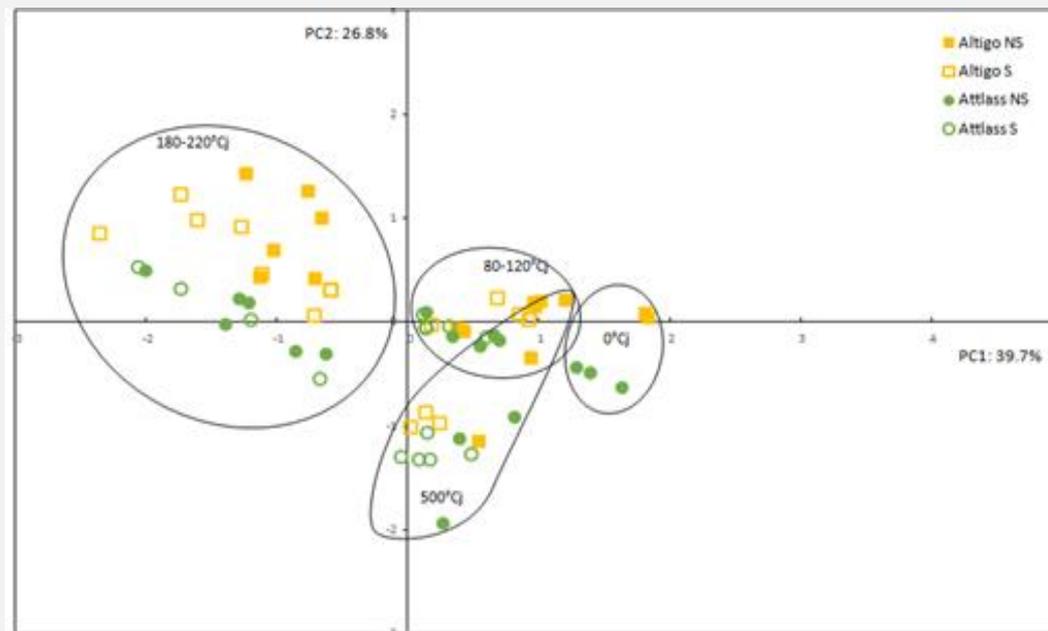


Différences entre ces 2 géotypes suite à un stress thermique :

- Impact sur la structure du grain similaire / pas de différence de multiplication cellulaire
- Impact différentiel sur la capacité/durée de remplissage

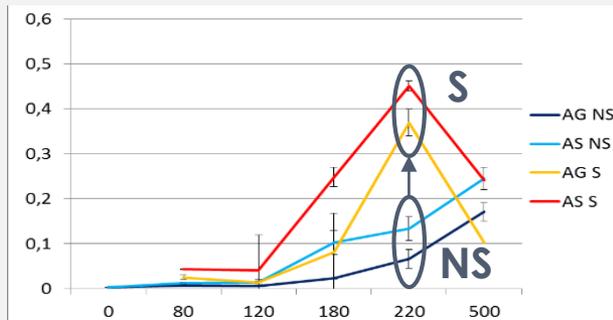
# PHENOTYPAGE FIN : ANALYSES PHYSIOLOGIQUES ET MOLÉCULAIRES DE LA RÉPONSE AU STRESS THERMIQUE

- Analyse des résultats d'expression des 40 gènes candidats
  - Effet global du stress thermique est peu marqué. Seuls les stades 180 et 220°Cd présentent un léger décalage (fin de la phase précoce de développement du grain)

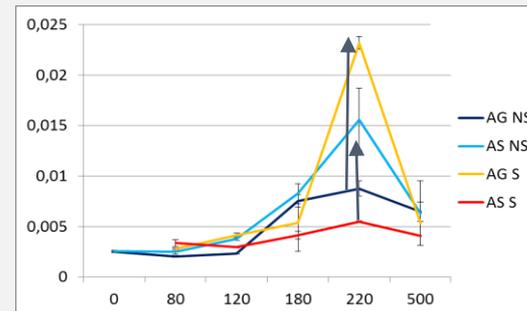


# PHENOTYPAGE FIN : ANALYSES PHYSIOLOGIQUES ET MOLÉCULAIRES DE LA RÉPONSE AU STRESS THERMIQUE

- Analyse des résultats d'expression des 40 gènes candidats
  - Existence de gènes induits/réprimés par le stress, qq soit le génotype (ex : HSP90)
  - Existence de gènes induits/réprimés par le stress et variants selon le génotype (ex : F-Box)



Heat Shock proteine  
(HSP90)



F-Box protein

# CONCLUSIONS : ANALYSES PHYSIOLOGIQUES ET MOLÉCULAIRES DE LA RÉPONSE AU STRESS THERMIQUE

- Différenciation possible des 2 génotypes sensibles et résistants par :
  - Leur cinétique de remplissage du grain
  - Par l'expression différentielle de gènes candidats (notamment liés au métabolisme carboné)=> marqueurs spécifiques du stress thermique ?

# HEATWHEAT : CONCLUSIONS

- Identification des scénarii « stress thermique » / conditions climatiques de remplissage du grain en France ✓
- Possibilité de caractériser le germplasm vis-à-vis de la réponse au stress thermique ✓
  - En conditions contrôlées/Difficile voir impossible au champ
  - Découplé du stress hydrique
  - Identification de lignées d'intérêts
- GWAS ✓
  - Identification de zones/marqueurs utilisables en sélection et en caractérisation variétale
  - Spécifique du stress thermique / commun avec stress hydrique
- Validation des résultats aux champs ✗
- Meilleure compréhension des mécanismes physiologiques et moléculaires de tolérance au stress thermique ✓

## MERCI



JC Deswarte  
L Inchboard  
K Beauchene  
L Maunas  
E Nougue  
A Miramont



G Touzy  
V Lievin  
X Decoopman  
S Praud



C Girousse  
J Roche  
A. Faye  
M Martucci  
B. Derepas  
S Mouzeyar  
A Piquet  
J Le Gouis