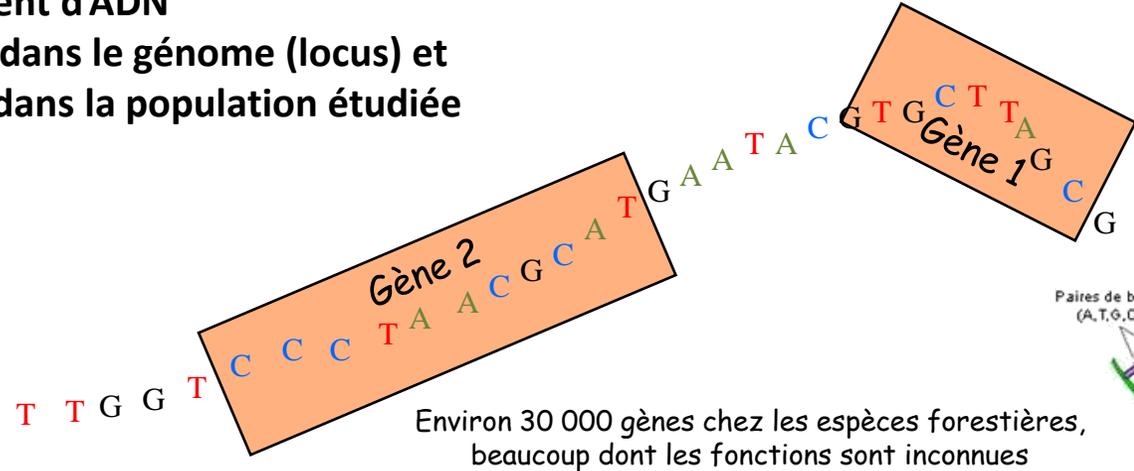


Stratégies d'amélioration génétique à l'aide des marqueurs moléculaires

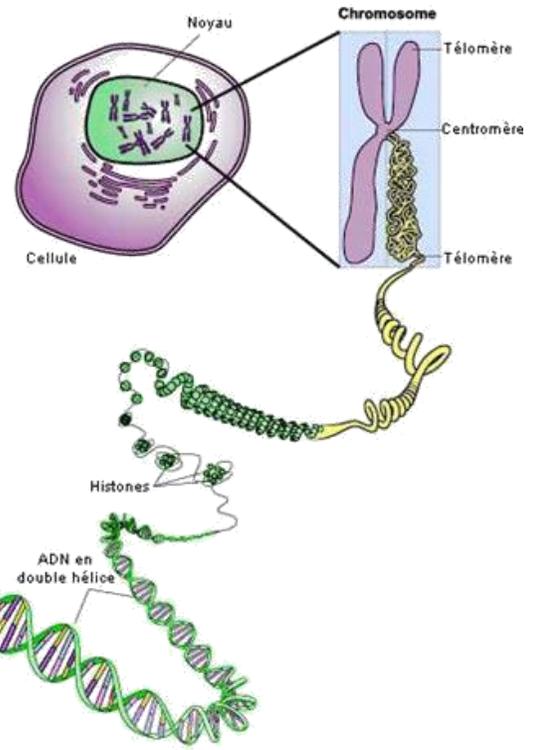


Qu'est-ce qu'un marqueur moléculaire ?

C'est un fragment d'ADN
avec une position bien définie dans le génome (locus) et
présentant du polymorphisme dans la population étudiée

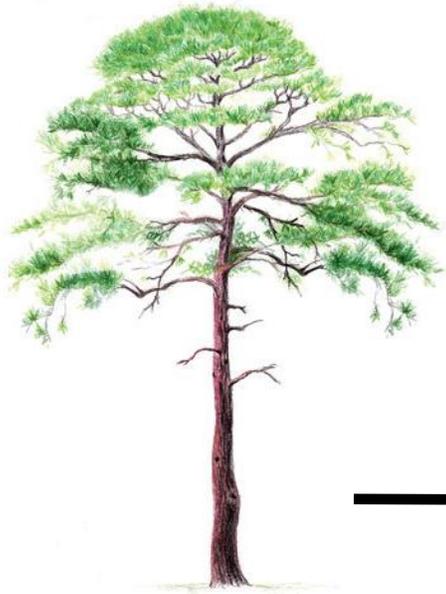


Environ 30 000 gènes chez les espèces forestières,
beaucoup dont les fonctions sont inconnues



Les SNP (Single Nucleotide Polymorphism) sont un type de marqueur moléculaire :
variation d'une seule paire de bases du génome entre individus

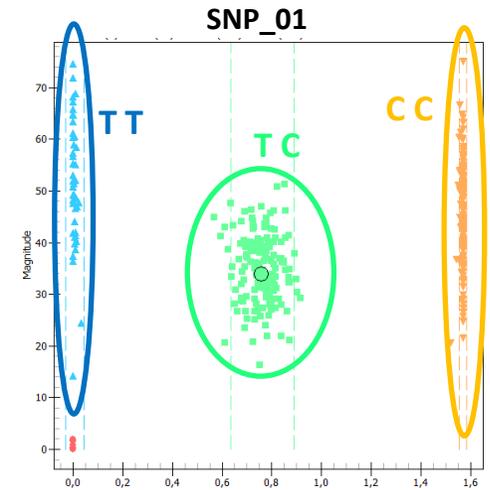
Individu 1	CCCTGAAAGCCTCTTGTAATGTCGACTAAATAAAAAGATTCCTTCCTCAATAGCA
Individu 2	CCCTGAAAGCCTCTTGTAATGTCGACTAAATAAAAAGATTCCTTCCTCAATAGCA
Individu 3	CCCTGAAAGCCTCTTGTAATGTCGACTAAATAAAAAGATTCCTTCCTCAATAGCA
Individu 4	CCCTGAAAGCCTCTTGTAATGTCGACTAAATAAAAAGATTCCTTCCTCAATAGCA
Individu 5	CCCTGAAAGCCTCTTGTAATGTCGACTAAATAAAAAGATTCCTTCCTCAATAGCA
Individu 6	CCCTGAAAGCCTCTTGTAATGTCGACTAAATAAAAAGATTCCTTCCTCAATAGCA
Individu 7	CCCTGAAAGCCTCTTGTAATGTCGACTAAATAAAAAGATTCCTTCCTCAATAGCA
Individu 8	CCCTGAAAGCCTCTTGTAATGTCGACTAAATAAAAAGATTCCTTCCTCAATAGCA
Individu 9	CCCTGAAAGCCTCTTGTAATGTCGACTAAATAAAAAGATTCCTTCCTCAATAGCA
Individu 10	CCCTGAAAGCCTCTTGTAATGTCGACTAAATAAAAAGATTCCTTCCTCAATAGCA



récolte d'aiguilles



extraction d'ADN



Génotypage

(« Puce à ADN » = support sur lequel sont fixées des sondes correspondant aux différents marqueurs à génotyper)

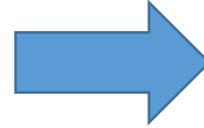
→ On obtient un profil moléculaire pour chaque individu

	SNP_01	SNP_02	SNP_03	SNP_04	SNP_05	SNP_06	SNP_07	SNP_08	SNP_09	SNP_10	
Individu-1	TC	GC	CG	TT	GT	CA	TC	AA	TT	GA	...
Individu-2	CC	GG	CG	TT	TT	AA	CC	GG	TC	AA	...

Outils moléculaires disponibles chez *Pinus pinaster*

➤ Génotypage haute-densité = 12 000 SNP

- puce 4TREE développée dans le cadre du projet européen B4EST
- puce commerciale multi-espèces: *Populus sp*, *Fraxinus sp*, *Pinus pinaster* et *Pinus pinea*
- génotypage réalisé aux Etats-Unis (Axiom Thermofisher)

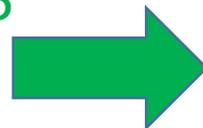


- ✓ Identifier des régions du génome liées à un caractère
- ✓ Sélection génomique



➤ Génotypage basse-densité = 40 à 80 SNP

- Développées par INRAE
- Génotypage réalisé en interne (INRAE Pierroton)

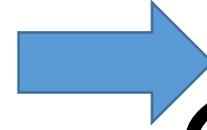


- ✓ Population d'amélioration: vérifier les identités et les pedigrees
- ✓ Vergers à graines: estimer la pollution pollinique et les contributions parentales
- ✓ Contrôle origine d'un peuplement ou d'un lot de graines

Outils moléculaires disponibles chez *Pinus pinaster*

➤ Génotypage haute-densité = 12 000 SNP

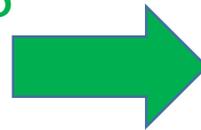
- Puce 4TREE développée dans le cadre du projet européen B4EST
- puce commerciale multi-espèces: *Populus sp*, *Fraxinus sp*, *Pinus pinaster* et *Pinus pinea*
- génotypage réalisé aux Etats-Unis (Axiom Thermofisher)



- ✓ Identifier des régions du génome liées à un caractère
- ✓ Sélection génomique

➤ Génotypage basse-densité = 40 à 80 SNP

- Développées à l'INRAE
- Génotypage réalisé en interne (INRAE Pierroton)



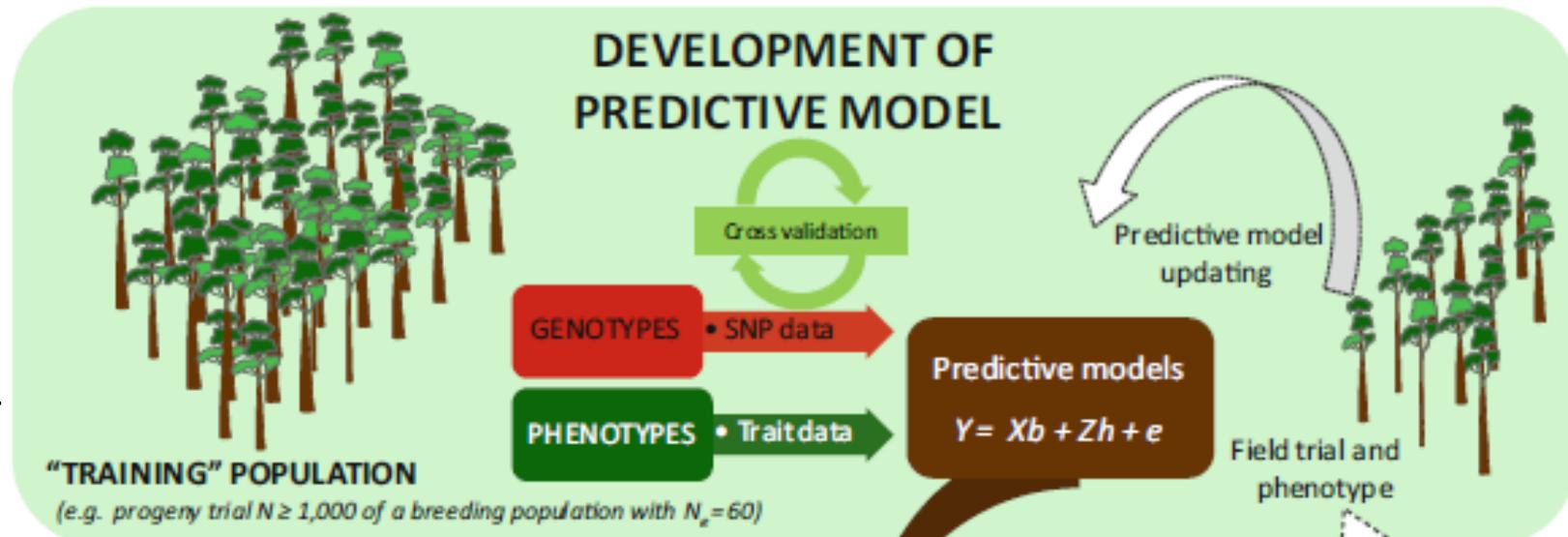
- ✓ Population d'amélioration: vérifier les identités et les pedigrees
- ✓ Vergers à graines: estimer la pollution pollinique et les contributions parentales
- ✓ Contrôle origine d'un peuplement ou d'un lot de graines

Principe général de la sélection génomique

Population d'entraînement

Tous les individus sont phénotypés (performances) et génotypés (marqueurs ADN)

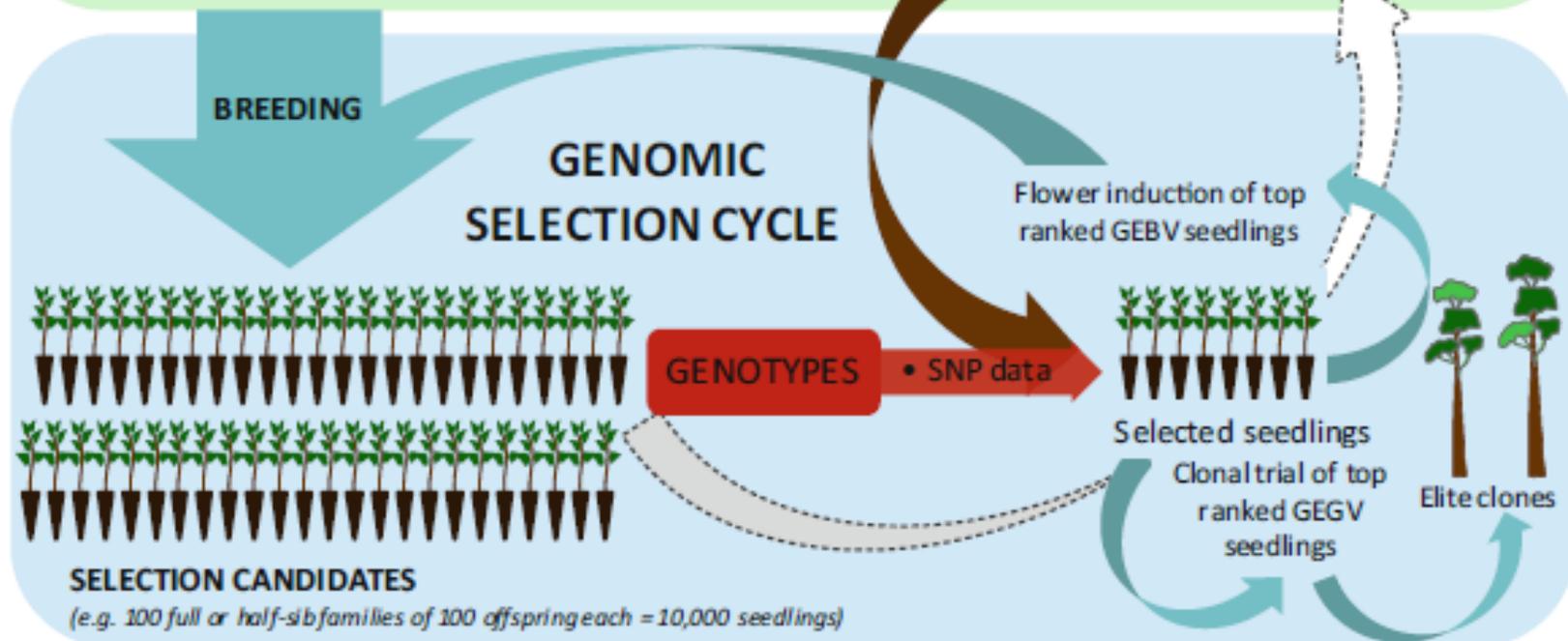
→ construction d'un modèle prédictif



Population d'application

Tous les individus sont uniquement génotypés

→ leurs performances sont prédites avec le modèle



Sélection génomique chez les arbres forestiers

- >40 articles publiés depuis 2012 (*Eucalyptus*, *Pinus*, *Picea*...)
- *Pinus pinaster*: deux articles publiés en 2016 et un PhD (Victor Papin, projet B4EST) en cours (génotypage haut-débit de ~2000 individus des 3 générations d'amélioration de la population landaise)
- Premiers résultats encourageants: bonne prédiction des valeurs familiales
- Principales limites:
 - mauvaise prédiction de la valeur intra-famille
 - coût du génotypage

Perspectives de la sélection génomique

- **Sélection précoce** → accélération des cycles de sélection

Possibilité de sélectionner ou réaliser un pre-screening en utilisant uniquement l'information moléculaire

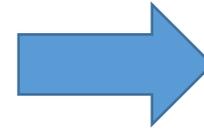
- **Prédiction de caractères difficiles à évaluer** → intégration de nouveaux critères de sélection

Phénotypage focalisé sur la population d'entraînement ce qui permet d'envisager des mesures plus coûteuses / complexes (résistance aux maladies, à la sécheresse...)

Outils moléculaires disponibles chez *Pinus pinaster*

➤ Génotypage haute-densité = 12 000 SNP

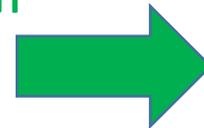
- Puce 4TREE développée dans le cadre du projet européen B4EST
- puce commerciale multi-espèces: *Populus sp*, *Fraxinus sp*, *Pinus pinaster* et *Pinus pinea*
- génotypage réalisé aux Etats-Unis (Axiom Thermofisher)



- ✓ Identifier des régions du génome liées à un caractère
- ✓ Sélection génomique

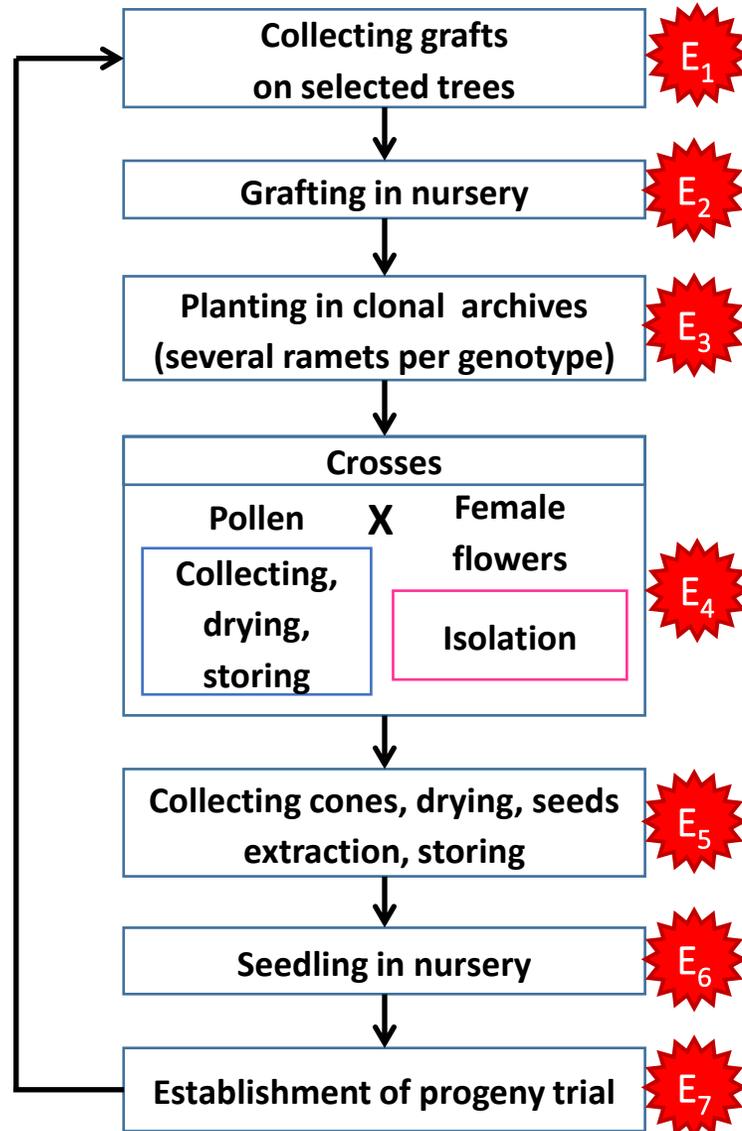
➤ Génotypage basse-densité = 40 à 80 SNP

- Développées à l'INRAE
- Génotypage réalisé en interne (INRAE Pierroton)



- ✓ Population d'amélioration: vérifier les identités et les pedigrees
- ✓ Vergers à graines: estimer la pollution pollinique et les contributions parentales
- ✓ Contrôle origine d'un peuplement ou d'un lot de graines

Contrôle des identités et des pedigrees

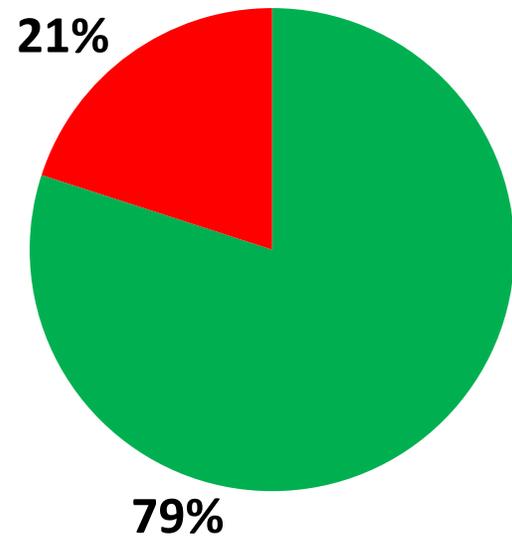


➤ Nombreuses sources d'erreur d'identification

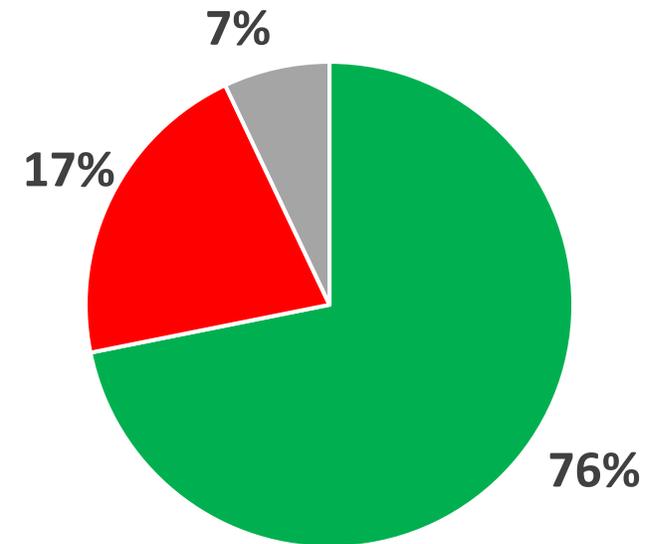
➤ Processus cumulatif au cours des générations de sélection

Estimation du taux d'erreur de pedigree dans la population d'amélioration (80 SNPs)

Tests de descendance (G2)
(3,009 trees)

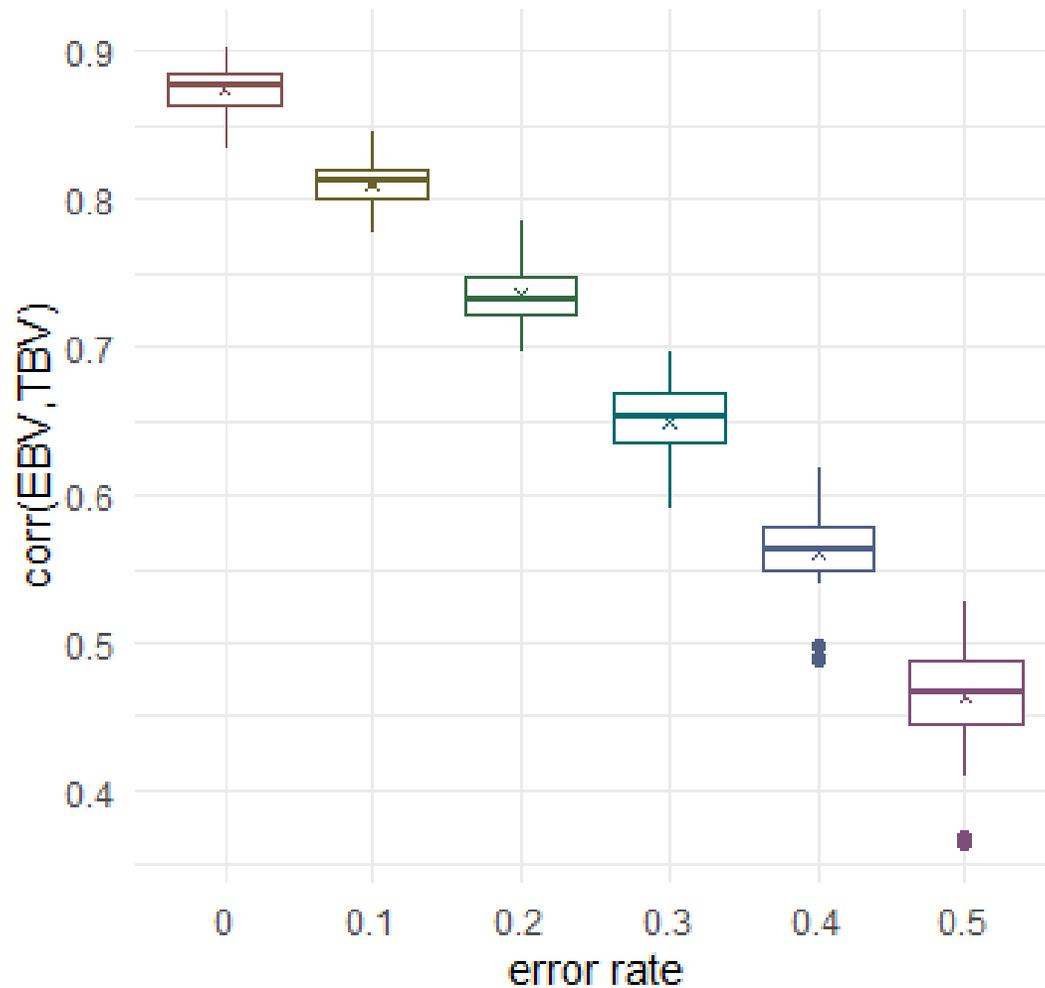


Archives conales (G1)
(524 G1 trees x 5 ramets / tree)

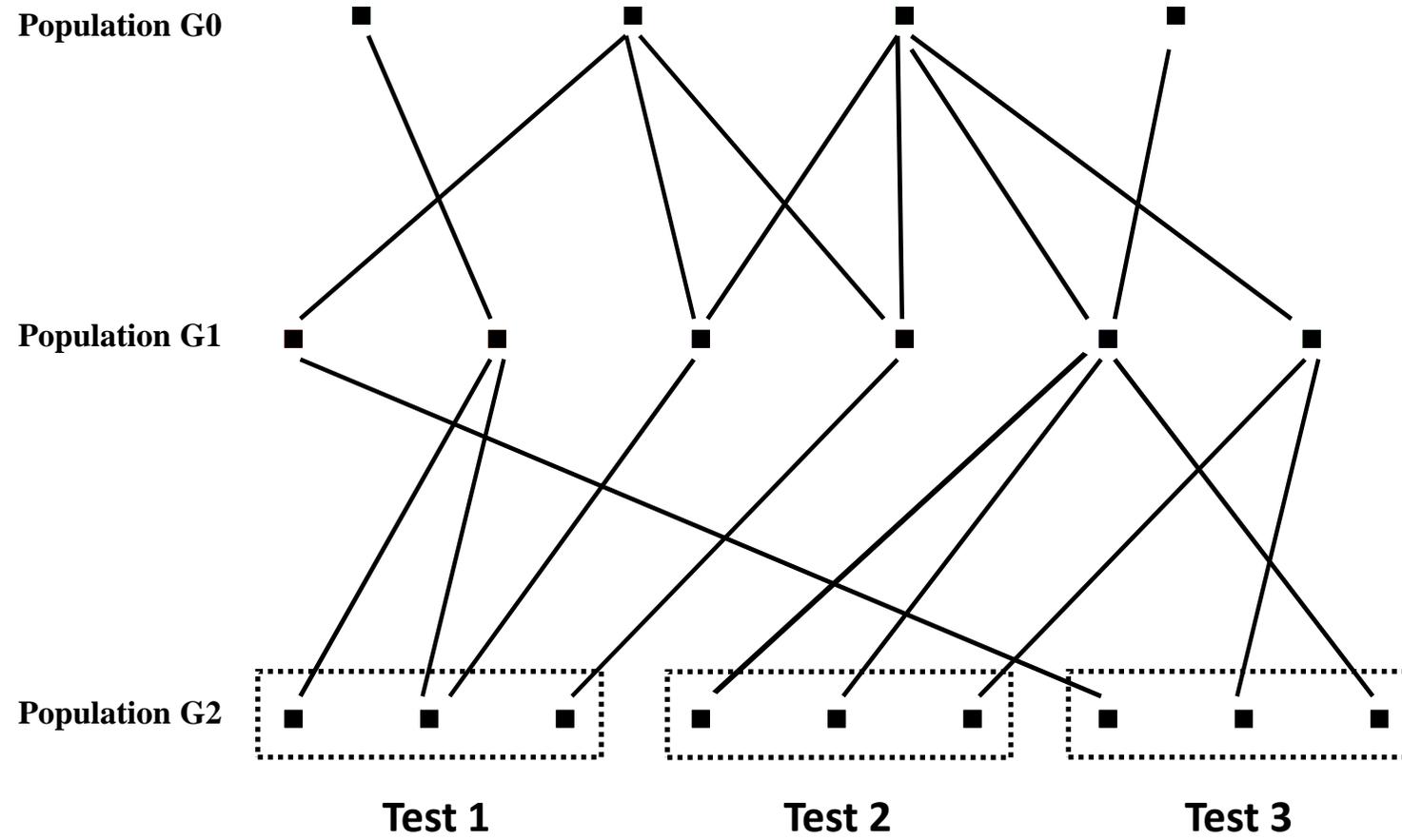


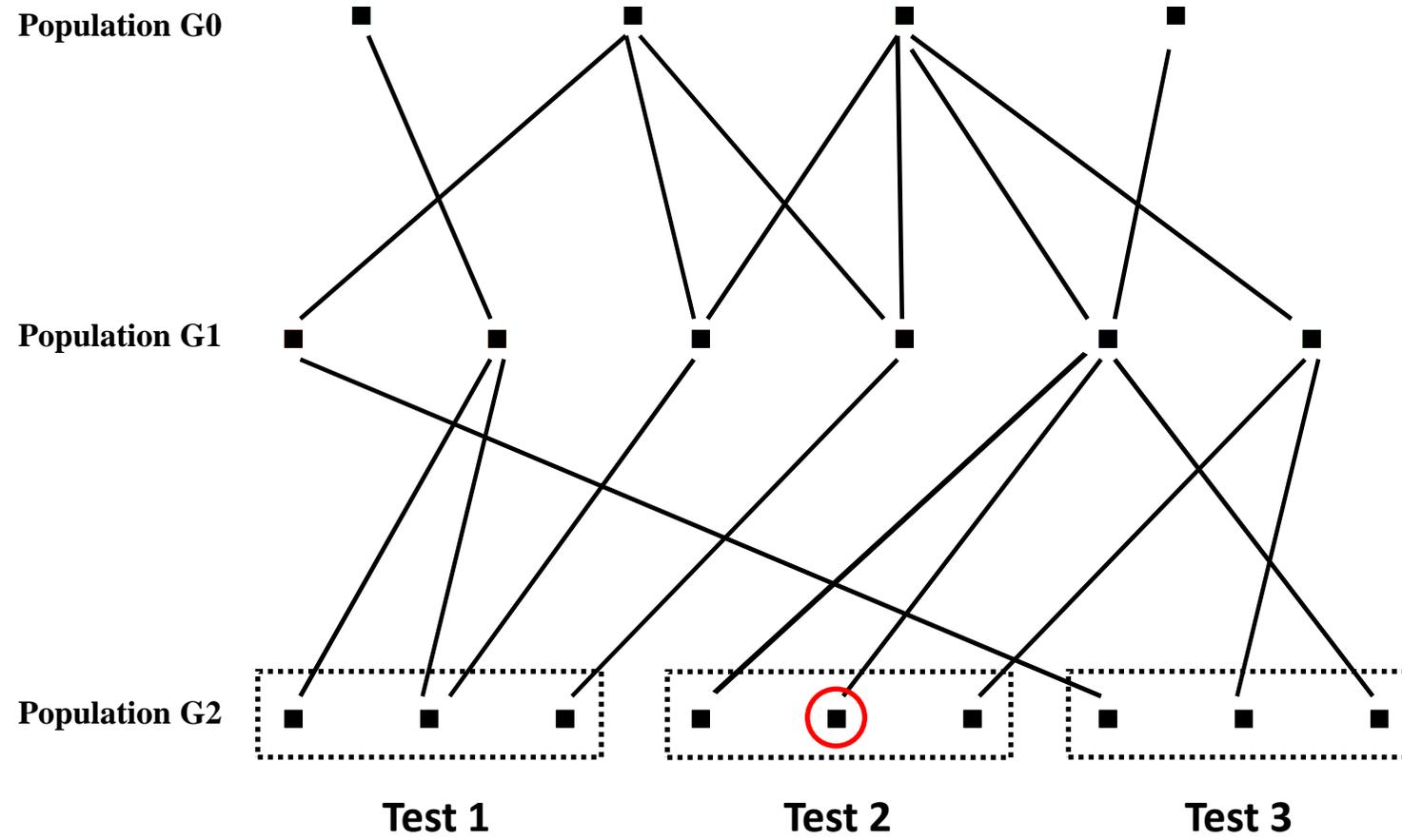
- Good assignment
- Wrong assignment
- Unsampled

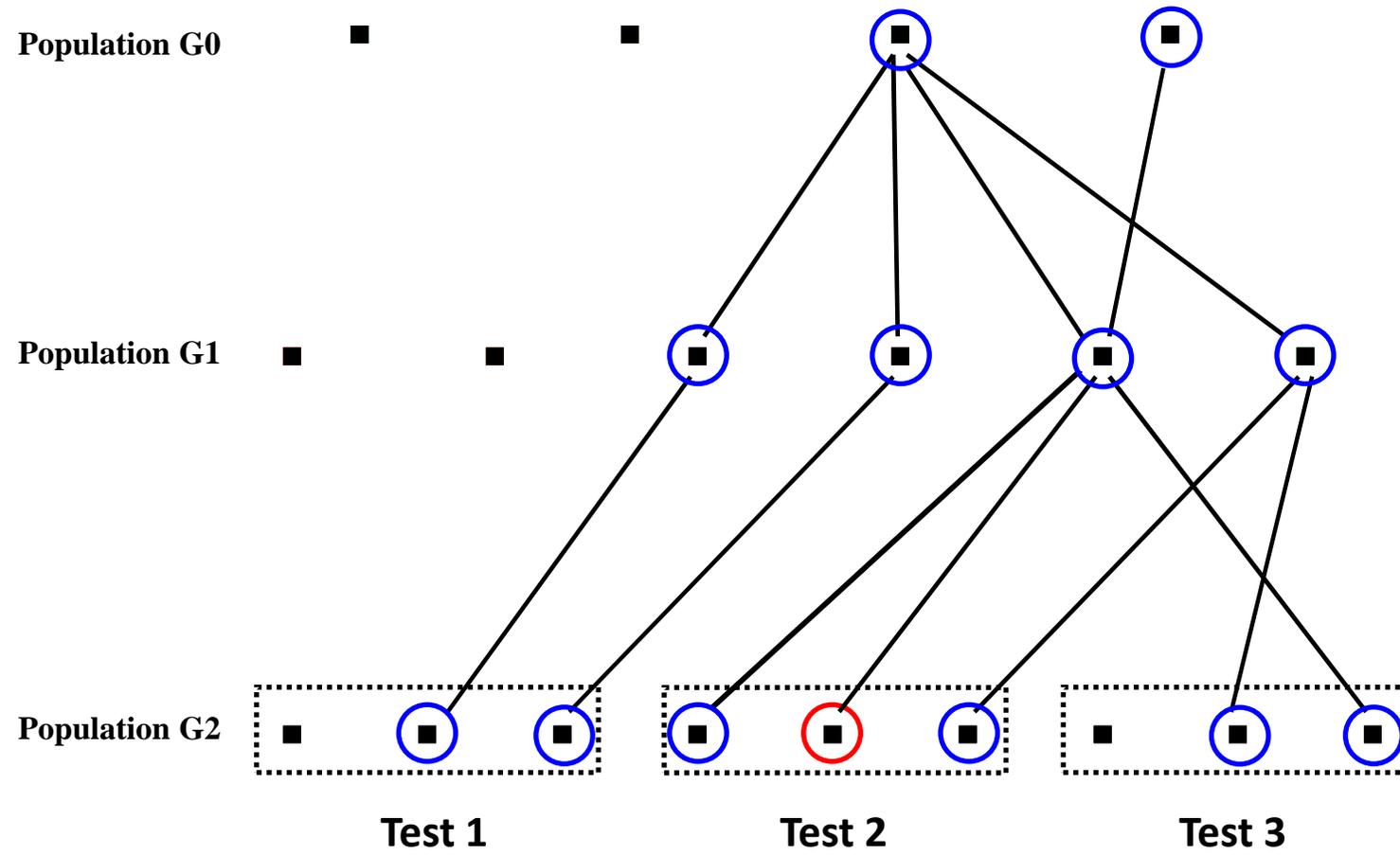
Pourquoi corriger ces erreurs?



L'évaluation génétique sera d'autant plus précise que le taux d'erreur de pedigree sera faible



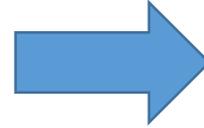




Outils moléculaires disponibles chez *Pinus pinaster*

➤ Génotypage haute-densité = 12 000 SNP

- Puce 4TREE développée dans le cadre du projet européen B4EST
- puce commerciale multi-espèces: *Populus sp*, *Fraxinus sp*, *Pinus pinaster* et *Pinus pinea*
- génotypage réalisé aux Etats-Unis (Axiom Thermofisher)

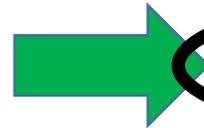


- ✓ Identifier des régions du génome liées à un caractère
- ✓ Sélection génomique



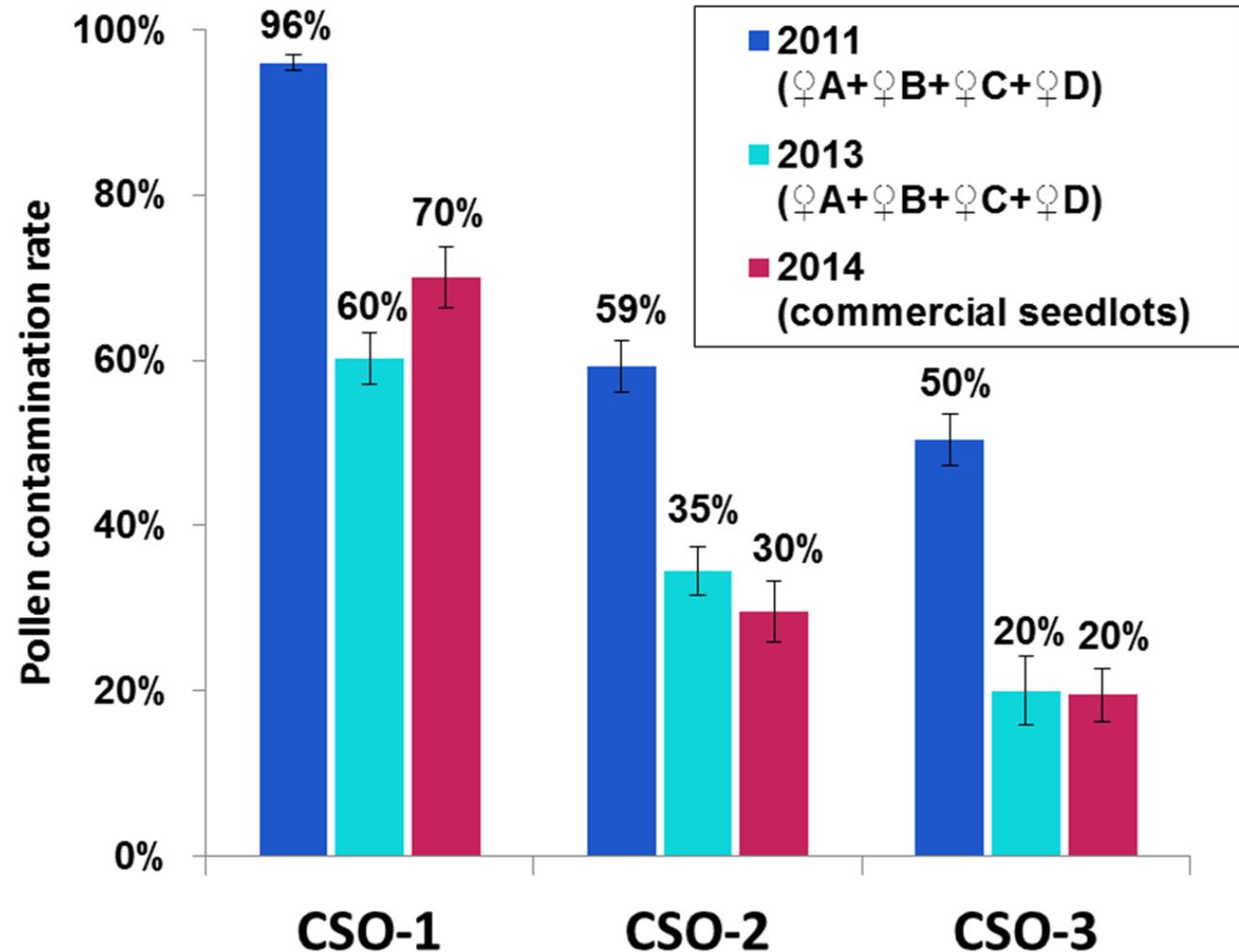
➤ Génotypage basse-densité = 40 à 80 SNP

- Développées à l'INRAE
- Génotypage réalisé en interne (INRAE Pierroton)



- ✓ Population d'amélioration: vérifier les identités et les pedigrees
- ✓ Vergers à graines: estimer la pollution pollinique et les contributions parentales
- ✓ Contrôle origine d'un peuplement ou d'un lot de graines

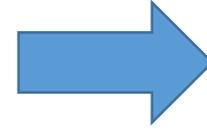
Taux de pollution dans les vergers à graines



Outils moléculaires disponibles chez *Pinus pinaster*

➤ Génotypage haute-densité = 12 000 SNP

- Puce 4TREE développée dans le cadre du projet européen B4EST
- puce commerciale multi-espèces: *Populus sp*, *Fraxinus sp*, *Pinus pinaster* et *Pinus pinea*
- génotypage réalisé aux Etats-Unis (Axiom Thermofisher)

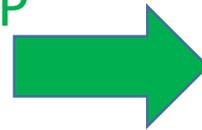


- ✓ Identifier des régions du génome liées à un caractère
- ✓ Sélection génomique



➤ Génotypage basse-densité = 40 à 80 SNP

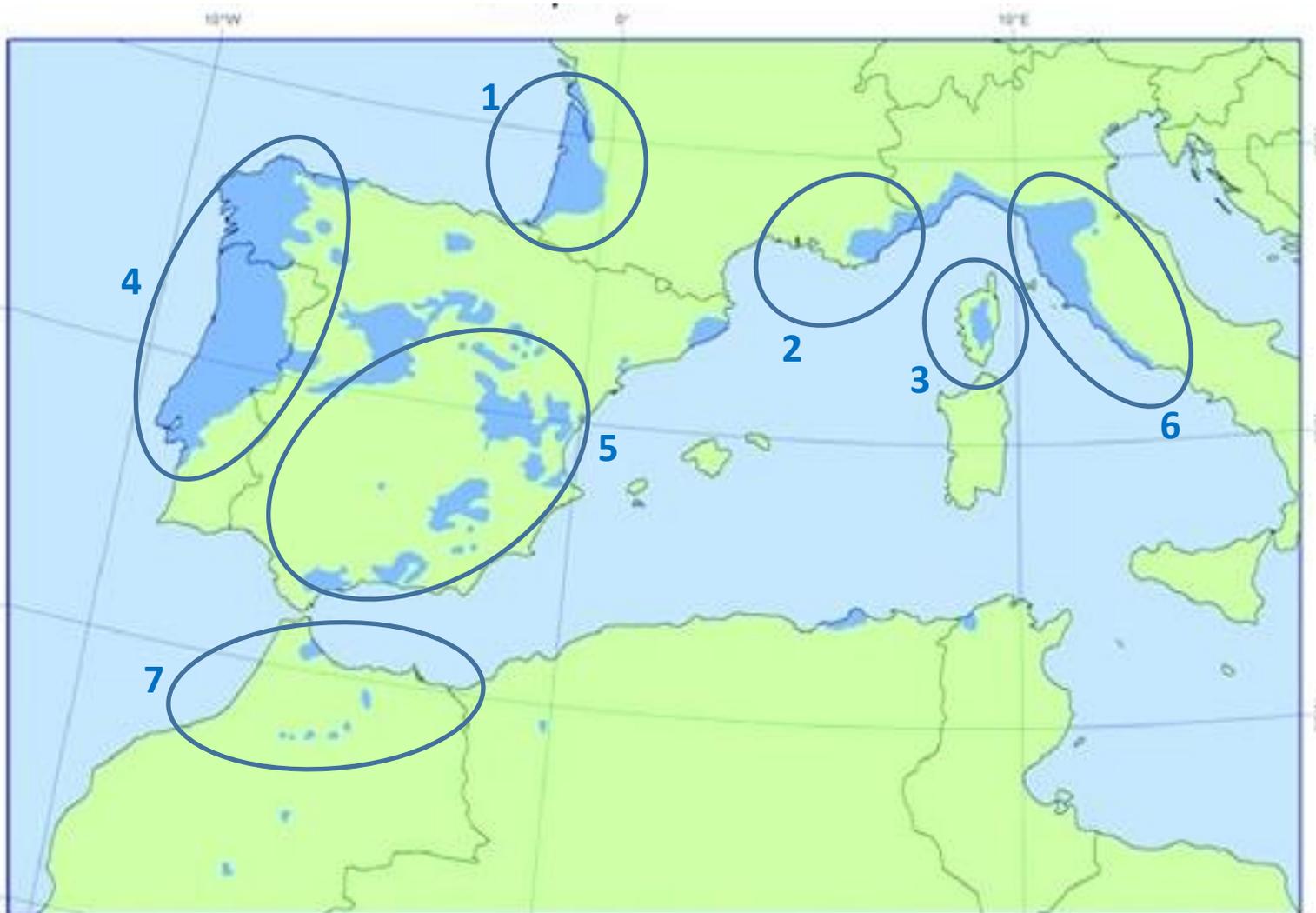
- Développées à l'INRAE
- Génotypage réalisé en interne (INRAE Pierroton)



- ✓ Population d'amélioration: vérifier les identités et les pedigrees
- ✓ Vergers à graines: estimer la pollution pollinique et les contributions parentales
- ✓ Contrôle origine d'un peuplement ou d'un lot de graines

Contrôle de l'origine d'un peuplement ou d'un lot de graines

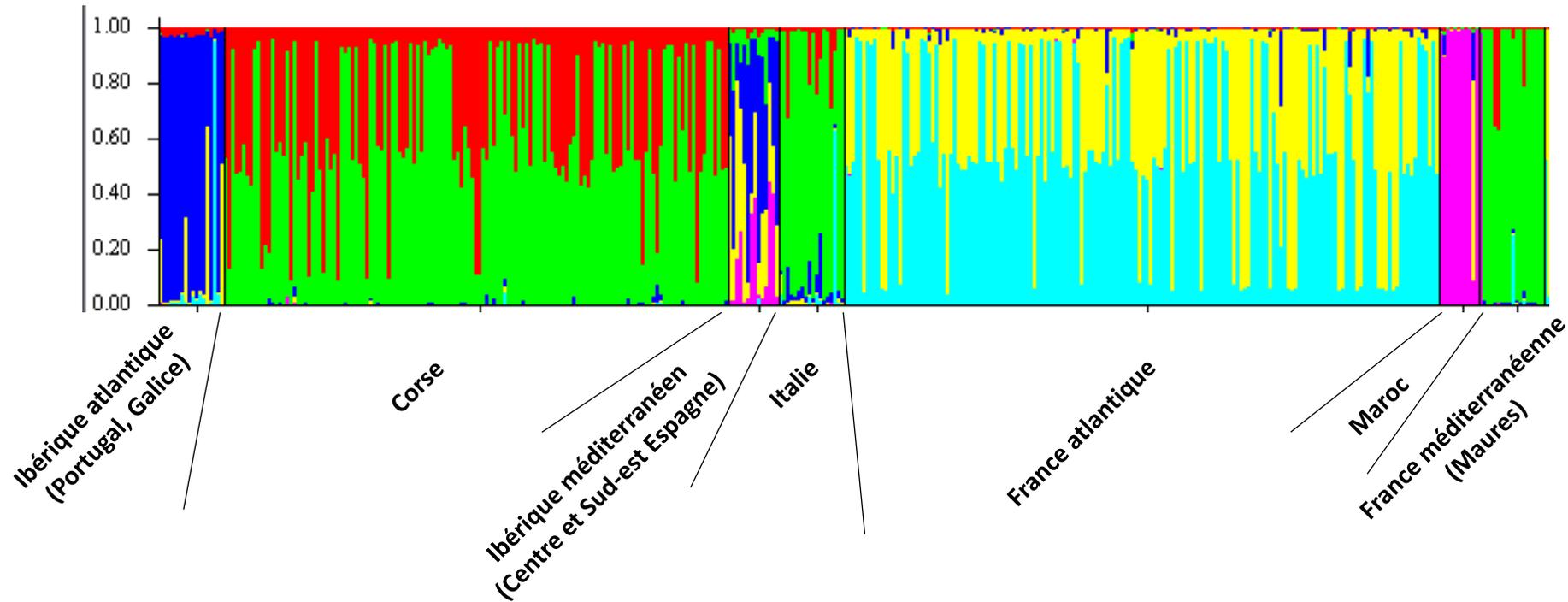
Forte structuration génétique entre les populations de *Pinus pinaster*



7 genepools

- 1 - France atlantique (Landes)
- 2 - France sud est (Maures)
- 3 - Corse
- 4 - Ibérique atlantique (Portugal, Galice)
- 5 - Ibérique méditerranéen (Espagne centre et sud est)
- 6 - Italie
- 7 - Maroc

Développement d'un jeu de 80 marqueurs moléculaires pour différencier ces 7 genepools



Exemple: 3 peuplements situés en Espagne

