

Amélioration des plantes : évolutions des méthodes

André Charrier

Professeur Emérite, Montpellier

SupAgro

andre.charrier@supagro.inra.fr

Stratégie de base de l'amélioration des plantes (AP)

- explorer les sources de variabilité existantes (ressources génétiques)
 - construire des populations ou des individus associant des combinaisons génétiques plus favorables
 - réunir dans une variété, population végétale artificielle et reproductible constituée d'un ou de plusieurs génotypes, un maximum de gènes favorables pour les caractéristiques sélectionnées
- = des innovations méthodologiques constantes avec les progrès des connaissances
- = des ruptures conceptuelles majeures et des changements de paradigme (progrès génétique, agrobiodiversité, développement durable...)

XXème siècle: sélection pour le progrès génétique

■ **Conséquences +**

- Efficacité et progrès génétique rapide
- Industrie performante : emploi et valeur ajoutée
- Diffusion du progrès génétique, conseil & évaluation
- Adaptation aux évolutions de l'agriculture,
- Réactivité forte à la demande des acteurs de la filière

■ **Conséquences -**

- Simplification des rotations : diminution du nombre d'espèces cultivées
- Une disparition des populations de pays (sauf dans les zones marginales) et problématique des ressources génétiques
- Disparition de l'hétérogénéité génétique des variétés & Grandes surfaces avec le même cultivar
- Homogénéité génétique : développement d'épidémies
- Plus récemment, émergence de questions autour des droits de propriétés intellectuelles



recombinaison

Evaluation multisite et pluriannuelle des caractéristiques variétales
dans différents environnements:

- expérimentation contrôlée : plans d'expérience
- interactions Génotype x Environnement

Le progrès génétique en question

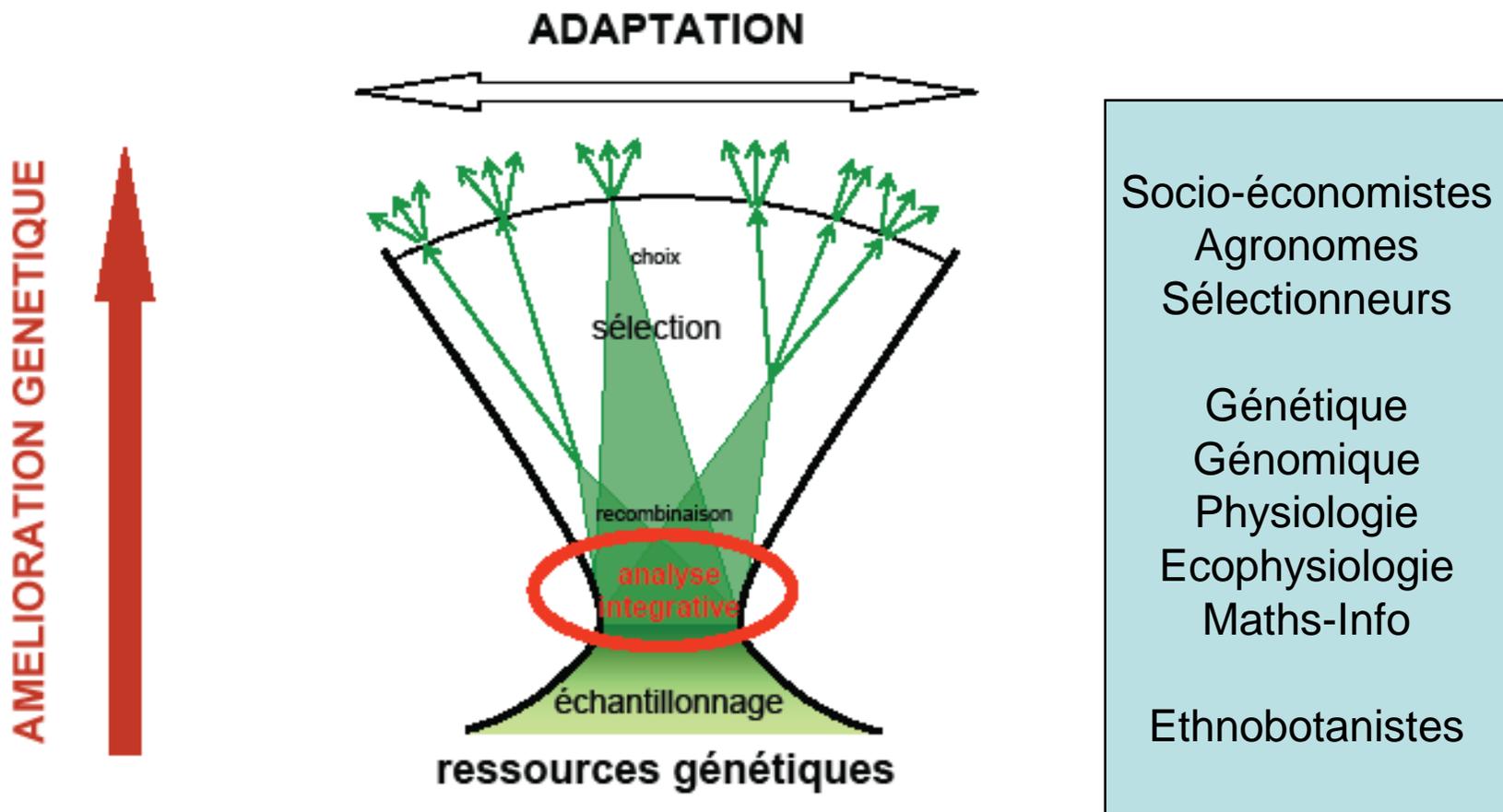
■ **Concept variétal HYC** (intensif et Révolution Verte)

- **indicateurs économiques**: productivité/ha, demande des filières

- **indicateurs agronomiques**: régularité production, itinéraires techniques simplifiés et sécurisés

- **indicateurs écologiques**: accroissement nitrates, pesticides
réduction biodiversité, invasions biologiques...

= Responsabilités directe (économie et système de production) et indirecte (variétés)



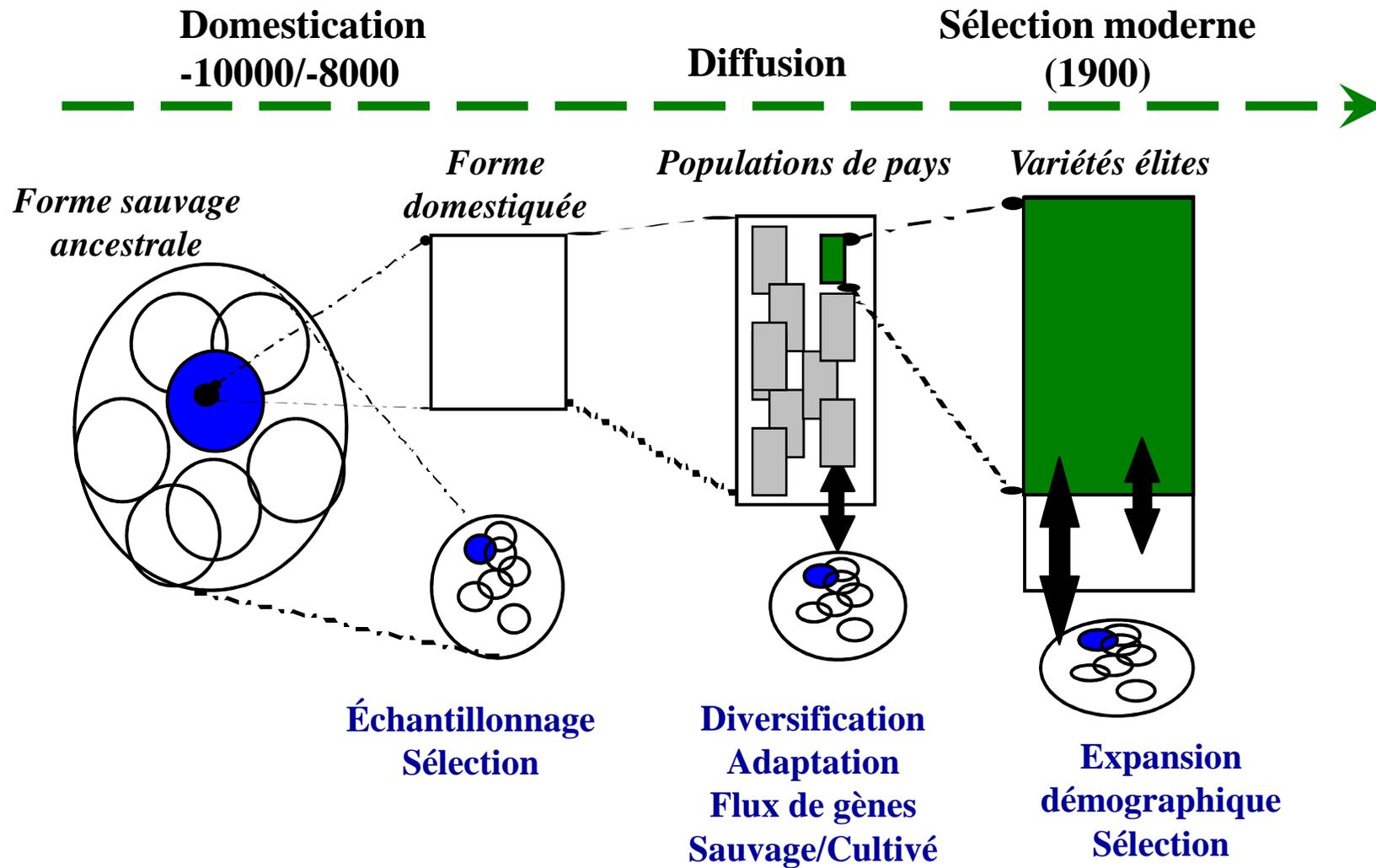
**Amélioration variétale: convertir
la diversité génétique en adaptation élargie**

1- Indicateurs de diversité génétique, variétés et gestion dynamique

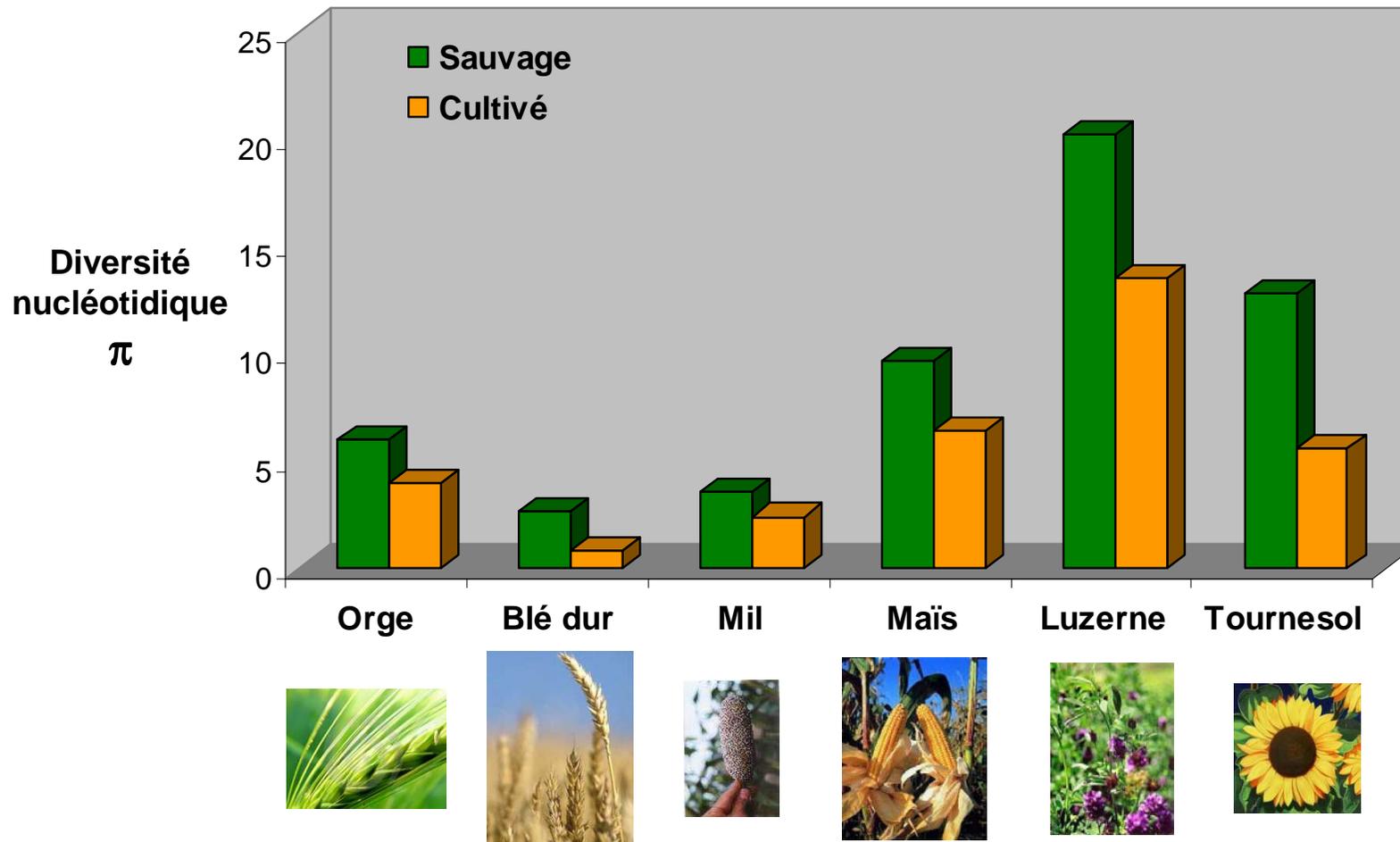
Indicateurs de diversité génétique

Paysage (fonctionnalité des écosystèmes)	Mosaïque espèces/cultivars (biodiversité)
Parcelle (populations, compétition, sélection)	Rotation, association Types variétaux
Plante (adaptation, plasticité, symbiose)	Caractères sélectionnés
Génome (organisation et interactions gènes)	Structure génétique Carte génétique
Gènes	Diversité allélique Diversité nucléotidique
ADN	Séquences et nucléotides

Histoire d'une plante cultivée



Conséquences de la domestication et de l'amélioration des plantes : perte de diversité



↪ la diversité utilisée dans le pool cultivé est réduite

Variation agro-morphologique collections mondiales

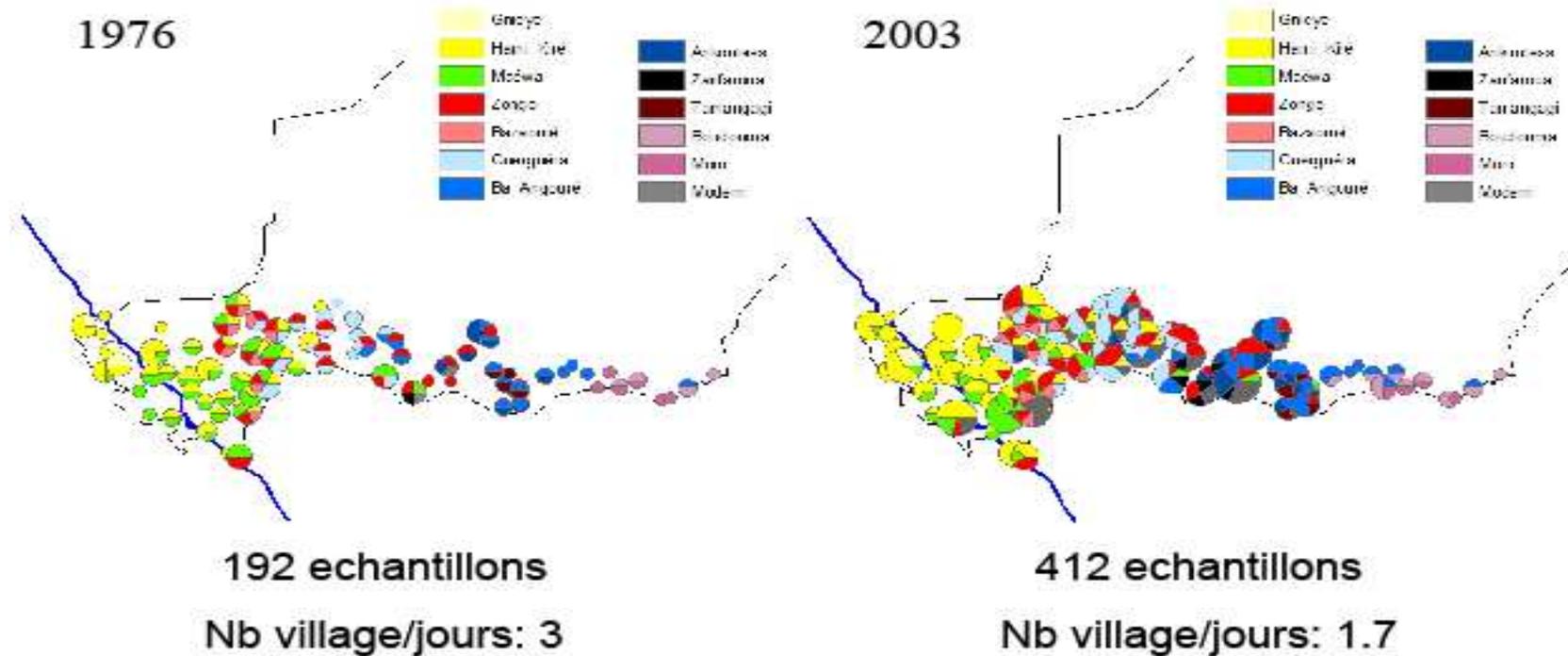


Sorgho



Riz

Diversité mil (Niger)



Diversité génétique du maïs américain

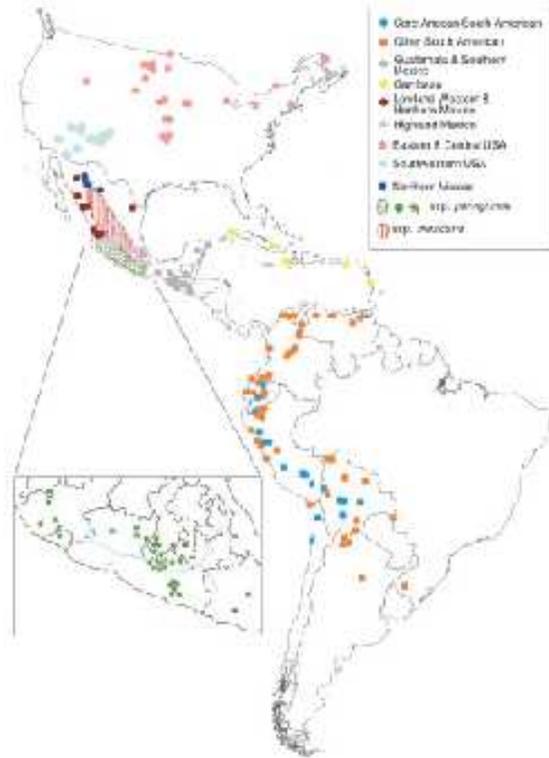


Fig. 1. Geographic distribution of maize landraces in the Americas by their genetic diversity based on 12 microsatellite loci. The map shows the distribution of 120 maize landraces in the Americas. The map is color-coded by region: Central America (blue), Old World America (orange), Guatemala & Southern Mexico (green), Caribbean (yellow), Lowland Mesoamerica (red), Highland Mesoamerica (purple), Eastern & Central USA (light blue), Southern USA (dark blue), Northern Mexico (dark red), and other populations (grey). The map shows the distribution of 120 maize landraces in the Americas. The map is color-coded by region: Central America (blue), Old World America (orange), Guatemala & Southern Mexico (green), Caribbean (yellow), Lowland Mesoamerica (red), Highland Mesoamerica (purple), Eastern & Central USA (light blue), Southern USA (dark blue), Northern Mexico (dark red), and other populations (grey). The map shows the distribution of 120 maize landraces in the Americas. The map is color-coded by region: Central America (blue), Old World America (orange), Guatemala & Southern Mexico (green), Caribbean (yellow), Lowland Mesoamerica (red), Highland Mesoamerica (purple), Eastern & Central USA (light blue), Southern USA (dark blue), Northern Mexico (dark red), and other populations (grey).

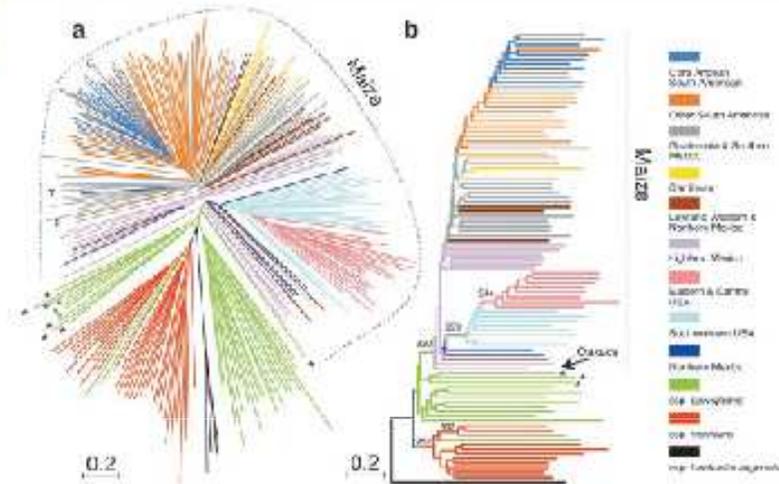


Fig. 2. Phylogenetic relationships among maize landraces based on 12 microsatellite loci. The phylogenetic trees were constructed using the neighbor-joining method. The scale bar represents 0.2 substitutions per site. The tree shows the genetic relationships among 120 maize landraces. The tree is color-coded by region: Central America (blue), Old World America (orange), Highland Mesoamerica (green), Lowland Mesoamerica (red), Eastern & Central USA (light blue), Southern USA (dark blue), Northern Mexico (dark red), and other populations (grey). The tree shows the genetic relationships among 120 maize landraces. The tree is color-coded by region: Central America (blue), Old World America (orange), Highland Mesoamerica (green), Lowland Mesoamerica (red), Eastern & Central USA (light blue), Southern USA (dark blue), Northern Mexico (dark red), and other populations (grey).

Utilisation des microsatellites

- ➔ Analyse de la diversité
- ➔ Diversité disponible pour la sélection

Structure génétique des variétés

Variété	Autogame	Allogame	X veg
Population	++	++++	++
Lignée	+		
Hyb 2v	+	+	
Hyb4v/HC		++	
Synthé		+++	
Clone	+	+	+

2- Evolution des outils au niveau ADN: gènes et génomes

Séquençage ADN

Génomomes entiers végétaux

Séquences particulières

Evolution des outils: X 1000

Quels types de variation au niveau de l'ADN?



1. nombre de répétitions d'ADN en tandem

- macrosatellites (> 1000 copies, > 50 kb)
 - Répétitions télomériques
 - Répétitions subtelomériques/ centromériques
- microsatellites (10-500 copies, répétitions de 2, 3, 4 nucléotides)

2. Substitutions de bases (single nucleotide polymorphisms - SNPs)

- spontanées ou par mutagenèse (UV, EMS, etc)

3. Insertion/délétion (InDels)

- transposons , erreurs de réplication, mutations

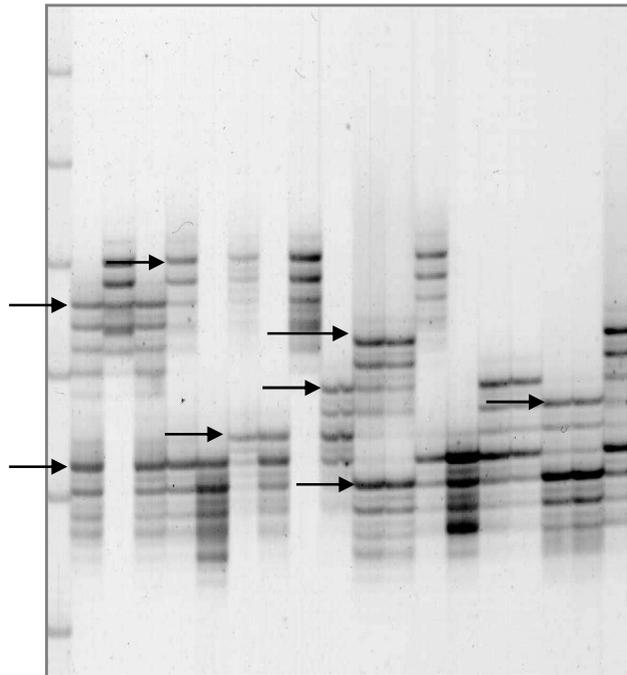
4. Méthylation héritable

phénomènes épigénétiques

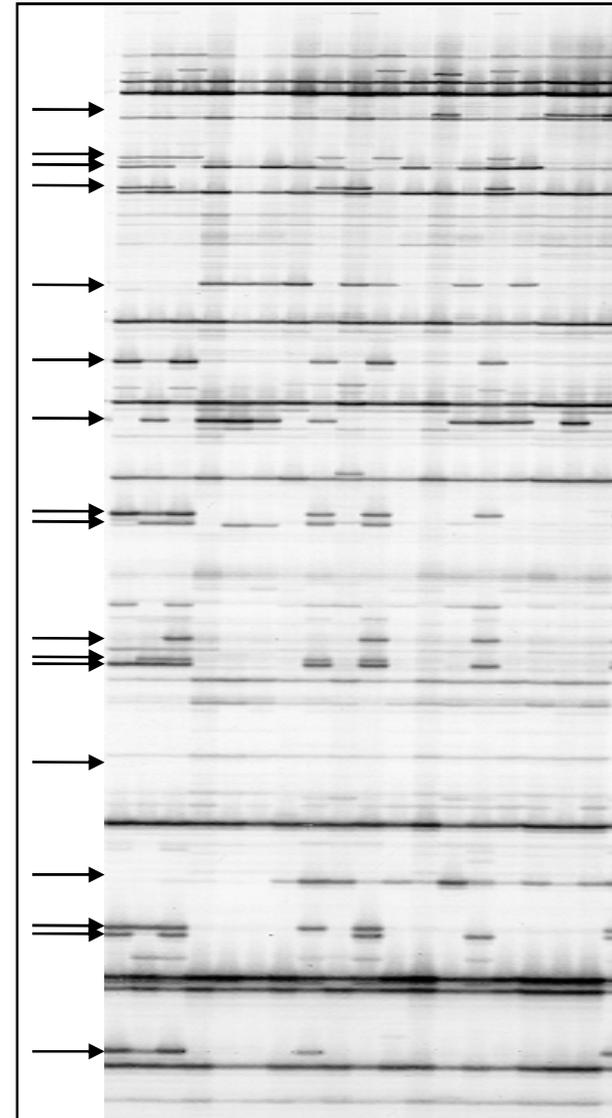
Pas besoin de connaître tout le génome!

Marqueurs moléculaires

Microsatellites



A
F
L
P



Comparaison de quelques marqueurs moléculaires

Marqueur	RFLP Restriction Fragment Length Polymorphism	RAPD Random Amplified Polymorphic DNA	AFLP Amplified Fragment Length Polymorphism	SSR Simple Sequence Repeat (microsatellite)	SNP Single Nucleotide Polymorphism	DArT® Diverse Array Technology
Type	Co-dominant	Dominant	Dominant (présent vs absent)	Co-dominant	Co-dominant (selon méthode)	Dominant (présent vs absent)
ADN requis	µg, ADN de bonne qualité	ng	ng, ADN de bonne qualité	ng	ng	ng, ADN de bonne qualité
Besoins	Long, infos sur sondes	Facile et rapide	Rapide si équipement disponible	Coût initial de dévpt sans infos de séquences	Coût initial impt, besoin d'infos de séquence	Services en prestation
Polym.	++	+++	++++	+++	+++	++++
Transfert	Robuste	Faible répétabilité	Répétabilité moyenne	Robuste	Robuste	Robuste
Référence	Botstein et al 1980	Williams et al 1990	Vos et al 1995	Tautz et Renz 1984	Rafalski 2002	Wenzl et al 2004

Éléments mobiles et évolution des génomes eucaryotes

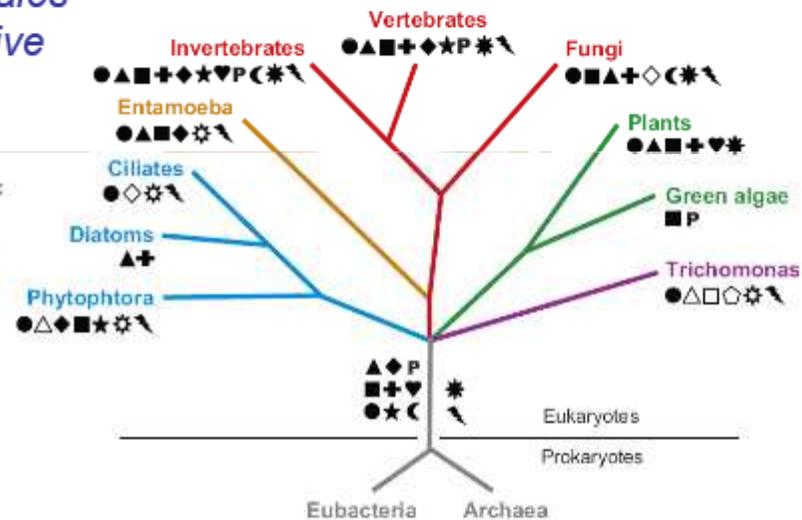
45% du génome humain,
50 à 80% du génome des céréales
Seule une faible proportion active

Cut-and-paste DNA transposons:

- | | |
|-----------------------|-------------------|
| ● Tc1/mariner (5/5) | ★ Merlin (2/5) |
| ▲ MuDR/Foldback (5/5) | ♥ CACTA (2/5) |
| ■ hAT (5/5) | P P element (2/5) |
| ◆ piggyBac (4/5) | ◐ Transib (1/5) |
| ✚ PIF (3/5) | ○ Banshee (1/5) |

Other subclasses:

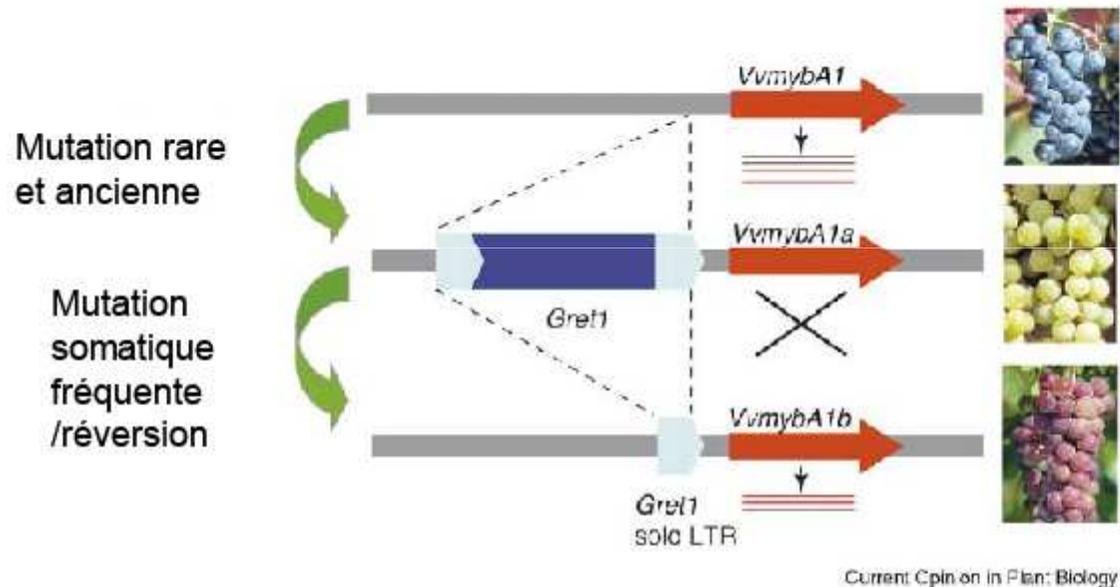
- ✱ Helitrons (5/5)
- ↘ Mavericks (4/5)



Dynamique des génomes

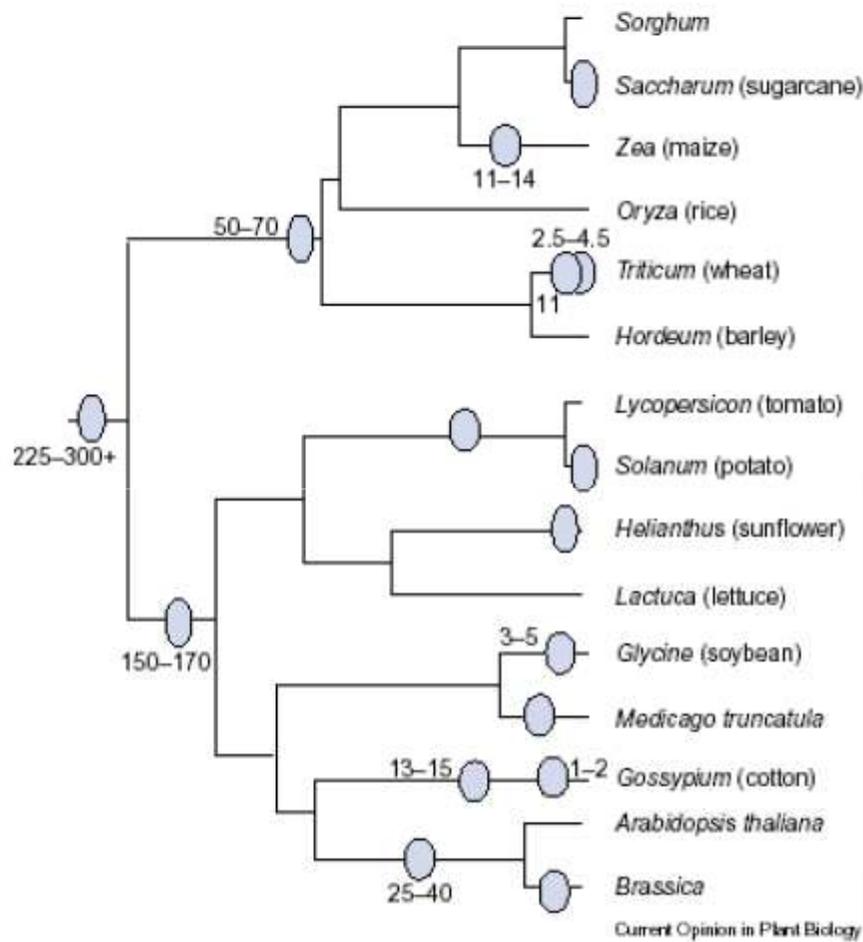
Feschotte, 2007

L'insertion d'éléments mobiles peut modifier un phénotype



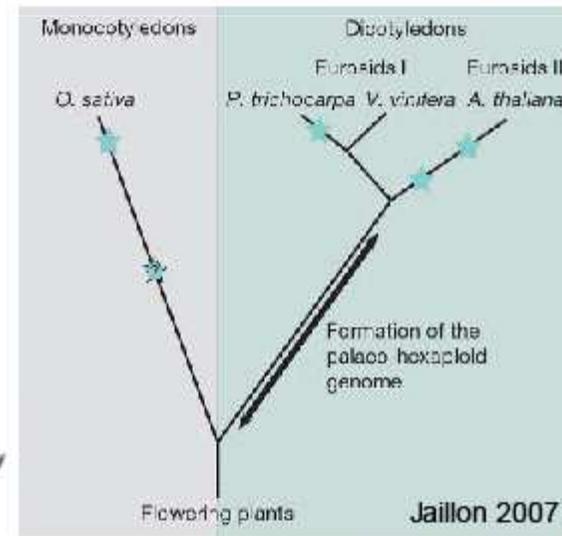
Exemple: couleur des grappes de raisin

Morgante et al, 2007



Adams 2005

De 50 à 70% des angiospermes auraient subi au moins un événement de doublement chromosomique



Jaillon 2007

Plasticité du génome et diversité des espèces polyploïdes

- **Une forte plasticité de la structure génomique des angiospermes**
 - Changement du nombre de chromosomes
 - Taille du génome
 - Mobilité des éléments transposables
 - Insertions, délétions, restructurations épigénétiques
- **La faculté des polyploïdes à supporter ce type de changement à grande échelle en une ou quelques générations, s'accompagne de changements au niveau**
 - Expression des gènes
 - Métabolisme
 - Phénotype
- **Ces changements induits par la polyploïdie peuvent générer des individus capables**
 - d'exploiter de nouvelles niches écologiques
 - surpasser leurs ancêtres
- **La polyploïdie contribue à la génération de nouvelles espèces**
 - Certaines ont pu être domestiquées
 - Certaines ont été créées par l'action de l'homme

3- Evolution des outils au niveau cellulaire

- Reproduction conforme et sanitation
 - Régénération in vitro et variations somaclonales
 - Fusions somatiques
 - Sauvetage d'embryons
 - Haplométhodes
-
- Combinaison génomique/in vitro: Transgénèse

4- Evolutions des méthodologies

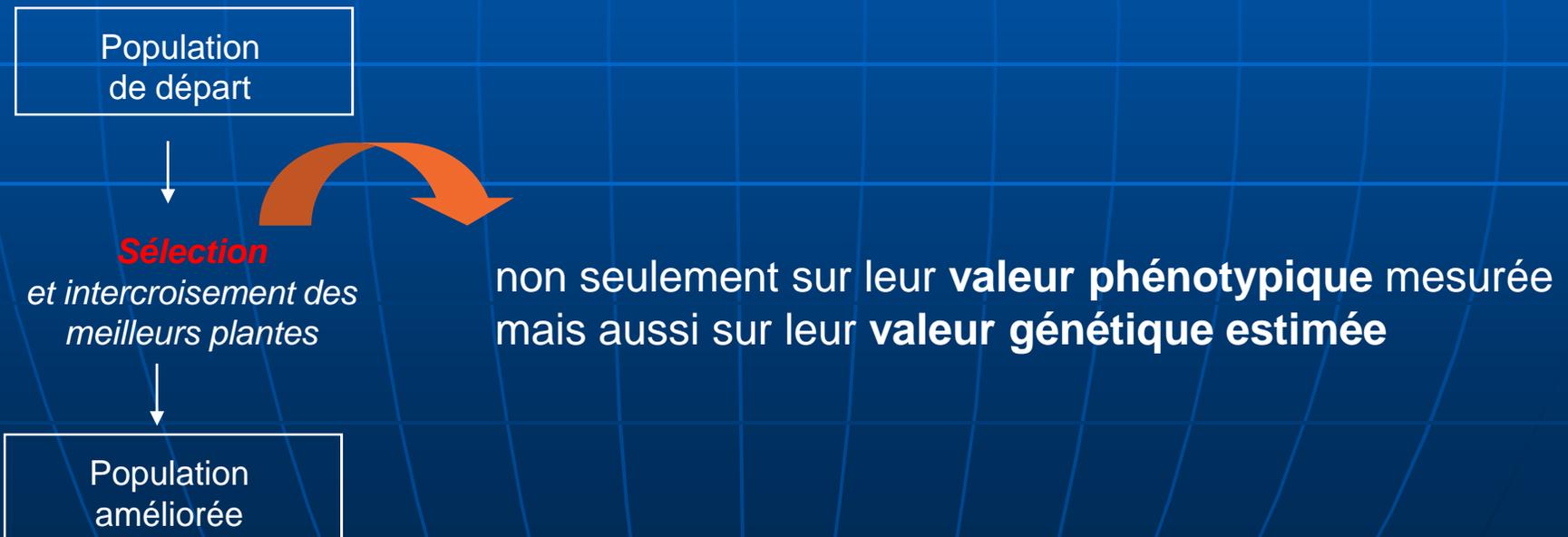
- Sélection assistée par marqueurs (SAM)
- Néo-domestication, base broadening
- Nouveaux idéotypes/critères de sélection
- Structures variétales

Approche phénotypique et statistique: bilan

Etudier les caractères complexes via une stratégie basée sur leur valeur phénotypique:

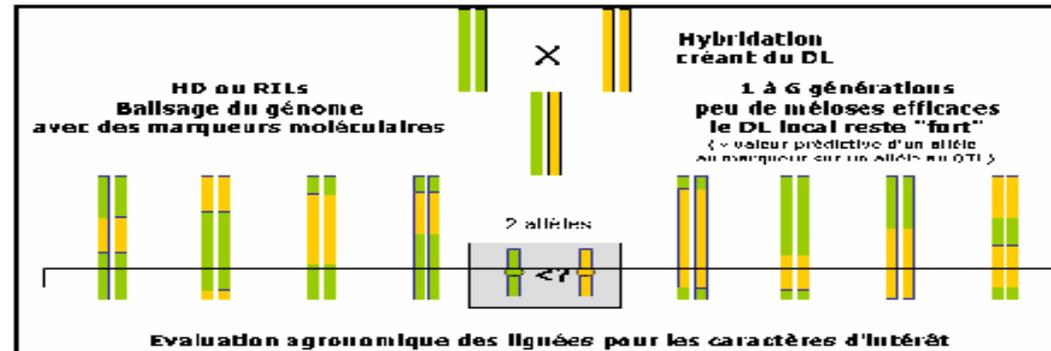
→ **Estimer la part génétique G** de la variation phénotypique observée afin d'estimer des paramètres, en particulier h^2 , qui permettront de prédire le progrès génétique attendu dans les schémas d'amélioration variétale

→ **Décomposer le phénotype complexe** en caractères plus simples afin d'affiner et de rendre plus efficace l'estimation de cette part génétique

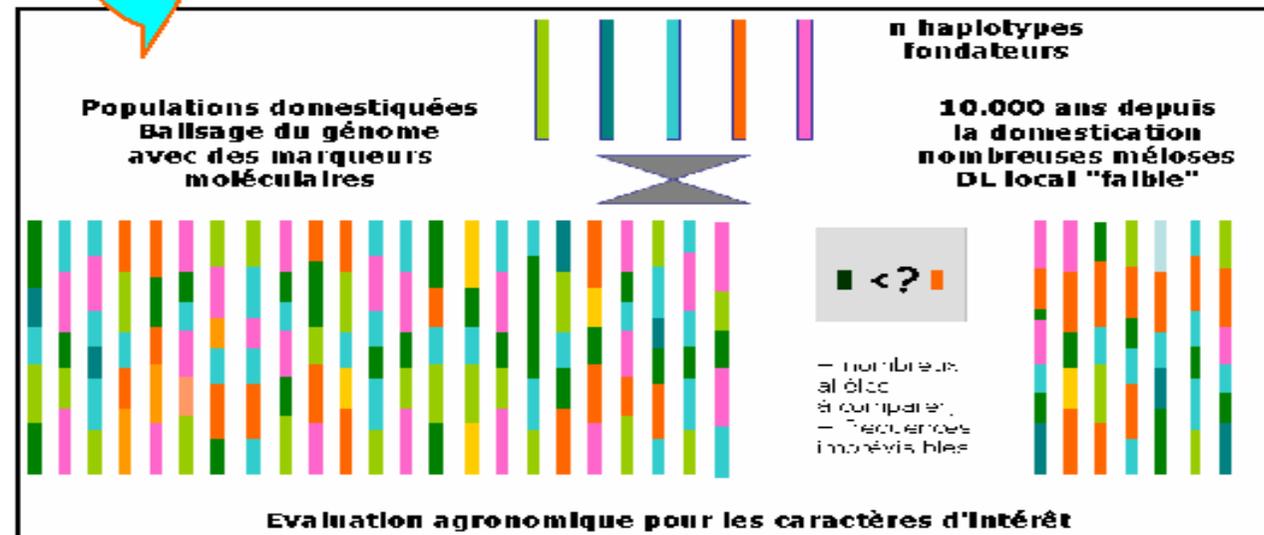


cartes génétiques et QTL

De la détection de QTLs dans des populations de cartographie

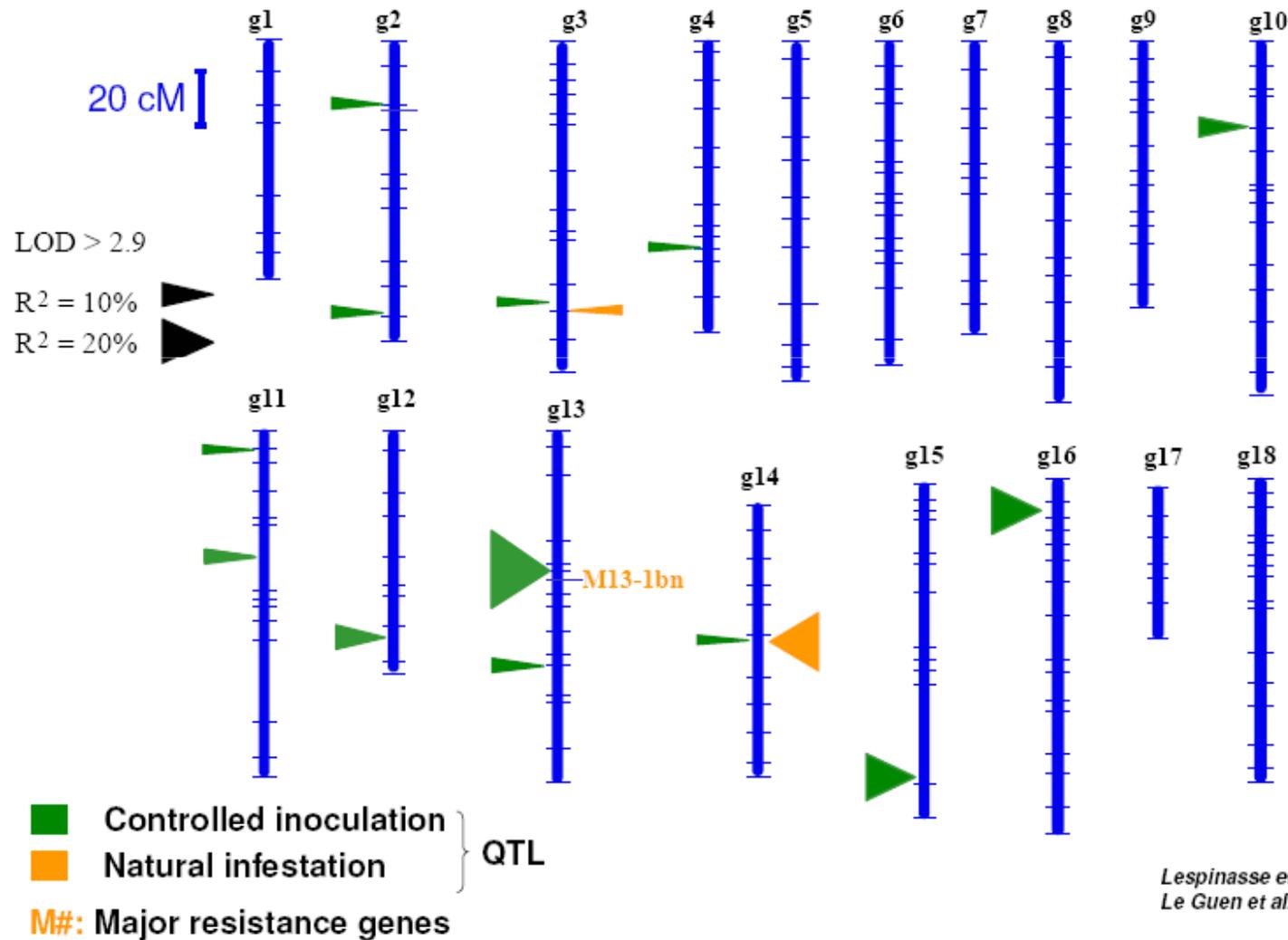


... aux études d'association dans des collections exploitant la diversité allélique de l'espèce



Amélioration de l'hévéa

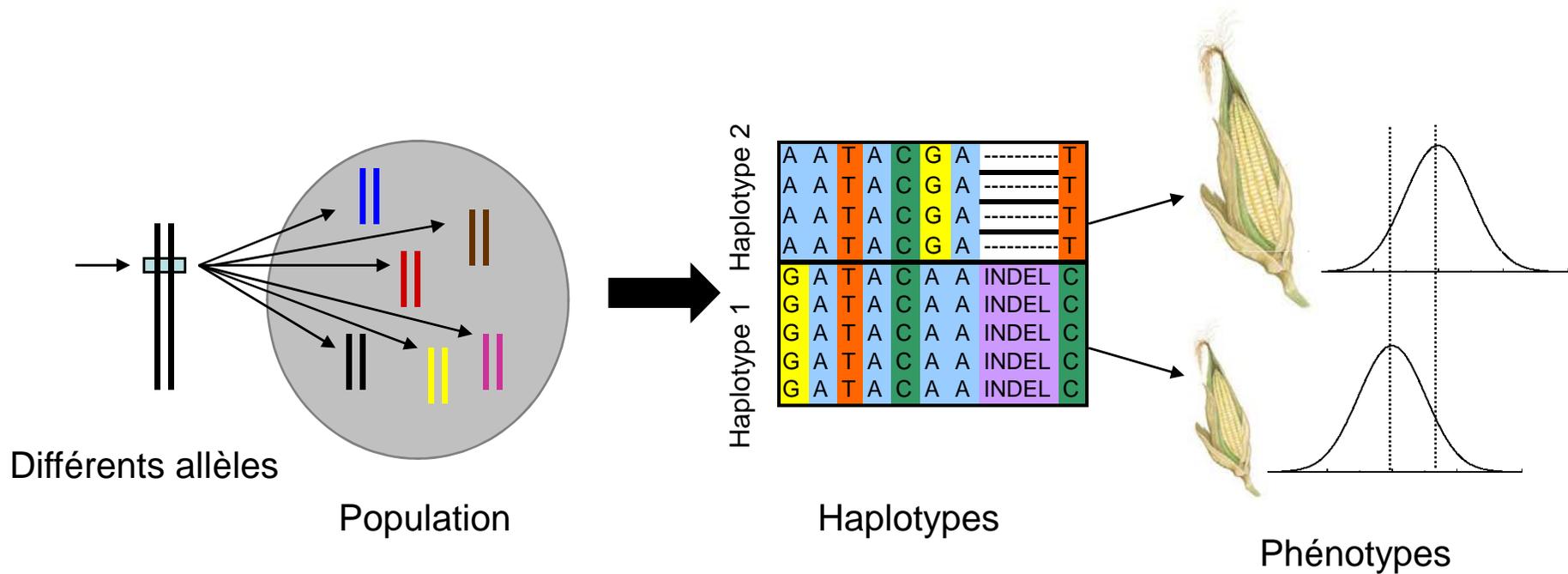
Resistance to *Microcyclus* in rubber tree :
 QTLs detected in a *H. brasiliensis* x *H. benthamia* progeny



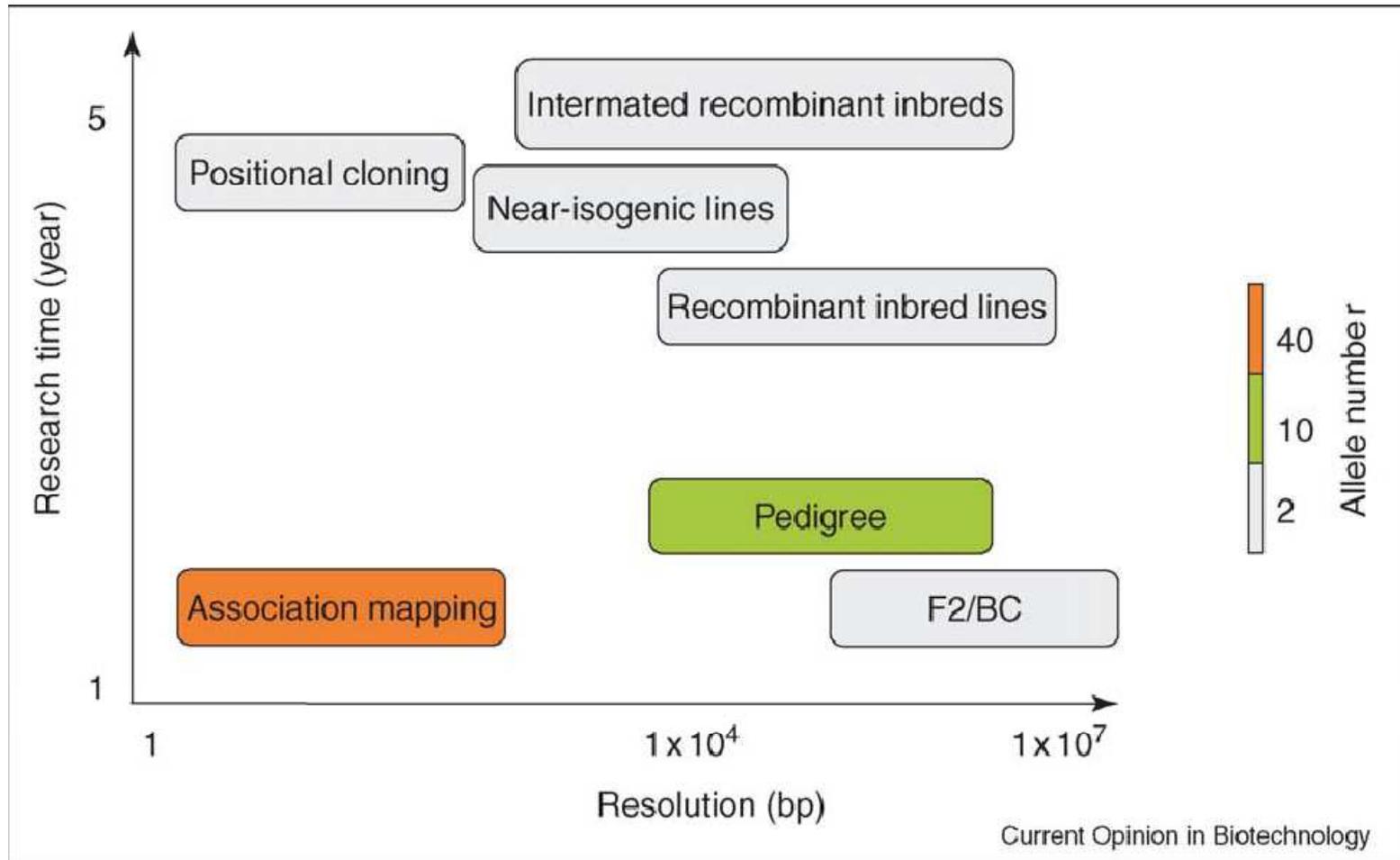
Lespinasse et al. (2000)
 Le Guen et al. (2003)

Principe de la génétique d'association

recherche d'une **corrélation statistique** entre une **variation génétique** et l'**expression phénotypique** d'un caractère.



Comparaison des méthodes d'association trait-polymorphisme nucléotidique (Yu et Buckler, 2006)

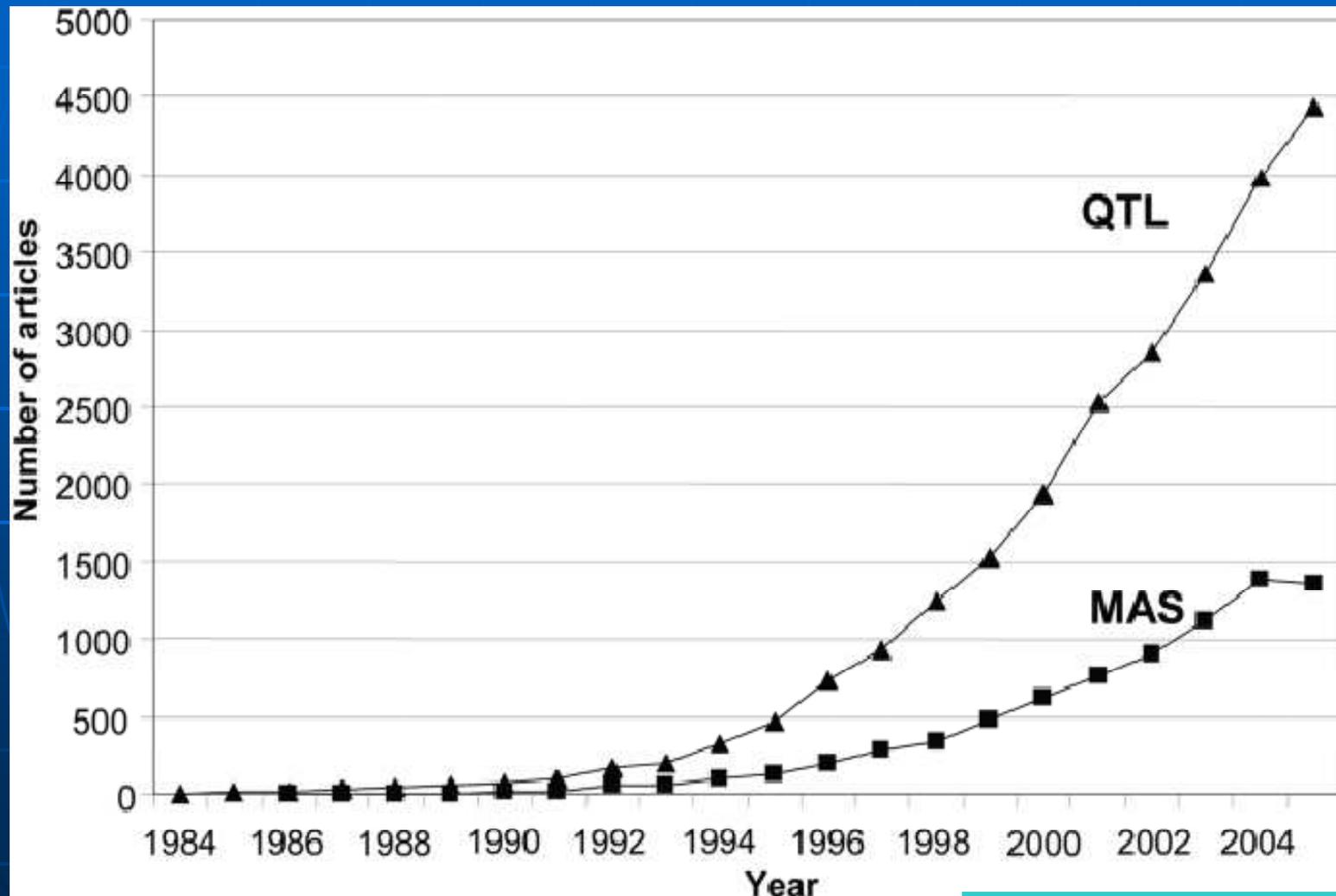


Introgression d'allèles favorables

<u>Approche <u>Backcross (BC)</u></u>	<u>Pre-breeding, base broadening</u>
Introgression ciblée	Introgression massive
Amélioration ponctuelle	Restauration de diversité
Modification limitée	Non ciblée, valeur globale
Un caractère, un génotype	Gestion sous population
Hérédité oligogénique	Génétique population
Phénotypage ciblé	Sélection globale

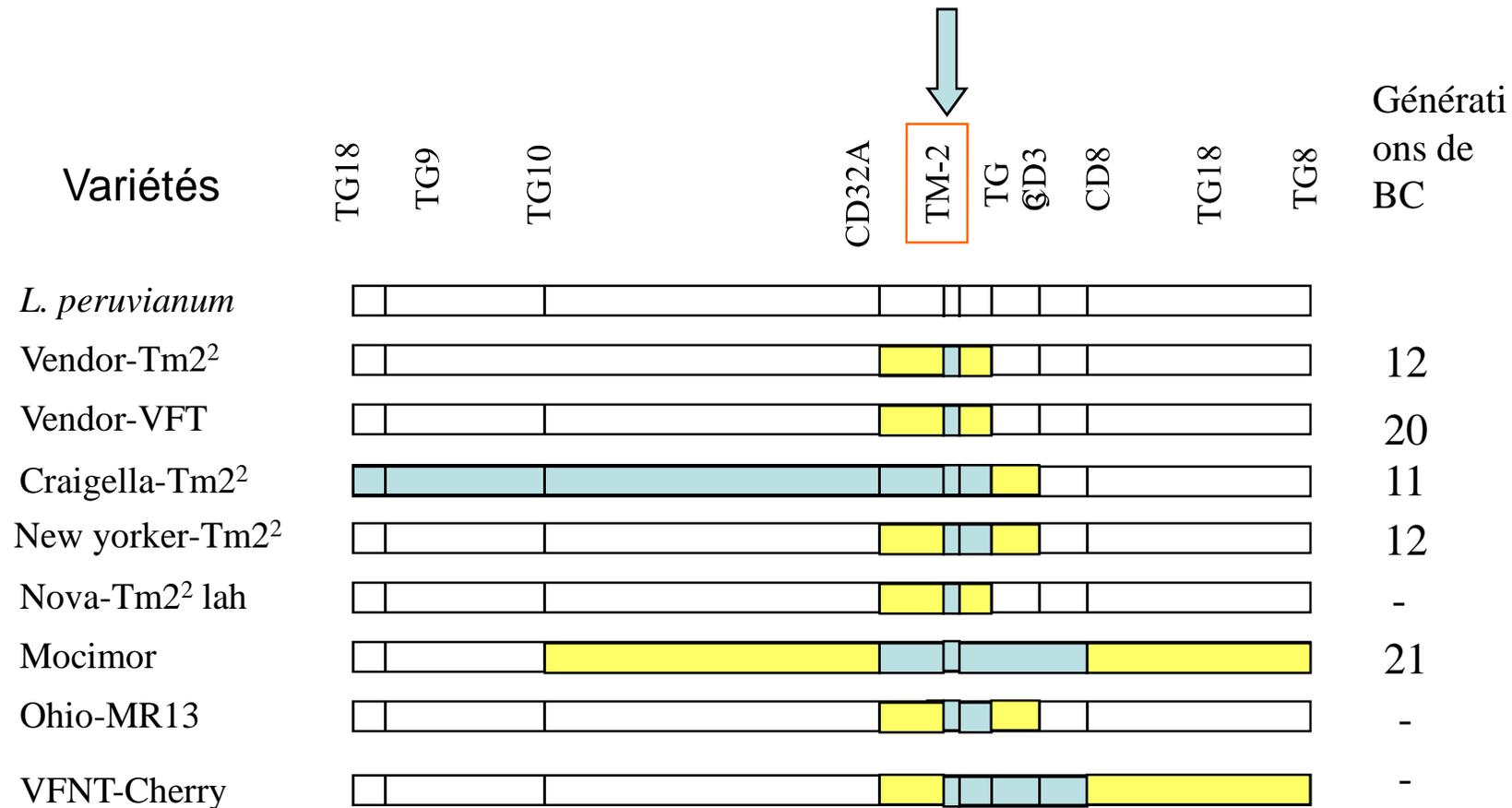
Nombres d'articles publiés/an

from Google Scholar (4 Aug. 2007)



Yunbi Xu and J. H. Crouch, 2008

Retrocroisement et « linkage drag »



Young & Tanksley 1988

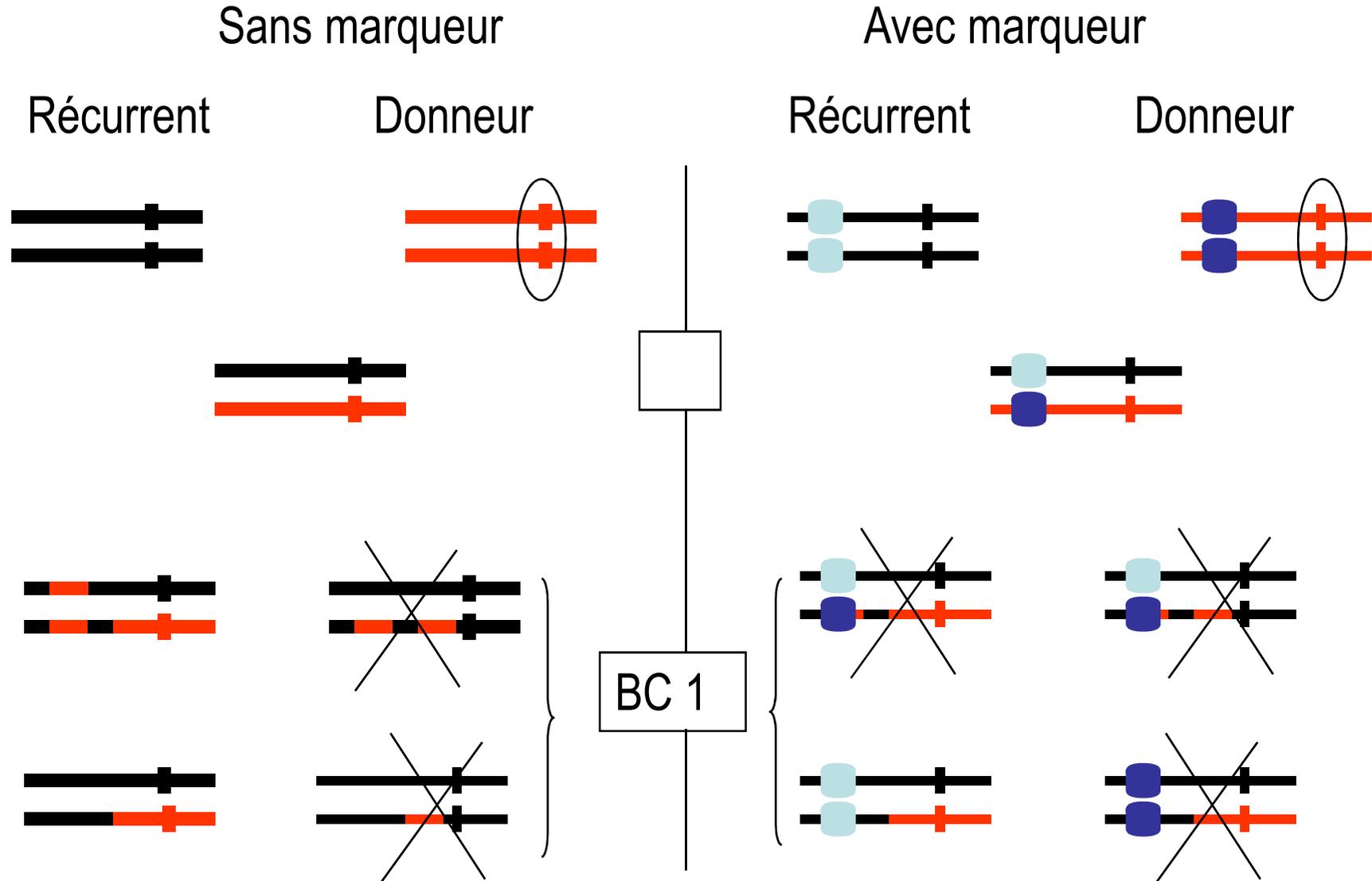
Chromosome 9 : transfert d'un gène chez la Tomate

La distance génétique entre TG18/ TG8 =80 cM

Carte RFLP

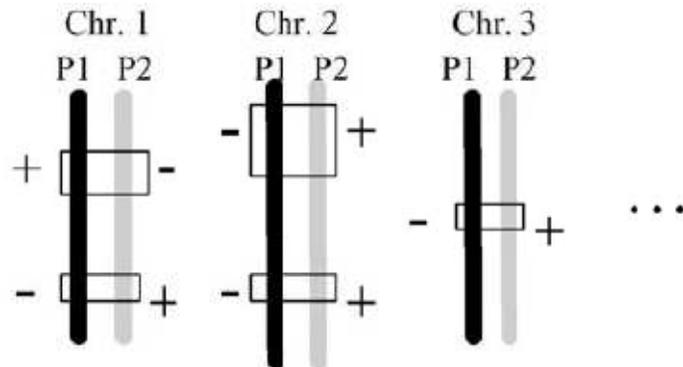
La zone transférée peut parfois être très large malgré un grand nombre de générations de rétrocroisement (voir aussi cours d'Eric Jenczewski dans les cas de croisements interspécifiques)

Utilisation des marqueurs pour réduire la taille de l'introggression?



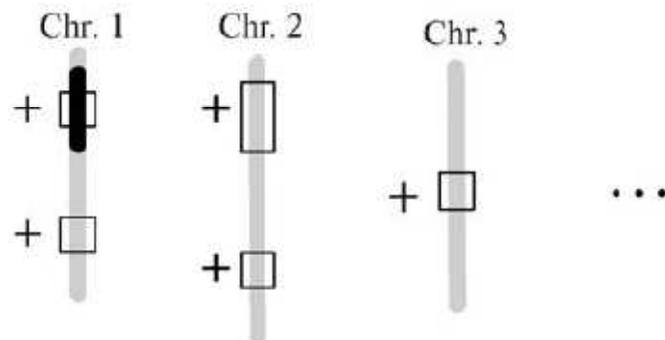
Plus d'informations pour accélérer le retour vers le parent récurrent

Utilisation du back cross



Initial information

- detected QTL: few favorable alleles with major effects in P1 / most favorable alleles in P2
- residual genetic variation at undetected QTL: P2 genotype assumed favourable



Final objective

- transfer of favorable alleles of P1 into P2
- high similarity to P2 outside these regions

Recherche des zones favorables impliquées dans la variation : QTL
Peu de zones sont impliquées, allèles à effet majeurs, la plupart portées par le parent P2

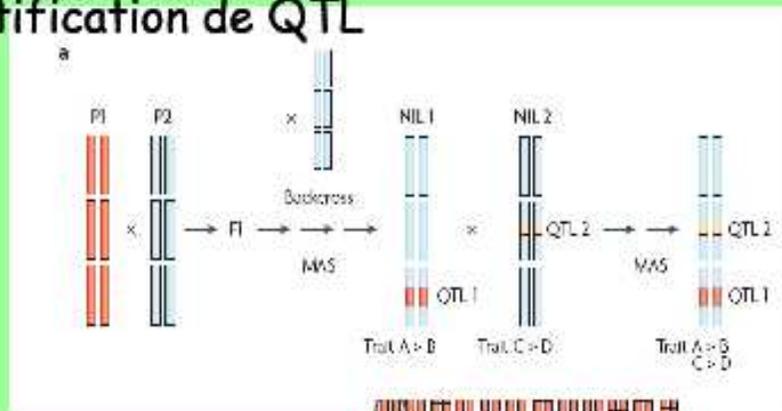
Pour la variation non attribuée on suppose que P2 porte les formes favorables

Conception du génotype idéal :
Transfert de la zone favorable de P1 dans P2

Retour au parent P2 par rétrocroisement

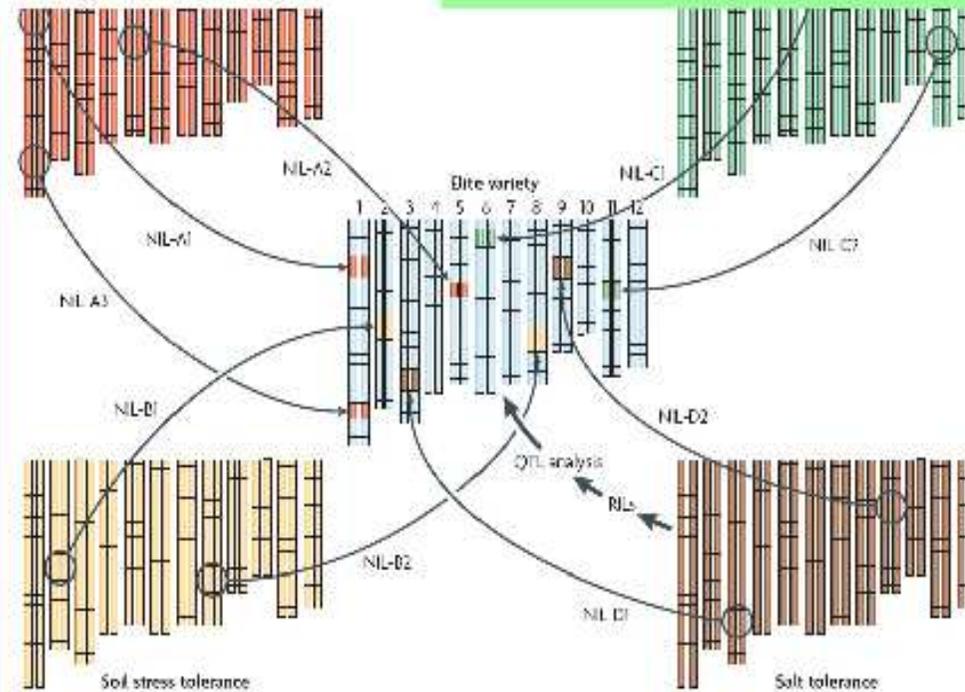
Sélection assistée par marqueur pour caractères complexes

1. Identification de QTL



2. Introgression assistée par marqueurs

Sélection :
« mosaïque
d'allèles favorables »

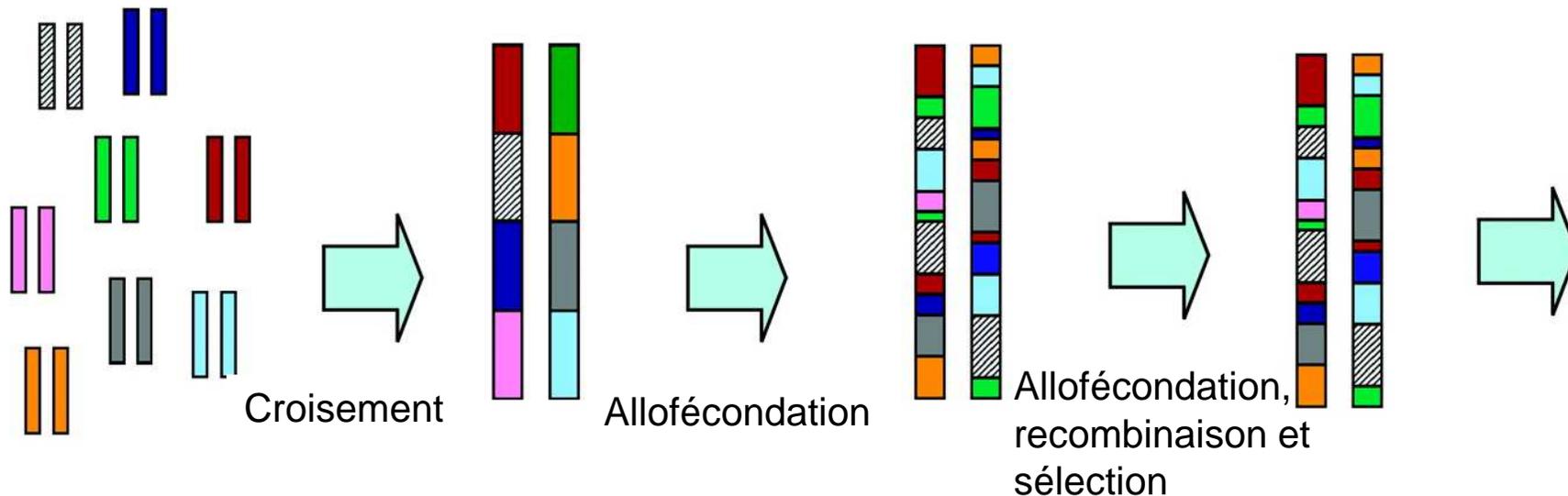


Élargir la base génétique cultivée et brassage : nouvelles approches

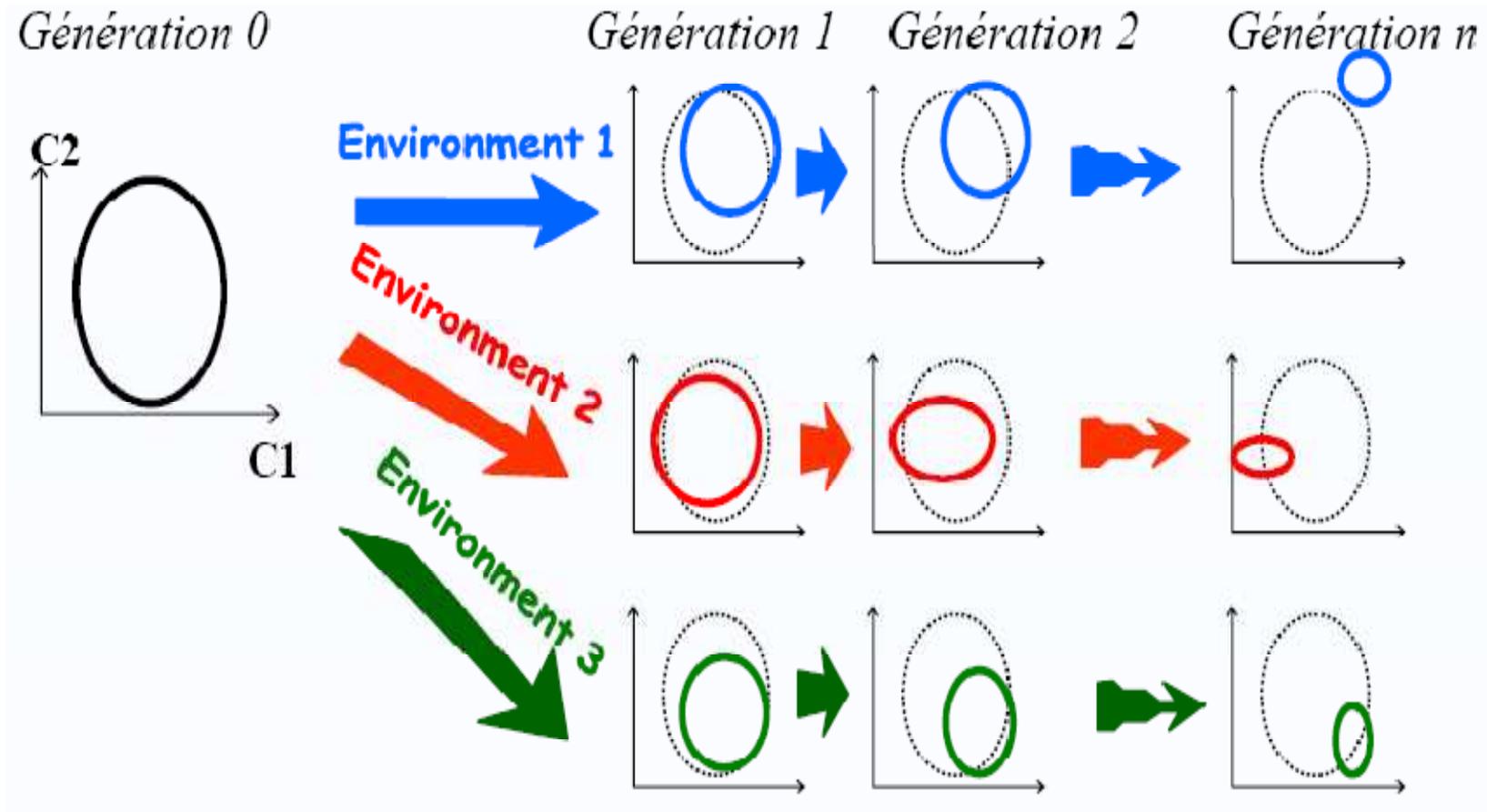
Fabrication et gestion des populations

- Fondation des populations : formes sauvages, croisements multiples
 - introduction d'une large diversité
- Introduction de systèmes de contrôle du régime de reproduction : stérilité mâle, cytoplasme mâle stérile

→ favoriser le brassage et la recombinaison



la gestion dynamique



Leçons tirées de 20 ans de gestion dynamique du blé tendre en France

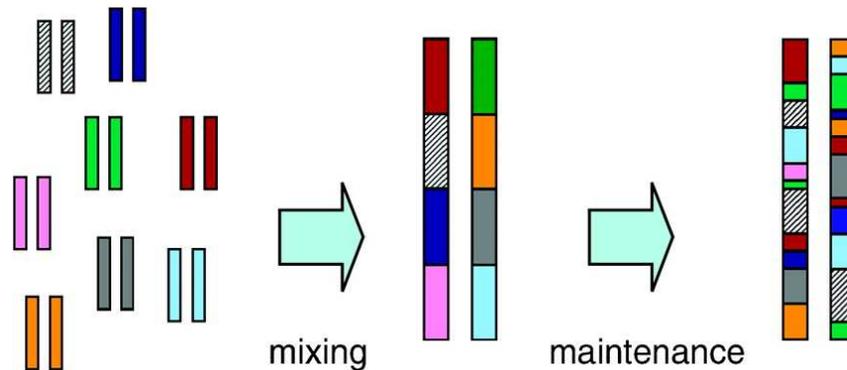
Les populations ont-elles évolué ?

- en fonction de leur composition génétique (directionnelle)
- en fonction des milieux et du climat (multidirectionnelles)
- en réponse aux pressions des pathogènes (multidirectionnelles)

Comment fonctionnent les populations ?

- Relation entre l'effectif démographique et l'effectif de dérive (N_e faible)
- Dans les populations autogames, quel est l'impact du taux résiduel d'allofécondation (maintien recombinaison)
- Variation de la recombinaison le long du chromosome (+/-)
- Rôle de la mutation (expérimentation blé dur)

Élargir la base génétique cultivée et brassage : nouvelles approches



Deux types d'application des populations à base large :

1. Produire des nouvelles combinaisons alléliques (néo-domestication, pre breeding, sélection récurrente)
2. De **nouvelles structures variétales** : variétés populations, variétés composites, synthétiques
 - Mélanges de génotypes performants pour différents caractères (gènes de résistance)
 - Rusticité, stabilité des rendements dans différents environnements

c – Elargir la base génétique cultivée : nouvelles approches

Exemple : Le programme « **LIRA** »

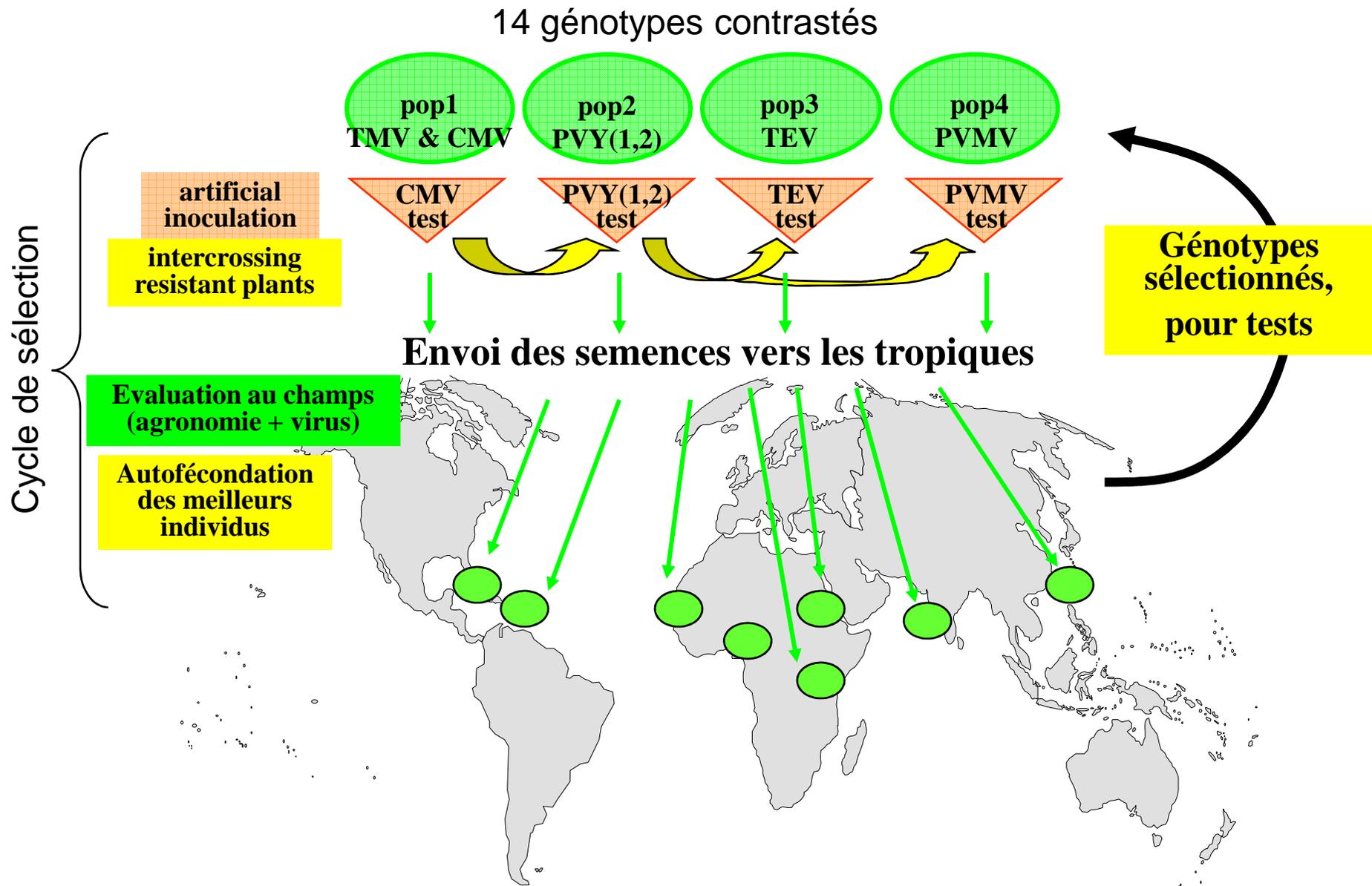
Sélection de cultivars de piment multirésistants pour différentes régions intertropicales

Méthode :

- **Sélection multicritères, déterminismes génétiques complexes
=> sélection récurrente de population**
- **Sélection multi-locale**
- **Caractères cibles de déterminisme connu : tests contrôlés (inoc. artificielles, isolats viraux locaux)**
- **Caractères complexes moins connus : sélection massale in situ**
 - sur contraintes naturelles génériques (climat/croissance)
 - sur contraintes spécifiques : Cuba = Xanthomonas
Guadeloupe = Ralstonia

c – Elargir la base génétique cultivée : nouvelles approches

Le programme « **LIRA** » : choix des génotypes et dispositif de sélection

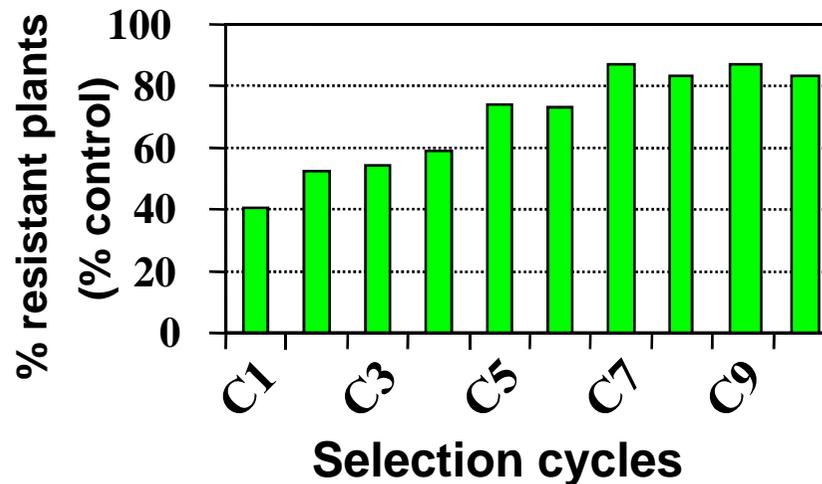


c – Elargir la base génétique cultivée : nouvelles approches

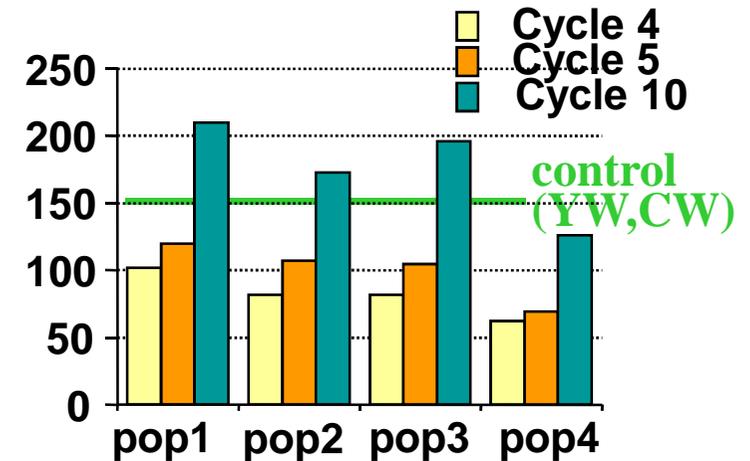
Résultats : après 11 cycles de sélection



Résistance au CMV:



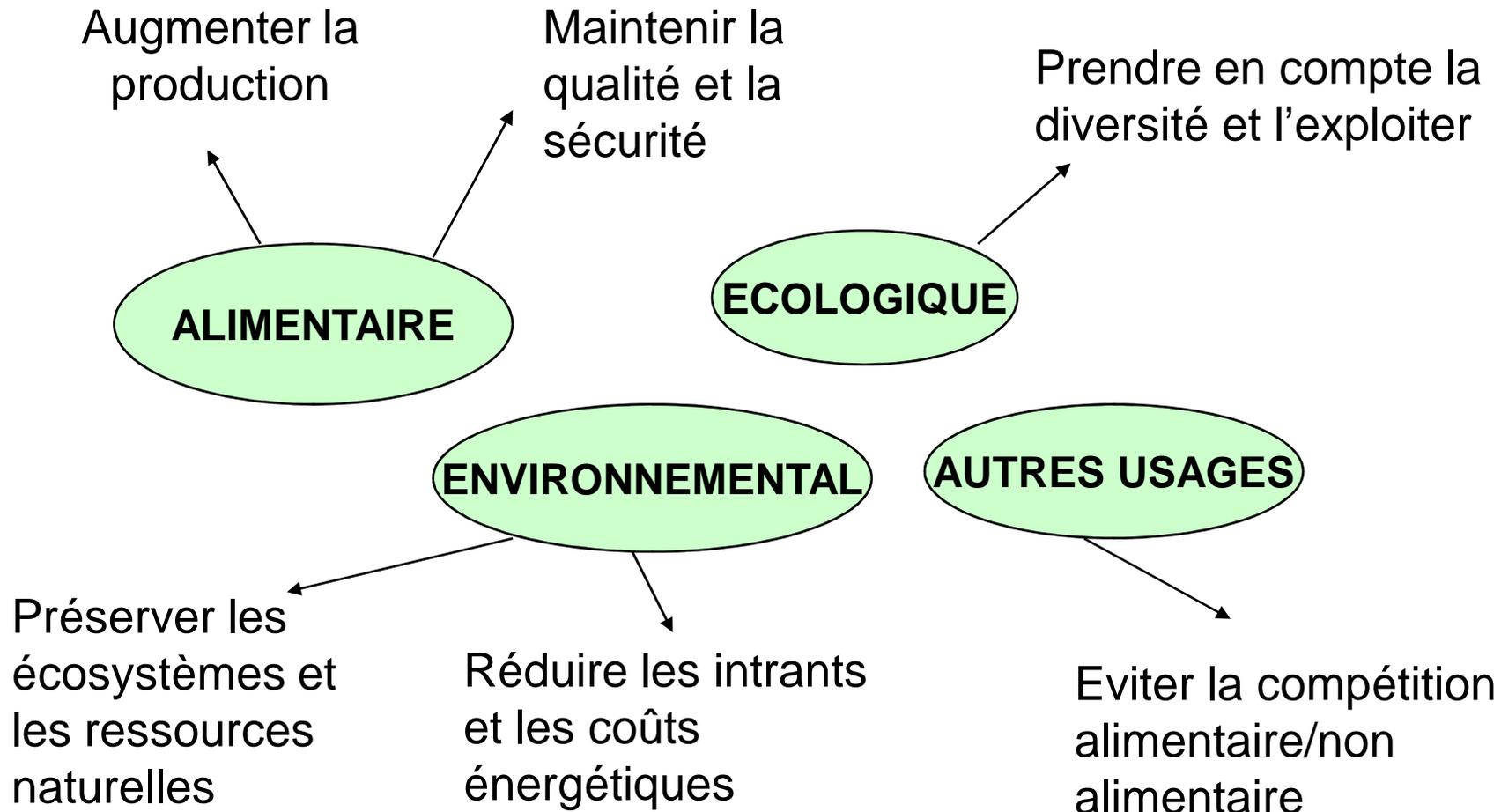
Taille du fruit:



Intérêt

- Populations cumulant des caractères d'adaptation aux contraintes locales (maladies, caractères agronomiques, ...)
- Cumul : Fond génétique commun + critères locaux spécifiques
- Sélection en réseau multi-partenaires : 'Sélection participative'
- Construction de génotypes combinant différents caractères → Nouvelles variétés

Systemes de productions innovants



Revoir la hiérarchie des critères de sélection actuels

Grenelle de l'environnement

- (G2) Préserver la biodiversité et les ressources naturelles
- OGM – connaissances partagées
- (G3) Instaurer un environnement respectueux de la santé
- (G4) Adopter des modes de production et de consommation durables:
 - Aller vers 100% d'agriculture durable (certification),
 - 6% de la SAU en Bio en 2010 (20% dans la restauration collective en 2012), interdiction de substance de traitement + réduction des intrants (50% en 10 ans?),
 - promotion des variétés ayant une faible dépendance vis à vis des intrants (eau, pesticides, azote),
 - restaurer la biodiversité et avoir des actions territoriales cohérentes, formation des agriculteurs vers des modes d'agriculture durable

Le progrès génétique en question

■ Durabilité en agriculture:

- Nouvelle cohérence avec les impératifs socio-économiques, environnementaux et agronomiques
- Adaptation du processus de sélection au nouveau paradigme (rupture)
- Révision des objectifs de sélection: variétés adaptées à des systèmes de culture économes en intrants et à une agriculture multifonctionnelle

■ Révision (hiérarchie) des critères de sélection:

- résistances durables aux pathogènes et ravageurs
- compétition
- fumure azotée réduite
- tolérance aux stress environnementaux (adaptabilité)
- valeur pour des usages non alimentaires

De nouvelles façons d'aborder la conception des idéotypes



- Milieux standardisés (apports en intrants)
- Sélection pour le rendement et intensification

« Adapter le milieu à la plante »

Un renouvellement des systèmes de production



Environnements changeants

- réduire les intrants
- milieux diversifiés/marginaux



« Adapter la plante au milieu »

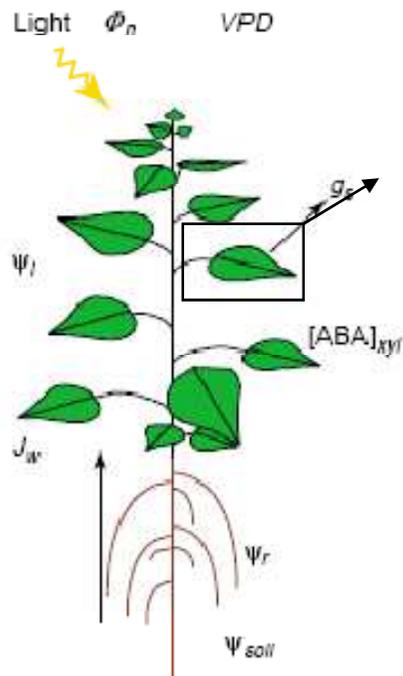
1. Prise en compte des variations environnementales
→ Se placer à l'interface écophysiologie - génétique
2. Prise en compte des nouveaux systèmes de production
→ Approche pluridisciplinaire

Un modèle de fonctionnement de la feuille pour MAP

Ecophysiologie permet de définir:

- une variable cible : l'expansion foliaire (LER)
- de l'exprimer en fonction de différents paramètres et variables

A. Un modèle



Tx expansion foliaire :

$$LER = (T - T_0) (a + bVPD - cY)$$

Des variables du milieu contrôlent le LER

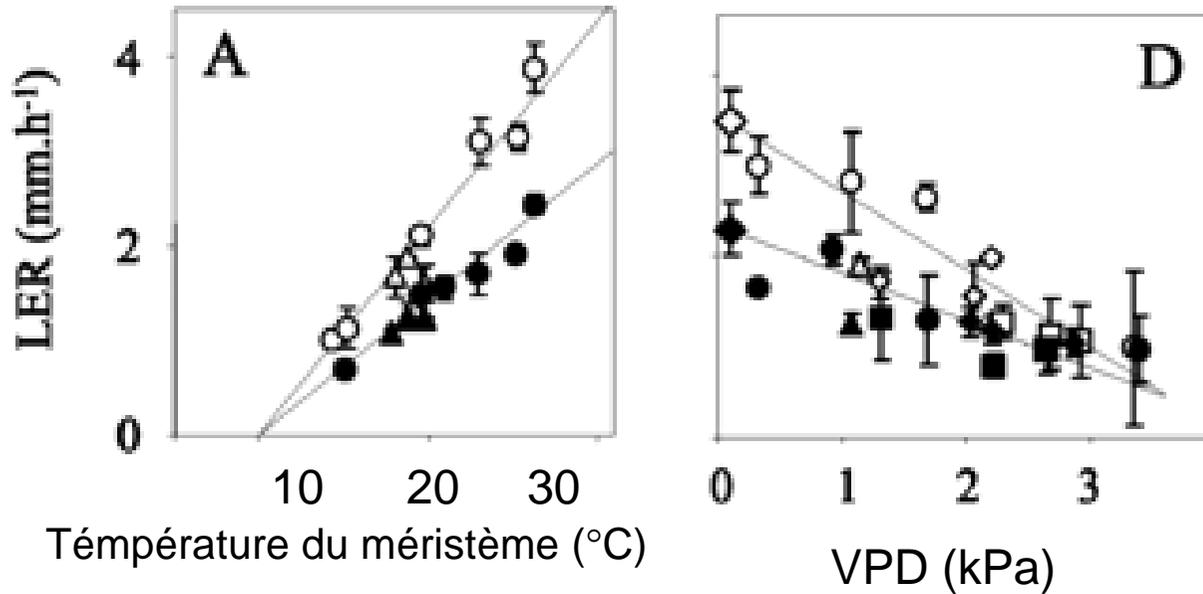
T : température du méristème

VPD : déficit de pression de vapeur (statut hydrique de l'air)

Ψ : potentiel hydrique du sol

Existe-t-il un contrôle génétique de la réponse à ces facteurs du milieu ?

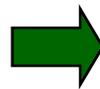
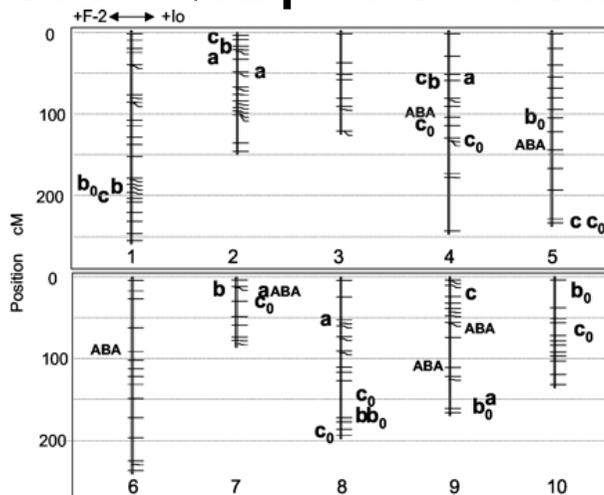
Variabilité de la réponse aux variables du milieu



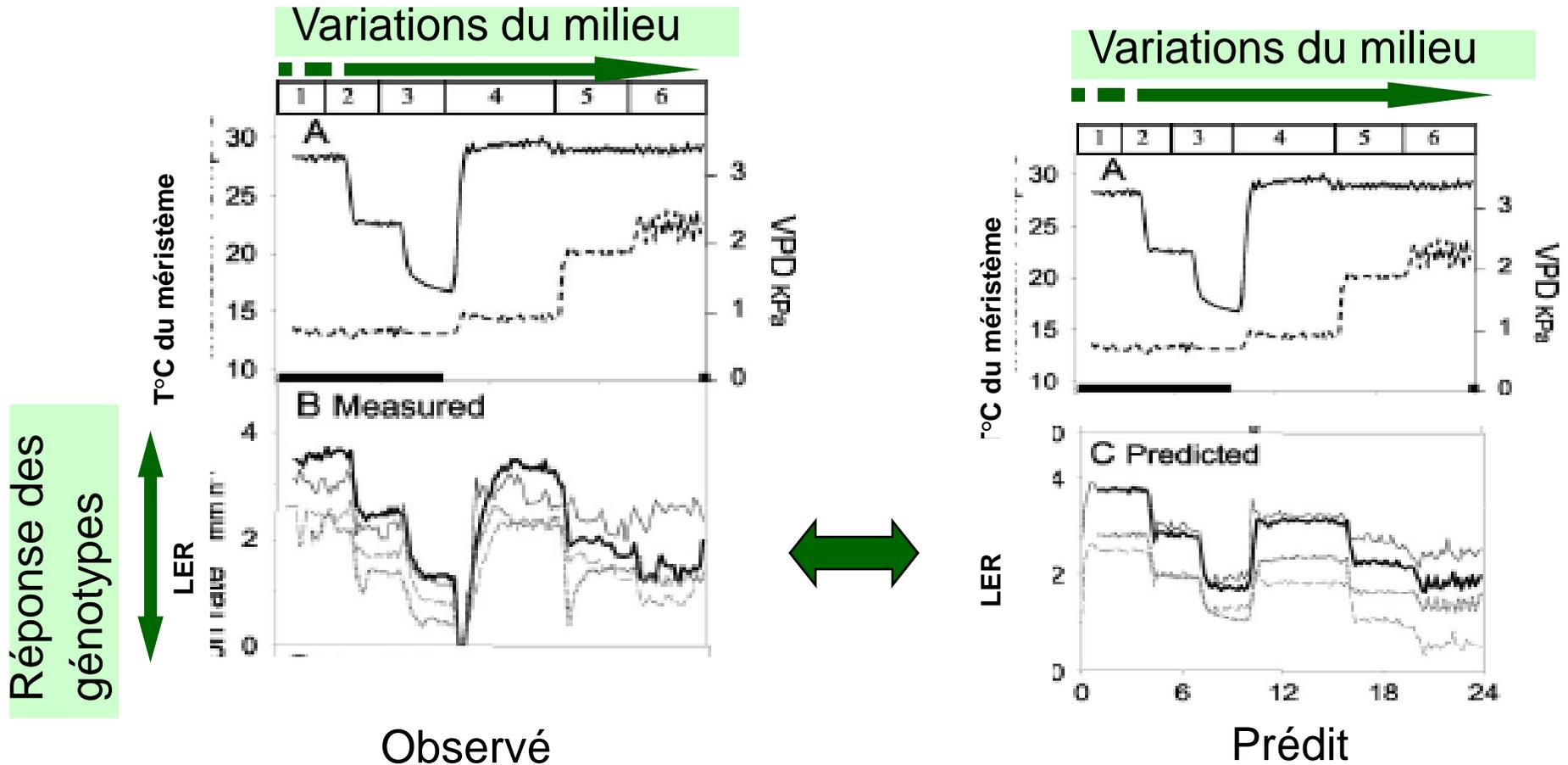
B. Une variation entre les génotypes

Résultats pour 2 lignées contrastées

C. Des QTL pour les variables-paramètres



Prédire la valeur des génotypes comme une somme des effets à chacun des QTL



Prédire le comportement de génotypes dans différents milieux
 Choisir la meilleure combinaison d'effets aux QTL

Proposition d'idéotypes

- Variétés multirésistantes à plusieurs races

R1R2

⇒ Contournement rapide

⇒ Pb: Gènes de résistances = ressources rares

- Mosaïque de parcelles de plusieurs variétés ayant des résistances différentes

R1

R2

R3

-Associations de variétés ayant des résistances différentes

R1 + R2 + R3

⇒ Ralentit la progression spatio-temporelle des maladies

⇒ Augmente la durée d'efficacité des gènes de résistances

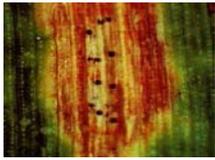
⇒ Pb: critère de compatibilité sur le plan agronomique

⇒ Pb: Inscription catalogue

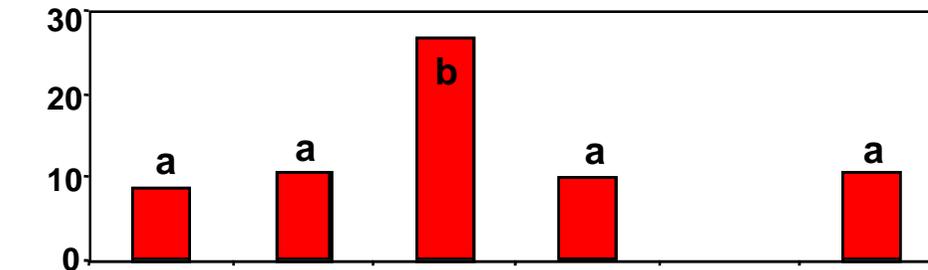
Claude Pope

Cultures monovariétales et association de 4 variétés

(2 années, 19 parcelles, 190 ha, 1 traitement fongicide)



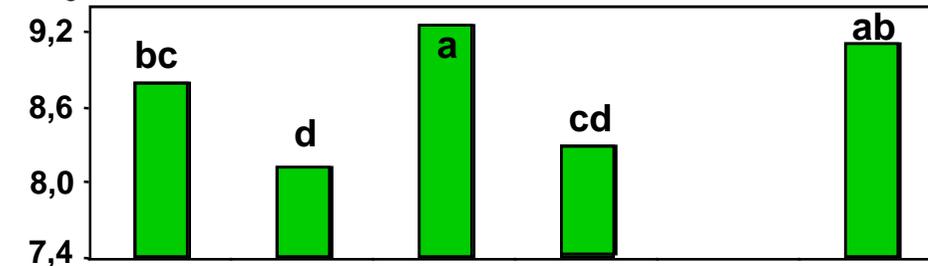
Sévérité de la septoriose (%)



Effet association

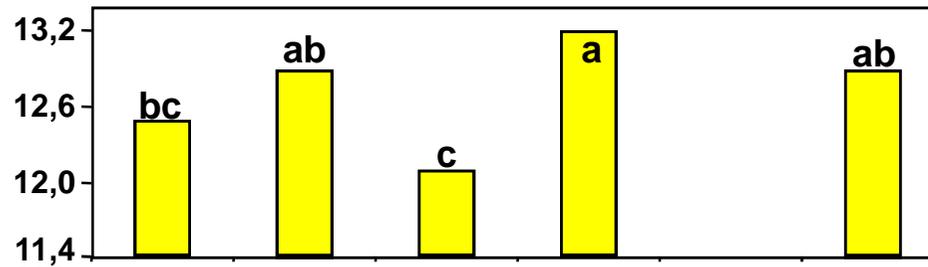
- 6 %

Rendement (t ha⁻¹)



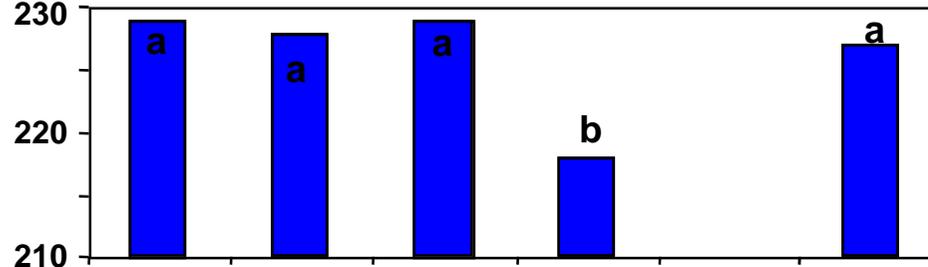
+ 0,32 t ha⁻¹

Teneur en protéines (%)



+ 0,54 %

Note de panification (0- 300)



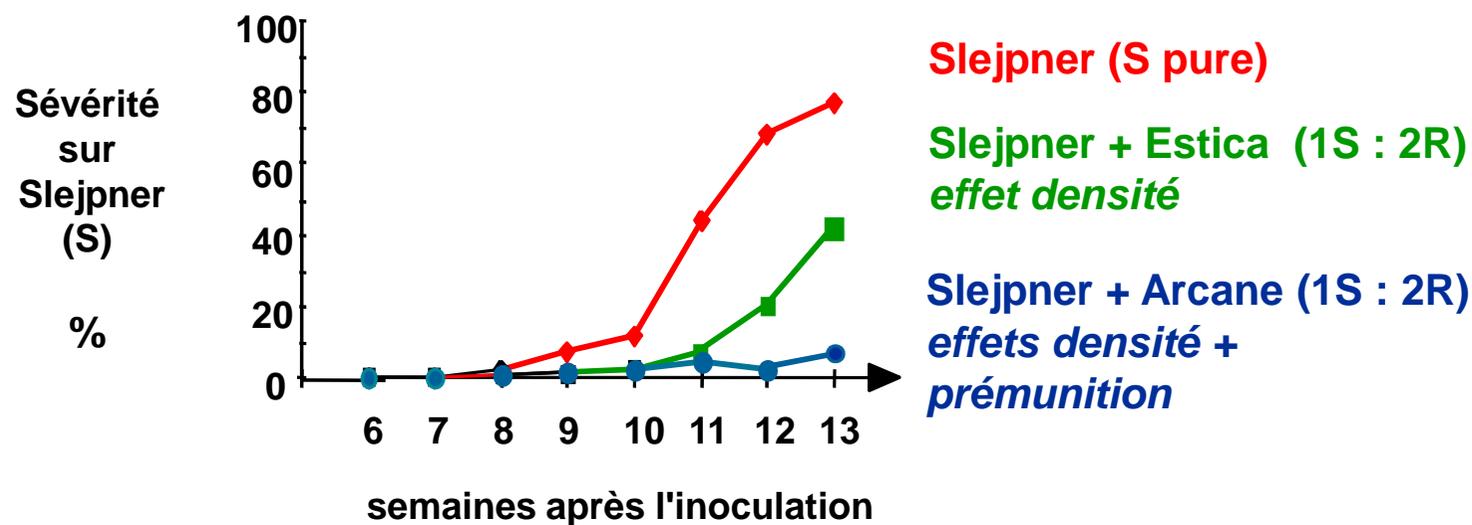
NS

Malacca Somme Apache Virtuose Association variétale

Belhaj Fraj et coll.,

Les associations variétales

la rouille jaune du blé



Variété sensible



Association variétale

Vallavieille-Pope et Goyeau, 1995

En conclusion: Gestion des Ressources génétiques

- Interactions agrobiodiversité *in situ* et dynamiques agro-environnementales;
- Evaluation des RG et développement des bases de données associées;
- Intégration des approches de conservation et de sélection variétale
- Bases génétiques de l'adaptation à des environnements contraints
- Bases génétiques des interactions plante-pathogènes et plante-symbiontes
- Bases génétiques de la qualité des produits

En conclusion: Stratégies innovantes en AP et diffusion de l'innovation

- Définition d'idéotypes et construction de génotypes pour des caractères complexes et pour une amélioration multi-caractères assistée par marqueurs moléculaires (SAM)
- Intégration des outils moléculaires dans la création et la diffusion de variétés dotées d'une diversité fonctionnelle
- Développement des biotechnologies dérivées de la biologie cellulaire et de la génomique pour l'amélioration et la diffusion des variétés
- Durabilité du déploiement de résistances aux maladies et ravageurs
- Biosécurité, traçabilité, flux de gènes...

MERCI