

Analyse QTL de l'ontogénèse de la ramification et de la croissance

4.1 Introduction

La croissance du chêne est monopodiale et polycyclique : en l'absence de dégâts, l'élongation de l'axe principal est assurée par le bourgeon terminal de l'unité de croissance (UC) précédente, et plusieurs UCs peuvent se développer durant une année (Chaar and Colin 1999). La croissance en hauteur est une accumulation de pousses annuelles (PA), la longueur de PA étant liée au nombre d'UCs et également à la longueur des UCs. Le chêne pédonculé peut développer jusqu'à 16 UCs dans l'année en conditions contrôlées (Lavarenne-Allary 1965). Dans les conditions naturelles, il peut produire de 4 à 7 UCs pendant une saison de croissance si les conditions sont favorables. Une ou deux UCs seulement peuvent se développer en conditions limitantes (Lavarenne-Allary 1965; Longman and Coutts 1974). Après le nombre d'UCs, la longueur des UCs est la deuxième composante importante pour la croissance annuelle en hauteur. Plus particulièrement, c'est l'UC produite à la fin de la saison de croissance qui est la plus importante car en termes d'élongation, elle est plus longue que celle du début de la saison de croissance (Collet et al. 1997). Comme le nombre d'UCs, la longueur des UCs est contrainte par les nombreux facteurs environnementaux, par exemple la disponibilité en ressources comme la lumière, l'eau et minéraux, le gel tardif ou les attaques d'herbivores ou d'insectes (Chaar et al. 1997).

Comme Grattapaglia et al. (2009) l'ont résumé dans leur revue, la croissance de l'arbre est déterminée (i) par la division et l'expansion des cellules des méristèmes apical et cambial, (ii) la transition développementale et saisonnière, (iii) l'efficacité de la photosynthèse, (iv) le transport des nutriments et de l'eau, et (v) la capacité de répondre aux stress biotiques et abiotiques. Ces processus sont contrôlés par de nombreux mécanismes génétiques qui répondent dynamiquement aux signaux environnementaux.

L'analyse QTL comme outil pour rechercher les régions génomiques liées à la croissance en hauteur et en diamètre a déjà été menée non seulement chez l'eucalyptus (Kirst et al. 2004), le peuplier (Rae et al. 2008) et le pin (Marguerit et al. 2014; Markussen et al.

2003), mais également chez le chêne (Gailing et al. 2008; Scotti-Saintagne et al. 2004). Toutefois, les études génétiques ont été plus avancées en transcriptomique et expression transgénique sur les trois premières espèces alors que très peu d'études chez le chêne ont abordé le contrôle génétique de la croissance jusqu'aux gènes.

Le contrôle génétique sur les deux composantes de la croissance en hauteur à savoir le nombre d'UCs et la longueur des UC a été étudié chez le chêne pédonculé par analyse QTL dans l'étude de Scotti-Saintagne et al. (2004). Les co-localisations de QTLs ont montré un contrôle génétique commun pour les deux composantes de la croissance en hauteur. En revanche, Plomion et al. (1996) chez le pin maritime ont signalé que les mécanismes génétiques de ces deux composantes à savoir l'initiation des UC qui est contrôlée par le méristème apical et l'élongation des UC qui est contrôlée par le méristème subapical, sont séparés et sur différents chromosomes. D'ailleurs Fontaine et al. (1999) chez le chêne sessile de 3 ans ont mis en évidence qu'au sein d'une PA, la première UC est totalement préformée dans le bourgeon terminal d'hiver, la deuxième et la troisième UC possèdent plus ou moins une partie préformée et une partie néoformée. Cela montre que l'initiation et l'élongation des UCs ne semblent pas intervenir dans la même période de l'année, et ces deux composantes sont probablement liées à des mécanismes génétiques séparés comme chez le pin maritime.

Le contrôle génétique de la croissance de l'arbre a aussi été abordé par les études de la stabilité de QTLs. Des expressions de QTLs de la croissance en hauteur totalement différentes selon les périodes de croissance (juvénile ou mature) ont été signalées chez le pin maritime (Plomion et al. 1996) et le pin taeda (Kaya et al. 1999). Ceci suggère que différents QTLs peuvent être impliqués de manière différente dans le contrôle génétique de la croissance en hauteur à travers le temps. Cela pourrait aussi expliquer le peu de corrélation observé entre les jeunes arbres et les arbres matures en ce qui concerne la hauteur chez le pin maritime (Kremer et al. 1991). L'expression de QTLs de la croissance varie donc en fonction des périodes de croissance mais également selon différents environnements. Ceci est le cas de la plupart des QTLs qui présentent plus ou moins d'interaction QTL×E vu la complexité de leur contrôle génétique (Rae et al. 2008).

En ce qui concerne la ramification, sa relation avec la croissance a déjà été largement mise en évidence dans la littérature. Le nombre de branches séquentielles est positivement corrélé au nombre de PAs car la plupart des branches séquentielles se situent juste en dessous de la limite entre deux UCs (Colin et al. 2010). Le nombre de branches séquentielles est

également positivement corrélé avec la longueur des UCs selon l'étude de Heuret et al. (2003) sur des chênes rouges âgés de 5 ans. Colin et al. (2012) a également signalé que le nombre de bourgeons axillaires et le nombre de bourgeons épïcormiques sont aussi positivement corrélés avec la longueur des PA chez le hêtre. Dans son étude, une corrélation négative entre le développement de la branchaison épïcormique et la croissance en diamètre a également été mise en évidence. Le nombre de bourgeons secondaires présents à la base de ces branches séquentielles est potentiellement aussi corrélé avec le nombre et la longueur des PAs. En revanche, chez le chêne pédonculé, Herrmann et al. (2015) ont rapporté que la croissance des racines et la croissance de la partie aérienne sont négativement corrélées. Oliver Brendel a également signalé que la croissance en hauteur est négativement corrélée avec le nombre de branches séquentielles sur des semis de 1 an élevés en serre (communication personnelle à propos d'une étude non encore publiée). La croissance de l'arbre suit clairement une stratégie particulière d'allocation de carbone entre la partie aérienne et la partie souterraine, ou entre la croissance en hauteur et la ramification.

Ces corrélations entre le nombre de rameaux et la croissance en hauteur pourraient se traduire par la colocalisation de QTLs car l'analyse QTL est en fait une comparaison statistique. Ces co-localisations pourraient être également expliquées par un contrôle génétique commun. Par exemple Bradshaw and Stettler (1995) chez le peuplier ont montré que le nombre de branches sylleptiques et la croissance en diamètre partagent la même région génomique. Dans le chapitre 2, les traits de ramification étaient standardisés par mètre de tronc. Par conséquent la variation de nombre de rameaux est probablement liée aussi au nombre différent de PAs par mètre. Les analyses QTL séparées sur le nombre de ramifications standardisés par PA, sur la longueur de PAs et sur le nombre de PAs par mètre pourraient éliminer la relation statistique entre ces traits et permettraient d'évaluer indépendamment leur contrôle génétique.

Dans ce contexte, des analyses du mécanisme génétique et de l'interaction QTL×E sur la croissance du chêne sont absolument nécessaires. Nous avons pu profiter des chênes de la famille 3P×A4 plantés sur le site de Bourran (BR) pour continuer l'étude de Scotti-Saintagne sur l'analyse QTL de la croissance. De plus, pour une étude de la stabilité des QTLs, nous avons profité du fait que les mêmes génotypes que ceux du site BR ont été implantés 3 ans plus tard dans un environnement complètement différent dans le site de Champenoux (CH). D'autre part, une standardisation par PA du nombre des ramifications nous permettra

d'évaluer le contrôle génétique de la ramification indépendamment des variations de croissance en hauteur. Enfin, cela nous permettra de clarifier si la relation entre la ramification et la croissance est due simplement à une corrélation statistique ou bien est due à un contrôle génétique commun.

4.2 Matériels et méthodes

4.2.1 Estimation des pousses annuelles

Dans un premier temps, une estimation du nombre de PA a été réalisée sur les images de billon reconstruites en 3D. Cette estimation est basée sur le fait que la limite de PA se situe à l'endroit où il y a un changement de l'orientation de la moelle et au moins 3 à 4 branches séquentielles relativement grandes qui se trouvent juste en bas. Cette méthode ne permet malheureusement pas de distinguer les unités de croissance (UC) des pousses annuelles (PA). Par conséquent les variations indésirables dues à cette mauvaise distinction vont diminuer aussi la puissance de la détection de QTL. Pour y remédier, nous avons estimé les positions de la coupe des deux extrémités du billon par rapports aux limites supérieures et inférieures des pousses annuelles en observant la distance entre la limite extérieure du premier cerne et la limite extérieure de la moelle.

Nous avons récupéré deux rondelles de 1-2 cm aux deux extrémités des 332 billons (166 génotypes) qui ont été scannés par tomographie à rayon X. Les coupes transversales intérieures des rondelles ont été épluchées et colorées depuis la moelle jusqu'au dernier cerne pour rendre tous les vaisseaux plus visibles à l'aide du scalpel et de la craie (Figure 4.1). Le nombre de cernes a été compté sous une loupe binoculaire. La distance entre la moelle et le premier cerne a été évaluée et classée en trois niveaux A, B et C, en se basant sur le fait que la distance entre la moelle et le premier cerne diminue de bas à haut à l'intérieur d'une pousse annuelle.

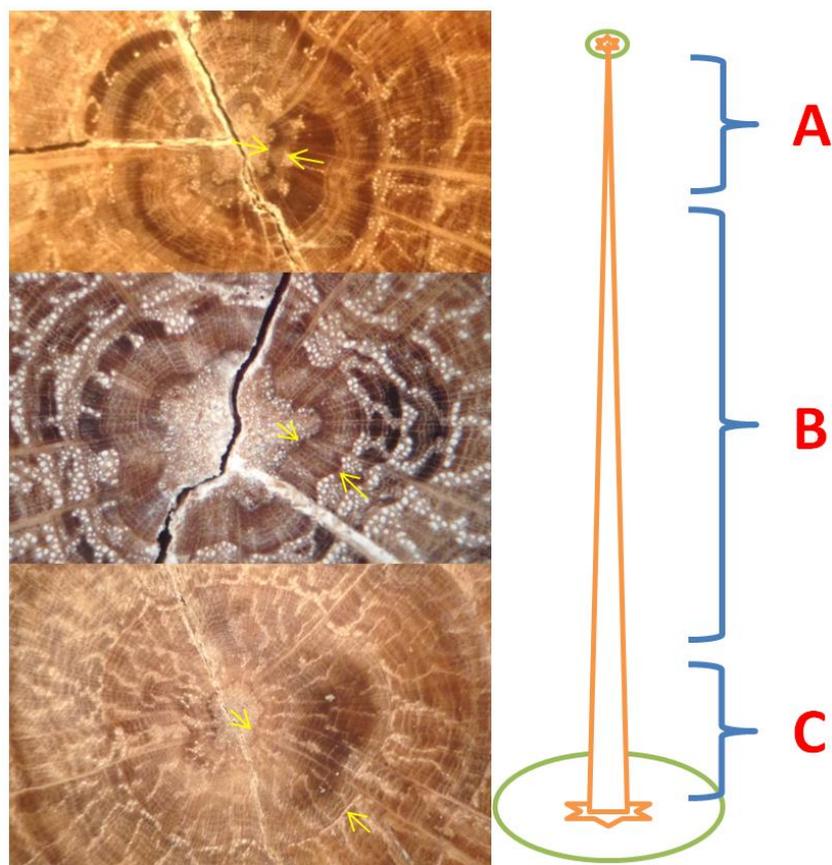


Figure 4.1 Schéma de l'estimation du nombre de pousses annuelles en fonction de la coupe des rondelles et de la distance entre la moelle et le premier cerne. Les cercles verts représentent la limite extérieure du cerne le plus proche de la moelle. Les lignes vertes représentent les limites supérieures et inférieures de pousse annuelle. Les lignes rouges représentent les endroits où ont été prélevées les rondelles.

Le nombre de pousses annuelles (nPA) a été calculé en deux étapes : 1) recherche du nombre de pousses annuelles entières en calculant la différence du nombre de cernes entre deux coupes ; 2) recherche des restes de pousse annuelle aux deux extrémités en considérant les deux coupes. Si la coupe de rondelle en bas du billon est classée en A, B et C, le nombre de pousse annuelle entre la coupe et la limite de pousse annuelle plus proche est respectivement 0,1, 0,5 et 0,9 (Figure 4.1). Ce chiffre a été ajouté au nombre de pousse

annuelles entière pour donner le nombre de pousses. Les effectifs des différents types de ramification ont été ensuite divisés par le nombre de pousses annuelles ainsi calculé.

4.2.2 Mesure de la croissance

La croissance a été mesurée en 2014 et en 2015. En début 2014, sur le site BR la hauteur et le diamètre du tronc à 130 cm ont été mesurés sur 1125 individus de 16 ans ce qui représente 185 génotypes (soit environ 6 clones par génotypes). En début 2015 sur le site CH, la hauteur (H) et la circonférence du tronc à 130cm ont été mesurées sur 828 individus de 14 ans ce qui représente 216 génotypes (soit environ 4 clones par génotypes). Le diamètre (D) a été calculé en divisant la circonférence par $2.\pi$. L'estimation du volume de tronc (V) est calculée par le modèle suivant :

$$V = \pi \left(\frac{D}{2} \right)^2 \times H$$

L'effet bloc a été détecté comme significatif sur les trois traits de la croissance H, D et V sur le site CH en utilisant le modèle statistique suivant :

$$Y_{ij} = \mu + G_i + B_j + \varepsilon_{ij}$$

où Y_{ij} est la valeur observée du trait, G_i l'effet du génotype i , B_j l'effet du bloc j , ε_{ij} est l'erreur. L'interaction entre le génotype et le bloc ($G_i B_j$) n'était pas considérée dans le modèle car dans chaque bloc nous n'avons qu'une observation pour chaque génotype. Pour le site BR, nous avons ignoré B_j car la plantation est en bloc aléatoire incomplet. Le modèle statistique est donc :

$$Y_{ij} = \mu + G_i + \varepsilon_{ij}$$

La moyenne ajustée de la valeur génotypique des deux sites a été estimée par le package lsmeans du logiciel R (Lenth 2016); les jeux de données des deux sites ont été combinés pour évaluer les traits de la croissance graphiquement.

Type de trait	Trait	Description
ramification	Bourgeon primaire	nPriBD_pa Nombre de bourgeons primaires par PA
		nPriLBD_pa Nombre de bourgeons primaires latents par PA
	Branche séquentielle	nSeqBC_pa Nombre de branches séquentielles par PA
		vSeqBC_pa Volume total de nœuds de la branche séquentielle par PA (cm ³)
	Branche épïcormique	nEpiBC_pa Nombre de branches épïcormiques par PA
	Bourgeon secondaire	nSecBD_pa Nombre de bourgeons secondaires par PA
	Ramification primaire	nP_pa Nombre de ramifications liées directement à la moelle (somme de nPriBD et nSeqBC) par PA
	Bourgeon latent	nLBD_pa Nombre de bourgeons latents (somme de PriLBD et SecLBD) par PA
Epicormique	nEpiBC_pa Nombre de ramifications épïcormiques (somme de nLBD et nEpiBC) par PA	
Croissance	nPA	Nombre de la pousse annuelle par billon d'environ un mètre
	IPA	La longueur moyenne de pousses annuelles estimées (cm)
	H	Hauteur de l'arbre (cm)
	D	Diamètre de l'arbre à 130cm du sol (cm)
	V	Volume de tronc de l'arbre estimé (cm ³)

Tableau 4.1 Liste de traits et leur description

4.2.3 Détection et cartographie des QTLs

La valeur génotypique estimée par lsmeans a été utilisée pour l'analyse QTL. Dans le cas où la distribution du trait ne suivait pas une loi normale (tous les traits de ramification et le trait du volume du tronc), les valeurs phénotypiques du trait ont été transformées en utilisant le logarithme naturel :

$$Z = \ln(X + 1)$$

où Z est la valeur phénotypique du trait transformé, X est la valeur phénotypique originale ou la valeur phénotypique corrigée. « ln » est attaché sur le nom des traits transformés. La valeur moyenne de chaque génotype a été utilisée pour l'analyse QTL.

L'analyse QTL a été réalisée sur neuf traits de ramification et cinq traits de croissance (Tableau 4.1). Nous avons utilisé les mêmes logiciels et les mêmes méthodes que celles décrites dans le chapitre 3 pour la détection et la cartographie de QTL. La détection QTL avec la modèle un-QTL-un-trait a été réalisée sur les neuf traits de la ramification et le trait du nombre et de la longueur de pousses annuelles (nPA). Le modèle un-QTL-plusieurs-environnements a été ajusté sur les trois autres traits de croissance (H, D et V). Nous montrons les QTLs putatifs et significatifs pour les traits de la croissance, et nous ne considérons que les QTLs significatifs au niveau du génome pour les QTLs des traits de ramification. Les QTLs détectés pour la ramification par pousse annuelle et pour la croissance vont être comparés sur la carte génétique de 3P x A4 avec les QTLs détectés pour la ramification par mètre présentée dans le chapitre 2.

4.3 Résultats

4.3.1 Variation phénotypique

Pour la ramification, le nombre de rameaux standardisé par PA est beaucoup plus variable que celui standardisé par mètre, présenté dans le chapitre 2 (Table 3). Pour le nombre de PA, nous avons estimé en moyenne 3.3 pousses annuelle sur les billons d'environ un mètre (Tableau 4.2). Certains arbres ont développé jusqu'à 7.4 pousses annuelles sur un mètre, et certains arbres ont développé plus d'un mètre de tronc dans une année.

Trait	Moyenne	SD	Min	Max	CV
nPriBD_pa	9,9	7,9	1,0	76,0	0,8
nPriLBD_pa	7,1	6,2	0,4	62,0	0,9
nSeqBC_pa	11,8	5,6	3,0	40,0	0,5
vSeqBC_pa	84,3	63,2	4,1	531,1	0,7
nEpiBC_pa	3,5	3,3	0,0	30,0	0,9
nSecBD_pa	5,4	7,0	0,0	49,0	1,3
nP_pa	21,0	12,0	6,1	95,0	0,6
nLBD_pa	11,4	11,3	0,5	106,0	1,0
nEpis_pa	18,8	16,4	1,5	140,0	0,9
nPA	3,3	1,2	0,8	7,4	0,4
IPA	36,7	16,65	15,5	124,15	0,5

Tableau 4.2 Statistique descriptives des traits de la ramification standardisée par pousse annuelle et de la pousse annuelle basée sur les données non transformés du site BR. SD, écart-type. CV, coefficient de la variation.

Pour la croissance en hauteur (H) et en diamètre (D), l'écart-type est très similaire entre les deux sites même si les arbres des deux sites ont une différence d'âge de 2 ans (Tableau 4.3). La croissance moyenne en diamètre sur le site BR a atteint presque deux fois celle sur le site CH. Le volume du tronc a été estimé comme quatre fois plus grand en termes de moyenne et de valeur maximum sur le site BR par rapport au site CH. La variance des trois traits de la croissance entre les arbres est plus grande sur le site CH.

	Moyenne		Ecart-type		Min		Max		CV	
	CH	BR	CH	BR	CH	BR	CH	BR	CH	BR
H	510	759	121	122	110	220	834	1170	0,24	0,16
D	5,40	9,68	2,27	2,34	0,48	2,39	13,79	28,40	0,42	0,24
V	15717,0	61530,1	15624,8	35492,5	28,5	1474,8	124498,5	468530,7	0,99	0,58

Tableau 4.3 Statistiques descriptives des traits de la croissance sur les données non transformés du site CH et BR.

CV : coefficient de la variation.

4.3.2 Détection des QTLs pour les traits de ramification standardisés par PA

Comme l'estimation du nombre de PA va créer des variances supplémentaires, nous ne regardons que les QTLs significatifs. Au total 23 QTLs liés à la ramification standardisée par PA ont été détectés significatifs. Chaque QTL explique de 5.3% à 10.6% de la variance phénotypique (Tableau 4.4). La majorité de ces QTLs sont liés aux bourgeons primaires et bourgeons secondaires (nPriBD, nPriLBD, nSecBD, nLBD). Un seul QTL significatif de la longueur de PA a été détecté avec un effet de QTL modéré. En revanche nous n'avons pas trouvé de QTLs ni pour le nombre de branches séquentielles (nSeqBC) ni pour le nombre de PA (nPA) par mètre de billon. Les QTLs détectés sont principalement distribués sur les chromosomes 6, 7 et 8. Nous allons comparer et discuter les localisations de ces QTLs avec celles des QTLs de ramification standardisée par mètre sur la carte génétique (résultats du chapitre 2).

trait	LG	MAP	LOD	PEV	Effet	L	L _{BS}	L _{BS_SD}	p _G
nPriBD_pa_ln	6	F	3,632	9	0,313	39,1	30,24	16,89	0,0006
nPriBD_pa_ln	7	M	3,4723	7,7	-0,299	17,93	16,72	7,878	0,0007
nPriBD_pa_ln	8	F	3,1522	8	0,251	11,04	15,35	9,472	0,0228
nPriBD_pa_ln	8	M	3,3152	7,2	0,269	47,61	45,39	6,821	0,0005
nPriLBD_pa_ln	6	F	3,9603	9,3	0,33	10,35	20,49	16,56	0,0006
nPriLBD_pa_ln	7	M	3,4361	7,2	-0,289	9,564	13,84	7,604	0,0007
nPriLBD_pa_ln	8	M	4,9265	10,6	0,342	47,61	45,22	6,459	0,0005
vSeqBC_pa_ln	10	M	2,5287	7,1	-0,328	58,2	48,752	14,95	0,0006
nEpiBC_pa_ln	2	M	2,8969	6,9	-0,262	27,43	24,63	15,83	0,0004
nSecBD_pa_ln	2	M	2,5794	5,3	-0,326	10,13	31,54	32,26	0,0004
nSecBD_pa_ln	6	F	3,4416	8,4	0,41	39,1	35,9	16,17	0,0006
nSecBD_pa_ln	6	M	3,0273	6,2	0,36	25,59	32,34	12,1	0,0006
nSecBD_pa_ln	7	M	3,1986	6,7	-0,366	29,38	27,57	9,27	0,0007
nP_pa_ln	6	F	3,2428	8,4	0,204	39,1	36,1	13,65	0,0006
nP_pa_ln	7	M	3,451	8,5	-0,208	27,7	26,26	6,596	0,0007
nLBD_pa_ln	3	M	3,2319	6,4	-0,308	0	1,892	8,022	0,0269
nLBD_pa_ln	6	F	3,1001	7,7	0,375	40,03	33,66	18,05	0,0499
nLBD_pa_ln	7	M	3,8672	7,8	-0,367	9,584	14,22	8,62	0,0007
nLBD_pa_ln	8	M	3,5936	7,3	0,338	47,61	47,74	4,647	0,0005
nEpi_pa_ln	6	F	3,4646	8,9	0,354	39,1	36,57	15,23	0,0006
nEpi_pa_ln	6	M	2,2435	5,3	0,29	59,921	45,9	15,04	0,0006
nEpi_pa_ln	8	F	2,3825	5,8	0,292	16,51	18,66	12,48	0,0450
IPA	6	F	2,7056	7,4	7,216	39,1	38,2	8,43	0,0253

Tableau 4.4 QTLs détectés pour les nombres de rameaux par pousse annuelle sur le site BR.

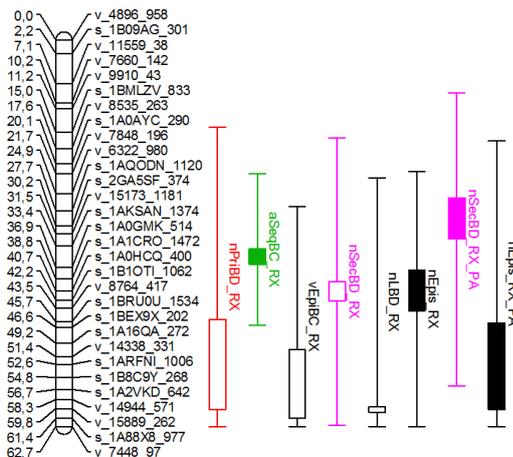
MAP : carte génétique, M pour la carte mâle et F pour la carte femelle. LG : groupe de liaison. LOD : LOD score soit le \log_{10} du rapport de vraisemblance du QTL par rapport à son absence. PEV : pourcentage de la variance expliquée par le QTL. LBS : position de QTL calculée par le bootstrap. LBS_SD : écart type de la position du QTL calculé par bootstrap. Effet : effet allélique du QTL. L : position du QTL en cM. p_G : niveau de signification au niveau du génome.

trait	LG	MAP	LOD	PEV_CH	PEV_BR	L _{BS}	L _{BS} _SD	L	Effet_CH	EffetSD_CH	Effet_BR	EffetSD_BR	p _G
H	1	F	4,04	5,1	2,3	21,9	10,3	23,8	34	11	-24	17	0,0005
H	2	M	4,18	7,6	0	25,2	12,9	26,8	44	9	0	13	0,0004
H	3	M	8,47	5,1	12,1	3,5	4,9	3,4	-34	10	-52	12	0,0007
H	4	M	2,48	3,6	0,8	8,3	15,2	0,0	-28	11	10	16	0,5004
H	5	F	2,87	5	0,3	26,8	10,2	28,3	34	11	10	14	0,0943
H	6	F	3,46	5,9	0,4	16,1	10,0	10,8	39	9	6	15	0,0740
H	8	F	4,91	4,3	5,2	54,4	7,1	54,4	31	13	35	12	0,0006
H	9	M	3,56	2,5	4,2	35,0	11,7	29,4	25	10	35	11	0,0259
H	10	F	4,11	0,4	8,8	3,2	6,0	1,3	-11	11	-43	13	0,0008
H	10	M	4,06	2,9	5	19,2	21,7	5,9	-28	10	-35	11	0,0006
D	1	F	2,57	4,4	0,2	17,0	14,2	6,5	0,68	0,23	-0,02	0,32	0,2014
D	2	M	5,40	10,6	0,4	31,6	12,4	35,7	1,06	0,20	-0,19	0,21	0,0004
D	3	F	2,82	4,3	1	30,2	13,7	38,4	-0,68	0,22	-0,13	0,35	0,1725
D	3	M	5,50	0,8	11,2	4,3	10,1	1,0	-0,34	0,26	-0,79	0,29	0,0007
D	6	F	6,05	10,4	1,5	12,4	5,7	10,8	1,04	0,19	0,32	0,20	0,0006
D	10	M	6,03	4,8	7,7	8,7	12,9	5,9	-0,67	0,27	-0,74	0,17	0,0006
V	2	M	4,76	8,3	0,1	25,5	14,8	32,2	0,63	0,13	-0,28	0,33	0,0004
V	3	M	7,71	2,8	12,5	2,5	3,8	1,7	-0,36	0,14	-1,36	0,27	0,0007
V	6	F	5,45	9,5	1,8	12,2	5,4	10,8	0,65	0,14	0,52	0,32	0,0006
V	9	M	3,03	2,6	3	33,3	17,5	41,0	0,40	0,14	0,52	0,47	0,1688
V	10	M	6,94	4,8	8,6	6,8	9,7	5,9	-0,44	0,16	-1,17	0,25	0,0006

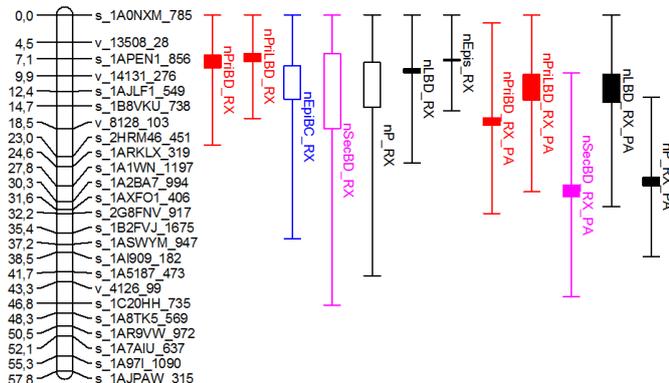
Tableau 4.5 QTLs détectés pour la croissance avec le modèle multi-environnements.

MAP : carte génétique, M pour la carte mâle et F pour la carte femelle. LG : groupe de liaison. LOD : LOD score soit le log10 du rapport de vraisemblance du QTL par rapport à son absence. PEV : pourcentage de la variance expliquée par le QTL. LBS : position du QTL calculée par bootstrap. LBS_SD : écart type de la position du QTL calculé par le bootstrap. L : la position de QTL en cM. Effet : l'effet allélique de QTL. EffetSD : l'écart type de l'effet allélique de QTL p_G : le niveau de signification au niveau du génome.

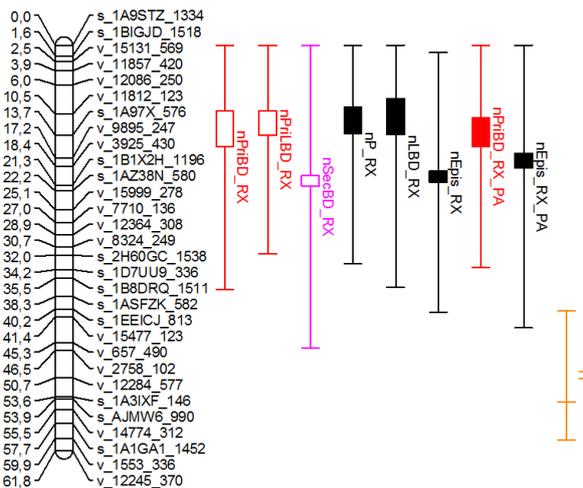
LG6M



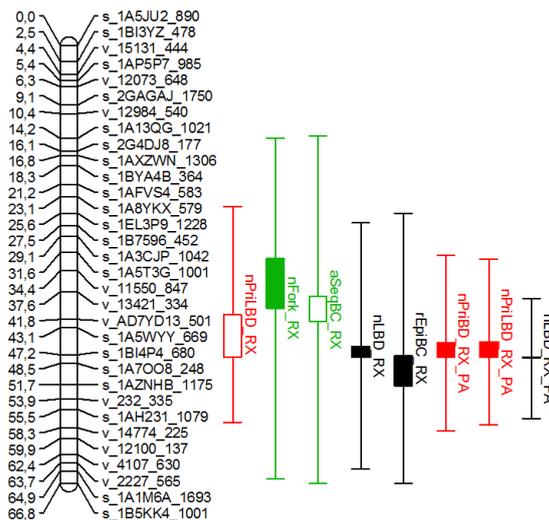
LG7M



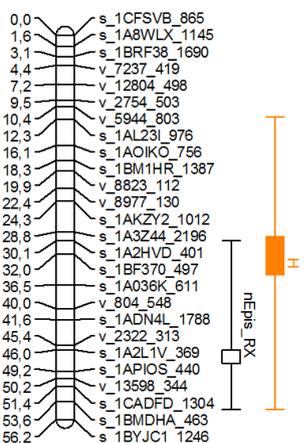
LG8F



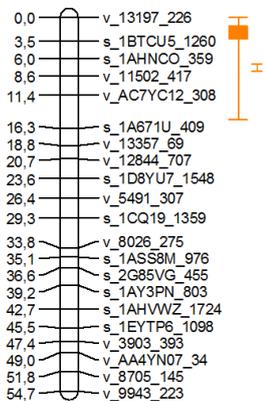
LG8M



LG9M



LG10F



LG10M

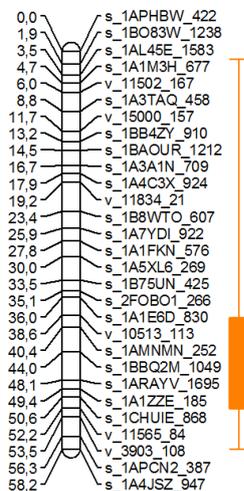


Figure 4.2 QTLs de la ramification standardisée par pousse annuelle et de la croissance, détectés sur la carte mâle et la carte femelle.

Les couleurs des barres indiquent les différents types de ramification : bourgeon primaire latent (rouge), branche séquentielle (vert), branche épicornique (bleu) et bourgeon secondaire latent (rose). Les barres noires représentent les QTLs des traits composites. Les barres orange représentent les QTLs de la croissance. Les barres pleines représentent les QTLs significatifs, les barres vides représentent les QTLs putatifs. Le nom du QTL attaché par `_RX` et `_RX_PA` représente respectivement les QTLs de ramification par mètre et les QTLs de ramification par pousse annuelle.

4.3.3 Détection des QTLs de la croissance

Pour la croissance, au total nous avons détecté 15 QTLs significatifs parmi 21 QTLs avec le modèle multi-environnement.

Les QTLs significatifs de la croissance en hauteur expliquent une part plus importante de variance phénotypique sur le site BR que sur le site CH (Tableau 4.5). Cinq parmi sept QTLs détectés expliquent de 4,2% à 12,1% de la variance phénotypique sur le site BR, les deux QTLs détectés sur le site CH expliquent des pourcentages de la variance phénotypique assez modérés : 5,1% et 7,6%.

Les QTLs de la croissance en diamètre et du volume du tronc ont été détectés sur les mêmes groupes de liaison (LG2M, LG3M, LG6F et LG10M). En termes de PEV, les QTLs du volume du tronc sont très similaires aux QTLs de la croissance en diamètre. Les deux QTLs de diamètre sur LG2M et LG6F expliquent plus de 10% de la variance phénotypique sur le site CH ; le QTL sur LG3M explique 11,2% de la variance phénotypique sur le site BR. La PEV du QTL sur LG10M reste modérée mais significative sur les deux sites.

4.3.4 Hotspots de QTLs

En ce qui concerne la ramification, les hotspots de QTLs ont été observés sur LG6F, LG7M et LG8M (Figure 4.2). Sur ces hotspots, les positions des QTLs standardisés par PA sont beaucoup plus précises que celles des QTLs standardisés par mètre. Sur ces hotspots, les positions des QTLs standardisés par PA sont beaucoup plus précises par rapport à celles des QTLs standardisés par mètre.

Pour la croissance, nous avons trouvé les QTLs des trois traits de la croissance colocalisés ou très proches sur LG2M, LG3M et LG10M. Sur LG6F, le QTL de la croissance en diamètre est co-localisé avec les QTLs de la ramification.

4.3.5 Interaction QTL×E

Nous avons observé un effet site sur les QTLs pour tous les traits de croissance. Pour les QTLs de la croissance en hauteur, nous avons un QTL sur LG10F qui présente un effet négatif sur le site BR, et son effet sur le site CH est très limité (Figure 4.3). Un exemple similaire se trouve sur LG2M : le QTL ne présente d'effet que sur le site CH. Sur LG1F, l'orientation de l'effet de QTL est complètement différente. Avec la présence de ce QTL, les arbres sur les sites BR et CH montrent respectivement une diminution et une augmentation de la croissance en hauteur.

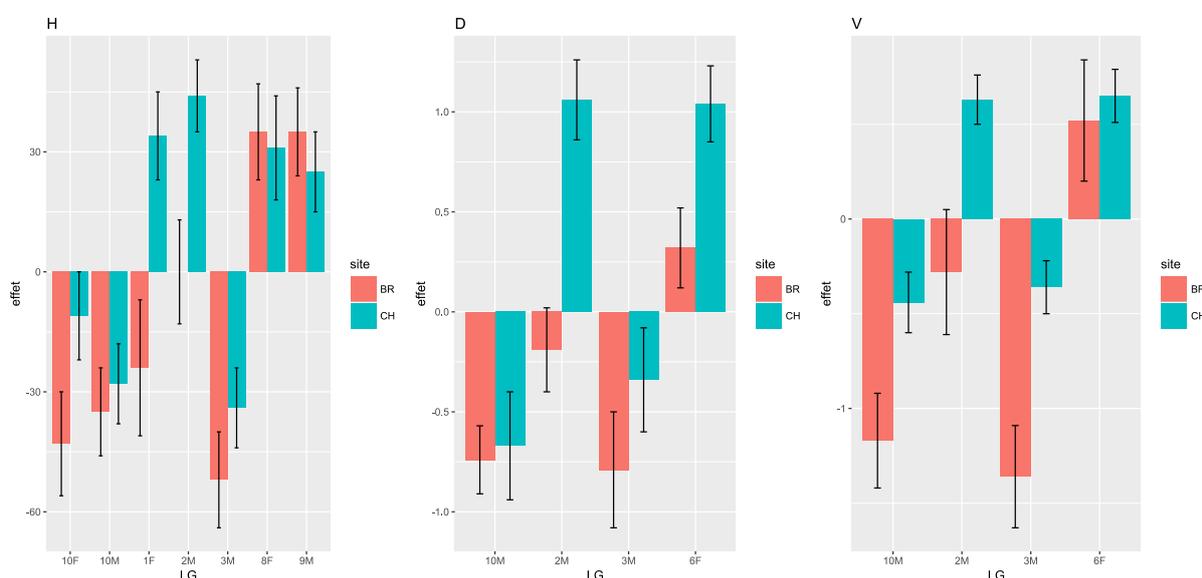


Figure 4.3 Comparaison de l'effet de QTL significatif entre deux sites.

LG : groupe de liaison. Chaque groupe de liaison représente l'effet d'un QTL détecté sur ce groupe de liaison pour le site BR (barre en orange) et CH (barre en vert-bleu). L'écart-type de l'effet de QTL a été utilisé pour les barres d'erreur.

Sur LG2M, les PEVs des QTLs de H, de D et de V sont équivalentes : elles présentent 7%-10% de PEV sur le site CH et très peu de PEV sur le site BR. Sur LG3M et LG10M, les effets QTLs du diamètre ne sont pas significativement différents entre les deux sites, mais les QTLs du volume du tronc ont montré une différence significative entre les deux sites sur ces deux groupes de liaison.

4.4 Discussions

Dans ce chapitre, nous avons deux points à tester. Premièrement, nous voulions savoir si la croissance avait un impact sur les QTLs de l'effectif de rameaux détectés comme présentés dans le chapitre 2. Nous avons standardisé les nombres de rameaux par le nombre de pousses annuelles sur 1 mètre sur les billons scannés par tomographie à rayon X. L'analyse QTL permet de comparer les positions de ces QTLs de la ramification standardisée par pousse annuelle par rapport aux positions de QTLs de la ramification standardisée par mètre comme présentés dans le chapitre 2. Deuxièmement, nous avons à étudier l'architecture génétique de la hauteur et du diamètre de l'arbre chez le chêne pédonculé. Les mêmes descendances qui ont été installées dans les deux dispositifs ayant des conditions environnementales complètement différentes nous permettent d'évaluer la stabilité de QTLs de la hauteur et du diamètre du chêne.

4.4.1 Standardisation par pousse annuelle

La variation du nombre de PA par mètre peut aussi s'accompagner d'un effet du nombre et de l'élongation des UC sur la longueur des PAs (Collet et al. 1997). Dans la littérature, le déterminisme génétique de la longueur des PA a été étudié chez certaines espèces forestières en complément de l'étude de l'effet des facteurs de l'environnement (les ressources en eau et minéraux, la lumière et le climat). Casasoli et al. (2004) ont détecté des QTLs de la longueur de PA chez le châtaignier, chacun de ces QTLs présente de 7,2% à 17,0% PEV. Yazdani et al. (1999) ont aussi trouvé des QTLs concernant la longueur des PA chez le pin sylvestre. Dans notre étude, nous avons trouvé aussi un effet génétique sur la longueur de la pousse annuelle (IPA) au travers d'un QTL significatif détecté sur LG6F. Cet effet génétique reste très modéré : ce QTL n'explique que 7,4% de la variance phénotypique. Avec un autre QTL de IPA putatif détecté sur LG7M (données non présentées), nous supposons que le contrôle génétique de la longueur de PA est lié à de petits effets de QTLs situés dans plusieurs régions génomiques.

	Traits par mètre	Traits par pousse annuelle
nPriBD, nPriLBD	3F, 6F , 7M , 11F	6F , 7M , 8F, 8M
nSeqBC, vSeqBC	1M	10M
nEpiBC		2M
nSecBD		2M, 6F, 6M, 7M
nP	6F , 8F	6F , 7M
nLBD	1M, 3M , 6F , 7M , 8F, 8M	3M , 6F , 7M , 8M
nEpis	6F , 6M , 7M, 8F	6F , 6M , 8F

Tableau 4.6 Comparaison des groupes de liaison où les QTLs sont détectés pour chaque trait et selon les deux standardisations.

Grâce aux localisations de QTLs sur la carte génétique, nous avons montré que les QTLs de la ramification standardisée par mètre et par PA sont colocalisés ou proches sur LG7M, LG8F et LG8M (Figure 4.2). Nous supposons que la variance du nombre de PA sur un mètre du billon n'est pas liée à un effet génétique sur ces deux groupes de liaison. Que les traits soient standardisés par mètre ou par PA, certains LGs sont toujours représentés ; c'est le cas du trait lié aux bourgeons primaires et des traits composites (Tableau 4.6). Les QTLs putatifs du nombre de bourgeons secondaires deviennent significatifs en passant à la standardisation par PA. En effet, nous avons éliminé l'effet sur le nombre de rameaux de la variance du nombre de PA par mètre. Ceci est conforme à ce que (Colin et al. 2010) a signalé : la plupart des branches séquentielles se développent juste en dessous de la limite de PA, ce qui donne une grande capacité des bases de ces branches à développer des bourgeons secondaires. Ainsi, la puissance de détection de QTL pourrait être augmentée en optant pour la standardisation par PAs.

Ceci pourrait expliquer le fait que nous n'avons pas détecté de QTLs putatifs pour les bourgeons secondaires standardisés par mètre (Song et al. 2017). Collet et al. (1997) ont signalé que la longueur de PA est principalement liée au nombre d'UC et à la longueur de la dernière UC. Conformément à l'analyse QTL du nombre d'UC et de la croissance annuelle sur le site BR (Scotti-Saintagne et al. 2004), nous n'avons pas trouvé de groupe de liaison commun portant le QTL de IPA. Heuret et al. (2003) ont montré une corrélation positive entre la longueur des UCs et le nombre de branches. Donc le nombre et la longueur des PAs pourraient être positivement corrélés avec le nombre de rameaux. Sur LG6F, nous avons observé que les QTLs de traits de la ramification standardisée par mètre sont dispersés, alors que la plupart des QTLs des traits de ramification standardisée par PA sont colocalisés avec un QTL de IPA. En plus les QTLs du nombre de rameaux par PA (nPriBD, nSecBD, nP, nLBD, nEpis) et le QTL de IPA sont colocalisés et tous avec des effets positifs. Cette

colocalisation des QTLs est liée à la corrélation positive entre les traits avec des coefficients de corrélation variant entre 0,34 et 0,78. Dans le chapitre 2, nous avons déjà supposé que les deux régions génomiques de LG6F ont différents mécanismes biologiques contrôlant le développement des rameaux. Nous supposons que le premier hotspot des QTLs de bourgeon primaire est lié au phénomène d'initiation du méristème axillaire. Conformément au QTL de IPA détecté dans cette étude, nous pouvons supposer que le deuxième hotspot des QTLs des bourgeons est probablement lié à l'élongation du méristème apicale.

4.4.2 Différents mécanismes génétiques liés aux méristèmes primaire et secondaire

La somme des longueurs de PA correspond à la croissance en hauteur. Dans cette étude, nous n'avons détecté qu'un QTL putatif de la croissance en hauteur sur LG6F, co-localisé avec le QTL de IPA. La forte corrélation entre la hauteur et le diamètre ($r=0,61$ sur le site BR et $r=0,82$ sur le site CH) explique les co-localisations des QTLs de la hauteur, du diamètre et du volume sur LG3M, LG6F et LG10M. Un contrôle génétique commun pour la croissance en deux dimensions est très probablement à considérer sur ces trois chromosomes.

Comme Groover (2005) l'a déjà examiné, les deux gènes KANADI et Class-III homedomain-leucine zipper (HD-ZIP) constituent la polarité de l'adaxiale-abaxiale de l'organe latéral émergeant du méristème apicale chez l'*Arabidopsis*. Ces gènes constituent également la structuration radiale des tissus vasculaire. Ils sont exprimés dans la région de cambium chez le *peuplier* et le *tabac*. Un autre exemple concerne les gènes BREVIPEDICELLUS (BP)/KNAT1 et SHOOTMERISTEMLESS (STM) qui sont en relation avec la maintenance cellulaire et la synthèse de la paroi cellulaire dans le méristème apical caulinaire ; ces deux gènes promeuvent aussi la différenciation des cellules souches dans le cambium. Bien que les gènes WUSCHEL (WUS) et CLV3 ne soient exprimés que dans le méristème apical, leurs paralogues sont exprimés dans le cambium. Ceci pourrait expliquer le chevauchement de la régulation génétique entre le méristème apical caulinaire et le méristème cambium vasculaire. D'ailleurs, il faut noter que les gènes BP/KNAT1, STM, WUS et CLV3 sont aussi impliqués dans le développement de la ramification. Nous pouvons donc supposer que la colocalisation sur LG6F de QTL de ramification, de QTL de IPA et de QTL de la

croissance pourrait avoir un lien avec un mécanisme génétique plus compliqué qu'une simple logique d'accumulation du nombre de PA.

En revanche, nous avons détecté seulement des QTLs de la hauteur sur LG8F, LG9M et LG10F sans colocalisation des QTLs du diamètre malgré une forte corrélation entre deux traits. Le contrôle génétique pour la croissance en hauteur semble être indépendant par rapport celui pour la croissance en diamètre sur ces chromosomes. Nous pouvons imaginer que des mécanismes génétiques indépendants permettront une croissance rapide en hauteur qui va constituer un grand avantage pour le captage de la lumière et le captage des ressources, ce dernier étant contrôlé par le système racinaire, qui intervient lors de la compétition entre les arbres (Chaar et al. 1997).

4.4.3 La détection des QTLs de la croissance

L'analyse génomique de la croissance a été bien étudiée jusqu'au niveau du gène chez l'eucalyptus (Bartholomé et al. 2015) et le peuplier (Du et al. 2016). Mais le déterminisme génétique de la croissance a été beaucoup moins étudié chez le chêne. Pour cette espèce, Scotti-Saintagne et al. (2004) ont travaillé surtout sur la croissance en hauteur. Sur le même site BR, ont été étudiées les architectures génétiques du nombre d'UC et de la longueur moyenne des UCs. En comparant avec les QTLs de notre étude, on s'aperçoit que des QTLs de la croissance ont été également détectés sur les groupes de liaison LG3M, LG10F et LG10M sur l'ancienne carte de 3Px4. Avec le concours de Catherine Bodénès, une analyse QTL a été réalisée avec l'ancien jeu de données de la croissance de Scotti-Saintagne au site BR avec la nouvelle carte génétique. Catherine Bodénès a également comparé la localisation des QTLs sur ces trois groupes de liaison en les projetant sur la même carte génétique par le logiciel BIOMERCATOR v4. Nous avons trouvé que les QTLs de la croissance en hauteur et de la longueur d'UC détectés par Scotti-Saintagne se localisent près de ceux de la hauteur et du diamètre dans notre étude sur LG3M (Figure 4.4). Ainsi le contrôle génétique de la croissance en hauteur est confirmé sur ce groupe de liaison.

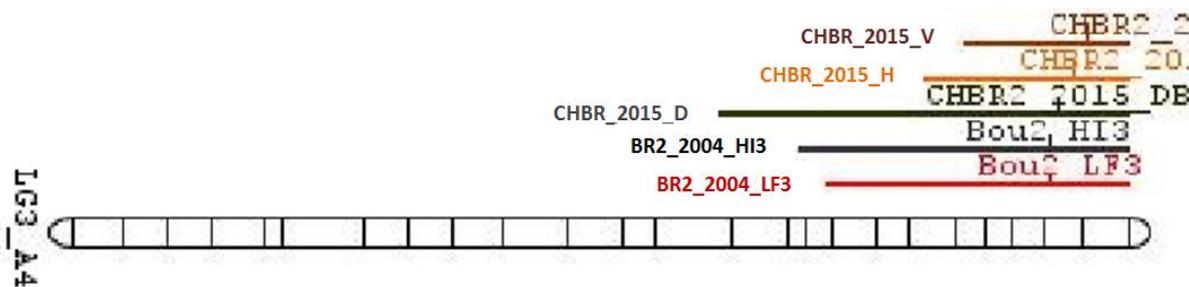


Figure 4.4 Comparaison de la localisation des QTLs de la croissance.

LG3_A4 : groupe de liaison 3M. CHBR_2015 : analyse QTL multi-environnements avec les données du site CH et BR dans étude. BR2_2004 : l'analyse QTL simple-environnement avec les données du site BR dans l'étude de Scotti-Saintagne et al. (2004). HI : croissance en hauteur à la troisième année. LF3, longueur moyenne d'UC à la troisième année.

Gailing et al. (2008) ont aussi étudié la croissance annuelle en hauteur et en diamètre avec une carte similaire à celle de Scotti-Saintagne chez le chêne. En comparant notre étude et la précédente, nous constatons que six groupes de liaison sont communs (LG2M, LG3M, LG6F, LG8F, LG9M et LG10M) où des QTLs de la croissance ont été détectés. LG3M et LG10M sont les groupes de liaison communs pour les QTLs de la croissance en comparant les trois études ; de plus ce sont les seuls deux groupes de liaison où des QTL significatifs de H et de D sont colocalisés. Sur LG9M, Gailing et al. (2008) ont aussi signalé que seul le QTL de la croissance en hauteur a été détecté. Cela renforce notre hypothèse d'un contrôle génétique indépendant de la croissance en hauteur sur ce groupe de liaison. En termes de PEV, le contrôle génétique de la croissance reste modéré et localisé sur plusieurs chromosomes pour la croissance du chêne. Les QTLs détectés dans l'étude de Scotti-Saintagne et al. (2004) expliquent de 6,4% à 17,3% de la variance phénotypique de la hauteur, les QTLs détectés dans l'étude de Gailing et al. (2008) expliquent de 2,1% à 12,0% de la variance phénotypique de la hauteur suivie pendant trois ans. Dans notre étude, les PEVs des QTLs de la croissance varient entre 0,4-10,6% sur le site CH et entre 0-12,5% sur le site BR. Des PEVs similaires ont été trouvés aussi sur les QTLs de la croissance chez le châtaignier (Casasoli et al. 2004), le peuplier (Du et al. 2016), le pin (Yang et al. 2015), le pommier (Conner et al. 1998) et l'eucalyptus (Bartholomé et al. 2013). Certaines études ont rapporté des PEVs de QTLs de la croissance encore plus grandes. Par exemple des valeurs entre 15,1 et 23,5% de PEV par QTL ont été signalées chez le cerisier (Wang et al. 2015), mais les PEVs sont très probablement surestimées puisque la population d'étude atteignait seulement 100 individus.

4.4.4 Interaction QTL × Environnement

A l'instar des QTLs de la ramification, les différents types d'interaction QTL×E ont été aussi observés sur les QTLs de la croissance.

Pour la croissance en hauteur, les QTLs de H sur LG3M, LG8F, LG9M et LG10M ont été considérés comme des QTLs constitutifs, car l'effet de ces QTLs ne présente pas une différence significative entre les deux sites. Mieux, les QTLs de la croissance en hauteur ont été détectés aussi sur les mêmes chromosomes par Gailing et al. (2008). Le contrôle génétique de la croissance en hauteur est probablement stable vis-à-vis des différents environnements par rapport à ces chromosomes. Nous avons observé pour la première fois un QTL de la hauteur avec une pléiotropie antagoniste (AP) sur LG1F. Rae et al. (2008) ont aussi signalé un QTL de la AP pour la hauteur du peuplier ; en revanche ce QTL présente un effet positif ($11,9 \pm 5,91$) en France, un effet négatif ($-46,3 \pm 9,23$) en Italie et un effet nul ($-0,883 \pm 5,85$) en Grande-Bretagne. Cela montre que différents types d'interaction QTL×E pourraient être mis en évidence par une analyse QTL sur plus de deux environnements. Sur LG2M, un QTL de H conditionnellement neutre (CN) a été détecté ; ce QTL ne présente qu'un effet positif sur le site CH. D'ailleurs, Gailing et al. (2008) ont aussi signalé que le QTL de la hauteur présente un effet négatif sur le même chromosome que celui identifié dans son étude. Nous supposons que cette interaction QTL×E serait une combinaison entre CN et AP plutôt qu'une simple interaction de type CN. Le QTL conditionnellement neutre du diamètre détecté sur LG2M pourrait renforcer cette hypothèse car la moyenne de l'effet de ce QTL sur le site BR est déjà négative. L'effet du QTL du diamètre sur LG6F montre une sensibilité différenciée (DS) entre les deux sites, mais la différence d'âge, de précipitations, d'insolation, de température, d'attaque insecte et d'opération de gestion entre les deux sites ne nous permet malheureusement pas d'évaluer un unique facteur environnemental dans cet effet du QTL et de l'interaction QTL×E. Dans la littérature la combinaison de l'interaction QTL×E de NC et de DS semble intervenir plus fréquemment que celle d'AP et CN (Des Marais et al. 2013). Les mécanismes génétiques sous QTL restent à étudier pour trouver si ces combinaisons d'AP et CN sont liées à une simple accumulation des réponses aux différents facteurs environnementaux ou bien à un changement radical de l'expression des gènes dans les différents environnements.

