UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNOLOGIES DE LILLE
HDR SCIENCES NATURELLES

Mémoire des titres et travaux scientifiques

Présenté en vue d'obtenir

L'HABILITATION A DIRIGER DES RECHERCHES

De l'étude des interactions génotype x milieu chez le blé tendre d'hiver vers la génétique de la production de biomasse par le miscanthus

© Photos INRA

par

Maryse BRANCOURT-HULMEL

Chargée de recherche

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

Le 28 juin 2011

devant la commission d'examen composée de :

Xavier VEKEMANS	Professeur, USTL	Président
André GALLAIS	Professeur Emérite, INA-PG	Rapporteur
Catherine BASTIEN	Directrice de Recherche, INRA Orléans	Rapporteur
Jean-Baptiste DENIS	Directeur de Recherche, INRA Jouy	Examinateur
Caroline RAMBAUD	Maître de Conférences, USTL	Examinateur

Plusieurs personnes m'ont aidé à grandir dans mon métier de chercheur.

Je tiens à les remercier chaleureusement ici.

Mon professeur de génétique et d'amélioration des plantes, Yves Hervé, a été le premier à déceler mes capacités de chercheur en devenir. Après plus de vingt ans, ô combien il a eu raison de m'encourager à choisir cette voie qui me passionne. J'ai appris peu à peu mon métier en travaillant au quotidien auprès de Jacques Le Gouis, appréciant son esprit critique et sa très grande honnêteté. La réalisation de ma thèse a été un tournant dans ma vie professionnelle, en me faisant définitivement opter pour le métier de scientifique. Je dois beaucoup à la direction de Jean-Baptiste Denis, qui m'a aidée à produire des connaissances, à mettre par écrit mes résultats de recherche. Mais je dois aussi à Gérard Doussinault, alors responsable du groupe céréales à paille de m'avoir laissé le « champ » libre. Puis a commencé une phase de direction de la recherche avec les solides encouragements de mon président de centre, Ghislain Gosse. Durant cette période, j'ai pu solliciter André Gallais et c'est avec plaisir que j'ai pu bénéficier de sa très grande expertise.

J'ai eu la chance de rencontrer toutes ces personnes dont les qualités humaines sont remarquables tant dans la vie professionnelle que dans la vie privée, certains moments difficiles de la vie m'ayant permis de le constater.

Mes remerciements s'adressent également à André Gallais, Catherine Bastien, Xavier Vekemans, Jean-Baptiste Denis et Caroline Rambaud d'avoir promptement accepté de faire partie de mon jury et à Jean-Louis Hilbert de s'être porté garant pour mon inscription en HDR.

Enfin, ce métier de chercheur se réalise au sein d'une collectivité que je remercie :
Stéphanie, Marie-Chantal, Annabelle, Catherine, Isabelle(s), Eric, Marie-Christine, Caroline, Kristelle, Nasser, Emmanuel, Hélène(s), Odile, Anne-Sophie, Benoît(s), Frédéric(s), Jean-François, Dominique(s), Rosemonde, Corinne, Denis(s), Martine(s), Christine, Aline, Gilles, Hubert, Stéphane(s), Michel, Didier, Jean-Charles, Bing-Song, Xu-Ping, Olivier, tous les stagiaires …
et tant d'autres.

Et ceux à qui je dois tant, à qui j'ai volé parfois quelques soirées et la moitié de mes dernières vacances, ceux auprès desquels je puise mon énergie pour aller jusqu'au bout de mes ambitions professionnelles… ceux sans lesquels je n'aurai jamais pu reprendre la rédaction de ce mémoire, ceux à qui je dois le plus : Michel, Thomas, Guillaume et Mathilde, c'est promis vous n'entendrez plus parler d'HDR et merci d'avoir enduré « toutes mes absences ».

SOMMAIRE

CURRICULUM VITAE **1**

ACTIVITE D'ANIMATION ET D'EVALUATION DE LA RECHERCHE **4**

1. RESPONSABILITE D'EQUIPE 4
2. FONCTION D'ENCADREMENT 4
   2.1. Personnel permanent *4*
   2.2. Thèses, post-doc et ingénieurs *5*
   2.3. Stagiaires de longue durée *6*
3. CONTRATS 6
   3.1. Projets sur blé *6*
   3.2. Projets sur miscanthus *7*
4. ACTIVITES D'ENSEIGNEMENT 8
5. ACTIVITES DE VALORISATION 8
   5.1. Instruments pour la recherche mis à disposition de communautés scientifiques *8*
   5.2. Produits, documents et publications destinés à des utilisateurs de la recherche *8*
   5.3. Produits destinés à un public large *9*
   5.4. Documents à vocation pédagogique *9*
   5.5. Documents relatifs à l'animation de la recherche, à son évaluation, à sa gestion *9*

MEMOIRE DES ACTIVITES SCIENTIFIQUES **10**

1. POSITIONNEMENT 10
   1.1. D'un profil d'ingénieur vers un profil de chercheur *10*
   1.2. Valider mes activités de recherche par la réalisation d'une thèse *10*
   1.3 Animer la thématique « Méthodologie d'analyse des interactions génotype x milieu » *11*
2. METHODOLOGIE D'ANALYSE DES INTERACTIONS GENOTYPE X MILIEU 11
   2.1. Méthodologie des génotypes révélateurs *14*
   - Déterminer la courbe enveloppe par une procédure d'échantillonnage pour produire les valeurs de référence des génotypes révélateurs 14
   - Les génotypes révélateurs permettent de détecter et quantifier l'effet de la carence azotée en interaction avec plusieurs facteurs du milieu 16
   - Simuler l'indice de nutrition azotée pour remplacer l'acquisition de variables difficiles à mesurer sur les génotypes révélateurs 18
   - Acquérir plus rapidement les valeurs de référence de la courbe enveloppe pour les génotypes révélateurs 18
   - Critères pour choisir les génotypes révélateurs et nombre de génotypes révélateurs à retenir dans un réseau multilocal 19
   2.2. Caractériser la réponse des génotypes et détecter des QTL de réponse au stress azoté *20*
   - Estimer la sensibilité des génotypes à des facteurs du milieu 20
   - La régression factorielle biadditive est pertinente en comparaison au modèle AMMI 21
   - Estimer la sensibilité des génotypes au milieu via les réponses des génotypes révélateurs 24
   - Déterminer le nombre de milieux nécessaires à l'estimation de la pente de régression factorielle 24
   - Caractériser la réponse au stress azoté des lignées de la population 27
   - Détecter des QTL pour la réponse au stress azoté 29
   - Une nouvelle méthodologie pour identifier la spécificité des QTL à certains milieux 30
   2.3 Conclusion *34*
3. UN NOUVEAU PROGRAMME SUR LES AGRO-RESSOURCES 35
   3.1 Introduction *35*
   3.2. Genèse de la thématique « Génétique de la production de la biomasse par le miscanthus pour une valorisation en bioénergie et en agro-matériaux » *35*
   - Une forte demande socio-économique en faveur du carbone renouvelable se traduisant par une politique scientifique de l'Inra renforçant la valorisation de la biomasse 35
   - Le miscanthus, une source de carbone renouvelable destiné à de l'énergie, des agro-matériaux et de la chimie sans empiéter sur la production alimentaire 35
   3.3. Une stratégie de recherche globale développée en trois étapes et cinq projets *37*
   - Une stratégie de recherche globale assez similaire avec celle des espèces déjà cultivées en France 37
   - La constitution de projets et d'une équipe pour mener le programme de recherche 37
   3.4. Présentation des travaux de recherche *38*

- Cadre expérimental 38
- Principaux premiers résultats 41

3.5 Perspectives de recherche 46

- Affiner la définition d'idéotypes pour la culture durable du miscanthus et associer des outils de phénotypage techniquement accessibles 47
- Développer et caractériser une collection de ressources génétiques de miscanthus à partir de prospections dans les pays d'origine 47
- Acquisition de connaissances sur le déterminisme génétique de caractères concernant la biomasse chez M. sinensis 49
- Initier un programme d'innovation variétale sur miscanthus 50

3.6 Conclusion 50

4. CONCLUSION GENERALE 51

LISTE DES PRODUCTIONS SCIENTIFIQUES 52

1. ARTICLES SCIENTIFIQUES 52

1.1. Articles publiés (revues avec comité de lecture) 52

1.2. Articles soumis et rapports de recherche 53

- Articles soumis 53
- Rapports de recherche 53

2. OUVRAGES, CHAPITRES D'OUVRAGES, RAPPORTS DIPLOMANTS 54

2.1. Ouvrages, chapitres d'ouvrage 54

2.2. Rapport diplômants 54

AUTRES REFERENCES CITÉES 55

Curriculum vitae

Maryse Brancourt
Chargée de recherche
Mariée
3 enfants (1995, 1996, 2001)

Adresse et contact

UMR INRA-USTL Stress abiotiques et différenciation des végétaux cultivés n°1281 Estrées-Mons BP 50136 80203 Péronne cedex
Tél : 03.22.85.75.09
Email : brancour@mons.inra.fr

Formation

1999. Doctorat Mention Biologie et Agronomie. Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Rennes. Mention très honorable avec les félicitations orales du jury.
1988. Diplôme d'Etudes Approfondies. Spécialité Biologie et Agronomie. Université de Rennes. Préparé en parallèle de mon activité en qualité d'ingénieur au GEVES.
1987. Diplôme d'ingénieur de l'Ecole Nationale Supérieure Féminine d'Agronomie. Obtention d'un premier prix auprès de la fondation Xavier-Bernard pour le mémoire de fin d'études.

Thèse et mémoires de fin d'études

1996-1999 : Thèse intitulée « Expliquer l'interaction génotype x milieu par des génotypes révélateurs chez le blé tendre d'hiver » sous la direction de Jean-Baptiste Denis de l'INRA de Versailles. Thèse réalisée sur le site d'Estrées-Mons dans le cadre de mes activités d'ingénieur.
6 mois en 1988 : Mémoire de DEA sur l'étude du progrès génétique du maïs observé à travers l'inscription des variétés de maïs au catalogue officiel. Réalisé en parallèle de mon activité professionnelle au GEVES. Sous la direction de Joël Guiard La Minière Guyancourt (78).
6 mois en 1987 : Mémoire de fin d'études d'ingénieur intitulé « Etude de la fluctuation de l'incompatibilité pollinique chez le chou-fleur d'automne ». Sous la direction d'Yves Hervé. INRA Le Rheu (35).
6 semaines en 1986 : Stage d'apprentissage dans le cadre d'un programme de sélection du chou-fleur dans l'entreprise privée Rijk Zwaan aux Pays-Bas.

Expérience professionnelle au GEVES (1987-1989)

- Ingénieur responsable national au GEVES du réseau d'expérimentation maïs-grain et maïs-ensilage pour l'inscription des variétés au catalogue.
- Coordination de l'expérimentation de 300 essais impliquant 10 responsables régionaux et 54 expérimentateurs.

Expérience professionnelle à l'INRA (depuis 1989)

2006 : Intégration définitive dans le corps des chargés de recherche 1ère classe
2002-2004 : Directrice de l'unité de recherche
2000-2005 : Détachement dans le corps des chargés de recherche 1ère classe
1989-1999 : Recrutée comme ingénieur de recherche 2ème classe

Participation à des congrès et colloques

2010 **Brancourt-Hulmel M.**, H.W. Zub, S. Arnoult, A. Obeuf, B. Chabbert, J. Tayeb, G. Barbedette, S. Cadoux, H. Boizard. Crop ability and biomass production in miscanthus: a feedstock for bioethanol? BIT's 3rd Annual World Congress of Industrial Biotechnology Dalian Chine July 25-27 2010 *Présentation orale (invitée)*

2010 Domon J.M., L. Baldwin, S. Acket, H.W. Zub, H. Sellier, S. Arnoult, I. Lejeune-Hénaut, **M. Brancourt-Hulmel**, J. Pelloux, F. Gillet, C. Rayon. Cold tolerance influences cell wall structure of four miscanthus genotypes. XII Cell Wall Meeting. Porto (Portugal) 25-30 July 2010 *Poster*

2008 Zub H., **M. Brancourt-Hulmel.** Effect of early plant development and genotypic variation in frost tolerance for 3 species of *Miscanthus* EPSO Conference. "Plants for Life". Toulon (Côte d'Azur), France. 22 – 26 June 2008 *Présentation orale*

2008 Le Gouis J., D. Dorvillez, J.M. Machet, M.H. Jeuffroy, B. Hirel, **M. Brancourt-Hulmel**, P. Lerebour. Amélioration conjointe de la teneur en protéines et de l'efficacité d'absorption de l'azote chez le blé tendre. Rencontre scientifique FSOV. Paris, France, 8 janvier 2008

2007 Roussel F., S. Bouton, K. Pageau, S. Cadoux, **M. Brancourt-Hulmel**, F. Dubois. Nitrogen metabolism of *Miscanthus* for biomass production Colloque du département de biologie végétale. *Poster*

2007 Gonord F., C. Rambaud, **M. Brancourt-Hulmel**. Inter and intraspecific variability of miscanthus for micropropagation and frost resistance. Congrès "A greener chemistry for industry". Villeneuve d'Ascq 2-5 octobre 2007 *Poster*

2006 Laperche A., **M. Brancourt-Hulmel,** F. Devienne-Barret, E. Hanocq, B. Ney, J. Le Gouis. Genetic control of nitrogen stress in winter wheat. Eucarpia Cereals Section Meeting, Lleida / Lerida, Spain, 13-17 November 2006 *Présentation orale*

2006 **Brancourt-Hulmel M.**, A. Laperche, J. Le Gouis. Modelling nitrogen stress with probe genotypes to assess genetic parameters in winter wheat. Agric. Conspec. Sci. Volume 71 (2006) Supplement 1 XIII EUCARPIA Eucarpia Biometrics in Plant Breeding Section Meeting 30 August-1 September 2006, Zagreb, Croatia. p. 28 http://www.agr.hr/events/eucarpia/eucarpia2006_abstract.pdf *Présentation orale*

2005 Laperche A., J. Le Gouis, **M. Brancourt-Hulmel.** Heritabilities estimation of yield and nitrogen traits for a wheat DH population under nitrogen stress. XXXV Annual meeting of the society for new methods in agricultural research. 29 août-2 septembre 2005. Université Picardie Jules Verne Amiens France *Poster*

2004 Leflon M., A. Laperche, W.-Y. Rong, J. Le Gouis, C. Lecomte, D. Beghin, **M. Brancourt-Hulmel.** Interpreting QTL x environment interaction and QTL specifity to environments for kernel number in winter wheat. "New directions for a diverse planet". Proceedings of the 4th International Crop Science Congress, 26 Sep – 1 Oct 2004, Brisbane, Australia. Published on CDROM. Web site www.cropscience.org.au/icsc2004 *Poster*

2003 Le Gouis, J., **M. Brancourt-Hulmel,** A. Gallais. Variation génétique et possibilités de sélection pour la valorisation de l'azote chez le blé et le maïs. Journée de l'Association des Sélectionneurs Français du 6 Février 2003 *Présentation orale*

2003 Laperche A., M. Leflon, J. Le Gouis, and **M. Brancourt-Hulmel**. Interpreting genotype x environment and QTL x environment interactions for kernel number in winter wheat with an environmental characterization based on probe genotypes and a simple crop model. Séminaire Ecogène. Approches du fonctionnement des végétaux en relation avec leur environnement combinant écophysiologie, génétique et génomique. 27 et 28 novembre 2003. INRA Versailles *Poster*

2003 Bauland C., C. Giauffret, M. Leflon, **M. Brancourt-Hulmel.** Grain yield analysis of maize probe genotypes used to determine environmental limiting factors in multi-environmental trials. 12th meeting of the eucarpia Eucarpia section of biometrics in plant breeding. September, 3-5, 2003 La Corogne Espagne *Poster*

2002 **Brancourt-Hulmel M.**, G. Doussinault, C. Lecomte, P. Bérard, B. Le Buanec, M. Trottet. Progrès génétique et rusticité du blé tendre d'hiver pendant la 2ème moitié du XXème siècle. Colloque « L'Amélioration des Plantes Continuités et Ruptures ». ENSA Montpellier 17-18 octobre 2002 *Poster*

1999 Boizard H, Richard G, **Brancourt-Hulmel M**, Guérif J. Effect of cropping systems on change in bulk density, penetration resistance and hydraulic conductivity in subsoil. Proc of the International Workshop on Subsoil Compaction and Soil Dynamics, Kiel (GE), 24-26 March 1999 *Présentation orale*

1998 **Brancourt-Hulmel M.** Interpreting genotype*environment interaction with probe genotypes in winter wheat. Proceedings of the 9th International Wheat Genetics Symposium. Edited by A.E. Slinkard. Saskatoon, Saskatchewan, Canada. 2-7 August 1998 1:45-48 *Présentation orale*

1997 **Brancourt-Hulmel M.**, J.-B. Denis, V. Dumoulin. Comparison of joint regression, AMMI model and factorial regression for efficiency and parsimony in plant breeding. in Advances in Biometrical Genetics. Proceedings of the Tenth Meeting of the EUCARPIA Section Biometrics in Plant Breeding. Edited by P. Krajewski and Z. Kaczmarek, Poznan, Poland, 14-17 May 1997. 81-86 *Poster*

1996 Lecomte C., **M. Brancourt-Hulmel**. Analysis of the genotype-environment interaction in a trial network of winter wheat varieties, using an agronomic characterization of the trials. 10th International Conference on Mechanization of Field Experiments, IAMFE / FRANCE 96, Paris/Versailles, France, July 8-12, 1996. Published by The International IAMFE Center, Uppsala, Sweden 61-76 *Présentation orale*

1995 **Brancourt-Hulmel M.**, C. Lecomte. Association of yield potential and adaptation in a wheat breeding programme. XIV Eucarpia Congress on Adaptation in Plant Breeding. Jyväskylä. Sweden. 31July-4 August 1995. 86 *Poster*

1994 **Hulmel M.**, C. Lecomte, M.-H. Bernicot. Crop diagnosis and its use in the analysis of genotype*environment interaction of winter wheat. Third Congress of the European Society for Agronomy. Padova University. Abano-Padova 18-22 september 1994. 368-369 *Poster*

Activité d'animation et d'évaluation de la recherche

1. Responsabilité d'équipe

Recrutée en tant qu'ingénieur de recherche en 1989, j'ai été affectée à Estrées-Mons au laboratoire des céréales à paille dirigé par Pierre Pluchard. Gérard Doussinault -responsable du groupe céréales à paille à cette époque- m'a confié la coordination du réseau d'expérimentation de lignées de blé tendre d'hiver sélectionnées par les différentes unités de l'INRA ainsi que la coordination du « Projet industriel blé tendre du DGAP » concernant la création de variétés rustiques pour la période 1997-2002 (Brancourt-Hulmel 2002).

C'est ensuite à partir de 1999 que j'ai commencé à animer une thématique scientifique. En effet, suite aux réflexions initiées dans le cadre du schéma directeur du département, les activités de l'unité d'Estrées-Mons ont été restructurées à partir de 1999, non plus par espèce, mais selon trois thématiques inscrites dans le cadre général de la « Génétique de l'adaptation de la plante cultivée à son milieu » : « Adaptation aux basses températures », « Adaptation à une alimentation azotée sub-optimale » et « Méthodologie d'analyse des interactions génotype x milieu ». J'ai pris la responsabilité de l'animation de cette dernière thématique. Cette structuration a été validée par la commission d'évaluation collective qui s'est tenue en octobre 2001. Par la suite, Guy Riba et Marianne Lefort nous ont demandé en 2004 d'abandonner l'adaptation du blé tendre à une alimentation azotée sub-optimale.

En 2006, l'unité s'est rapprochée de deux équipes universitaires de Lille intitulées « Physiologie de la différenciation végétale » et « Physiologie des parois végétales » pour créer l'Unité Mixte de Recherche « Stress abiotiques et différenciation des Végétaux Cultivés ». La création de l'UMR a engendré une nouvelle restructuration autour de cinq équipes : « Adaptation au froid des végétaux », « Embryogenèse somatique et reproduction », « Adaptation à l'azote limitant et interaction génotype x milieu », « Equipe de Recherche Technologique, Produit du végétal et déterminisme génétique chez la chicorée » et « Physiologie végétale ». J'ai assuré la co-animation de l'équipe « Adaptation à l'azote limitant et interaction génotype x milieu » avec Jacques Le Gouis, équipe qui résultait de la fusion des deux thématiques dont nous avions respectivement la charge avant la création de l'UMR.

J'ai assuré la direction de l'unité de 2002 à 2004 où j'ai contribué à la définition de sa politique scientifique. Le rapprochement avec l'université de Lille commençait tout juste. Pendant cette même période, j'ai aussi activement contribué à la définition du schéma scientifique du centre de Lille « Solutions alternatives pour une agriculture durable », pilotée en 2003 par le président du centre, G Gosse.

En 2006, j'ai initié au sein de l'UMR la création d'une nouvelle thématique concernant la production de biomasse pour une utilisation en bioénergie. Démarré à partir d'un modèle d'espèce herbacée pérenne, le miscanthus, ce thème représente le seul programme de génétique consacré à une « culture dédiée » à vocation énergétique au sein du département de Génétique et d'Amélioration des Plantes de l'INRA. Ce programme a été validé par le chef de département GAP et par la direction générale de l'INRA avec la création d'un poste d'ingénieur d'étude en 2008 pour conforter le programme miscanthus.

2. Fonction d'encadrement

2.1. Personnel permanent

- Arnoult Stéphanie (depuis 2007). Ingénieur d'études. Coordination de l'activité expérimentale liée à l'activité de recherche menée sur miscanthus au sein de l'UMR avec différentes équipes partenaires (INRA Agro-Impact, UPJV Amiens, UMR FARE Reims, ILVO Gand).
- Mansard Marie-Chantal (depuis 2008). Technicienne de recherche. Pilotage technique des expérimentations menées sur miscanthus au champ et en conditions contrôlées.

2.2. Thèses, post-doc et ingénieurs

Thèses

- Zub Hélène (2007-2010). Doctorante. The ability of different *Miscanthus* species to produce biomass in a cropping environment in Northern France under two harvest dates. Thèse sous forme de 3 articles (Zub et Brancourt-Hulmel, 2009 ; Zub et al, 2011 ; Zub et al, accepté) et 2 manuscrits soumis.
- Feng Xu-Ping (2009-2012) Identification of the traits of interest to drive the collecting of *Miscanthus* in China. Thèse en alternance avec la Chine. UMR INRA-USTL et Université de Zhejiang (Professeurs BS Zheng et D Jiang).
- En perspective, encadrement de la thèse de Arnoult Stéphanie à partir de septembre 2011. Explorer la qualité et la quantité de biomasse par méta-analyse de données afin d'identifier des espèces et variétés de miscanthus pour le débouché éthanol 2G.

Post-doc

- Zheng Bing Song (2007-2008). Post-doc. Intérêt d'une caractérisation environnementale combinée à une approche biométrique pour analyser les interactions génotype x milieu et QTL x milieu du blé tendre d'hiver. 2 articles (Zheng et al, 2009 ; Zheng et al, 2010). Le deuxième article publié dans TAG (accepté en 19 jours) a reçu des critiques très élogieuses de la part des deux relecteurs.
- Postaire Olivier (2008-2010, mi-temps). Coordination du projet ARCHI C4. Mise en place d'un couvert de *Miscanthus x giganteus*. Effet de températures sub-optimales.

Ingénieurs

- Arnoult Stéphanie (2007-2008); Ingénieur de recherche dans le cadre du volet « évaluation de la variabilité génotypique » du projet PEL. Coordination de l'activité expérimentale au champ et en conditions contrôlées associée à l'activité de recherche. Initialisation et coordination des interfaces avec les partenaires pour les échantillonnages sur le dispositif expérimental mis en place par l'équipe. Rédaction des comptes rendus annuels synthétisant les résultats obtenus.
- Obeuf Annabelle (2009-en cours). Ingénieur d'études dans le cadre du projet FUTUROL. Prise en charge de toute l'expérimentation associée à la composition de la biomasse (expérimentation au champ, échantillonnage, analyses biochimiques) et réalisation de l'interface avec Brigitte Chabbert (UMR FARE) pour l'analyse des sucres. Rédaction des comptes rendus annuels synthétisant les résultats obtenus.
- Zub Hélène (2010). Ingénieur d'études dans le cadre du projet FUTUROL. Approfondissement de l'exploitation des données issues de PEL et associées à la quantité de biomasse : évaluation du passage de la phase juvénile à la phase adulte et de sa variabilité génotypique.
- En perspective, Dauchy Camille, ingénieur d'études à partir de juillet 2011. Contribution à un programme d'innovation variétale sur miscanthus.

Comités de pilotage de thèse

- Belhaj Fraj Makram (2000-2003). Evaluation de la stabilité et de la faisabilité des associations variétales de blé tendre d'hiver à destination meunière en conditions agricoles : application aux conditions de culture du nord de la France. Centre INRA de Grignon.
- Barbottin Aude (2002-2004). Utilisation d'un modèle de culture pour évaluer le comportement des génotypes : pertinence de l'utilisation d'Azodyn pour analyser la variabilité du rendement et de la teneur en protéines du blé tendre. UMR d'Agronomie INRA de Grignon
- Lecomte Christophe (2000-2005). L'évaluation expérimentale des innovations variétales. Proposition d'outils d'analyse de l'interaction génotype x milieu adaptés à la diversité des besoins et des contraintes des acteurs de la filière semences. INRA Dijon.
- Strullu Loïc (2008-2011). Flux d'azote dans une culture pérenne à vocation énergétique *Miscanthus x giganteus* : étude expérimentale et modélisation. Unité d'Agronomie INRA Agro-Impact Estrées-Mons
- Sabatier Damien (2009-en cours). Influence des facteurs agro-climatiques sur les modalités d'allocation de la biomasse produite aux différentes composantes ligno-cellulosiques des structures de la canne à sucre. CIRAD La Réunion
- El Malki Redouane (2009-en cours). Architecture génétique des caractères cibles pour la culture du peuplier en taillis à courte rotation : vers l'identification de gènes candidats par une approche QTL en pedigree multifamilial. INRA Orléans (Intégration au comité de thèse à partir de cette année)

2.3. Stagiaires de longue durée

Interaction génotype x milieu :

- Debierre Françoise, 1993. Azote et stabilité du rendement : étude de 18 génotypes de blé tendre d'hiver. Diplôme de Maîtrise des Sciences et Techniques en Productions Végétales et Industries Agro-alimentaires de l'Université d'Amiens.
- Delecaut Emmanuelle, 1993. Azote et remplissage : étude de quatre génotypes de blé tendre d'hiver. Diplôme de Maîtrise des Sciences et Techniques en Productions Végétales et Industries Agro-alimentaires de l'Université d'Amiens.
- Vandenbulcke Anne, 1994. Etude de la stabilité du rendement chez le blé tendre d'hiver. Diplôme d'ingénieur en agro-alimentaire de l'Institut Agricole Alimentaire de Lille.
- Gay Etienne, 2000. Valorisation des conduites économes en intrants par les variétés de blé. Mémoire de fin d'études de la formation Environnementaliste de l'ISA Lille.
- Rychlewski Guillaume, 2002. Etude de l'effet de la précocité entre deux lignées de blé tendre d'hiver : Mercia et Mercia Ppd1. Diplôme de Maîtrise des Sciences et Techniques en Productions Végétales et Industries Agro-alimentaires de l'Université d'Amiens.
- Leflon Martine, 2003. Analyse des interactions génotype x milieu et QTL x milieu observés sur le nombre de grains du blé tendre. Intérêt d'une caractérisation environnementale. Diplôme d'Ingénieur ENSA de Rennes.
- Rong Wen-Ying, 2004. Expliquer la spécificité de QTLs à certains milieux chez le blé tendre d'hiver. Diplôme d'Ingénieur ENSA de Rennes.

Production de biomasse :

- Vanhuse Audrey, 2006. L'amélioration génétique du miscanthus : quels intérêts et limites pour une solution respectueuse de l'environnement ? Diplôme d'ingénieur de l'Ecole des Métiers de l'Environnement Rennes
- Gonord Florine, 2007 Etude de la variabilité inter et intra-spécifique du miscanthus : micropropagation et résistance au gel. Diplôme de Master Recherche M2 Sciences du Végétal de l'Université de Paris-Sud 11
- Hocdé Alexandra, 2007 Etude de caractères associés à la reproduction sexuée chez miscanthus. Diplôme de Master Professionnel Gestion des Agro-ressources Végétales de l'Université de Reims
- Bouly Thomas, 2008 Etude de la variabilité génotypique du triticale pour la production de biomasse ENITA Clermont
- Mendes Guizoni Rodrigo, 2008 Etude du miscanthus pour la production de biomasse : détermination de la surface minimale d'une micro-parcelle et évaluation de la variabilité inter et intra-génotypique. Diplôme d'ingénieur Agricole. ISA Beauvais
- Younous Johanna, 2008 Tolérance au gel des stades juvéniles de miscanthus : évaluation de la variabilité inter et intra-génotypique. Diplôme d'ingénieur Agricole. ESITPA Rouen. Mémoire ayant reçu un premier prix de la fondation Xavier Bernard
- Dauchy Camille. Evaluation de la variabilité génotypique pour la production de biomasse et le métabolisme azoté chez miscanthus. Master 2. Transformation et Valorisation des Agro-ressources UTC

3. Contrats

3.1. Projets sur blé

Responsabilité de projets

- Co-responsable avec Marie-Hélène Jeuffroy du projet « Contribution à la mise au point d'une double approche statistique et agro-physiologique pour analyser et prédire la stabilité du rendement et de la teneur en protéines du blé tendre d'hiver » (financement CTPS 2001-2003). Coût total : 138 K€ (hors salaires publics), subvention : 55 K€. Partenaires : INRA, Arvalis, Nickerson, Semences de France

- Responsable du projet industriel blé tendre « Création de variétés rustiques ». 1998-2002. Coût (hors salaires publics) : 357 K€. Partenaires : INRA Estrées-Mons, Clermont, Dijon, Le Moulon, Rennes

Participation à des projets

- Projet « Evaluation de la valeur agronomique et technologique des variétés de céréales à paille dans différentes conditions de milieux : application des acquis récents en biométrie et en écophysiologie » (financement CTPS 1991-1993). Coût total (hors salaires publics) : K€ 477, subvention : K€.190. Partenaires : ITCF, INRA, ENSAR, INA P-G, Serasem, Rustica

- Projet « Amélioration des potentialités variétales des céréales à paille pour prévoir le comportement des variétés et leur adaptation régionale » (financement CTPS 1994-1996). Coût total hors salaires) : 510 K€, subvention : 155 K€. Partenaires : ITCF, GIE Club des Cinq, INRA, CNRS

- Projet « Aspects méthodologiques d'une démarche qualité pour l'étude des variétés. Application aux essais de post-inscription pour le blé tendre d'hiver et le maïs » (financement CTPS 1997-1999). Coût total (hors salaires publics) : 535 K€, subvention : 127 K€. Partenaires : ITCF, GEVES, INRA, CETAC, GIE Club des Cinq, SEPROMA

- Projet « Impact et gestion des innovations variétales » (action transversale INRA 2002-2004). Coût total : 432 K€ (sans salaires publics), subvention : 202 K€. Partenaires : INRA, CEREOPA

- Projet « Amélioration conjointe de l'absorption de l'azote et de la teneur en protéines » (financement FSOV 2004-2006). Coût total : 288 K€, subvention : 95 K€. Partenaires : INRA, Arvalis, six membres du CETAC

- Projet « Evaluer les variétés de blé tendre d'hiver en vue de caractériser et de valoriser leur rusticité » (financement CTPS 2005-2007). Coût total : 66.75 K€ (hors salaires publics). Subvention : 109 K€. Partenaires : INRA, GEVES, Arvalis

3.2. Projets sur miscanthus

Responsabilité de projets

- Projet PEL « Picardie Espèces Ligno-cellulosiques » (Appel d'offre Région Picardie et financement ANR Picardie 2007-2008, labellisé pôle IAR). Introduction d'espèces valorisant la plante entière pour la production de bioénergie en Picardie : analyse comparée et évaluation de la variabilité génotypique. Coordinatrice du projet. Impliquée pour mettre en évidence une variabilité génétique pour la production de biomasse de deux espèces dédiées (triticale et miscanthus) ainsi que pour l'étude de la biologie florale du miscanthus. Coût total (hors salaires publics) : 61 K€, subvention : 219 K€. Partenaires : INRA, Université d'Amiens, UNISIGMA

.

- Projet MISCAZOTE (Appel d'offre et financement Région Picardie 2009-2011) Etude du fonctionnement de la culture de miscanthus et de son métabolisme azoté : contribution à la modélisation de la réponse à l'azote limitant et mise en évidence de variabilité génotypique. Coordinatrice du projet. Impliquée pour mettre en évidence une variabilité de réponse pour la production en biomasse de 6 clones selon la disponibilité en azote. Coût total (hors salaires publics) : 112 K€, subvention : 200 K€. Partenaires : INRA, Université d'Amiens

Participation à des projets

- Projet PAROIFROID (Appel d'offre et financement Région Picardie 2007-2010, labellisé pôle IAR) Recherche de critères pertinents permettant de caractériser le déterminisme génétique des effets du froid sur la paroi. Impliquée pour évaluer la tolérance au gel de différents génotypes de miscanthus en conditions contrôlées. Coût total (hors salaires publics) : 163 K€, subvention : 194 K€. Partenaires : INRA, Université d'Amiens, BICAL Biomasse France

- Projet ARCHI C4 (financement Région Picardie, convention particulière, 2008-2010) Analyse de l'effet des facteurs limitant l'implantation de deux cultures dédiées à la production de biomasse plante entière. Impliquée pour évaluer la tolérance au froid de 3 espèces de miscanthus en conditions de champ. Subvention : 402 K€. Partenaires : INRA, ENSAM

- Projet FUTUROL (financement OSEO, 2009-2011 pour la partie me concernant). Son objectif et de mettre sur le marché la licence d'un procédé durable et compétitif de production d'éthanol « 2ème génération » par voie biologique à l'horizon 2015. Impliquée pour identifier des espèces et variétés de miscanthus adaptées au Nord de la France dans le cadre du débouché éthanol 2G. Coût total (hors salaires publics) : 74 M€ (dont salaires publics), subvention : 29.9 M€. Partenaires : SAS Procethol 2G, INRA, IFP, ARD, Lesaffre

4. Activités d'enseignement

- Depuis 2008 : Cours « Génétique de la production de biomasse par le miscanthus pour une utilisation en bioénergie » master 2 de l'Université d'Amiens (2h/an)
- Depuis 2000 : Cours « Evaluation des caractères dans les dispositifs expérimentaux » du master pro Agro-Ressources de l'université de Reims (6h/an)
- Depuis 2000 : Cours « Introduction à la génétique et à l'amélioration des plantes » du master pro Agro-Ressources de Reims (3h/an)
- 1989-2007 : Cours « Introduction à la génétique et à l'amélioration des plantes » IUP de l'Université d'Amiens (6h à 10h/an)
- 1990-1996 : Formatrice interne en statistiques dans le cadre du dispositif INRA FP Stat : contribution à l'élaboration des documents de formation, formation des personnels de niveau adjoint à docteur et contribution à l'évaluation de l'ensemble du dispositif de formation (niveau I, modules modèle linéaire, interaction entre deux facteurs et échantillonnage du niveau II)

5. Activités de valorisation

5.1. Instruments pour la recherche mis à disposition de communautés scientifiques

- Création de la base des données (rendement, précocité, résistance aux maladies et à la verse) relatives aux lignées de blé sélectionnées par l'INRA pour la période 1989-2000.
- Le développement de l'outil Diag-Var (piloté par l'agronomie et l'ergonomie de l'INRA de Grignon) pour estimer, en particulier, la sensibilité de génotypes de blé à des facteurs limitant le rendement s'appuie sur mes travaux réalisés en synergie avec C Lecomte.

5.2. Produits, documents et publications destinés à des utilisateurs de la recherche

- **Brancourt-Hulmel M.** 2000. Sélection pour l'adaptation au milieu et prise en compte des interactions génotype x milieu. OCL. 7:504-511
- Cadoux S., **M. Brancourt-Hulmel**. 2007. Le miscanthus, une plante qui carbure. Revue de presse, Inra http://www.inra.fr/presse/le_miscanthus_une_plante_qui_carbure
- **Hulmel M**. 1993. Amélioration du blé tendre d'hiver, du blé dur et de l'orge à l'INRA. Compilation des textes originaux proposés pour l'ouvrage collectif coordonné par A. Gallais et H. Bannerot intitulé « Amélioration des espèces végétales cultivées » Editions INRA. Document interne, 247p
- Laperche A., **M. Brancourt-Hulmel,** F. Devienne-Barret, E. Hanocq, A. Savin, J. Le Gouis. 2006. Des variétés de blé économes en azote: un enjeu pour la sélection. Persp. Agric. 323:30-32 *Co-auteur*
- Le Gouis J., **M. Brancourt-Hulmel,** A. Gallais. 2004. Variation génétique et possibilités de sélection pour la valorisation de l'azote chez le blé et le maïs. Le Sélectionneur Français 54:37-44 *Co-auteur*
- Participation à la création de lignées de blé tendre *via* la coordination du projet industriel « Création de blés rustiques » (Virtuose, Farandole, Koreli…).
  - **Brancourt-Hulmel M.**, P. Pluchard. 1998. Bilan d'étape du projet industriel blé tendre
  - **Brancourt-Hulmel M.**, P. Pluchard. 1999. Bilan d'étape du projet industriel blé tendre
  - **Brancourt-Hulmel M.**, P. Pluchard. 2000. Bilan d'étape du projet industriel blé tendre

- **Brancourt-Hulmel M.**, P. Pluchard. 2001. Bilan d'étape du projet industriel blé tendre
- **Brancourt-Hulmel M.** 2002. Projet industriel blé tendre : création de blés rustiques. Bilan de 5 années 1998-2002 (diffusion à l'INRA et à Agri-obtentions).

5.3. Produits destinés à un public large

- **Brancourt-Hulmel M**. Création en 2006 d'une rubrique à propos du miscanthus sur le **site internet** Inra en collaboration avec A Waquet (responsable communication du centre). http://www.lille.inra.fr/science_pour_tous/dossiers_thematiques/miscanthus_un_encouragement_pour_les_bioenergies
- Participation à la réalisation d'un document vidéo sur le miscanthus pour le salon d'agriculture 2007 et à la préparation du stand Inra (poster, cultures en pot…). http://www.inra.fr/internet/Projets/sia2007/
- Participation aux portes ouvertes du pôle agronomique d'Estrées-Mons 10-11 juin 2011 (rédaction de fiche presse, de plaquettes scientifiques et d'un poster, réalisation d'une mini-conférence, mise à jour des documents destinés au site internet…)

5.4. Documents à vocation pédagogique

- **Brancourt-Hulmel M.**, V. Biarnès-Dumoulin. 1996. Stabilité et interaction génotype x milieu en amélioration des plantes : classification et description des principales méthodes. Compléments au module interaction du dispositif statistique INRA. 42 p
- Denis J.-B., C. Bastien, C. Chabanet, G. Charmet, D. Desclaux, P. Gasqui, **M. Hulmel**, M. Lefort-Buson, A. Moisan, A. Solari. 1993. Analyse de l'interaction entre deux facteurs. Document de formation aux statistiques. INRA
- Durier C., C. Bastien, C. Chabanet, P. Gasqui, H. Goyeau, Y. Griveau, Y. Hebert, B. Hommay, **M. Hulmel**, M. Lefort-Buson, J.-M. Membre, A. Moisan, S. Pellerin, X. Pinochet, A. Solari, F. Volaire. 1991. Le modèle linéaire. Introduction et présentation matricielle. Document de formation aux statistiques. INRA
- Durier C., C. Bastien, C. Chabanet, P. Gasqui, H. Goyeau, Y. Griveau, Y. Hebert, B. Hommay, **M. Hulmel**, M. Lefort-Buson, J.-M. Membre, A. Moisan, S. Pellerin, X. Pinochet, A. Solari, F. Volaire. 1991. Le modèle linéaire. Analyse de variance et régression. Document de formation aux statistiques. INRA
- Vaillant J., C. Bruchou, C. Chabanet, P. Gasqui, B. Hommay, **M. Hulmel**, J. Kervella, J.-M. Membre, A. Moisan, J.C. Pierrat, D. Sauvard. 1991. L'échantillonnage. Document de formation aux statistiques. INRA

5.5. Documents relatifs à l'animation de la recherche, à son évaluation, à sa gestion

- Berger L., **M. Brancourt-Hulmel**, C. Bauland**,** D. Bouthors, E. Hanocq, M. Leleu, D. Rabier, H. Sellier, M. Thomas. 2004. Management de projet. Laboratoire de génétique et d'amélioration des plantes. Estrées-Mons. 23 p + annexes
- Boizard H., **M. Brancourt-Hulmel**, H. Ciesielski, B. Collombel, R. Douillard, C. Durr, G. Gosse, et al 2004. Schéma de centre. Centre de Recherches de Lille 19 p
- Participation à la rédaction de tous les rapports pour l'évaluation collective de l'unité (1994, 2001, 2005, 2008, 2010 et 2011).

Mémoire des activités scientifiques

1. Positionnement

1.1. D'un profil d'ingénieur vers un profil de chercheur

En charge du réseau « inter-stations » blé tendre au début de mon activité, j'ai eu à constituer la base de données du réseau multilocal et à informatiser les différentes procédures d'analyse statistique des résultats. Cette étape réalisée, j'ai pu progressivement me consacrer au développement d'une thématique de recherche sur l'analyse des interactions génotype x milieu, en prolongement de l'animation du réseau d'expérimentation, répondant ainsi à un besoin majeur des expérimentateurs. Ce programme a pris corps grâce à la participation à trois contrats CTPS successifs de recherche sur l'évaluation variétale (cf p. 9).

Deux constats importants ont été à l'origine de ce programme. D'une part, l'effet du milieu est très important en comparaison aux effets du génotype et aux effets d'interaction dans les analyses multilocales sur blé (Parisot-Baril, 1992). Il était donc capital de caractériser les milieux pour pouvoir entreprendre l'analyse des interactions. D'autre part, les facteurs limitant le rendement sont nombreux chez le blé tendre en raison de la longueur du cycle (8 à 11 mois) et rendent difficile, et parfois arbitraire, leur identification. Il n'existait en effet aucune méthode statistique opérationnelle qui puisse tenir compte d'un nombre trop important d'indicateurs du milieu.

1.2. Valider mes activités de recherche par la réalisation d'une thèse

Souhaitant approfondir et faire « reconnaître » mes activités de recherche et disposant d'un sujet scientifique original en France comme à l'étranger (une revue bibliographique sur le sujet m'ayant permis d'établir ce constat, Brancourt-Hulmel et al 1997), j'avais pris l'initiative de proposer un sujet de thèse d'ordre méthodologique sur la mise au point d'une démarche d'analyse des interactions génotype x milieu, associant les modélisations agronomiques et biométriques. En accord avec la direction de l'unité et le chef de département, je me suis inscrite en thèse à l'ENSA de Rennes fin 1996 pour la mener dans le cadre de mes activités d'ingénieur de recherche. La thèse a été encadrée par Jean-Baptiste Denis (Directeur de recherche en biométrie à l'INRA de Versailles).

Ma thèse intitulée « Expliquer l'interaction génotype x milieu par des génotypes révélateurs chez le blé tendre d'hiver » (Hulmel, 1999) se base sur l'idée de restreindre les observations nécessaires à la caractérisation des milieux d'expérimentation à un petit nombre de génotypes, les « génotypes révélateurs » aussi appelés « témoins révélateurs ». Ces derniers sont choisis *a priori* sur la base de leurs comportements particuliers et complémentaires vis à vis d'un ou plusieurs facteurs limitant le rendement dans le milieu, facteurs communément appelés « facteurs limitants ». Cette démarche transversale, à l'interface de l'amélioration des plantes, de l'agronomie et de la biométrie, s'est largement appuyée sur le diagnostic agronomique des milieux d'un réseau, projet initié par Gérard Doussinault et Christophe Lecomte dans les années 80. Elle consiste à réaliser un diagnostic agronomique sur ces génotypes révélateurs dont le comportement, comparé à un comportement potentiel théorique, va permettre de révéler la présence et l'intensité des facteurs limitants tout au long du cycle de la culture, dans chaque milieu d'expérimentation (Brancourt-Hulmel et al, 1999).

L'élaboration de mon projet de thèse et la réalisation de la thèse sous forme de quatre articles m'ont procuré l'expérience d'une véritable activité de chercheur comportant la définition d'axes de recherche, l'établissement de collaborations très riches entre chercheurs de plusieurs départements et l'établissement de priorités. A partir de 1997, la rédaction d'articles scientifiques est devenue une des bases de mon activité. Il est devenu clair que mon activité correspondait plus à celle d'un chargé de recherche qu'à celle d'un ingénieur, m'incitant à demander mon détachement dans le corps des chargés de recherche en 1999-2000.

1.3 Animer la thématique « Méthodologie d'analyse des interactions génotype x milieu »

Au niveau des programmes de recherche menés à Mons sur l'adaptation de la plante cultivée à son milieu, j'ai d'abord centré la méthodologie d'analyse sur les interactions génotype x milieu, en exploitant le corpus de données acquis dans le cadre du réseau inter-stations. Par la suite, il est apparu opportun d'élargir la démarche à l'analyse des interactions QTL x milieu de manière à développer des méthodologies permettant d'identifier le degré de généralité de certains QTL ou au contraire de détecter des QTL plus spécifiques de conditions particulières de milieu. En effet, ces recherches sont apparues très originales car peu d'auteurs se sont intéressés à approfondir la caractérisation du milieu, en particulier pour identifier des QTL impliquant des interactions QTL x milieu et de développer une stratégie pour comprendre la spécificité de ces régions à certains environnements (Leflon et al, 2005 ; Zheng et al, 2010). Ceci s'est réalisé en exploitant le jeu de données acquis dans le cadre de la thématique de l'adaptation des génotypes aux déficiences en azote. Je me suis donc impliquée plus directement dans une approche QTL x milieu mettant en jeu les compétences des autres chercheurs de l'unité, et inversement les autres chercheurs ont pu bénéficier de mes compétences sur les interactions génotype x milieu dans le cadre de leurs programmes.

2. Méthodologie d'analyse des interactions génotype x milieu

Aujourd'hui, pour faire face aux nouvelles contraintes environnementales et économiques, les variétés de blé tendre deviennent moins exigeantes en intrants. Ceci nécessite de connaître leur réponse à des conditions de milieux pouvant être défavorables (disponibilité en azote, pression de maladies…) qu'il est indispensable de caractériser au préalable. La méthodologie d'analyse des interactions génotype x milieu, initialement développée en vue d'analyser la variabilité des réponses des génotypes aux facteurs du milieu, est née de cette nécessité de coupler une caractérisation des milieux à l'évaluation génotypique, que les génotypes soient des variétés, du matériel en cours de sélection ou du matériel végétal à des fins de recherche (lignées recombinantes, lignées haploïdes doublées, lignées quasi-isogéniques…). Le milieu est défini au sens large et correspond à l'effet de plusieurs facteurs concernant le pédo-climat, les pressions de maladies, voire les techniques culturales.
Où observe-t-on une interaction génotype x milieu et que représente-t-elle ? Elle s'observe dans une expérimentation dite multilocale où plusieurs génotypes sont expérimentés en plusieurs milieux. Elle peut correspondre à une modification de classement d'un génotype d'un milieu à un autre comme dans le cas d'une interaction qualitative ou représenter une simple variation de grandeur sans changement de classement comme dans le cas d'interaction quantitative (Romagosa et al, 1996). En d'autres termes, en présence d'interaction génotype x milieu, la réponse d'un génotype n'est pas la même quel que soit le milieu. Il devient alors nécessaire d'en déterminer l'origine par une analyse approfondie de l'interaction génotype x milieu.
Dans une expérimentation multilocale, le problème réside dans la difficulté d'interpréter les résultats en l'absence d'une caractérisation précise des facteurs limitants ressentis par le matériel végétal testé. Cette difficulté est accrue lorsque le facteur est difficile à contrôler, comme dans le cas d'une contrainte azotée. En effet, le facteur azote est en partie contrôlé dès que l'expérimentation se réalise au champ car ce n'est pas le seul facteur qui varie dans le milieu. Ceci est en outre compliqué au niveau multilocal par le fait que les facteurs ne varient pas de la même façon d'un milieu à un autre.

Description des travaux

Mon activité s'est d'abord orientée dans deux voies qui seront successivement développées : les travaux autour de la méthodologie des génotypes révélateurs et l'analyse des interactions génotype x milieu. Dans le prolongement des interactions génotype x milieu, la démarche s'est étendue aux interactions QTL x milieu par la suite.

Introduction

La méthodologie des génotypes révélateurs se réfère en partie à ma thèse où j'ai pu bénéficier du solide encadrement de Jean-Baptiste Denis, directeur de recherche en biométrie à Versailles-Jouy à l'époque où ses recherches concernaient l'interaction génotype x milieu. A ses côtés, j'ai pu enrichir mes connaissances sur l'analyse statistique de l'interaction et m'initier en

particulier au modèle qu'il venait de développer sur l'ajustement de la régression factorielle biadditive, un modèle multiplicatif intégrant des régresseurs.
Ce travail doit aussi beaucoup à un projet initié par Gérard Doussinault en 1983-1984 pour étudier les facteurs limitant le rendement des lignées de blé tendre d'hiver en cours de sélection. Ce projet s'appuyait alors sur les travaux de diagnostic agronomique que les équipes d'agronomes (Meynard et Sebillotte, 1983 ; Sebillotte, 1980) commençaient à mettre au point.
Cette idée a conduit à l'expérimentation des « témoins écophysiologie », une expérimentation menée sur blé tendre d'hiver dans le cadre du réseau « inter-stations » du groupe céréales à paille de l'INRA. Sa gestion avait été confiée en 1987 à Christophe Lecomte (INRA Génétique et Amélioration des Plantes Dijon). C'est en travaillant en synergie avec Christophe Lecomte que la méthodologie des génotypes révélateurs a pu se développer et sortir d'un cadre strictement agronomique.

Ayant montré au préalable que peu de travaux relevaient d'une démarche complète intégrant les aspects agro-physiologiques dans la modélisation statistique des interactions génotype x milieu (Brancourt-Hulmel et al 1997), nous avons développé une démarche d'analyse de l'interaction génotype x milieu du blé tendre qui se base sur l'observation de génotypes révélateurs. Il s'agit d'un petit nombre de génotypes choisis *a priori* sur la base de leurs comportements spécifiques et complémentaires vis à vis d'un ou plusieurs facteurs du milieu (comme la tolérance à un faible niveau de nutrition azotée, la résistance aux maladies). Ils couvrent aussi la gamme de précocité des génotypes testés dans les essais. Ainsi, ils vont représenter des sensibilités variées vis-à-vis des facteurs limitants du rendement les plus fréquents.

Par la suite, nous avons fait l'hypothèse que la méthodologie des génotypes révélateurs constituerait une bonne approche pour estimer l'intensité de la contrainte azotée dans les milieux où sont testées les différentes lignées destinées aux recherches de QTL d'adaptation à une faible disponibilité en azote d'une part, et pour approfondir l'analyse des interactions QTL x milieu d'autre part. Pour cette partie, j'ai pu bénéficier de la collaboration de Jacques Le Gouis et d'Anne Laperche (doctorante dans son équipe de 2003 à 2005) et avoir accès aux données acquises dans le cadre du programme de recherche mené par Jacques Le Gouis sur le déterminisme génétique de l'adaptation à une alimentation azotée sub-optimale.

La détection des régions chromosomiques contrôlant la variation des caractères quantitatifs (QTL) a été rendue possible grâce à la mise au point de marqueurs moléculaires sur blé. Cette approche repose sur le rapprochement de données phénotypiques et de données génotypiques, sur une descendance d'individus appelée population. Les données génotypiques consistent, pour chaque individu, à déterminer quel allèle parental est présent pour chaque marqueur moléculaire. Les données phénotypiques dans le cas présent consistent en des observations au champ de caractères liés à la valorisation de l'azote.

Cadre expérimental

Le cadre expérimental s'est établi autour de deux types de données : celles relatives au réseau « inter-stations » puis celles relatives à la thématique de l'adaptation du blé à une carence en azote.

Le réseau « inter-stations » de l'INRA a été mis en place progressivement à partir des années 1970 pour évaluer diverses caractéristiques agronomiques et technologiques des lignées en fin de sélection. Les lignées étaient sélectionnées par les équipes INRA de Clermont-Ferrand, Dijon, Le Moulon, Mons et Rennes dans l'optique d'améliorer la stabilité du rendement et de la qualité ainsi que l'adaptation du blé à des itinéraires à bas niveaux d'intrants (fongicides, azote, raccourcisseurs, dose de semis) et économiquement performants.
Les génotypes révélateurs et les lignées en cours de sélection ont été expérimentés dans 6 lieux : Clermont-Ferrand, Dijon, Estrées-Mons, Le Moulon, Toulouse (ou Ondes) et Rennes. Chaque année, les quatre variétés choisies comme génotypes révélateurs ont fait l'objet de mesures spécifiques pour les différents modes culturaux de chaque site. Reconduite chaque année avec les mêmes génotypes, cette expérimentation des « témoins écophysiologie » est devenue une expérimentation à long-terme. Depuis 1987, une base de données gérée par Christophe Lecomte, rassemble toutes les informations recueillies sur les « témoins écophysiologie » dans ces différentes expérimentations ainsi que les caractéristiques des milieux.

Pour l'étude des interactions QTL x milieu, nous nous sommes appuyés sur la population « ARE », créée au milieu des années 90 par haplo-diploïdisation sur la première génération issue du

croisement entre deux variétés de blé au comportement contrasté par rapport à une contrainte azotée : la variété Arche, tolérante à une faible disponibilité en azote, et la variété Récital qui a été repérée comme étant sensible (Le Gouis et al, 2000).
Au démarrage du programme sur le déterminisme génétique de l'adaptation à une alimentation azotée sub-optimale, il a été décidé de tester la population ARE à deux niveaux de fertilisation azotée afin d'estimer, pour chacune des 241 lignées haploïdes de la population, la réponse à une faible disponibilité en azote. Les expérimentations ont été conduites pendant deux ans (1999-2000 et 2000-2001) sur quatre lieux (Clermont-Ferrand, Chartainvilliers, Estrées-Mons et Le Moulon) afin de couvrir une large gamme de milieux, un milieu étant défini par la combinaison d'un lieu, d'une année et d'un traitement azoté. Deux niveaux d'azote contrastés ont été choisis pour assurer une carence importante et maximiser ainsi les différences entre les lignées. L'écart entre les deux niveaux allait de 60 à 144 kg N/ha (Laperche et al 2006).
Ces données ont elles-mêmes été complétées par celles de l'essai « FSOV Azote » qui comportait 30 variétés testées dans 27 conditions de milieux. Ces variétés ont été choisies soit parce qu'elles avaient un comportement spécifique vis à vis de l'azote, et en particulier en ce qui concerne leur teneur en protéines, soit parce qu'elles étaient parentes de populations de lignées recombinantes ou destinées à l'être. Ceci peut permettre de développer par la suite des études de génétique. Pour la plupart d'entre elles, ce sont des variétés récentes, adaptées aux attentes de l'agriculteur et du secteur agro-alimentaire. Elles ont été choisies pour couvrir une large gamme de précocité (notes de 4.5 à 8 pour la précocité à épiaison) afin d'évaluer l'impact du stress azoté selon le type de développement. Elles ont été expérimentées sur deux campagnes consécutives, 2003-2004 et 2004-2005. Sept lieux d'essai ont été retenus afin de tester les 27 variétés dans différents contextes pédo-climatiques : les sites de l'INRA à Estrées-Mons et au Moulon, le site de Momont à Allonnes, le site d'Arvalis-Institut du Végétal à Ouzouer-le-Marché, le site de GAE à Maisse, le site de Saaten-Union à Estrées-Saint-Denis et celui de Lemaire-Deffontaine à Auchy-lez-Orchies. Cinq traitements expérimentaux ont été choisis, d'une part pour couvrir une gamme relativement large de nutrition azotée et d'autre part, pour estimer les paramètres d'un modèle de fonctionnement de la culture de blé (Azodyn) pour l'ensemble des variétés testées :

- Traitement « Potentiel » permettant l'estimation du rendement potentiel de la variété ;
- Traitement « faible densité » permettant l'estimation du Poids de Mille Grains (PMG) maximum de la variété en créant *a priori* des conditions limitant le nombre de grains par m^2 mais pas le PMG ;
- Traitement « N limitant » pour estimer la réaction de la variété à une carence en azote en choisissant une carence marquée ;
- Traitement « potentiel irrigué » qui a été mis en place suite à l'été caniculaire de 2003 pour assurer des situations dans lesquelles la culture n'est pas pénalisée par un déficit hydrique.
- Traitement « Potentiel + 50 » qui a été mis en place en 2005 avec pour objectif de tester la capacité des variétés à valoriser un apport d'azote tardif supplémentaire.

Au total, un ensemble de 27 environnements (combinaisons lieu x année x traitement) a été testé.

Démarche d'analyse

Même si le développement d'une démarche d'analyse intégrant le diagnostic agronomique jusqu'à l'évaluation du comportement des variétés vis-à-vis des facteurs limitants identifiés lors du diagnostic constitue un résultat en soi, nous développerons succinctement la démarche afin de bien situer les éléments dont nous aurons besoin par la suite.

La démarche consiste à réaliser un diagnostic agronomique de l'action de facteurs du milieu sur le comportement des génotypes révélateurs dans chaque milieu d'expérimentation. Par comparaison du rendement ou de ses composantes (nombre de grains m^{-2} et poids de mille grains) à un potentiel théorique, la présence et l'intensité des facteurs tout au long du cycle de la culture peuvent être révélées. La détermination des potentiels théoriques du nombre de grains et du poids de mille grains s'appuie sur la relation qui relie le poids de mille grains et le nombre de grains par m² et qui a été mise en évidence sur blé (Leterme et al, 1994). Cette relation présente une courbe enveloppe au-delà de laquelle il n'y a pas d'extension et qui est caractérisée par trois paramètres : le poids de mille grains potentiel qui est la valeur maximum de poids de mille grains et qui peut être atteinte seulement pour de faibles valeurs de nombre de grains par m² (partie gauche de la figure 1) ; le nombre de grains seuil, c'est-à-dire le nombre de grains au-delà duquel la courbe enveloppe du poids de mille grains commence à décroître par compétition entre les grains et enfin le rendement en grain, qui atteint son maximum à la croisée entre le nombre de grains seuil et le poids de mille grains maximum.

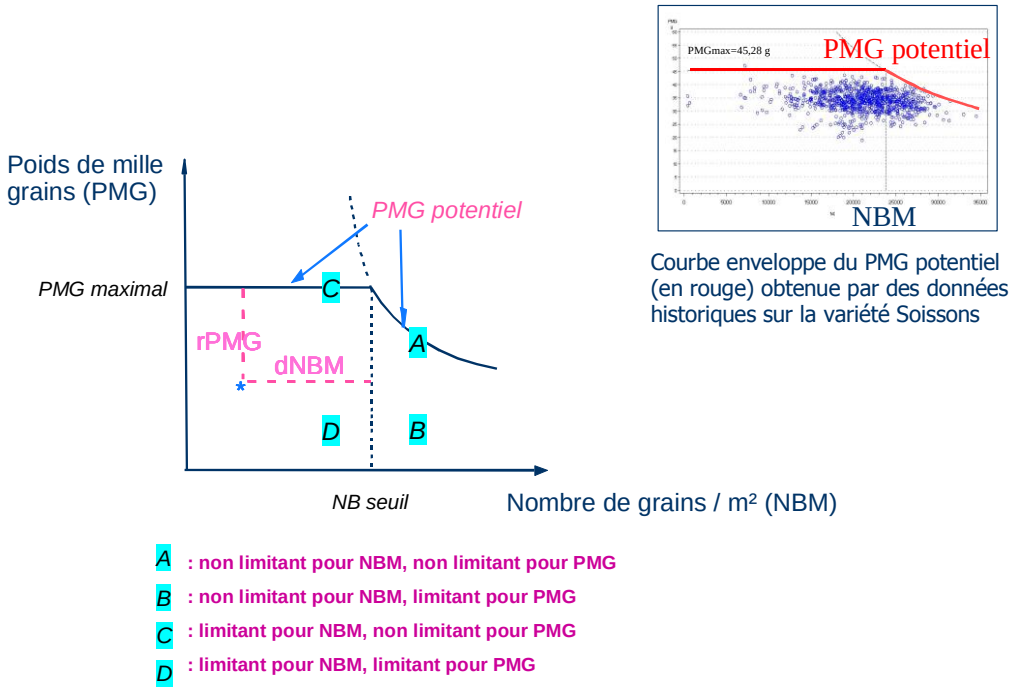


Figure 1. Comparaison du comportement d'un génotype révélateur à son potentiel.

A partir des paramètres de cette courbe, des écarts au poids de mille grains potentiel (rPMG) et au nombre de grains seuil (dNBM) peuvent ensuite être estimés (Figure 1) : dNBM et rPMG sont utilisés pour caractériser les périodes de pré-floraison et post-floraison respectivement (Brancourt-Hulmel et al 1999). Selon les écarts obtenus, différents cas de figure peuvent se présenter : les conditions sont optimales pour tout le cycle (A), les conditions sont optimales avant floraison (B), les conditions sont optimales après floraison (C) et enfin les conditions sont limitantes pour tout le cycle (D).

Ces écarts aux valeurs théoriques peuvent ensuite être expliqués par des indicateurs de facteurs limitants à l'aide d'une analyse en composantes principales (Brancourt-Hulmel et al, 1999) ou par régression linéaire multiple (Lecomte, 2005). L'interaction génotype x milieu est ensuite modélisée à l'aide de modèles statistiques (régression factorielle, régression factorielle biadditive) au regard des facteurs limitants identifiés lors du diagnostic (Brancourt-Hulmel 1999 ; Brancourt-Hulmel et al 2000). Par les pentes de la régression ainsi calculées, ceci permet d'estimer les réponses des génotypes aux facteurs limitants introduits dans le modèle en tant que covariables environnementales.

2.1. Méthodologie des génotypes révélateurs

- ***Déterminer la courbe enveloppe par une procédure d'échantillonnage pour produire les valeurs de référence des génotypes révélateurs***

Initialement mis au point et appliqué pour un milieu donné par les agronomes (voir par exemple (Leterme et al, 1994)), le diagnostic agronomique des facteurs limitants a été étendu à un réseau multilocal et pluriannuel, constitué de plusieurs essais répartis sur différents sites. Il fallait pour cela disposer d'une courbe enveloppe qui soit valable pour chaque génotype indépendamment du milieu. Ceci a nécessité de mettre au point une modélisation des courbes enveloppes reliant le poids de mille grains au nombre de grains m^{-2} nécessaires à l'obtention des valeurs de potentiel, un des premiers objectifs poursuivis dans le cadre de ma thèse (Hulmel, 1999).

Le potentiel théorique a été obtenu par voie expérimentale en accumulant les données des génotypes révélateurs testés pendant différentes années, lieux et conduites dans le cadre de l'essai « témoins écophysiologie ». Pour les différents génotypes révélateurs, la base de données répertoriait de 335 à 699 données en 1999 (Tableau 1). A partir de la base de données ainsi constituée, une procédure bootstrap est utilisée et consiste à effectuer un grand nombre de tirages aléatoires avec remise dans l'ensemble de la base, pour une variété donnée, puis à déterminer le rendement et le poids de mille grains maximum de cet échantillon. Cette procédure, répétée un certain nombre de fois, permet de déterminer les moyennes des trois paramètres de la courbe enveloppe (le poids de mille grains maximum, le nombre de grains seuil et le rendement maximum) et l'intervalle de confiance

associé à ces moyennes (Brancourt-Hulmel et al, 1999). Pour chaque variété, nous avons tiré 1000 échantillons aléatoires composés d'un effectif correspondant à 10% de l'effectif de départ.

Tableau 1. Valeurs de référence pour le rendement maximum (RDTmax), le poids de mille grains maximum (PMGmax) et le nombre de grains seuil (NGseuil) pour les quatre génotypes révélateurs. Et = écart-type.

génotype	nombre d'observations	RDTmax q/ha (0% H_20)	PMGmax +/- et g (0% H_20)	NBMseuil +/- et /m²
Arminda	412	106.25	43.0 +/- 1.46	24737 +/- 855
Camp Rémy	335	102.0	41.8 +/- 1.43	24414 +/- 811
Soissons	699	114.75	43.4 +/- 1.70	26464 +/- 1025
Talent	488	102.0	45.1 +/- 3.49	22781 +/- 1864

Néanmoins, les valeurs de référence peuvent dépendre de la taille du jeu de données ainsi que de la proportion tirée pour constituer l'échantillon. On constate que plus le jeu de données est restreint, plus il faut augmenter la proportion à échantillonner (Tableau 2). Pour un jeu de données de petite taille (par exemple 50), on peut observer que l'écart-type recoupe celui de la population entière (bas du tableau) lorsque la proportion échantillonnée avoisine 60 à 70 % pour le poids de mille grains, 30 à 40 % pour le rendement maximum. Pour le nombre de grains, 10 % suffisent car la variabilité autour de la moyenne est grande par rapport aux deux autres variables.

Tableau 2. Variation des valeurs de référence pour le rendement maximum (RDTmax), le poids de mille grain maximum (PMGmax) et le nombre de grains seuil (NGseuil) en fonction de la proportion de la population échantillonnée (% tirage) pour la variété Soissons. Et = écart-type.

nb données	%tirage	PMGmax	et	RDTmax	et	NBMseuil	et
50	10	39,9	2,1	82,8	7,2	20822	2257
	20	41,0	1,5	87,6	6,0	21404	1756
	30	41,5	1,2	89,2	5,4	21526	1462
	40	41,8	1,0	90,5	4,8	21665	1295
	50	42,0	0,9	91,6	4,2	21825	1125
	60	42,1	0,9	92,2	3,8	21884	1045
	70	42,3	0,8	92,8	3,4	21976	917
	80	42,4	0,8	93,2	3,2	21982	854
	90	42,5	0,7	93,5	2,8	22022	746
	95	42,5	0,7	93,7	3,7	22081	741
100	10	40,4	2,0	85,0	4,7	21079	1583
	20	41,5	1,8	87,5	3,5	21096	1275
	30	42,0	1,6	88,6	3,0	21226	1123
	40	42,5	1,5	89,2	2,8	21005	1027
	50	42,8	1,3	89,9	2,8	21007	907
	60	43,0	1,2	90,3	2,6	21027	880
	70	43,1	1,1	90,7	2,5	21040	807
	80	43,2	1,0	91,0	2,4	21070	772
	90	43,4	0,9	91,2	2,3	21034	691
	95	43,4	0,8	91,5	2,2	21084	671
200	10	42,0	2,0	92,0	5,4	21971	1647
	20	43,0	1,8	94,9	5,1	22098	1534
	30	43,7	1,6	96,4	4,6	22092	1320
	40	44,1	1,5	97,7	4,4	22209	1259
	50	44,4	1,4	98,3	4,2	22155	1210
	60	44,6	1,3	99,1	4,3	22258	1169
	70	44,7	1,2	99,2	4,1	22220	1096
	80	44,9	1,1	99,9	4,0	22281	1088
	90	45,0	1,0	100,3	3,9	22277	991
	95	45,1	0,9	100,6	3,7	22310	957
300	10	42,9	1,5	95,9	6,8	22394	1785
	20	43,7	1,5	99,8	6,1	22849	1597
	30	44,2	1,4	101,6	5,8	23026	1522
	40	44,5	1,3	103,0	5,2	23164	1383
	50	44,8	1,2	104,0	4,9	23241	1248
995 données	10	44,2	1,2	101,1	6,5	22918	1600

Une fois disponibles pour les génotypes révélateurs, ces références permettent de calculer des écarts aux potentiels, ce qui se révèle très utile pour détecter et quantifier l'effet de facteurs du milieu sur la réponse des génotypes révélateurs (cf § suivant).

- ***Les génotypes révélateurs permettent de détecter et quantifier l'effet de la carence azotée en interaction avec plusieurs facteurs du milieu***

Afin de réaliser la caractérisation des milieux où ont été expérimentées les lignées de la population ARE, il a été décidé d'implanter des génotypes révélateurs parmi celles-ci. L'intérêt de ces génotypes est de limiter leur nombre de façon à réaliser des mesures approfondies, lesquelles n'auraient pas pu être réalisées sur l'ensemble des 241 individus de la population. Pour chacun de ces génotypes révélateurs, constitués dans cette étude par les deux parents et deux variétés témoins, il a été nécessaire de connaître les paramètres de la courbe enveloppe reliant le poids de mille grains au nombre de grains par m² en utilisant pour cela les données expérimentales « historiques » (décrites p. 12) et la procédure d'échantillonnage par bootstrap définie au paragraphe précédent.

Dans les 12 milieux pour lesquels les génotypes révélateurs ont été suivis, les résultats ont permis d'obtenir une grande variabilité des écarts des composantes à la valeur de référence (dNBM et rTKW) comme illustré pour la déviation du nombre de grains sur la figure 2. dNBM varie de –19.3% pour Soissons au Moulon à N+ en 2001 jusqu'à 56.4% pour Récital à Mons à N- en 2001, ce génotype étant le plus affecté. L'écart entre les deux traitements azotés d'un même lieu est très variable car il peut s'établir à quelques pourcents pour Clermont en 2001 contre plus de 40% au Moulon en 2000. Ce graphique permet donc de révéler des milieux à faible contrainte (valeurs voisines de zéro ou inférieures) à des milieux à fortes contraintes (valeurs positives).

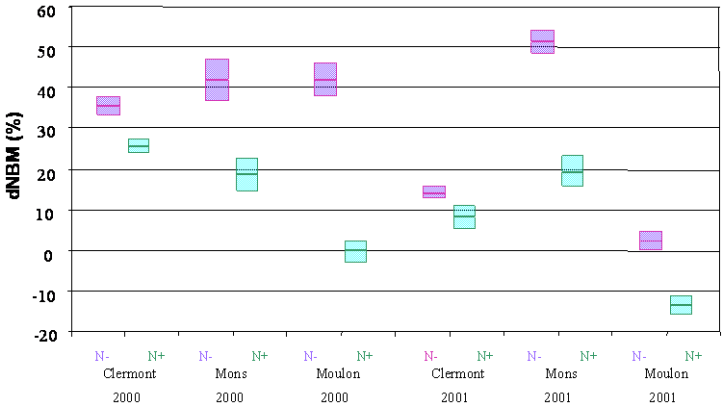


Figure 2. Une grande variabilité des écarts au nombre de grains seuil (valeur de référence) dans les 12 milieux où la population Arche x Récital a été étudiée. Chaque rectangle matérialise les valeurs extrêmes parmi les 4 témoins révélateurs.

Ces écarts aux valeurs de référence ont ensuite été expliqués par des indicateurs de facteurs limitants introduits dans une régression multiple selon la méthode décrite par Lecomte (2005). Des indicateurs ont été répertoriés sur blé tendre pour de nombreux facteurs (Lecomte, 2005). Les indicateurs concernaient des indicateurs climatiques et biologiques auxquels a été ajouté un indicateur du stress azoté basé sur l'indice de nutrition azotée. Pour chaque génotype, nous avons défini un indice de stress azoté comme étant la quantité [1-min(1, INN floraison de Récital)]. Sur l'ensemble des essais, cet indice variait de 0 à 0.63 (Laperche et al, 2005). Pour trois des génotypes révélateurs sur quatre, l'indicateur expliquant le mieux la déviation du nombre de grains était cet indice de stress basé sur l'INN mesuré à la floraison. Ainsi, la contrainte azotée est le facteur limitant le plus important et explique 40% (par le génotype révélateur Ritmo) à 83% (Récital) de la variation du nombre de grains (Tableau 3). D'autres facteurs du milieu sont aussi mis en évidence, en particulier les fortes températures autour de la méïose et de la floraison ainsi que les rayonnements autour de la méïose. Ceci permet d'illustrer que le facteur azote est en interaction avec d'autres facteurs du milieu (comme annoncé en introduction en p. 11).

Comme attendu, cette analyse de la déviation du nombre de grains confirme que Récital est un bon révélateur des conditions de stress azoté, en particulier pendant l'élaboration du nombre de

grains (Figure 3). Elle confirme aussi que le facteur azote est partiellement contrôlé, les milieux ne pouvant pas être clairement regroupés selon les deux conduites N- et N+ (Figure 3).
Il est donc pertinent de tenir compte de ces informations pour l'analyse des caractéristiques de la population. En particulier, l'indicateur de stress azoté mesuré sur Récital s'est avéré essentiel pour estimer les paramètres génétiques de la population en fonction de l'intensité du stress azoté (Laperche et al, 2006). Les héritabilités des principaux caractères agronomiques (rendement et ses composantes, teneurs en azote des grains et des pailles) diminuent quand le stress augmente, confirmant des résultats obtenus par ailleurs sur du matériel de sélection (Brancourt-Hulmel et al, 2005).

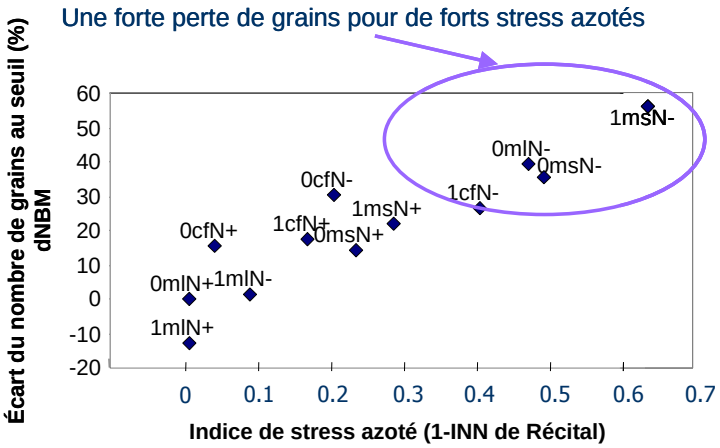


Figure 3. Le meilleur descripteur du milieu est basé sur l'indice de nutrition azotée mesuré sur Récital comme le montre la forte corrélation entre l'indice (1-INN) et l'écart au nombre de grain seuil.

Cette approche a l'avantage de caractériser le milieu par un indice directement relié au stress azoté à la différence par exemple du rendement moyen du milieu qui peut dépendre de nombreux facteurs. Il est de plus possible de le mesurer sur des génotypes révélateurs. Néanmoins, il ne s'agit pas d'un indice absolu dans la mesure où il dépend de la variété utilisée et qu'il nécessite qu'au moins un des génotypes révélateurs soit fortement sensible au stress azoté.

Tableau 3. Pour chaque génotype révélateur, résultats des régressions multiples de la déviation du nombre de grains intégrant différentes variables du milieu. R² partiel correspond au coefficient de détermination de chaque variable prise individuellement tandis que R² cumulé correspond au cumul des coefficients individuels de détermination.

gen	indicateur		R² partiel	R² cumul	F
ARCHE	stcmb	Somme des degrés jours > 25° C +/- 3 jours à la méiose	0.43	0.43	7.54*
	finn	Stress azoté à la floraison	0.31	0.74	11.00*
	srglmb	Somme des rayonnements +/- 3 jours à la méiose	0.11	0.85	5.63*
	stmpf30	Somme des degrés jours >° 0 de floraison à floraison – 30 jours	0.05	0.90	3.42
	srglmf	Somme des rayonnements de la méiose à la floraison	0.09	0.99	33.25*
RECITAL	finn	Stress azoté à la floraison	0.83	0.83	48.81*
RITMO	finn	Stress azoté à la floraison	0.40	0.40	6.65*
	stcmb	Somme des degrés jours > 25° C +- 3 jours à la méiose	0.38	0.78	15.64*
	njss	Nombre de jours secs successifs de l'épi 1 cm -150°j à épi 1 cm + 350 °j	0.09	0.87	5.79*
	sri1200b	Somme des rayonnements journaliers > 1200 J/cm² +/- 3 jours à la méiose	0.05	0.92	4.46
SOISSONS	finn	Stress azoté à la floraison	0.41	0.41	6.84*
	st25ef	Somme des degrés jours > 25° C de l'épiaison à la floraison	0.42	0.83	22.11*

- ***Simuler l'indice de nutrition azotée pour remplacer l'acquisition de variables difficiles à mesurer sur les génotypes révélateurs***

Dans l'expérimentation multilocale de la population ARE, nous avons vu précédemment que l'indice de stress azoté basé sur l'indice de nutrition azotée est une variable pertinente pour caractériser le stress azoté. Cependant, l'acquisition de l'indice de nutrition azotée n'est pas toujours facile car elle nécessite des mesures au champ à des stades précis. Une alternative pour l'estimer pourrait être offerte par la simulation. Ainsi, nous avons exploré la capacité du modèle de fonctionnement Azodyn à simuler une telle variable. Dans une série d'expérimentations réalisées à Mons et au Moulon en 2004 et 2005 dans le cadre du projet « FSOV Azote », nous avons simulé l'INN pour différents génotypes. Pour Récital, un de nos génotypes révélateurs précédents, les résultats sont assez satisfaisants : la simulation ne semble pas biaisée et le coefficient de détermination avoisine les 75 % (Figure 4). Par contre, pour d'autres génotypes, la simulation est plus délicate comme illustré pour le génotype Grisby. Pour Récital, une validation de ces résultats est toutefois nécessaire avant d'envisager le recours à la simulation de l'INN.

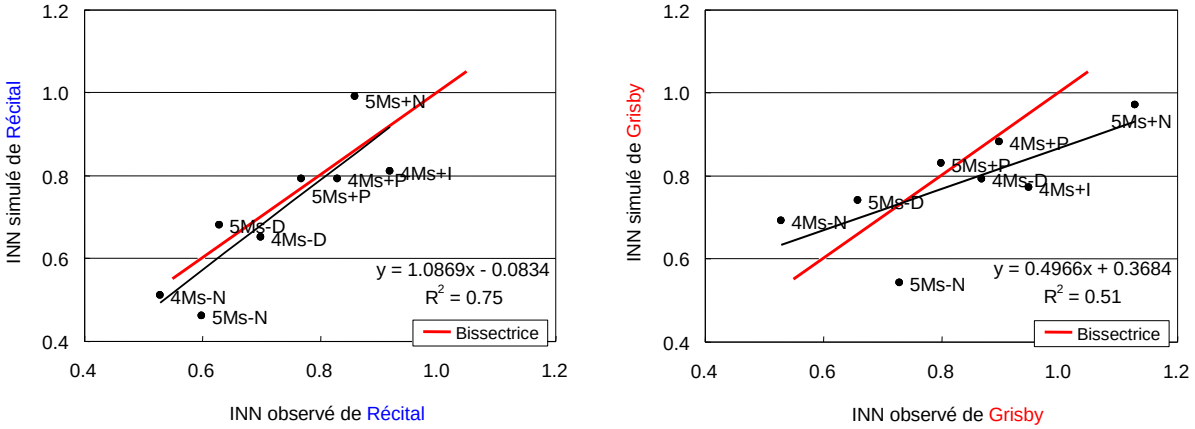


Figure 4. Simulation pour deux variétés de l'indice de nutrition azotée (INN) par le modèle de fonctionnement de culture Azodyn.

- ***Acquérir plus rapidement les valeurs de référence de la courbe enveloppe pour les génotypes révélateurs***

Cette approche basée sur les génotypes révélateurs ne peut être entreprise que lorsqu'on dispose de références en conditions non limitantes pour les génotypes révélateurs. Sa transposition à des programmes de génomique nécessitant la caractérisation fine de génotypes peut se réaliser d'autant plus facilement que ces références sont rapidement accessibles. Leur simulation n'est pas envisageable, du moins avec le modèle Azodyn (Jeuffroy et Recous, 1999), un modèle dynamique de fonctionnement d'une culture de blé, car ce modèle ne les simule pas et nécessite un paramétrage de ces références par voie expérimentale également (Brancourt-Hulmel et Jeuffroy, 2004). Pour l'instant, elles peuvent être obtenues par voie expérimentale, soit à partir de base de données issues d'essais non spécifiques où les génotypes considérés ont été expérimentés (comme présenté en p. 14), soit à partir d'expérimentations spécifiques. Les essais spécifiques peuvent raccourcir les délais à deux ans et doivent comporter un traitement « faible densité de semis » pour permettre l'estimation du poids de mille grains maximum de la variété en créant *a priori* des conditions limitant le nombre de grains par m^2 mais pas le poids de mille grains. Il faut en outre un traitement « potentiel irrigué » de façon à obtenir le rendement maximum.

Le dispositif expérimental du projet « FSOV azote » a été étudié pour obtenir plus rapidement ces références. Il comportait notamment 12 milieux « potentiels » (combinaison année et lieu) pour estimer le rendement maximum et le nombre de grains potentiel, 8 milieux à faible densité pour l'estimation du poids de mille grains et 8 milieux limitant en azote, les milieux étant définis par les combinaisons année x site. En regroupant tous ces essais, plusieurs méthodes d'estimation ont été

testées pour déterminer les valeurs de référence pour une variété donnée : (1) le choix de la valeur maximum observée estimée à partir de la totalité des données disponibles sur le réseau d'essais (27 milieux), (2) le calcul des quantiles 75, 90, 95, 99 qui consiste à estimer une valeur telle qu'une proportion indiquée de la totalité des données (75%, 90%, 95%, 99% respectivement) soit inférieure à cette valeur et enfin (3) le bootstrap qui consiste à effectuer un grand nombre de tirages aléatoires avec remise dans l'ensemble de la base de données disponible, puis à déterminer le rendement et le poids de mille grains maximum de cet échantillon (cf p. 14). Pour chaque variété, nous avons tiré 1000 échantillons aléatoires composés d'un effectif correspondant à 70% de l'effectif de départ. Le paramétrage « optimal » qui a été retenu est celui conduisant à la meilleure prédiction du rendement par le modèle de simulation « Azodyn » pour les 27 génotypes testés dans le dispositif expérimental « FSOV azote ». Cette meilleure prédiction est mesurée par la plus faible erreur moyenne de prédiction (RMSEP ou Root Mean Square Error of Prediction) obtenue en calculant la racine carrée de la somme des carrés des différences (valeur observée – valeur simulée). Ainsi, c'est le quantile 75 pour le rendement et le poids de mille grains qui permet les meilleures estimations par Azodyn (Herbain, 2006). Le nombre de grains potentiel, un troisième paramètre nécessaire pour Azodyn, peut être estimé indirectement en connaissant le nombre de grains potentiel de Soissons, le nombre de grains par m² du génotype à simuler et la durée en degrés jour de la phase épi 1 cm à floraison.

- ***Critères pour choisir les génotypes révélateurs et nombre de génotypes révélateurs à retenir dans un réseau multilocal***

Pour être efficace, la méthodologie des génotypes révélateurs doit se baser sur un choix pertinent de ces génotypes. Les génotypes révélateurs pouvant être choisis sur la base d'une multitude de critères, il est donc important de tenter d'identifier les critères les plus importants. Il faut veiller à introduire des génotypes susceptibles de révéler des stress majeurs. L'idéal serait de pouvoir disposer de couples de variétés quasi-isogéniques ne différant que par la sensibilité au stress en question, ce qui conduit à choisir des génotypes très interactifs. Lorsque les stress majeurs ne sont pas connus *a priori*, nous avons tenté de dégager quelques pistes.

Disposant jusqu'à sept génotypes révélateurs dans le réseau « inter-stations », nous avons déterminé parmi cette série quelles auraient été les meilleures associations pour décomposer l'interaction. Toutes les combinaisons possibles de quatre génotypes parmi les sept ont été déterminées en vue de leur comparer les quatre génotypes révélateurs choisis *a priori*. Ceci a permis de mettre en évidence que les génotypes révélateurs doivent être choisis de façon complémentaire (Brancourt-Hulmel et al 2001) sur la base de leur profil d'interaction (des génotypes très interactifs avec au contraire des génotypes peu interactifs), de leur précocité (de précoce à tardif) et de leurs composantes (des génotypes à gros grains et faible nombre de grains m^{-2} contre des génotypes à petits de grains et fort nombre de grains m^{-2}).

S'il est opportun d'introduire des couples de génotypes interactifs pour révéler des stress majeurs, néanmoins, le nombre de génotypes révélateurs doit rester limité pour que la méthode ne perde pas de son intérêt. Ainsi, nous nous sommes intéressés à déterminer le nombre pertinent de génotypes révélateurs pour tester l'interaction génotype x milieu dans le réseau « inter-stations » (Brancourt-Hulmel et al 2001). Nous avons pour cela décomposé l'interaction observée sur le rendement à l'aide de régression factorielle biadditive (description détaillée en p. 21) et d'écarts aux potentiels mesurés sur sept génotypes révélateurs (utilisation de ces écarts aux potentiels comme covariables synthétiques de conditions de milieu). Nous disposions donc au total de 14 covariables possibles (2 covariables par génotype). A partir des sept génotypes, nous avons réalisé toutes les combinaisons possibles incluant de un à sept génotypes et à chaque fois, nous avons relevé la fraction de la somme de carrés d'écart d'interaction décomposée par le modèle (% SCE sur figure 5). Pour tester la signification de ces combinaisons, nous avons reconstitué un test en produisant des valeurs critiques par simulations issues de 1000 permutations aléatoires (symbolisées par les traits horizontaux au niveau de chaque boîte à pattes sur la figure). On voit qu'avec quatre génotypes révélateurs, on peut décomposer l'interaction au delà de 50%, avec cinq génotypes révélateurs, c'est environ plus de 65 % pour l'ensemble des combinaisons possibles. Ainsi, il apparaît que quatre génotypes semblent être le nombre minimum à observer, ce nombre pouvant même être plus réduit dans certains cas. Néanmoins, lorsque l'expérimentation multilocale est menée une première fois, il est préférable d'augmenter le nombre de génotypes révélateurs car la probabilité de choisir des génotypes complémentaires augmente, ce qui permet de mieux décomposer l'interaction.

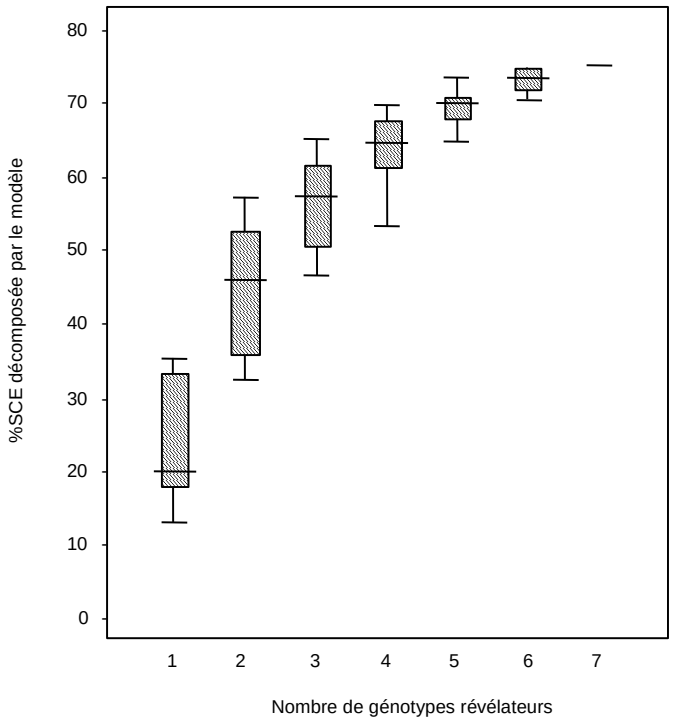


Figure 5. Décomposition de l'interaction en pourcentage (% SCE) observée sur le rendement à l'aide de régression factorielle biadditive et d'écarts aux potentiels mesurés sur sept génotypes révélateurs : boîtes à pattes de toutes les combinaisons possibles incluant 1 à 7 génotypes révélateurs. Pour chaque boîte, la valeur critique simulée est indiquée par un trait horizontal. La partie hachurée de la boîte comporte les valeurs correspondant à 50% des combinaisons possibles. L'extrémité des pattes correspond aux valeurs extrêmes, c'est-à-dire aux valeurs des combinaisons les moins et les plus performantes.

2.2. Caractériser la réponse des génotypes et détecter des QTL de réponse au stress azoté

A l'aide des génotypes révélateurs, nous avons donc vu qu'il est possible de détecter la présence de facteurs limitants, leur nature et leur intensité. Leur intégration dans le modèle d'analyse des interactions génotype x milieu n'est pas immédiate toutefois.

- ***Estimer la sensibilité des génotypes à des facteurs du milieu***

Des régressions factorielles ont été développées au plan statistique pour modéliser l'interaction génotype x milieu (plus généralement l'interaction entre deux facteurs) et permettent d'intégrer des covariables (Denis, 1980 ; Denis, 1988), c'est-à-dire des variables « additionnelles » à la variable à analyser permettant de décrire les génotypes et/ou les milieux. Une fois les facteurs limitants du milieu diagnostiqués à partir de l'observation des génotypes révélateurs, il est possible de les introduire dans le modèle statistique en tant que covariables du milieu afin d'estimer les sensibilités des génotypes à ces facteurs. En effet, quand des covariables environnementales sont introduites, la modélisation de l'interaction permet d'estimer la sensibilité différentielle des génotypes aux variables environnementales (Van Eeuwijk, 1995). Les sensibilités sont alors estimées par les pentes issues de la régression factorielle.

Dans sa forme la plus complète, la régression factorielle revêt l'écriture suivante :

$$E[Y_{ge}]=\mu+\alpha_g+\beta_e+\sum_{h=k=1}^{HK}X_{he}.\theta_{hk}.Z_{kg}+\sum_{h=1}^{H}\rho_{gh}.X_{he}+\sum_{k=1}^{K}\eta_{ek}.Z_{kg}$$

où ρ_{gh} représentent les paramètres génotypiques de régression au regard des *H* covariables environnementales X_{he}, et de façon symétrique, η_{ek} sont les paramètres environnementaux de régression au regard des *K* covariables génotypiques Z_{kg}. Les paramètres θ_{hk} correspondent aux coefficients des produits croisés des covariables, qui ne dépendent pas du génotype et du milieu. Cette méthode décompose le terme d'interaction quand les covariables intégrées sont significatives. Les covariables retenues sont celles qui expliquent la plus forte interaction (mesurée en proportion de somme de carrés d'écarts de l'interaction totale) et celles qui sont complémentaires (avec de faibles corrélations entre elles). Cette sélection aboutit à un modèle généralement efficient car il permet de réduire la part inexpliquée de l'interaction avec une consommation modérée de degrés de liberté (Denis, 1980). Une revue bibliographique rassemblant plusieurs dizaines d'études menées sur différentes espèces pour analyser l'interaction génotype x milieu montre en effet que la régression factorielle se place plutôt bien comparativement à la régression conjointe en matière de décomposition de l'interaction au regard des degrés de liberté consommés (Figure 6).

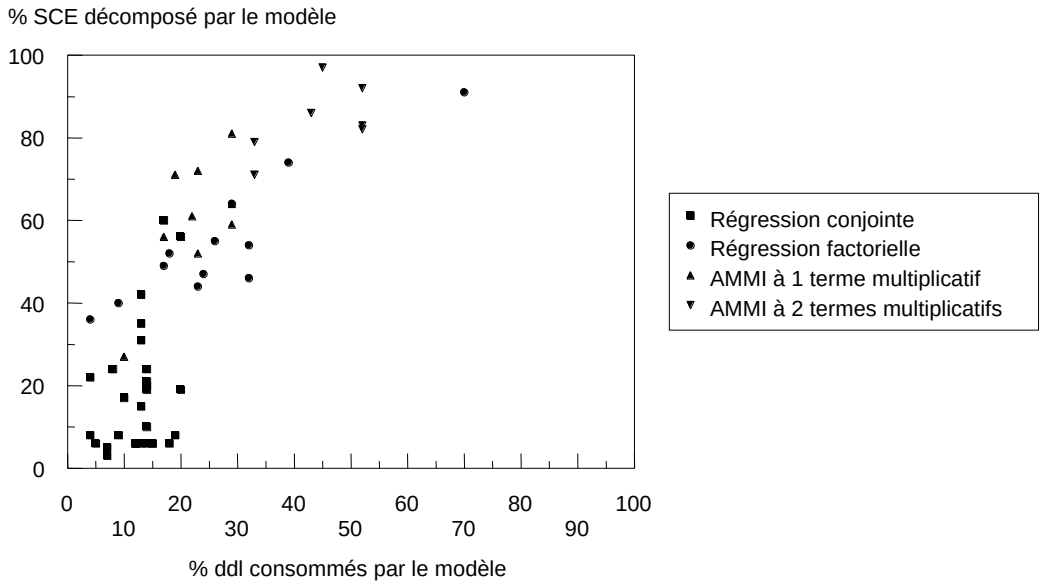


Figure 6. Comparaison de trois modèles statistiques (régression conjointe, régression factorielle et modèle multiplicatif AMMI) pour l'efficacité (pourcentage de somme de carré d'écarts d'interaction décomposée ou % SCE) et la parcimonie (% ddl consommés). Données issues d'une revue bibliographique (Brancourt-Hulmel et al, 1997).

- ***La régression factorielle biadditive est pertinente en comparaison au modèle AMMI***

La régression factorielle, couplée à la démarche des génotypes révélateurs, permet de progresser dans la connaissance des génotypes (lignées en cours de sélection, variétés) testés dans un réseau multilocal. En effet, elle est facile à mettre en oeuvre lorsque le nombre de covariables est limité. De plus, les effets des différentes covariables peuvent être testés au niveau statistique. Par contre, lorsque le nombre de covariables devient trop important, le modèle devient moins parcimonieux (car génère beaucoup plus de paramètres) et l'interprétation est plus difficile. Ce cas de figure peut se produire sur blé tendre d'hiver en raison de son cycle relativement long qui peut couvrir une dizaine de mois et le soumettre à l'action de nombreux facteurs limitants.

Une première solution consiste à sélectionner les indicateurs de facteurs limitants non pas sur le cycle entier de la plante mais sur des périodes plus courtes. Sur blé tendre, on peut proposer de sélectionner les indicateurs selon deux périodes assez disjointes : celle de l'élaboration du nombre de grains et celle du remplissage.

Néanmoins, ceci peut ne pas être suffisant, d'où le recours à un modèle statistique de modélisation de l'interaction qui soit plus approprié pour introduire plus de covariables. C'est une des caractéristiques du modèle de régression factorielle biadditive développé par (Denis, 1991). L'ajustement consiste à établir une combinaison linéaire des covariables qui maximise la décomposition de l'interaction génotype x milieu.

Au niveau de la décomposition de l'interaction, le modèle de régression factorielle biadditive (Tableau 4) présente une efficacité assez comparable à celle du modèle AMMI, un autre modèle multiplicatif très usuel utilisé comme « référence » car il maximise la décomposition de l'interaction en paramètres statistiques multiplicatifs associés aux génotypes et aux milieux. En effet, il décompose 74.2 % de la somme de carrés d'écart de l'interaction avec 3 termes contre 78.9 % pour le modèle AMMI avec 3 termes également. Il s'en différencie par le fait qu'il permet d'intégrer directement des covariables et donc de rendre compte directement de la diversité des facteurs agissant sur le rendement (Brancourt-Hulmel et Lecomte 2003).

Tableau 4. Décomposition de l'interaction pour le rendement de 12 génotypes : modèle AMMI et régression factorielle biadditive incluant les indicateurs de facteurs de milieu.

Source de variation	Nombre de termes du modèle	ddl	SCE	CM	F		Efficacité (% SCE)
G * E		**121**	**3168,8**	**26,2**	**4,7**	*****	**100,0**
Modèle AMMI	1er terme	21	1245,9	59,3	10,5	*	39,3
	2ème terme	19	730,1	38,4	6,8	*	23,0
	3ème terme	17	525,1	30,9	5,5	*	16,6
	reste	64	667,7	10,4	1,8	*	
G * E		**121**	**3168,8**	**26,2**	**4,7**	*****	**100,0**
Régression factorielle biadditive	1er terme	20	1176,6	58,8	10,5	*	37,1
	2ème terme	18	689,9	38,3	6,8	*	21,8
	3ème terme	16	483,5	30,2	5,4	*	15,3
	reste	67	818,8	12,2	2,2	*	

* significatif au seuil alpha de 5%

Au niveau de l'interprétation, elle s'apparente à ce qui est pratiqué en analyse en composantes principales. D'un point de vue environnemental, nous avons proposé d'interpréter la régression factorielle biadditive à l'aide des corrélations entre les variables synthétiques produites par le modèle et les covariables environnementales initiales. Ces corrélations sont visualisées dans des graphiques comme en analyse en composantes principales. Les variables environnementales contribuent d'autant plus aux variables synthétiques qu'elles sont situées près du cercle. A l'inverse, les variables proches du centre ont une faible contribution. Ainsi, dans une analyse de lignées expérimentées dans le réseau « inter-stations », les variables contribuant le plus sont celles associées au remplissage : la pression d'oïdium (PMT), le déficit hydrique (WDT), les fortes températures (HTT) et la verse durant le remplissage (LodgT). Les autres variables interviennent également mais dans une moindre mesure (Figure 7).

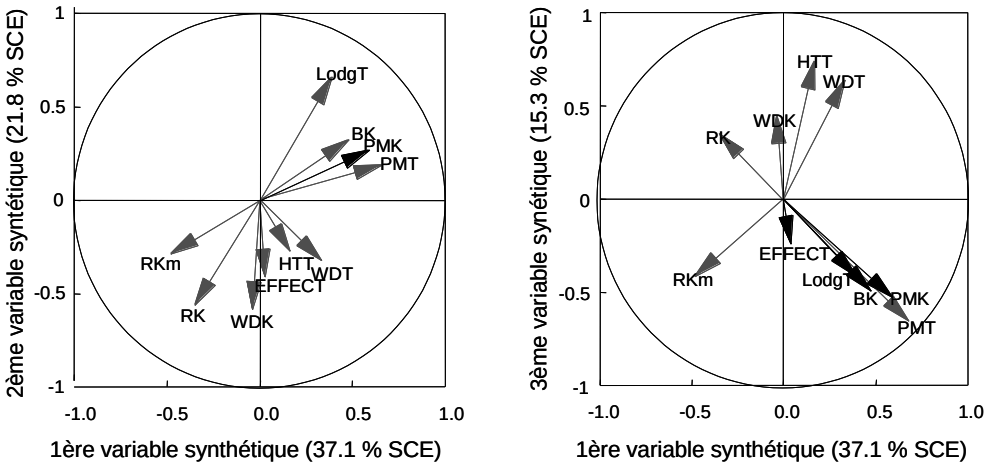


Figure 7. Interprétation du comportement de 12 génotypes pour le rendement en grain à l'aide de régression factorielle biadditive. Contributions de chaque covariable initiale du milieu aux 3 variables synthétiques (= termes) construites par le modèle.

Un graphique complémentaire permet comme pour le modèle AMMI de fournir le profil d'interaction des génotypes (Figure 8). Les lignes correspondent aux génotypes et les flèches correspondent aux variables environnementales. Les génotypes proches du centre sont peu interactifs tandis que les génotypes les plus distants tels que Apollo (APO), Viking (VIK), Soissons (SOI) et Renan (REN) sont très interactifs. Les points proches les uns des autres montrent un profil d'interaction comparable, tel qu'Artaban (ART), Thésée (THE) et Talent (TAL) ou Rossini (ROS) et Baroudeur (BAR) par exemple.

Contrairement aux paramètres issus du modèle AMMI qui n'ont pas de signification biologique, ceux produits par la régression factorielle biadditive correspondent à des approximations de pentes. Il est donc possible d'interpréter le comportement des génotypes au regard des covariables environnementales mises en évidence par le modèle (celles ayant le plus de poids dans les combinaisons linéaires). En effet, en projetant la ligne en pointillés du génotype Renan sur les variables à proximité, on peut noter que Renan a les coefficients positifs les plus importants sur les fortes températures (HTT), le rayonnement à la méiose (RKm) ou la pression d'oïdium avant floraison (PMK), alors que ses coefficients sont négatifs sur le déficit hydrique avant et après floraison (respectivement WDK et WDT) ou la pression d'oïdium après floraison (PMT). Ainsi, en comparaison aux autres génotypes de l'expérimentation, son interaction est positive dans les environnements chauds pendant le remplissage ou dans les environnements avec une forte pression d'oïdium. Au contraire, son interaction est négative dans les milieux soumis au stress hydrique (avant et après floraison). Apollo montre des coefficients positifs pour la verse pendant le remplissage (LodgT) et le rayonnement avant floraison (RK), tandis que Rossini a des coefficients négatifs. Le rendement d'Apollo augmente avec la durée du rayonnement. Par comparaison aux autres génotypes, il donne de meilleurs rendements dans les milieux ayant versé. L'inverse est observé pour Rossini.

Lorsque l'interaction est fortement décomposée par les deux premiers termes, ce graphique a l'avantage de donner une vision synthétique du comportement des génotypes vis-à-vis des principaux facteurs limitants rencontrés. Avec trois termes, il faut réaliser des graphiques deux à deux comme en analyse en composantes principales et interpréter les différentes combinaisons de graphiques. Ainsi, au-delà d'un certain nombre de termes, cette méthode présente aussi ses limites.

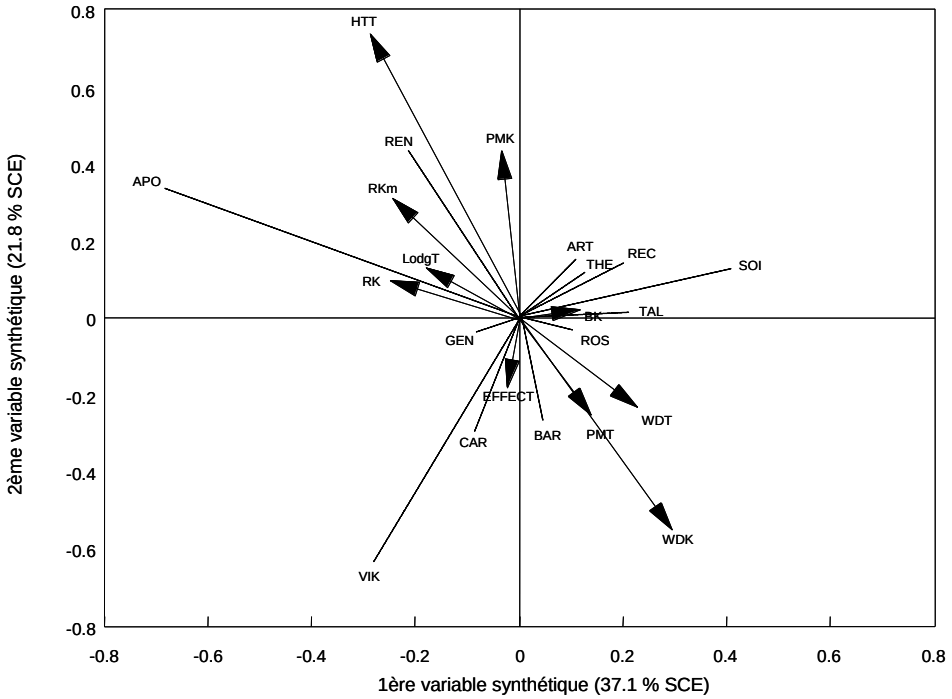


Figure 8. Interprétation du comportement de 12 génotypes pour le rendement en grain à l'aide de régression factorielle biadditive. Paramètres génotypiques (traits pleins) et coefficients des covariables environnementales (flèches) selon les deux premières variables synthétiques construites par le modèle.

Cette méthode permet donc de cerner les facteurs du milieu dans leur globalité et d'identifier ceux ayant une action sur l'interaction génotype x milieu. En ce qui concerne les pentes, il est possible de revenir à la régression factorielle « classique » pour les estimer au mieux après avoir repéré avec la régression factorielle biadditive les covariables environnementales les plus pertinentes.

- ***Estimer la sensibilité des génotypes au milieu via les réponses des génotypes révélateurs***

L'interprétation de l'interaction génotype x milieu est facilitée lorsque le nombre de facteurs limitants est réduit. Lorsque celui-ci demeure trop important, une alternative à la régression factorielle biadditive est d'utiliser au mieux l'information recueillie au niveau des génotypes révélateurs en exploitant leurs réponses aux conditions de milieux sous forme de covariables environnementales. Ces réponses, mesurées par les écarts des composantes de rendement aux valeurs potentielles, ont été exploitées avec succès pour l'analyse du rendement en grain dans le réseau inter-stations de l'INRA (Brancourt-Hulmel et al 2000) et présentent l'avantage d'être synthétiques pour décrire les conditions environnementales associées à une période de cycle. En effet, l'écart au nombre de grains va synthétiser les conditions du milieu avant la floraison tandis que la diminution du poids de mille grains va synthétiser les conditions de remplissage (Figure 1). La caractérisation des conditions de milieu par ces mesures réalisées sur les plantes trouve son application pour des facteurs dont les variables sont difficiles à acquérir comme dans le cas, par exemple, de la contrainte azotée.

Pour caractériser le milieu, les réponses des plantes peuvent être étendues aux quantités d'azote ou de matière sèche à floraison et aux quantités d'azote ou matière sèche remobilisées (Tableau 5) comme cela a été fait pour l'étude de la stabilité de la qualité du blé (Robert et Brancourt-Hulmel 2007 ; Robert et al 2007).

Tableau 5. Exemples de variables concernant les réponses des plantes pour décrire le milieu.

Rendement et ses composantes
Rendement en grain
Rendement en azote
Nombre de grains / m²
Nombre d'épis / m²
Nombre de grains / épi
Poids de mille grains
Quantité d'azote / grain
Floraison et statut à floraison
Date de floraison
Matière sèche à floraison / m²
Matière sèche à floraison / grain
Quantité d'azote dans les parties végétatives à floraison / m²
Quantité d'azote dans les parties végétatives à floraison / grain
Remplissage du grain
Vitesse d'accumulation de matière sèche / m²
Vitesse d'accumulation de matière sèche / grain
Vitesse d'accumulation d'azote / m²
Vitesse d'accumulation d'azote / grain
Durée du remplissage pour la matière sèche
Durée du remplissage pour l'azote
Remobilisation de la matière sèche / m²
Remobilisation de la matière sèche / grain
Remobilisation de l'azote / m²
Remobilisation de l'azote / grain

- ***Déterminer le nombre de milieux nécessaires à l'estimation de la pente de régression factorielle***

Un point important concerne la fiabilité avec laquelle les pentes de régression factorielle vont être estimées. On considère en effet que la meilleure estimation de la stabilité d'un génotype est obtenue avec un nombre élevé de milieux. Cependant, dans un souci de gain de temps et d'argent,

les réseaux expérimentaux doivent limiter le nombre de milieux, tout en assurant une bonne estimation du comportement des génotypes étudiés. L'objectif est donc de définir le nombre de milieux optimal pour estimer avec fiabilité la réponse au stress azoté du matériel végétal testé, tout en prenant en compte la variabilité des milieux (Zheng et al, 2009). Jusqu'à quel point peut-on diminuer le nombre de milieux tout en gardant la même réponse des génotypes ?

Nous avons tenté de répondre à cette question en considérant le rendement en grain, le rendement en protéines et la teneur en protéines. Notre étude s'appuie sur les données issues du projet « FSOV Azote » décrit en p.13. Dans le but de caractériser le comportement de chaque génotype, des régressions conjointes (Finlay et Wilkinson, 1963) ont été réalisées sur les données. La régression conjointe permet de décomposer l'interaction par une régression simple où le régresseur est l'effet principal du milieu. La régression est utilisée ici comme un cas particulier de régression factorielle.

Nous avons vérifié au préalable la présence d'interaction génotype x milieu au sein de cette expérimentation multilocale et réussi à fortement discriminer les génotypes sur la base des pentes de régression conjointe. Sur les 27 milieux initiaux, la régression conjointe est bien estimée mais au prix d'un grand nombre de milieux, ce qui induit du temps et de forts coûts d'expérimentation, que ce soit en moyens humains ou matériels. Cette pente estimée sur les 27 milieux nous a servi de référence.
L'objectif particulier étant de définir le nombre de milieux optimal pour estimer avec fiabilité la réponse au stress des génotypes, nous avons réalisé des échantillons de milieux de taille différente par la méthode du bootstrap, sur lesquels le coefficient de régression conjointe est calculé. Quatre méthodes d'échantillonnage ont été testées et répétées 2000 fois afin de déterminer, pour chaque taille d'échantillon et chaque génotype, la moyenne et l'intervalle de confiance associés :

- *Méthode A : Echantillonnage sur la population complète*. Tous les milieux sont pris en compte, indépendamment les uns des autres. La méthode consiste à échantillonner un nombre déterminé de milieux (3 à 27), tirés aléatoirement et avec remise parmi l'ensemble des milieux.
- *Méthode B : Echantillonnage indépendant sur des milieux à traitements « Potentiel » et « Limitant »*. Des groupes de milieux sont formés selon le traitement azoté reçu : on ne conserve que les traitements « Potentiel » et « Limitant ».
- *Méthode C : Echantillonnage couplé sur des milieux à traitements « Potentiel » et « Limitant ».* Cet échantillonnage est réalisé sur la base des combinaisons année x lieu auxquelles correspondent les traitements « Potentiel » et « Limitant ».
- *Méthode D : Echantillonnage sur les milieux à forts et à faibles potentiels*. Parmi l'ensemble des milieux, seuls les milieux extrêmes, c'est-à-dire les plus productifs et les moins productifs, sont sélectionnés. L'échantillonnage prend donc en compte des traitements variés, non uniquement liés à la fertilisation azoté

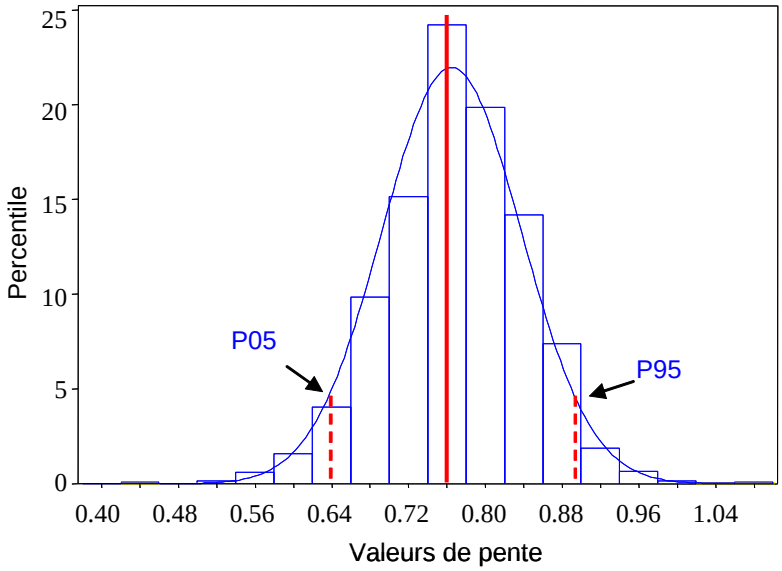


Figure 9. Exemple de la distribution (quasi normale) des valeurs de pente obtenues pour les 2000 tirages permettant de déterminer l'intervalle de confiance par la méthode du percentile (variété Récital). La pente moyenne figure en trait vertical rouge et les bornes de l'intervalle de confiance sont matérialisées en pointillés rouges.

Ne disposant pas de test statistique pour cette méthodologie définissant le nombre optimal de milieux, nous en avons constitué l'équivalent. Pour chaque génotype, il s'appuie sur un intervalle de référence constitué par l'intervalle de confiance de la pente moyenne calculée sur l'ensemble des 27 milieux initiaux. A l'issue de chaque série de bootstraps, un intervalle de confiance à 90% est obtenu par la méthode du percentile à partir des valeurs de pente obtenues pour les 2000 tirages sachant que la distribution des valeurs de pente est quasi normale (Figure 9) : la valeur de pente pour laquelle 5% des effectifs lui sont inférieurs constitue la valeur minimale de cet intervalle tandis que la valeur de pente pour laquelle 5% des effectifs lui sont supérieurs constitue la valeur maximale. En le comparant à l'intervalle de confiance de la pente moyenne calculée sur les 27 milieux initiaux, nous avons décidé que la valeur seuil du nombre de milieux correspond au plus petit nombre de milieux pour lequel l'intervalle de confiance est plus petit que l'intervalle de référence. Le but est de déterminer si la pente moyenne de l'échantillon de taille x est du même ordre de grandeur que la pente moyenne calculée sur la population complète. Illustrée pour la variété Récital en figure 10, la taille minimale de l'échantillon à prélever se situe à 15.

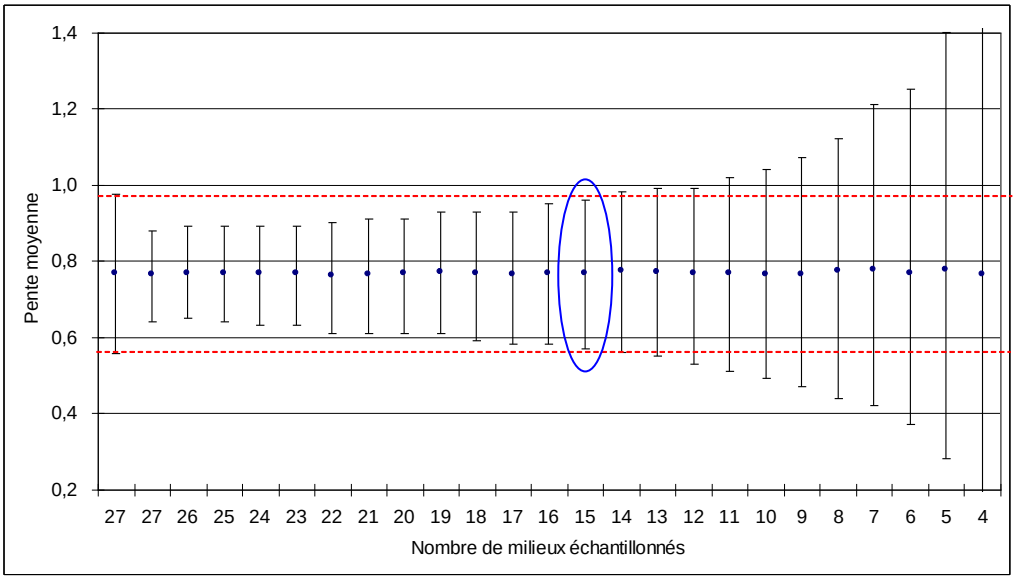


Figure 10. Distribution de la moyenne des pentes de régression conjointe calculée à l'issue des 2000 échantillons bootstraps pour le rendement en grain pour la méthode d'échantillonnage A. Illustration pour le génotype Récital. En abscisse varie la taille de l'échantillon. Les barres verticales représentent l'intervalle de confiance selon un percentile 90% pour chaque taille d'échantillon. Les barres horizontales en pointillés correspondent à l'intervalle de confiance à 95% pour la pente initiale calculée sur les 27 milieux.

En comparant ces intervalles avec l'intervalle de référence obtenu pour chaque génotype sur l'ensemble des milieux, nous avons pu déterminer le nombre seuil (taille d'échantillons minimale) permettant de bien prédire le comportement des génotypes. Ce nombre de milieux a varié entre les trois variables et les méthodes (illustré pour le rendement en grain en tableau 6). Pour la méthode A échantillonnant de façon aléatoire, elle se révèle être la moins performante car le nombre seuil a varié entre les génotypes de 19 à 27 pour le rendement en grain. La méthode D, échantillonnant des milieux extrêmes parmi les milieux les plus productifs et les moins productifs, est la plus économique et permet des gains de temps et de moyens au niveau d'un réseau. Dans ce cas, 11, 10 et 12 milieux sont suffisants en moyenne pour estimer de façon fiable la pente de régression conjointe, respectivement pour le rendement en grain, le rendement en protéines et la teneur en protéines. Avec la méthode C, basée sur une sélection en tenant compte de la fertilisation azotée, 13 milieux sont suffisants à la fois pour les rendements en grain et en protéines et 12 pour la teneur en protéines.

Ces résultats montrent donc qu'on peut réduire avec assez d'assurance le nombre de milieux, mais qu'il faut procéder avec certaines précautions toutefois. En effet, il est important de disposer de milieux suffisamment discriminants, ce qui est suggéré par les méthodes C et D.

Tableau 6. Comparaison du nombre seuil de milieux permettant d'estimer la pente de la régression conjointe pour les 27 génotypes pour le rendement en grain. La méthode A correspond à un échantillonnage aléatoire parmi tous les milieux, la méthode B échantillonne des couples de milieux, avec traitement potentiel et traitement limitant en azote, la méthode C, est similaire à la méthode B mais s'applique à des couples de traitements ayant été testés dans un même lieu et une même année, et la méthode D échantillonne des milieux extrêmes parmi les plus productifs et les moins productifs.

Génotype	Méthode A	Méthode B	Méthode C	Méthode D
Apache	21	10	>14	8
Arche	17	14	14	12
Aztec	22	14	>14	10
Capelle	21	>14	14	>14
Cézanne	27	>14	>14	12
CF99102	17	>14	12	10
Charger	18	12	12	10
Courtôt	>27	>14	>14	>14
Equilibre	26	10	10	10
Esperia	15	12	12	8
Eurêka	16	12	>14	8
Farandole	15	12	10	6
Grisby	>27	>14	>14	14
Isengrain	19	>14	>14	12
Isidor	>27	>14	>14	>14
Nirvana	15	10	>14	8
Ornicar	>27	>14	14	14
Orvantis	>27	>14	12	>14
Parador	18	14	>14	12
Pernel	22	>14	>14	>14
Québon	18	14	>14	10
Récital	15	12	6	10
Renan	>27	>14	>14	14
Ritmo	22	14	>14	12
Soissons	27	>14	>14	>14
Tilburi	>27	>14	8	>14
Vivant	22	>14	>14	10
seuil moyen	22	13	13	11

Pour caractériser la réponse d'un grand nombre de lignées, ce résultat est important d'un point de vue pratique car il permet de limiter le nombre de sites expérimentaux tout en assurant une bonne fiabilité des estimations. Ne disposant pas de l'indice de nutrition azotée pour l'ensemble des milieux, nous n'avons pas pu réaliser cette étude pour les pentes de régression factorielle. Néanmoins, les valeurs obtenues dans le cas de la régression conjointe, qui n'est qu'un cas particulier de régression factorielle, permettront d'avoir une indication sur la fiabilité des pentes qui pourront être établies avec la régression factorielle (cf § suivant).

- ***Caractériser la réponse au stress azoté des lignées de la population***

La réponse au stress azoté des lignées de la population peut être caractérisée selon plusieurs méthodes. Sans l'aide de génotypes révélateurs, une première méthode consisterait à utiliser le rendement moyen du milieu dans un modèle de régression conjointe pour estimer la réponse des lignées à des conditions variées de milieux comme réalisé dans le paragraphe précédent. Or le rendement moyen du milieu peut dépendre de plusieurs facteurs comme dans l'étude multilocale de la population ARE. Une autre méthode consiste à utiliser l'indice de stress azoté comme régresseur dans un modèle de régression factorielle de façon à estimer la réponse des lignées au stress azoté, ce qui permet de répondre de façon pertinente à la problématique présente.

La sensibilité au stress azoté est estimée par la pente de la régression factorielle (Figure 11). A ce paramètre, nous avons ajouté la valeur prédite par la régression factorielle pour une valeur d'indice de stress de 0.5, ce qui correspond à un stress azoté modéré de 0.5 (correspondant à une perte de rendement moyenne de l'ordre de 30%). L'ordonnée à l'origine est plus couramment utilisée mais n'aurait pas eu de sens agronomique dans notre cas. En effet, comme il n'a pas été possible de recueillir des observations à un même niveau de stress par l'expérimentation multilocale (aucun milieu n'ayant présenté le même niveau de stress azoté comme présenté en figure 2), cette méthode a donc l'avantage de comparer les lignées à un même niveau de stress et permet de viser des valeurs acceptables au niveau agronomique. Il est à noter que chaque pente est estimée à partir de 12 observations. Ceci est dans la gamme des valeurs de nombre seuil de milieux précédemment définie pour estimer au mieux les pentes (de régression conjointe). Par conséquent, on peut faire l'hypothèse que les résultats présentés ici sont obtenus avec une assez grande fiabilité.

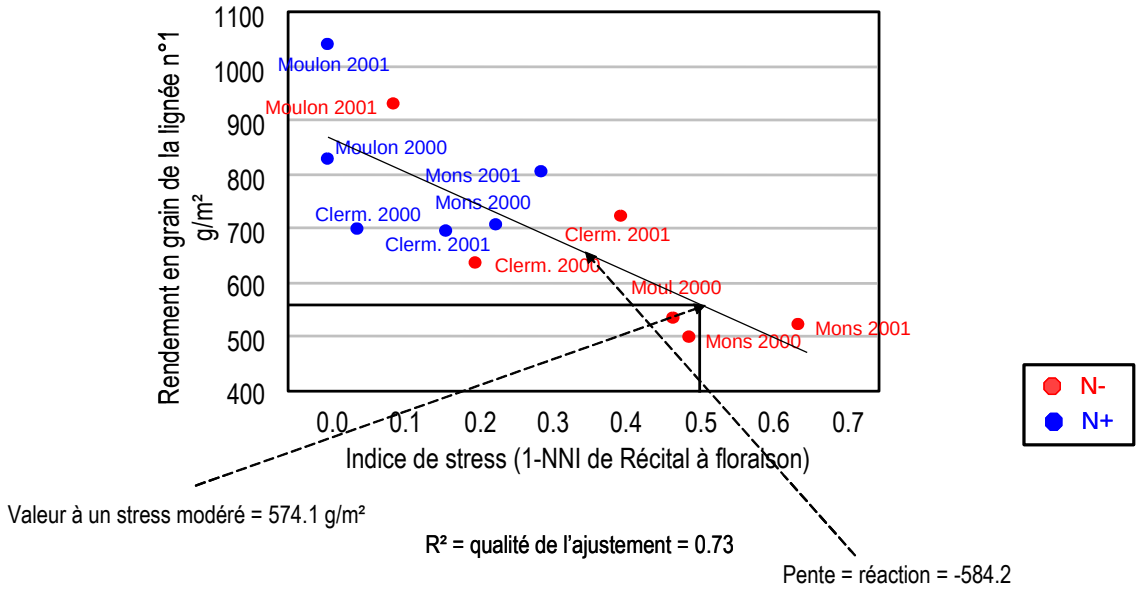


Figure 11 : Estimation de la réponse au stress azoté de la lignée n°1 de la population ARE par deux paramètres de la régression factorielle : la pente permet d'estimer la sensibilité au stress et l'ordonnée à 0.5 permet d'estimer le comportement vis-à-vis d'un stress modéré.

La population se montre très variable pour le niveau de tolérance avec des lignées montrant à la fois une faible réaction au stress (faible pente de régression factorielle) et un rendement élevé pour un INN de 0.5 (Figure 12).

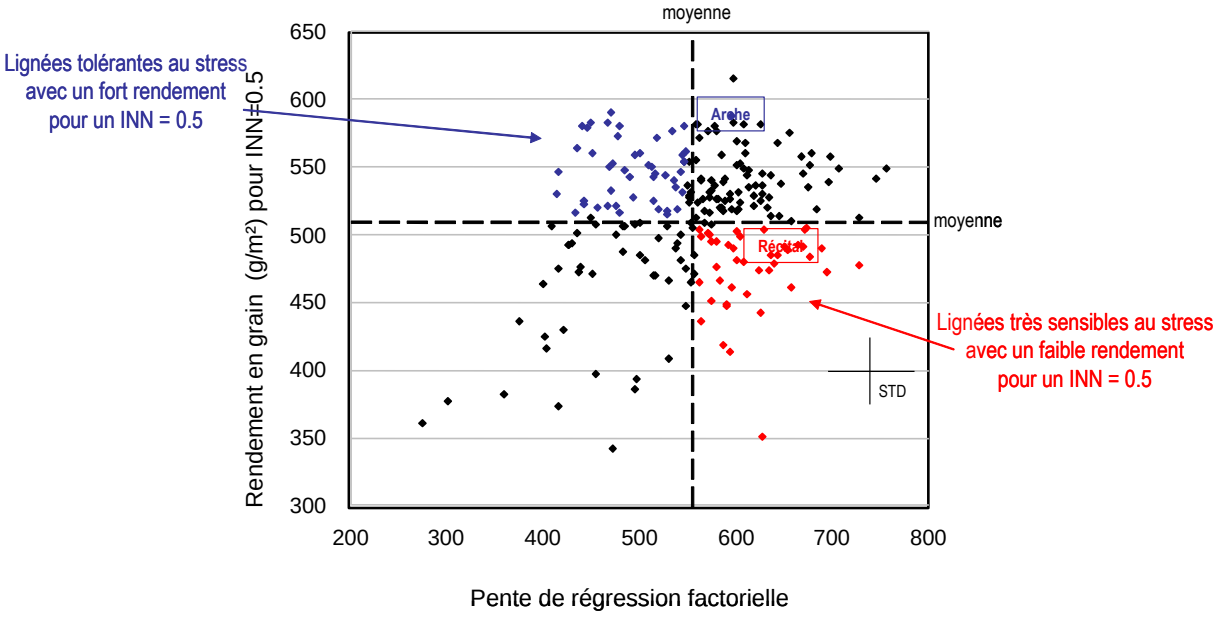


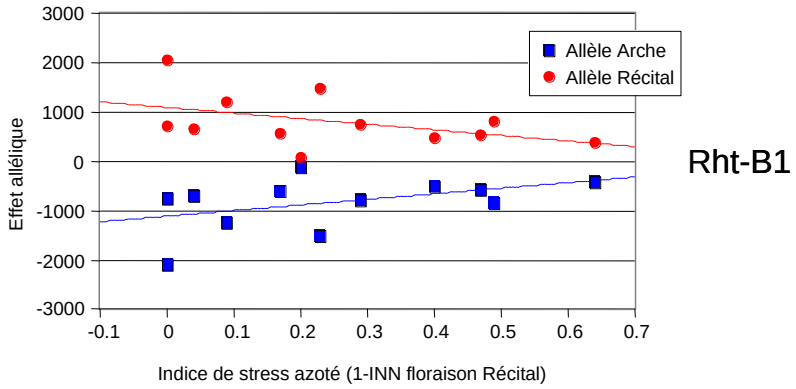
Figure 12. Régression factorielle entre le rendement en grain et l'indice de stress azoté : variabilité génétique observée entre le rendement en grain à un stress modéré (ordonnée de la pente de la régression factorielle pour INN = 0.5) et la réponse au stress azoté (pente de la régression factorielle).

Pour approfondir l'analyse des résultats, nous avons corrélé la pente de la régression factorielle et le rendement pour un INN de 0.5 avec trois caractéristiques génotypiques des lignées. Le rendement en grain pour un INN de 0.5 est significativement corrélé avec la hauteur des lignées, la date d'épiaison et le poids de mille grains maximum (d'environ 0.2 à 0.3). Les lignées les plus tardives et plus hautes ont tendance en moyenne à être plus productives à faible niveau d'azote. Selon Jacques Le Gouis (communication personnelle), ces lignées auraient une meilleure capacité à stocker l'azote et à profiter de la minéralisation avant la floraison.

- ***Détecter des QTL pour la réponse au stress azoté***

La réponse au stress azoté des lignées de la population a été estimée selon la méthode décrite précédemment qui consiste en une régression factorielle introduisant sous forme de covariable du milieu un indice de stress azoté basé sur l'INN mesuré sur des génotypes révélateurs. Les paramètres de cette régression factorielle, c'est-à-dire la pente de la régression, l'ordonnée pour une valeur d'INN de 0.5 et le coefficient de détermination, ont été considérés comme les autres caractères pour la détection de QTL (Laperche et al 2007). En considérant la totalité des détections, 233 QTL ont été détectés sur l'ensemble des groupes de liaison dont 30 QTL pour les paramètres de la régression factorielle. La part de variance phénotypique expliquée par un QTL variait de 3 à 33 %, les plus fortes valeurs ayant été observées sur les groupes de liaison 4B et 2D1. Les deux parents apportent des allèles favorables, mais c'est le parent Arche (tolérant au stress azoté) qui apporte le plus souvent des allèles favorables par rapport à l'autre parent Récital (sensible).

Parmi tous les loci détectés, cinq groupes de liaison 1B, 3B, 2D, 4B et 5A2 concentrent un très grand nombre de QTL (Laperche et al 2007). Au niveau de 1B, on y retrouve entre-autres un QTL pour le rendement en azote estimé pour un INN de 0.5 après régression factorielle sur l'indice de stress azoté (1-INN floraison de Récital). De nombreux QTL d'interaction sont observés dans la région 2D. Le gène candidat le plus probable est le gène de sensibilité à la photopériode. Pour le groupe de liaison 4B, on retrouve des QTL pour un grand nombre des caractères mesurés et où les effets d'interaction sont très forts. Le gène candidat dans cette région est le gène *Rht-B1* entraînant un nanisme par insensibilité à la gibbérelline. L'allèle « nain » augmente la sensibilité à la carence estimée par la pente de la régression factorielle du nombre de grains par m² sur l'indice de stress azoté. On observe que l'avantage habituellement observé en présence de cet allèle de nanisme dans des conditions agronomiques favorables a tendance à diminuer quand l'intensité du stress augmente (Figure 13). Enfin, sur le groupe de liaison 5A2, plusieurs QTL d'interaction pour le poids de mille grains ont été détectés. Le gène candidat le plus probable est le gène d'aristation B1 contrôlant la présence d'une barbe au niveau de chaque fleur. Une inversion des effets alléliques a pu être observée en fonction de l'intensité du stress azoté. A faible niveau d'azote, l'allèle provenant du parent Arche et donnant des épis barbus entraîne un poids de mille grains supérieur. A fort niveau d'azote, l'avantage est conféré par l'allèle apporté par Récital et qui donne des épis non barbus.



igure 13. Evolution des effets alléliques pour le nombre de grains au niveau du marqueur du gène Rht-B1.

- ***Une nouvelle méthodologie pour identifier la spécificité des QTL à certains milieux***

L'étude précédente laisse toutefois en suspens les variables du milieu qui viennent en interaction avec le stress azoté et qui ont été mises en évidence par les génotypes révélateurs (cf p. 16). Nos objectifs principaux sont donc d'identifier les principales régions chromosomiques à l'origine des interactions QTL x milieu et de développer pour cela une méthodologie permettant de comprendre la spécificité de certains QTL à des conditions particulières de milieu (Zheng et al, 2010). La population ARE testée dans 12 milieux a été étudiée pour ses deux composantes du rendement en grain : le nombre de grains par m² et le poids de mille grains.

Nous avons décomposé l'interaction QTL x milieu et expliqué la spécificité des QTL à certains milieux selon une stratégie en quatre étapes :

1) détection des QTL pour la variable d'intérêt (nombre de grains ou poids de mille grains) dans chaque milieu,

2) détection des QTL pour des caractères de sensibilité aux différents facteurs du milieu ; les sensibilités correspondent aux pentes des régressions factorielles où les facteurs du milieu sont introduits comme covariables

3) étude des co-localisations des QTL détectés dans les deux points pré-cités et en cas de co-localisation, décomposition de l'interaction QTL x milieu par les covariables mises en évidence ; une co-localisation étant définie par une position à des marqueurs dont les intervalles de confiance se recoupent

4) description des différences alléliques selon les covariables mises en évidence par co-localisation.

Pour la première étape, 15 QTL détectés pour le nombre de grains sont répartis sur 9 chromosomes : respectivement sur 1B, 2B1, 2D1, 3B, 3D, 4B, 5A1, 6A et 7D2 (illustration de groupe de liaison 4 B en tableau 7). Aucun QTL n'est détecté sur les 12 milieux, ce qui indique la spécificité des QTL à certains milieux. Les coefficients de détermination peuvent parfois être élevés, tel celui du QTL proche du marqueur wmc238 sur le chromosome 4B qui s'élève à 30.3%, avec un effet additif de +1441 grains pour l'allèle conféré par Arche dans le milieu de Mons en 2000 selon la conduite +N (0Ms+N dans le tableau 7).

Tableau 7. Illustration de la spécificité de QTL à certains milieux pour le nombre de grains sur le groupe de liaison 4B. Les intervalles de confiance correspondent à +/- 1 du pic pour le LOD. L'allèle favorable est porté soit par le parent Arche (A) soit par le parent Récital (R). Les milieux sont codés par l'année (0 pour 2000 et 1 pour 2001), le lieu (Cl pour Clermont, Ml pour Le Moulon et Ms pour Mons) et le traitement azoté (-N pour le bas niveau et +N pour le niveau élevé). Extrait de BS Zheng et al (2010).

Chromo-some	Marqueur	Milieu	Position (cM)	Intervalle de confiance (cM)	LOD	R^2 %	Add (g/m²)	Allèle favorable
4B	rht1	1Ms-N	94	70-140	2.7	5.7	415	A
4B	gwm192	0Ml-N	32	26-34	3.3	7.2	528	A
		0Ml+N	32	26-34	8.8	18.2	1128	A
		1Ms+N	32	26-34	3.7	7.9	572	A
4B	wmc238	Moyenne	34	32-36	11.2	21.6	835	A
		0Cl+N	34	32-36	8.7	17.2	703	A
		0Ms-N	34	32-36	8.2	16.2	700	A
		0Ms+N	34	32-36	16.7	30.3	1441	A
		1Cl+N	34	32-36	3.1	6.6	770	A
		1Ml-N	34	32-36	7.8	15.6	1146	A
4B	gpw1108	1Ml+N	38	32-46	15.8	29.2	2195	A
4B	gwm540b	1Cl-N	130	102-154	2.7	7.3	1269	A

Pour la deuxième étape, les indicateurs du milieu identifiés grâce aux génotypes révélateurs (Tableau 3) sont introduits comme covariables du milieu dans les régressions factorielles. Les pentes correspondantes permettent d'estimer les sensibilités aux variables du milieu pour lesquelles 10 QTL sont détectés et sont localisés sur 5 chromosomes : 1B, 2B1, 2D1, 3D et 4B. Les coefficients de détermination peuvent être parfois assez élevés : c'est le cas notamment pour la covariable décrivant le stress azoté avec le génotype révélateur Récital (finnR) où il atteint 26.8 % ou pour la somme des degrés-jours > 25°C à la méiose (stcmbA) située sur le chromosome 2D1 à proximité du marqueur gpw4085 qui explique 18% de la variation phénotypique. Selon les régions chromosomiques (Tableau 8), les variables sont soit spécifiques du stress azoté (une seule région concernée à proximité du marqueur wmc238 sur le chromosome 4B), soit en interaction avec le stress azoté (exemple du marqueur gwm268 sur le chromosome 1B) ou carrément différentes du stress azoté (en particulier la somme des degrés-jours > 25°C à la méiose (stcmb) à proximité du marqueur gwm540b sur le chromosome 4B).

Tableau 8. Détection de QTL pour les sensibilités aux variables du milieu pour le nombre de grains : selon les régions chromosomiques, le stress azoté agit seul ou en interaction avec d'autres covariables. Les intervalles de confiance correspondent à +/- 1 du pic pour le LOD. L'allèle favorable est porté soit par le parent Arche (A) soit par le parent Récital (R). Décodage des covariables du milieu : finn = stress azoté basé sur l'indice de nutrition azotée à la floraison[1], srglmb et srglmf = somme des rayonnements globaux journaliers respectivement pour la méiose +/- 3 jours et la période méiose-floraison, njss = nombre de jours secs successifs du stade épi 1 cm -150 °j au stade épi 1 cm +350 °j, sri1200b = somme des rayonnements globaux journaliers < 1200 J à la méiose +/- 3 jours, stcmb = somme des degrés-jours > 25°C à la méiose +/- 3 jours, stmpf30 = somme des températures moyennes journalières en base 0 de -30 j à floraison jusqu'à la floraison, st25ef = somme des températures maximales > 25°C de l'épiaison à la floraison. Chaque lettre finale de covariable désigne le génotype révélateur sur lequel elle a été mesurée : A pour Arche, I pour Ritmo, R pour Récital et S pour Soissons. Extrait de BS Zheng et al (2010).

Chromo-some	Marqueur	Covariable du milieu	Position (cM)	Intervalle de confiance (cM)	LOD	R^2 (%)	Add	Allèle favorable
1B	gwm268	finnA	74	58-88	2.7	5.8	0.45	A
		srglmbA	74	56-88	2.5	5.3	-1.40	R
		srglmfA	76	64-88	4.0	8.3	1.13	A
4B	wmc238	finnA	34	32-36	6.4	13.1	-0.69	R
		finnI	34	32-36	5.0	10.5	-0.53	R
		finnR	34	32-42	14.2	26.8	-1.06	R
		finnS	34	32-36	8.3	16.4	-0.72	R
4B	gwm540b	stcmbA	154	128-154	2.9	8.1	-0.69	R

Au total, 51 QTL ont été trouvés pour le nombre de grains, le poids de mille grains et leurs sensibilités à diverses variables du milieu. Quatre de ces QTL, à la fois pour le nombre de grains et le poids de mille grains, sont associés aux chromosomes 1B, 2D1, 4B et 5A1, montrant des effets pléiotropiques. La figure 14 illustre les différentes co-localisations entre les QTL détectés pour le nombre de grains et ceux détectés pour les sensibilités aux variables du milieu.

Pour la troisième étape, le tableau 9 montre les résultats concernant le nombre de grains : la régression factorielle explique entre 15.1 % et 83.2 % de l'interaction QTL x milieu en impliquant 3 covariables principales : le stress azoté à la floraison (variable « finn » sur les quatre témoins révélateurs désignés par finnA, finnI, finnR ou finnS selon le génotype révélateur), la somme des rayonnements ± 3 jours à la méiose (variable srglmb sur plusieurs génotypes révélateurs) et la somme des degrés-jours > 25°C à la méiose (stcmb). De façon analogue pour le poids de mille grains (résultats non montrés), 13.5 % à 81.8 % de l'interaction QTL x milieu a été décomposée en impliquant trois principales covariables du milieu : le déficit hydrique de la floraison au stade laiteux, la somme des degrés-jours >0°C du stade laiteux au stade maturité et le déficit hydrique du sol à maturité.

[1] L'indice de stress utilisé ici est légèrement différent de celui indiqué en p. 19 : il correspond à 1+9(finn observé – finn max)/(finn min – finn max) où finn min et finn max correspondent aux valeurs extrêmes rencontrées sur le réseau.

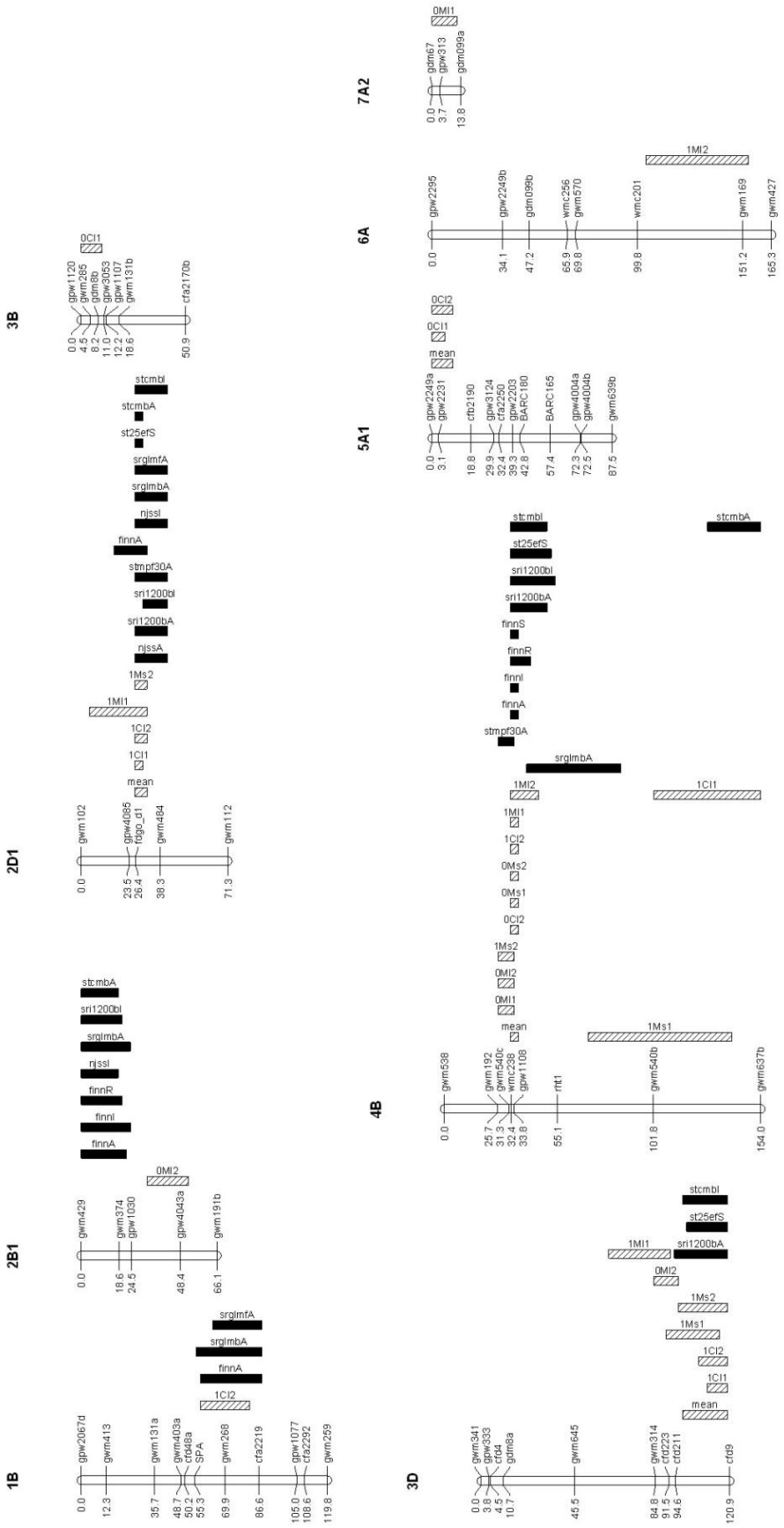


Figure 14. Illustration des co-locations : QTL pour le nombre de grains (symboles pleins) et pour les sensibilités aux covariables environnementales (symboles hachurés) détectés sur la population Arche x Récital. A gauche de chaque groupe de liaison, sont indiqués les noms des marqueurs et à droite la distance génétique entre les marqueurs.

Tableau 9 : Analyse de variance pour le nombre de grains observé sur les lignées de la population ARE et décomposition de l'interaction QTL x milieu (QEI) par des variables du milieu. Tous les termes sont significatifs à la probabilité 0.0001. Les QTL sont indiqués par les noms des marqueurs. Décodage des covariables du milieu : finn = stress azoté basé sur l'indice de nutrition azotée à la floraison, srglmb et srglmf = somme des rayonnements globaux journaliers respectivement pour la méiose +/- 3 jours et la période méiose-floraison, stcmb = somme des degrés-jours > 25°C à la méiose +/- 3 jours, st25ef = somme des températures maximales > 25°C de l'épiaison à la floraison. Chaque lettre finale de covariable désigne le génotype révélateur sur lequel elle a été définie : A pour Arche, I pour Ritmo, R pour Récital et S pour Soissons.

Effets et leurs décomposition	ddl	SCE	P value	%SCE QEI	%SCE GEI	%SCE modèle
G	219	18095750027	<0.001			14.9
E	11	86542814451	<0.001			71.3
GEI	2388	16685978546	<0.001			13.8
Résiduelle	2611	5601844285				
Total	5237	128281917172				
gwm268 (1B)	1	247692308	0.090			0.2
gwm268 × E	11	453603959	<0.001		2.7	0.4
gwm268 × srglmfA	1	174298248	<0.001	38.4	1.0	
gwm268 × srglmbA	1	148966319	<0.001	32.8	0.9	
gwm268 × finnA	1	32588075	0.007	7.2	0.2	
gpw4085 (2D1)	1	809622521	0.002			0.7
gpw4085 × E	11	630761234	<0.001		3.8	0.5
gpw4085 × stcmbA	1	280609676	<0.001	44.5	1.7	
gpw4085 × srglmfA	1	140145882	<0.001	22.2	0.8	
gpw4085 × srglmbA	1	101256345	<0.001	16.1	0.6	
gpw4085 × finnA	1	19996188	0.027	3.2	0.1	
cfd211 (3D)	1	694294917	0.003			0.6
cfd211 × E	11	135359741	0.002		0.8	0.1
cfd211 × st25efS	1	91839542	<0.001	67.8	0.6	
cfd211 × stcmbI	1	25804245	0.019	15.2	0.2	
wmc238 (4B)	1	1517172581	<0.001			1.3
wmc238 × E	11	754300243	<0.001		4.5	0.6
wmc238 × finnR	1	236579073	<0.001	31.4	1.4	
wmc238 × finnI	1	261342217	<0.001	34.6	1.6	
wmc238 × finnA	1	77031926	<0.001	10.2	0.5	
wmc238 × finnS	1	31943459	0.009	4.2	0.2	
gpw1108 (4B)	1	2560526853	<0.001			2.1
gpw1108 × E	11	1031387101	<0.001		6.2	0.9
gpw1108 × st25efS	1	232174504	<0.001	22.5	1.4	
Rht-B1 (4B)	1	880452010	<0.001			0.7
Rht-B1 × E	11	770389037	<0.001		4.6	0.6
Rht-B1 × srglmbA	1	156707837	<0.001	20.3	0.9	
gwm540b (4B)	1	1160193489	<0.001			1.0
gwm540b × E	11	289974836	<0.001		1.7	0.2
gwm540b × stcmbA	1	39790974	0.003	13.7	0.2	

La quatrième étape permet de comprendre la dynamique des effets alléliques en fonction des valeurs des covariables environnementales. Illustrée pour le nombre de grains (Figure 15), elle permet de voir qu'au marqueur gpw4085, les lignées HD qui possèdent l'allèle de Arche vont produire plus de grains par m² quand la somme des rayonnements globaux journaliers à la méiose (srglmbA) est faible et le stress azoté (finnA), la somme des rayonnements de la méiose à la floraison (srglmfA) et la somme des degrés-jours > 25°C à la méiose (stcmbA) sont forts. Inversement, les lignées avec l'allèle Récital vont être supérieures quand srglmbA est fort et finnA, srglmfA et stcmbA sont faibles.

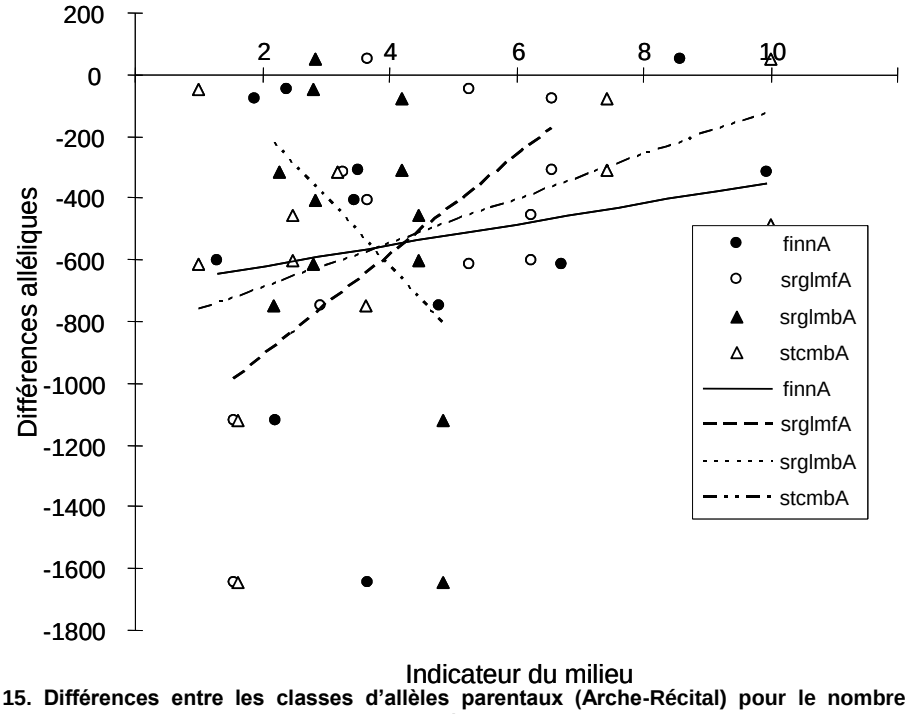


Figure 15. Différences entre les classes d'allèles parentaux (Arche-Récital) pour le nombre de grains moyen en fonction des valeurs des covariables du milieu. Décodage des covariables : finn = stress azoté basé sur l'indice de nutrition azotée à la floraison, srglmb et srglmf = somme des rayonnements globaux journaliers respectivement pour la méiose +/- 3 jours et la période méiose-floraison, stcmb = somme des degrés-jours > 25°C à la méiose +/- 3 jours. La lettre finale A des covariables désigne qu'elles ont été définies pour le génotype révélateur Arche.

En conclusion, cette étude a permis de montrer que la covariable de stress azoté est une des plus importantes pour le nombre de grains, ce qui n'est pas surprenant car le dispositif expérimental incluait des forts et faibles niveaux d'azote, mais que ce n'est pas la seule covariable. D'autres facteurs du milieu ont aussi été mis en évidence, en particulier le rayonnement au moment de la méiose (srglmb) et les fortes températures au moment de la méiose (stcmb). Au contraire, pour le poids de mille grains, il n'y a pas eu de stress azoté alors que les déficits hydriques et les fortes températures en fin de remplissage sont des facteurs essentiels. L'identification des QTL et des covariables environnementales à l'origine des interactions QTL x milieu a permis de contribuer à la compréhension des interactions génotype x milieu au point de vue génétique et biologique. Cette analyse permet de cibler des régions du génome en vue de l'amélioration du rendement en grain et de l'adaptation du blé à des environnements spécifiques. Dans le futur, la prise en compte des variables environnementales mises en évidence dans les programmes de sélection pourrait aider à créer de nouvelles variétés plus adaptées ou plus stables.

2.3 Conclusion

Après l'évolution des thématiques de l'unité en 2001, nous étions arrivés à un stade où la thématique méthodologie d'analyse des interactions génotype x milieu ne cohabitait pas simplement avec les autres thématiques de l'unité mais s'imbriquait complètement avec la thématique « azote », après certes, un laps de temps nécessaire pour trouver les points d'ancrage et amorcer les expérimentations. En effet, tout ce travail sur les interactions génotype x milieu aurait eu un intérêt moindre s'il n'avait pas contribué à la caractérisation des régions chromosomiques pour les caractères étudiés au sein de l'unité de Mons, ce qui faisait l'originalité et la richesse de mon positionnement par rapport à des démarches exclusivement agronomiques.

3. Un nouveau programme sur les Agro-ressources

3.1 Introduction

Suite à l'arrêt de la thématique « Adaptation du blé à une alimentation azotée sub-optimale » au sein de l'UMR, les perspectives de mon programme scientifique sur blé s'amenuisaient et j'ai donc choisi de mettre à profit mes compétences de génétique quantitative pour développer une thématique en relation avec la production de biomasse pour une valorisation non alimentaire. Ceci se place dans le cadre du « Carbone renouvelable » comme proposé dans le schéma de centre initié en 2004 par Ghislain Gosse, alors président du centre de Lille, et qui a reçu l'encouragement de la présidente de l'INRA, Marion Guillou. En tant que directrice de l'unité à cette époque, j'avais beaucoup œuvré afin que les chercheurs de notre unité s'impliquent pour définir ce schéma. Néanmoins, mon principal constat était que le schéma de centre aurait gagné à être complété par un programme de génétique sur une culture dédiée à la production de biomasse, programme tout à fait novateur au sein de notre département et au sein de notre institut. La deuxième partie du mémoire sera consacrée à la présentation de la genèse de la nouvelle thématique sur une culture dédiée, à la stratégie de recherche, aux premiers travaux de recherche et à leurs perspectives.

3.2. Genèse de la thématique « Génétique de la production de la biomasse par le miscanthus pour une valorisation en bioénergie et en agro-matériaux »

- ***Une forte demande socio-économique en faveur du carbone renouvelable se traduisant par une politique scientifique de l'Inra renforçant la valorisation de la biomasse***

Dans le contexte de la raréfaction inévitable du carbone fossile et de la nécessaire limitation des émissions de gaz à effets de serre d'origine anthropique identifiés comme responsables du réchauffement de la planète, il est actuellement reconnu que la matière organique végétale (ou biomasse) fournira une source de carbone renouvelable pour l'énergie, les matériaux et la chimie (IEA Bioenergy, annual report 2009). Ce développement d'une chimie verte du carbone renouvelable est la seule alternative capable de soustraire du CO_2 à l'atmosphère, favorisant ainsi la limitation des émissions de gaz à effet de serre.

Des systèmes d'agriculture durable devront produire une ressource composée d'espèces non alimentaires capables d'une forte production à bas niveaux d'intrants, à laquelle s'ajouteront les différents déchets verts et coproduits de l'agriculture, de la sylviculture, de l'industrie et des ménages. Dans ses orientations de recherche pour les 10 ans à venir, l'Inra prévoit d'identifier les espèces végétales adéquates et de développer les outils capables de produire de l'énergie sans bouleverser les équilibres écologiques ni empiéter sur la production alimentaire (Inra, document d'orientation 2010-2020). En effet, la valorisation de la biomasse fait partie des quatre chantiers prioritaires de l'Institut. Dès 2004, le centre Inra de Lille, sous l'impulsion de son président Ghislain Gosse, a axé sa politique de recherche sur les « voies d'adaptations et les options alternatives pour les régions et systèmes de grandes cultures » (Boizard et al, 2004). Une des options alternatives vise la mise au point de nouvelles utilisations de la production végétale (agro-matériaux, énergie…) plaçant la variabilité génétique au centre des enjeux. L'objectif est de mettre au point des systèmes de culture intégrant des plantes dédiées[2] tout en minimisant les impacts environnementaux (Unité INRA Agro-impact) et d'orienter conjointement la sélection végétale vers ces débouchés par l'initiation d'un programme de génétique de la production de biomasse par une culture dédiée (UMR SADV). Ainsi, c'est en 2006 que j'ai commencé à développer la thématique concernant la génétique de production de biomasse par le miscanthus en vue de construire des innovations variétales adaptées aux régions septentrionales françaises et limitrophes pour une valorisation non alimentaire.

- ***Le miscanthus, une source de carbone renouvelable destiné à de l'énergie, des agro-matériaux et de la chimie sans empiéter sur la production alimentaire***

Parmi les plantes en C4 non alimentaires, le miscanthus est une graminée pérenne fortement productive et peu exigeante en intrants à laquelle on s'intéresse de plus en plus en Europe comme

[2] dont la biomasse aérienne serait complètement valorisée

aux USA (Hastings et al, 2008 ; Heaton et al, 2008). En France, la recherche a activement commencé à définir les pratiques culturales les plus adaptées en prenant en compte les impacts sur l'environnement (projet REGIX). Dans une étude comparant plusieurs espèces appartenant à divers genres dans le Nord de la France, l'hybride interspécifique stérile *Miscanthus x giganteus* a été identifié comme un bon candidat pour la production de biomasse en raison de son potentiel de rendement élevé à des faibles niveaux d'intrants et en raison de son faible impact sur l'environnement (Cadoux et al, 2010). En France, les productions maximales de matière sèche aérienne varient de 21 à 32 t/ha en récolte automnale sans irrigation (Cadoux et al, 2008) tandis que le potentiel peut atteindre jusque 50 t/ha en conditions non limitantes en eau et en azote (Cadoux et al, 2008). La récolte hivernale, plus couramment pratiquée, enregistre des rendements inférieurs de 30% (Cadoux et al, 2010).

Le miscanthus est cultivé sur 3000 ha en 2010 surtout dans le Nord de la France (source FRD-ADEME, Bewa (2011)) avec des surfaces en constante augmentation depuis 2007. En outre, sur les 2500 ha contractualisés par la société Novabiom (France), une seule variété appartenant à l'espèce *Miscanthus x giganteus* est cultivée (un clone de triploïde stérile britannique de *Miscanthus x giganteus* - de Maupeou, communication personnelle). Cette situation ne peut pas être considérée comme durable, la culture monoclonale étant risquée en raison d'une possible défaillance variétale de la tolérance aux facteurs du milieu ou aux ravageurs. Il est donc nécessaire de diversifier l'offre variétale grâce à un programme d'amélioration génétique.

Les principaux débouchés actuels en France concernent la production d'énergie thermique (société Novabiom, siège social à Champhol (28) et la dépollution (société Phytorestore, siège social à Paris). D'autres sont actuellement visés par les industriels : le biocarburant 2ème génération (société Procéthol 2G dans le cadre du projet FUTUROL) et le biomatériau (société Innobat, siège social à Clapiers (34)). L'agro-matériau semble un débouché accessible car, lors d'une conférence sur le miscanthus en Allemagne en 2006, j'ai pu visiter une société allemande qui produit du béton léger à partir de cannes de miscanthus.

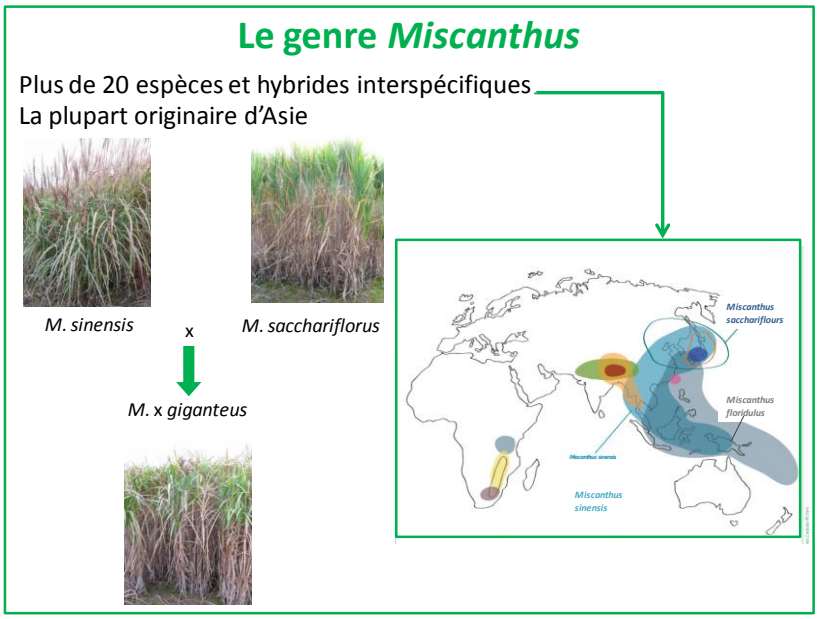


Figure 16. Origine géographique des espèces du genre *Miscanthus* (d'après Hodkinson et al, 2002)

L'utilisation de variation génétique naturelle trouvée au sein du genre *Miscanthus* qui contient une vingtaine d'espèces dont les deux espèces parentales *M. sinensis* et *M. sacchariflorus* à l'origine de l'hybride interspécifique *Miscanthus x giganteus* (Figure 16 ; d'après (Hodkinson et al, 2002)) devrait faciliter l'élargissement de l'offre variétale par la création de variétés cultivées adaptées soit au niveau de l'espèce ou au niveau interspécifique. Le nombre chromosomique de base du genre *Miscanthus* est de 19 chromosomes avec des niveaux de ploïdie allant de 2x à 6x. Selon (Deuter et Abraham, 1998), le croisement entre espèces de niveaux de ploïdie différents est réalisable pour créer de nouveaux hybrides interspécifiques. La stérilité est une caractéristique incontournable pour empêcher que les variétés cultivées de miscanthus soient invasives par la dispersion de graines dans l'environnement (Jorgensen et Muhs, 2001 ; Quinn et al, 2010).

3.3. Une stratégie de recherche globale développée en trois étapes et cinq projets

- ***Une stratégie de recherche globale assez similaire avec celle des espèces déjà cultivées en France***

La stratégie de recherche globale comprend beaucoup de similitudes avec celle menée sur des espèces déjà cultivées en France et peut se décomposer en trois étapes. La culture étant récente en France et limitée à la seule espèce hybride *M. x giganteus*, et aucune étude n'ayant comparé différentes espèces en France, une première étape vise à **explorer les potentialités agronomiques de différentes espèces de miscanthus** dans le but de déterminer une (ou plusieurs) espèce(s) adéquate(s) pour les conditions françaises et **identifier les principaux caractères clés liés à la production de biomasse**. Selon la valorisation envisagée, l'hypothèse d'une interaction entre le génotype et la date de récolte est à envisager. Parallèlement, les facteurs abiotiques qui peuvent influencer le comportement de la plante sont à explorer. La bibliographie fait apparaître que peu de facteurs biotiques (maladies, ravageurs) sont rencontrés en Europe sur le miscanthus, d'où une concentration des efforts sur les facteurs abiotiques. En tenant compte de l'espèce et du facteur du milieu d'intérêt précédemment identifiés, ces objectifs seront poursuivis dans une deuxième étape par des études génétiques pour **comprendre le déterminisme génétique de la production de biomasse et des caractères associés**. Une dernière étape consistera à valoriser les acquis précédents pour **créer des innovations variétales adaptées aux régions septentrionales françaises et limitrophes** dont la biomasse et sa composition auront été façonnées pour les différents débouchés précités. En effet, il peut être judicieux d'optimiser l'innovation variétale en visant les différents débouchés de manière intégrée car ils peuvent être complémentaires : par exemple, l'ensemble des produits transformés permettrait de valoriser les sucres fermentescibles pour le biocarburant d'une part, et de valoriser les éléments ligneux pour l'élaboration d'agro-matériaux d'autre part.

S'il existe des similitudes avec les autres espèces déjà cultivées, des différences existent cependant et concernent le fait de travailler au niveau d'un genre et non au niveau d'une espèce et surtout le manque de connaissances d'ordre génétiques (et même génériques) au niveau de la plante. La difficulté vient aussi du caractère pérenne de la plante qui exige au moins trois années de résultats pour estimer la production de biomasse au champ, ce qui retarde la valorisation sous forme de publication. Enfin, pour démarrer le programme, il fallait acquérir non seulement une connaissance de la plante, mais aussi une technicité expérimentale, des moyens financiers et humains. D'où la nécessaire construction de projets pour pallier à tous ces manques.

- ***La constitution de projets et d'une équipe pour mener le programme de recherche***

Pour initier le programme de recherche, j'ai soumis deux projets, tous les deux acceptés. Le premier projet intitulé PEL (2007-2008) portait sur l'« Introduction d'espèces valorisant la plante entière pour la production de bioénergie en Picardie : analyse comparée et évaluation de la variabilité génotypique ». J'ai fait labelliser avec succès ce projet par le pôle de compétitivité à vocation mondiale « Industries et Agro-ressources » (IAR) des régions Picardie et Champagne-Ardenne, permettant ainsi une première reconnaissance de notre UMR auprès de ce pôle. Le deuxième projet nommé MISCAZOTE (2008-2011) est relatif à l'« Etude du fonctionnement de la culture de miscanthus et de son métabolisme azoté : contribution à la modélisation de la réponse à l'azote limitant et mise en évidence de variabilité génotypique ». Parallèlement, je participe à trois autres projets : le projet PAROIFROID (2007-2010) concernant la « Recherche de critères pertinents permettant de caractériser le déterminisme génétique des effets du froid sur la paroi », le projet ARCHI C4 (2008-2010) sur l'« Analyse de l'effet des facteurs limitant l'implantation de deux cultures dédiées à la production de biomasse plante entière » et le projet FUTUROL (2009-2011 pour la période nous concernant) dont l'objectif est de mettre sur le marché à l'horizon 2016 la licence d'un procédé durable et compétitif de production d'éthanol « 2ème génération » par voie biologique. J'ai aussi fait labelliser le projet PAROIFROID au niveau du pôle IAR. La figure 17 permet de synthétiser les liens entre les différents projets concernant la première étape de recherche.

Ces différents projets ont permis d'établir différentes collaborations (Figure 17) :

- au sein de l'UMR SADV : Catherine Giauffret (projet ARCHI C4) et Isabelle Lejeune (projet PAROIFROID)
- avec l'unité INRA Agro-Impact de Mons : Stéphane Cadoux de l'équipe d'Hubert Boizard (projets PEL, MISCAZOTE)
- avec l'UMR FARE de Reims : Brigitte Chabbert (projet FUTUROL)
- avec l'UPJV d'Amiens : équipe de Frédéric Dubois.

Depuis 2007, l'équipe s'est peu à peu étoffée : Stéphanie Arnoult m'a rejointe en 2007, d'abord en CDD, puis a été recrutée en 2008 (IE2). Elle contribue efficacement à la conduite et la coordination des dispositifs expérimentaux au champ et en conditions contrôlées nécessitant la mise au point de protocoles, l'encadrement de stagiaires et la gestion de données. Marie-Chantal Mansard (TR EX) nous a rejointes en 2008, nous apportant un précieux appui technique. Dans le cadre du projet FUTUROL, Annabelle Obeuf travaille sur la composition de la biomasse (IE 2009-2012) et dans le cadre du projet ARCHI C4, Olivier Postaire (IR2 2008-2011 à 50%) et Stéphane Hervieu (AI, 2008-2010 à 50%) œuvrent pour acquérir des connaissances pendant l'installation du couvert à deux dates d'implantation.

L'identification des espèces d'intérêt et des caractères agronomiques clés a été en partie menée grâce à la thèse d'Hélène Zub que j'ai encadrée et qui a été soutenue en juin 2010. La bourse de thèse a été octroyée par la région Picardie dans le cadre du projet PEL. Grâce à une démarche que j'ai réalisée auprès de l'ambassade de France en Chine, j'ai pu bénéficier d'une autre bourse pour une thèse en alternance avec l'université Chinoise de Zhejiang (avec le professeur BS Zheng) pour la période 2009-2012. La doctorante, Xu-Ping Feng, va identifier les caractères d'intérêt pour diriger la collecte de matériel en Chine où s'y concentrent à l'état naturel les espèces *M. sinensis*, *M. sacchariflorus* et *M. floridulus* (Figure 16 ; d'après Hodkinson et al, 2002).

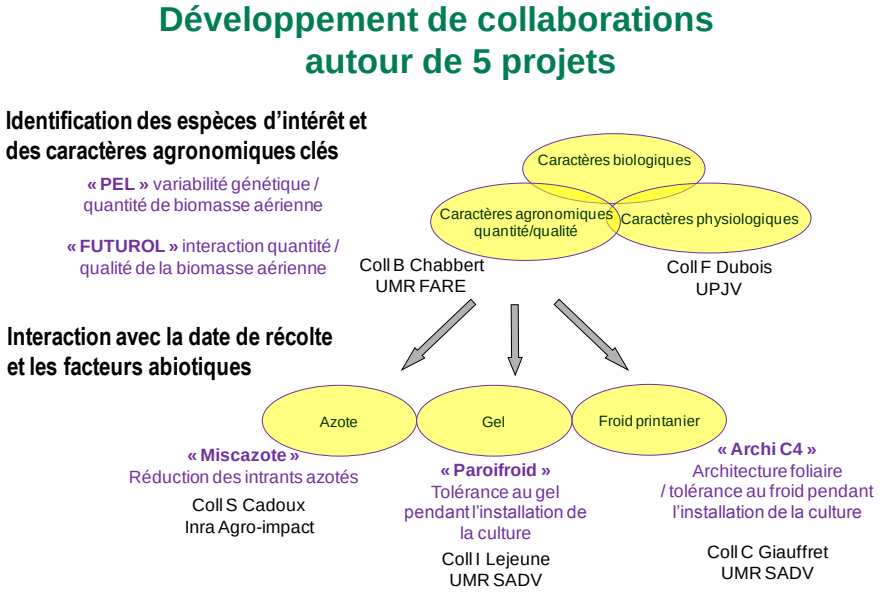


Figure 17. Schéma synthétisant les liens entre les différents projets et les principales collaborations.

3.4. Présentation des travaux de recherche

- ***Cadre expérimental***

Dispositif au champ

Une revue bibliographique nous a permis de faire le point sur les performances agronomiques et physiologiques des différentes espèces de miscanthus qui peuvent être utilisées pour la production de biomasse en Europe (Zub et Brancourt-Hulmel, 2010). C'est ainsi que nous avons choisi d'expérimenter au champ *Miscanthus sinensis, Miscanthus sacchariflorus, Miscanthus x giganteus* et *Miscanthus floridulus.*

Tableau 10 : Liste des 21 clones étudiés répartis sur 4 espèces. Les clones codés H5, H6 et H8 correspondent à du matériel sélectionné par l'université Aarhus au Danemark tandis que les autres correspondent à des variétés qui sont destinées à de la production de biomasse et/ou à de l'horticulture.

Espèce	Ploïdie	Nom	Fournisseur	code
M. floridulus	3x	Floridulus	Chombart, France	Flo
M. x *giganteus*	4x	"Danois"	Université Aarhus du Danemark	GigD
M. x *giganteus*	2x	H8	Université Aarhus du Danemark	H8
M. x *giganteus*	3x	"Britannique"	ADAS, Angleterre	GigB
M. sacchariflorus	4x	H5	Université Aarhus du Danemark	H5
M. sacchariflorus	2x	Sacchariflorus	Chombart, France	Sac
M. sinensis	2x	August Feder	Chombart, France	Aug
M. sinensis	2x	Ferner Osten	Bruckeveld, Belgique	Fer
M. sinensis	2x	Flamingo	Chombart, France	Fla
M. sinensis	4x	Goliath	Université Aarhus du Danemark	Gol
M. sinensis	4x	Goliath	Chombart, France	GolD
M. sinensis	2x	Graziella	Chombart, France	Grz
M. sinensis	3x	H6	Université Aarhus du Danemark	H6
M. sinensis	2x	Herman Mussel	Bruckeveld, Belgium	Her
M. sinensis	2x	Malepartus	Chombart, France	Mal
M. sinensis	2x	Punktchen	Bruckeveld, Belgique	Punk
M. sinensis	2x	Purpurescence	Bruckeveld, Belgique	Pur
M. sinensis	2x	Rotsilber	Chombart, France	Rot
M. sinensis	2x	Silberspinne	Chombart, France	Sil
M. sinensis	2x	Strictus	Chombart, France	Str
M. sinensis	2x	Yaku Jima	Bruckeveld, Belgique	Yak

L'étude de la production en biomasse aérienne repose sur un dispositif au champ destiné à évaluer dans des conditions agronomiques 21 génotypes (clones) appartenant à quatre espèces de miscanthus (Tableau 10) : trois pour *M. x giganteus*, deux pour *M. sacchariflorus*, un pour *M. floridulus* et 15 autres génotypes pour *M. sinensis*. Ces clones présentent différents niveaux de ploïdie : 2x, 3x et 4x. Le dispositif est déséquilibré du fait du nombre variable de clones entre espèces et entre niveaux de ploïdie. Les rhizomes, organes souterrains de réserve, ont été plantés au champ en avril 2007 sur le domaine expérimental de l'INRA d'Estrées-Mons. Mettant à profit mon expérience sur les interactions génotype x milieu, le dispositif expérimental fait l'objet d'une caractérisation approfondie du milieu (disponibilité en azote et en eau, température et rayonnement). L'essai au champ est dupliqué en Belgique (coll H Muylle ILVO près de Gand) et des liens se sont établis avec un partenaire danois (U Jorgensen de l'université Aarhus) pour la fourniture de trois clones de miscanthus qui avaient été étudiés dans un essai européen auquel la France n'avait pas participé. Les autres clones sont en provenance de l'ADAS (Agricultural Development and Advisory Service) en Grand-Bretagne, d'un pépiniériste français et d'un pépiniériste belge (Tableau 10). Outre le facteur génotype, le dispositif fait varier le système d'exploitation : une coupe automnale, peu après la floraison en septembre-octobre, et une coupe hivernale à surmaturité en février-mars. Chaque combinaison génotype x système d'exploitation est implantée selon trois répétitions sur des parcelles élémentaires de 25 m² chacune. Au niveau des génotypes, un suivi régulier du développement et de la croissance est réalisé par des observations non destructives. En première année, le rendement en biomasse aérienne est mesuré selon une coupe hivernale à surmaturité. En deuxième et troisième années, deux coupes ont été réalisées : une coupe automnale est réalisée de septembre à octobre à la sortie de la panicule et une coupe hivernale à surmaturité. Ce travail, initié grâce au projet PEL, a été réalisé dans le cadre de la thèse Hélène Zub. L'essai est désherbé chaque année et ne reçoit aucun apport d'azote ni de traitement fongicide ou pesticide depuis son implantation.

Ce dispositif pluriannuel au champ est devenu un élément clé dans la mesure où il est commun à des mesures de biomasse au niveau quantitatif (projets PEL et MISCAZOTE), mais également à des

mesures concernant la qualité de la biomasse pour le débouché éthanol (coll B Chabbert UMR FARE de Reims, projet FUTUROL) et pour le débouché méthanisation (coll H Carrere INRA Narbonne). Il génère donc un jeu de données conséquent et structuré dont nous allons présenter les principaux premiers principaux résultats.

Dispositif en conditions contrôlées

Le dispositif en conditions contrôlées est destiné à acquérir des données exploratoires sur la résistance au gel du miscanthus dont l'aire de culture en France (notamment en Picardie) pourrait rencontrer des risques de gels, soit juste après l'implantation de la culture ou bien lors de la reprise des jeunes pousses après, voire pendant l'hiver. Cet aspect est pris en compte au sein du projet PAROIFROID (2008-2010) coordonné par I Lejeune (UMR SADV). Mené conjointement sur pois et miscanthus, ce projet est en outre destiné à évaluer les changements des caractéristiques pariétales au cours de l'acclimatation au froid dans le cadre de la tolérance au gel. Ce travail sur l'évaluation de la résistance au gel a également été entrepris au niveau de la thèse d'Hélène Zub.

Les 5 clones testés correspondent à un sous-ensemble de celui testé dans le projet PEL : *M. x giganteus*, *M. sinensis* Goliath, *M. sinensis* Malepartus, *M. sinensis* Gracillimus et *M. sinensis* Silberfeder. Au niveau du protocole, nous avons mis au point un dispositif permettant de mimer en partie les conditions climatiques rencontrées au champ, en nous appuyant notamment sur l'expertise présente au sein de l'UMR pour tester la tolérance au gel du pois. Pour cette mise au point, l'objectif a été de déterminer les conditions de température et de photopériode permettant une acclimatation suffisante pour révéler des différences variétales après application d'une période de gel. Chez la plupart des espèces, la période d'acclimatation est une phase adaptative pendant laquelle les plantes sont placées en conditions de température basse mais positive et qui, chez certains génotypes, permet la mise en œuvre des mécanismes de résistance.

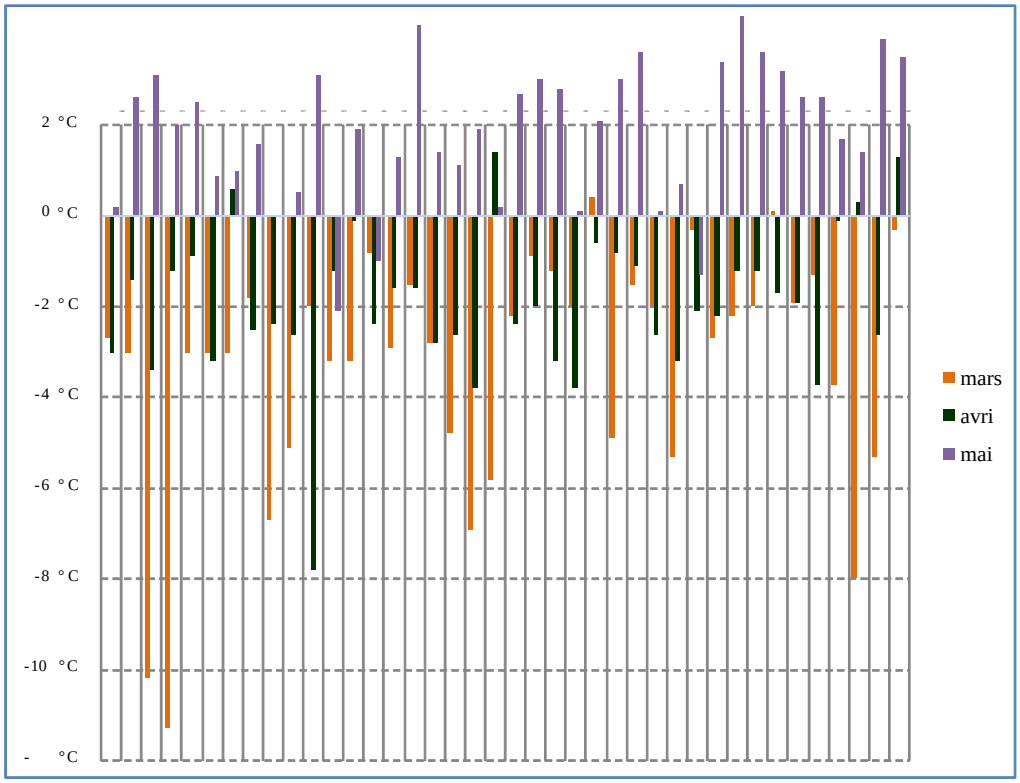


Figure 18. Températures minimales de l'air enregistrées (en ordonnées) pour les mois de mars, avril et mai sur le site d'Estrées-Mons (station STEFCE) pour chaque année de la période 1967-2007 (en abscisses).

De façon à se caler sur les températures gélives rencontrées en Picardie pendant la phase d'implantation de la culture, les niveaux de température de gel et leur durée ont été déterminés suite à l'analyse d'une base de données (années 1967 à 2007) des températures enregistrées sur le site

d'Estrées-Mons pendant les périodes de mars à mai (station nationale météorologique du STEFCE située sur le site INRA d'Estrées-Mons). Cela a permis d'observer deux types de gelées de printemps : des gelées de faible intensité (de - 4°C à 0) pendant un ou plusieurs jours et des gelées ponctuelles de forte intensité (de – 11°C à - 8°C) d'une ou deux journées (Figure 18). Nous avons mimé ces deux types de gelées par deux séries d'expérimentations en conditions contrôlées : la première avec une séquence de température de -3°C pendant 3 jours et la deuxième avec une séquence de température de -8°C pendant 2 jours.

Après les premiers essais, nous nous sommes aperçus que le stade foliaire pouvait de plus interférer avec la résistance au gel. Ainsi, outre la présence ou non d'une période d'acclimatation de 12°C, le nombre de gels successifs (1 gel avec une diminution par paliers jusqu'à -8°C ou bien 2 gels selon les mêmes paliers), le dispositif retenu fait varier le stade de développement foliaire avec 3, 5 ou 7 feuilles.

- ***Principaux premiers résultats***

Les résultats vont d'une part concerner l'identification des espèces d'intérêt et des caractères agronomiques clés et d'autre part l'interaction avec les facteurs du milieu tels que la date de récolte (automnale et hivernale) ou les facteurs abiotiques (froid et azote).

– *Les espèces M. x giganteus et M. floridulus sont repérées comme étant supérieures quelle que soit la date de récolte*

Les rendements moyens en biomasse aérienne se situaient à 4.8 t/ha de matière sèche en 2ème année et à 12.1 t/ha en 3ème année de culture. Ils ont été estimés à partir de huit plantes médianes de la parcelle qui ont été choisies sur la base du nombre de tiges, une très forte corrélation ayant été mise en évidence entre ces deux variables au niveau clonal. Néanmoins, ces valeurs moyennes cachaient des disparités entre clones : 0.6 et 1.0 t/ha respectivement en 2ème et 3ème années de culture pour le moins productif, *M. sinensis* Flamingo, contre 13.6 et 34.4 t/ha pour le clone le plus prometteur, *M. floridulus*,

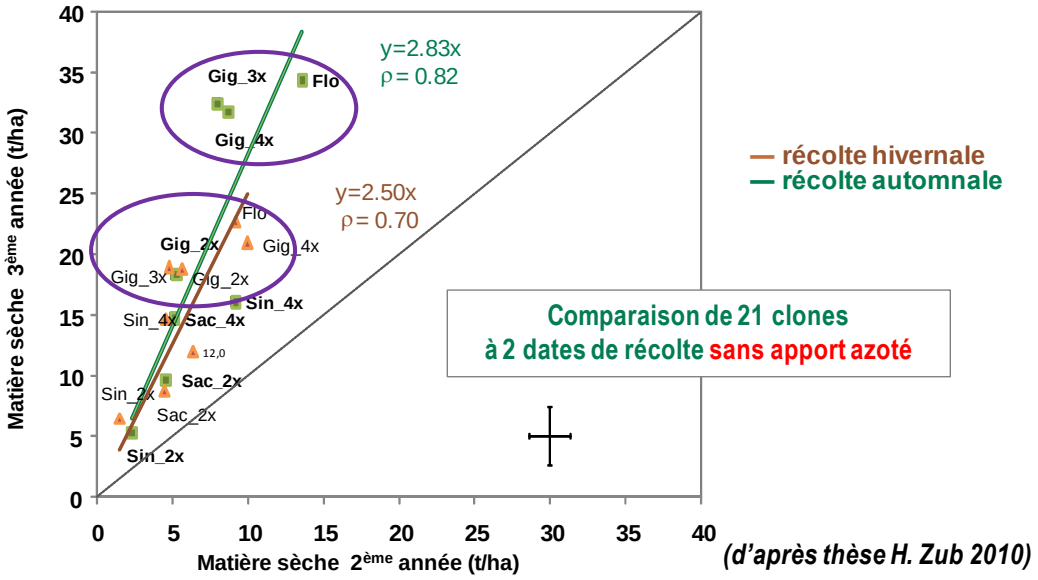


Figure 19. Mise en évidence de la supériorité de *Miscanthus x giganteus* et de *Miscanthus floridulus*

En comparant les 21 clones, nous avons mis en évidence un fort effet du clone et des interactions du clone avec l'année et la date de récolte, Nous avons cherché à décomposer l'effet clone et des interactions associées à l'aide d'un modèle statistique de structuration, en regroupant (structurant) *a priori* les clones par espèce d'appartenance et par niveau de ploïdie. L'effet clone s'explique en grande partie par l'espèce (67 % de la somme des carrés d'écart de l'effet clone décomposés par l'effet espèce) et par le niveau de ploïdie (22 % de la somme des carrés d'écart). En regroupant les

clones par espèce, nous avons trouvé un développement et un rendement aériens plus élevés pour *M. x giganteus* et *M. floridulus* que *M. sinensis* et *M. sacchariflorus.* La supériorité de *M. x giganteus* et *M. floridulus* s'observe quelle que soit l'année et la date de récolte (Figure 19). En outre, chez les *M. sinensis* et *M. sacchariflorus*, les triploïdes 3x et les tétraploïdes 4x sont meilleurs que les diploïdes 2x (Figure 19). La corrélation des rendements est assez forte entre les 2ème et 3ème années, le rendement est en outre multiplié par 2.5 entre les deux années en récolte hivernale (en brun) et par 2.8 entre les 2 années en récolte automnale (en vert). Comme attendu, le rendement est de plus supérieur en récolte automnale qu'en récolte hivernale (en moyenne 25 %). Cette différence s'explique en grande partie par les chutes de feuilles entre les deux dates de récolte (Zub et al, 2011). Cependant, ces résultats sont à relativiser du fait que le dispositif est déséquilibré et que nous ne disposions pas d'un même génome à différents niveaux de ploïdie pour des comparaisons rigoureuses.

Néanmoins, la distinction entre le clone de l'espèce *M. floridulus* et ceux de l'espèce *M. x giganteus* reste à confirmer, une analyse des distances génétiques à l'aide de marqueurs AFLP les ayant rapprochés (milieu de la figure 20). Ceci se réalisera dans le cadre de la thèse de Xu Ping Feng à partir de l'étude d'ADN chloroplastique (coll Saumitou-Laprade USTL) et l'observation d'une liste de caractères permettant la révision de la taxonomie chez miscanthus (Sun et al, 2010). En effet, il n'existe pas de clé de détermination des espèces de miscanthus dans les différentes flores, ce qui semble lié au fait que l'identité des espèces soit encore peu étudiée.

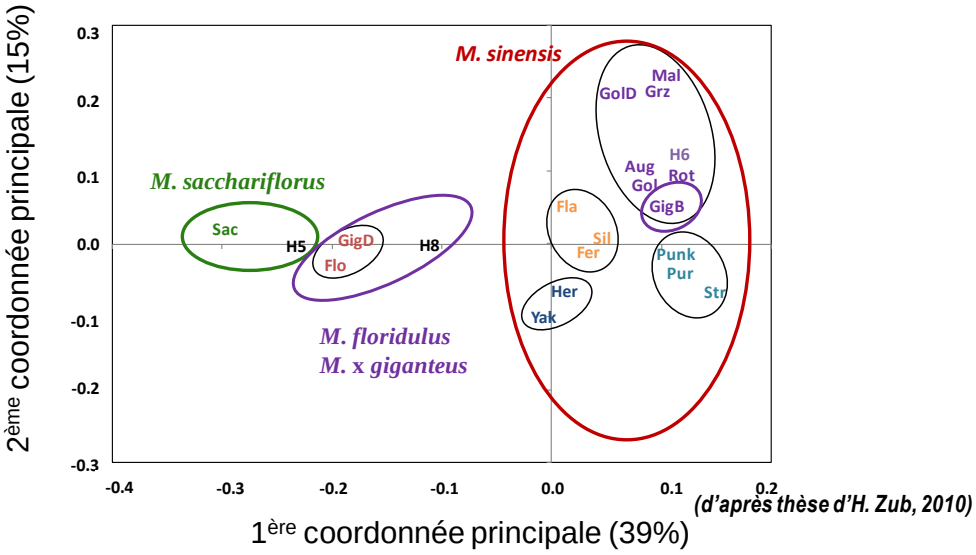


Figure 20. Analyse factorielle de correspondance des distances génétiques des 21 clones à l'aide de marqueurs AFLP (d'après Zub, 2010)

– *Des caractères clés en lien avec la production de biomasse sont identifiés*

Quant aux principaux caractères favorisant la production de biomasse, nous avons pu les identifier à l'aide d'une analyse en composantes principales de tous les caractères quantitatifs mesurés sur les 21 clones (Figure 21). La hauteur de plante, le diamètre de tige, la tardiveté à la sortie de panicule ou à la floraison et la vitesse de croissance sont les principaux caractères positivement liés à la production de biomasse aérienne, contrairement à la durée de croissance et au nombre de tiges. Une forte proportion de la variabilité (70 %) est expliquée par les deux premiers axes (ou composantes), ce qui donne un fort crédit à ces résultats.

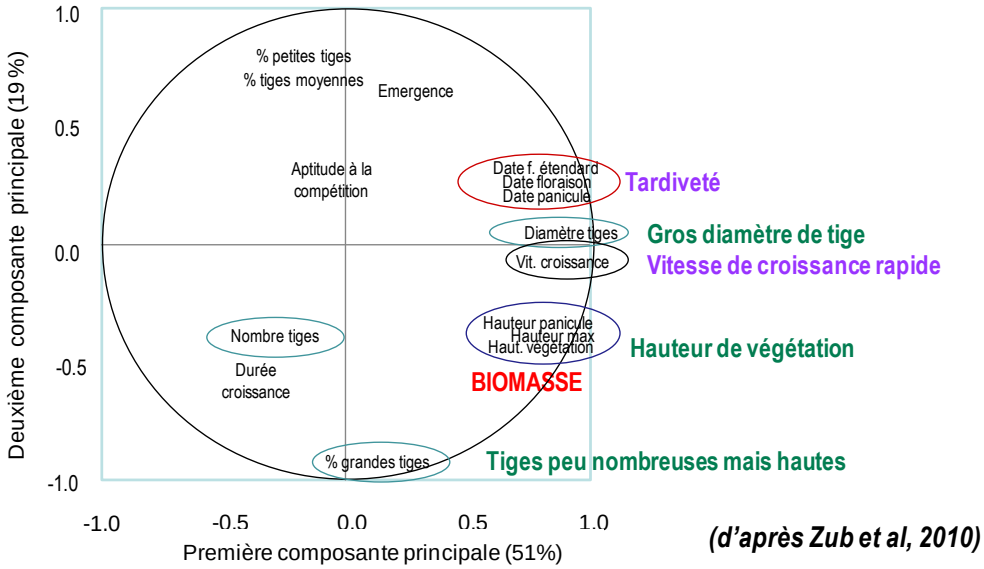


Figure 21. Identification des caractères clés contribuant à la production de biomasse par analyse en composantes principales

Ces premiers résultats nous permettent d'ores et déjà de commencer à définir des idéotypes de miscanthus avec des caractères clés pour la production de biomasse dans les régions septentrionales françaises (Figure 22). Très productives, les espèces *M. x giganteus* et *M. floridulus* sont très proches de tels idéotypes : ce sont les plus tardives et les plus hautes, leurs tiges sont peu nombreuses mais possèdent un gros diamètre, leur vitesse de croissance est rapide mais sur une courte durée. Bien que de courte durée, la croissance de ces génotypes est de plus calée sur la période la plus propice de l'année (entre mai et juillet pour la croissance en hauteur pendant la troisième année de culture). Ainsi, les voies d'amélioration génétique pourraient s'orienter vers un allongement de la durée de croissance et une augmentation du nombre de tiges. Des éléments de réponse vont être apportés concernant la première voie sur *M. x giganteus* pour lequel des connaissances sur l'implantation du couvert à deux dates de plantation sont en cours d'acquisition (post-doc d'Olivier Postaire, projet ARCHI C4).

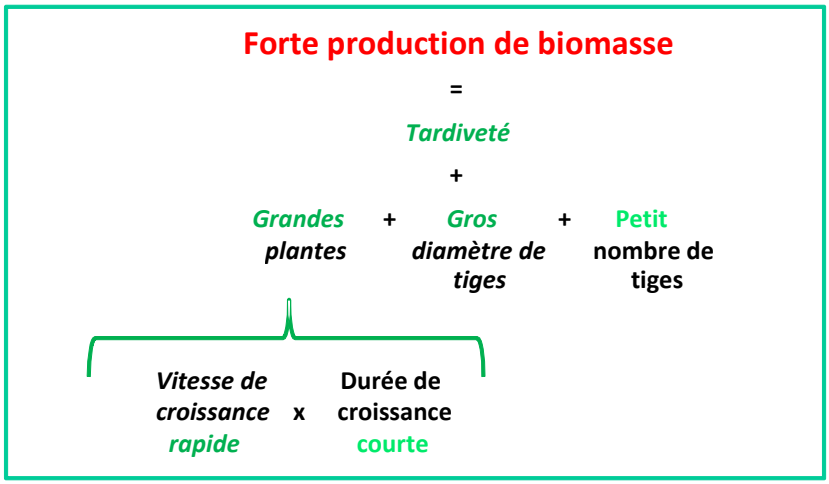


Figure 22. Vers la définition d'idéotype de miscanthus avec des caractères clés (en italique) pour la production de biomasse dans le nord de la France

– *La date de récolte influence non seulement la production de biomasse mais aussi sa qualité*

Un phénotypage approfondi de ces mêmes clones est actuellement réalisé pour les composants de la paroi cellulaire, les cendres et les sucres solubles afin d'évaluer leurs corrélations avec les caractères mentionnés ci-dessus (projet FUTUROL, Brancourt-Hulmel et al, 2010). Les premiers résultats confirment l'hypothèse d'un fort effet de la date de récolte sur ces différents caractères : on observe une augmentation des teneurs en cellulose, hémicellulose et lignine en récolte hivernale tandis que les solubles et les cendres diminuent pour cette récolte (Figure 23).

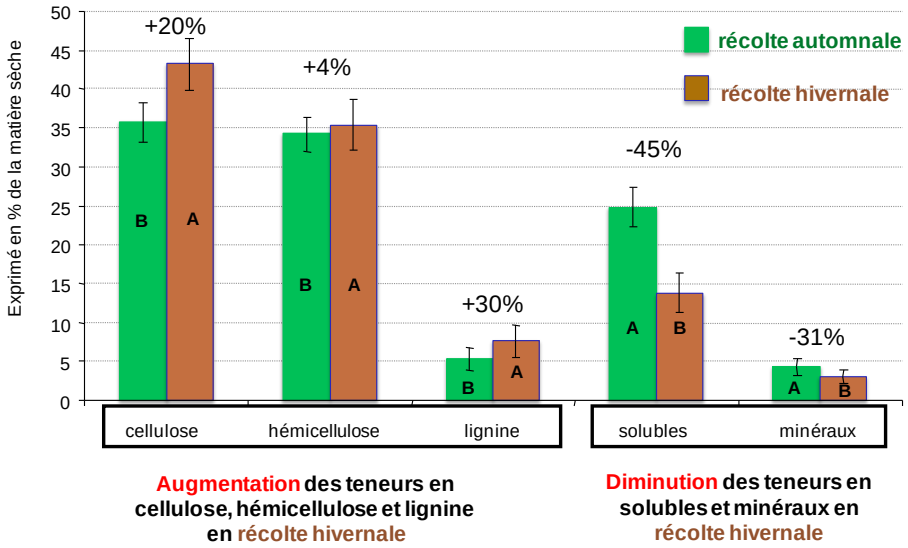


Figure 23. Un fort effet de la date de récolte pour la composition de la biomasse (d'après projet FUTUROL)

En outre, l'effet de la date de récolte interagit avec l'effet clone : pour la teneur en cellulose par exemple, un clone est meilleur uniquement en récolte hivernale (le clone de *M. sacchariflorus*[3]), d'autres à la fois pour les récoltes hivernale et automnale (les deux clones *M. x giganteus,* H5 et le clone de *M. floridulus*) tandis que d'autres montrent de mauvaises performances pour l'une ou l'autre date de récolte (Figure 24).

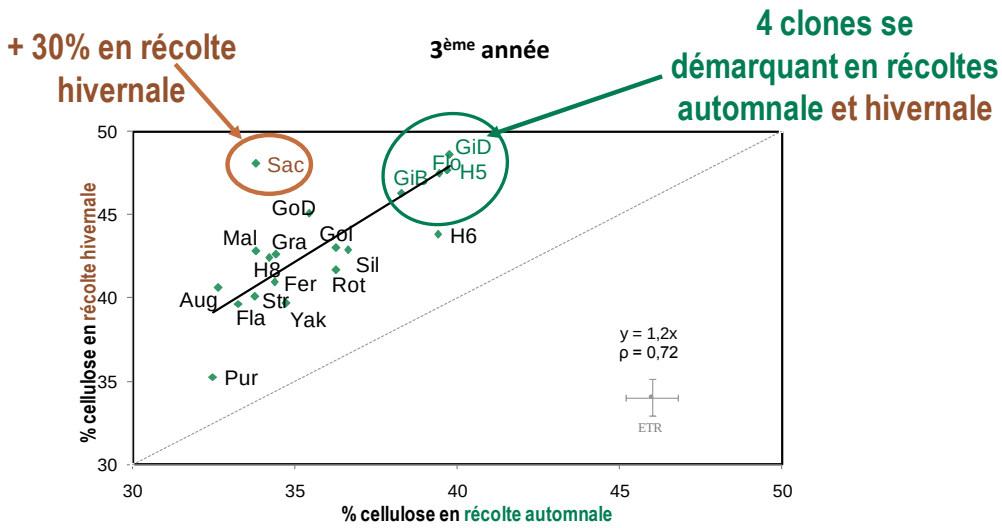


Figure 24. Une assez forte interaction entre le clone et la date de récolte illustrée pour la teneur en cellulose.

[3] On pourrait se demander si le nom de l'espèce est lié à cette caractéristique mais, à ma connaissance, aucun écrit ne l'atteste à ce jour

– *Tolérance aux contraintes abiotiques, un comportement remarquable quant à la valorisation de l'azote*

Plusieurs contraintes abiotiques ont été testées : la tolérance au gel et au froid printanier au moment de l'implantation et la réponse à une très faible disponibilité en azote. Parmi les résultats déjà obtenus, deux faits marquants sont à souligner :

1) Le gel au moment de l'implantation ne devrait pas constituer un problème majeur pour les conditions septentrionales françaises contrairement à ce qui a été relevé pour un pays tel le Danemark, qui est un pays nordique par rapport au nôtre (Zub et Brancourt-Hulmel, 2010). Néanmoins, ceci est à moduler par le fait que nous n'avons pas étudié les effets du gel lors de la reprise après l'hiver (voire pendant l'hiver) des pousses d'une culture âgée de plus d'un an.

Deux séries de résultats permettent d'étayer ce constat (d'après Zub et Brancourt-Hulmel, accepté).

Une première série d'expérimentations a permis l'étude du comportement des jeunes pousses vis-à-vis des températures gélives de faible intensité en conditions contrôlées (-3°C répété sur 3 jours) sur 5 clones *(M. x giganteus*, *M. sinensis* Goliath, *M. sinensis* Malepartus, *M. sinensis* Gracillimus et *M. sinensis* Silberfeder). Il en ressort une bonne tolérance aux séquences répétées de gels de faible intensité pour les génotypes testés, ce qui est en accord avec des résultats antérieurs (Farrell et al, 2006) qui montraient la tolérance du miscanthus pour des gelées inférieures à -5°C (mais non répétées).

En étudiant un deuxième type de gelée, à la fois plus court et plus sévère (gel de -8°C durant 2 jours), la sensibilité au gel est apparue : au moins 75 % des plantes sont sensibles au gel, et ceci d'autant plus qu'elles présentent un fort développement végétatif au moment du gel (stade 7 feuilles contre stade 3 feuilles) (Figure 25). Or en conditions de champ, la probabilité d'occurrence de ce type de gel avec le stade 7 feuilles est faible : on observe en effet celui-ci de façon presque exclusive en mars (Figure 18) alors que le stade 7 feuilles est plus tardif d'au moins un mois.

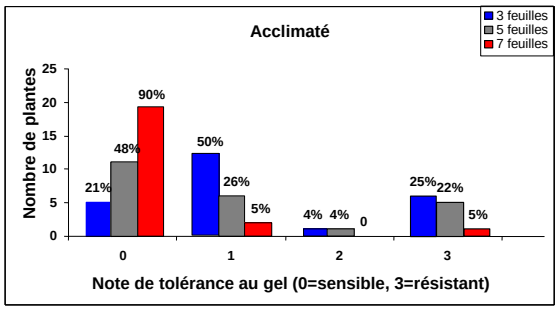


Figure 25. Résultats d'expériences sur *Miscanthus x giganteus* mettant en évidence les effets du stade foliaire sur la tolérance au froid. Observations à 21 jours après période de gel.

2) L'azote ne devrait pas représenter une contrainte abiotique en raison de la remarquable efficience d'utilisation de l'azote par le miscanthus (Tableau 11). Les valeurs obtenues sont cependant surestimées du fait que les calculs sont établis à partir de l'azote du sol uniquement et ne tiennent pas compte de l'apport par les rhizomes (en raison de la lourdeur du travail et surtout de la remise en cause de la pérennité du dispositif expérimental en cas de destruction des parties souterraines). Dans le cadre de la thèse de Guillaume Lebas en collaboration avec Frédéric Dubois et l'unité Agro-impact (projet MISCAZOTE), la plante fonctionnerait en recyclage car, en l'absence de fertilisation azotée (cercles rouges sur figure 26), aucun nitrate n'a été dosé dans la plante contrairement en situation de fertilisation azotée. Ces résultats méritent néanmoins d'être approfondis car de l'ammonium pourrait être absorbé par la plante. La demande en azote par la plante est en outre satisfaite par fixation symbiotique de l'azote, Davis et al (2010) ayant confirmé cette hypothèse chez *M. x giganteus*. A partir d'une culture âgée de 4 et 5 ans en Illinois (USA), les auteurs ont isolé sept souches de bactéries dont deux particulièrement actives et qui possédent toutes le gène *nifH.* Elles s'avèrent étroitement apparentées à des Enterobactéries déjà identifiées chez d'autres

graminées et ne sont pas en lien avec les symbiontes de légumineuses. Au vu de la quantité de biomasse obtenue dans nos essais, ce phénomène de fixation symbiotique est à supposer sur miscanthus en Picardie.

Tableau 11. Une remarquable efficience d'utilisation de l'azote du sol qui est à relativiser par l'apport d'azote par les rhizomes et par la fixation symbiotique.

NUE 3ème année (Kg MS/Kg N_{sol})	
Récolte automnale	***Récolte hivernale***
293 +/- 259 Min : 26 (Fla) Max : 848 (GigD)	**490** +/- 287 Min : 69 (Fla) Max : 1045 (Flo)

Moyenne de 21 clones

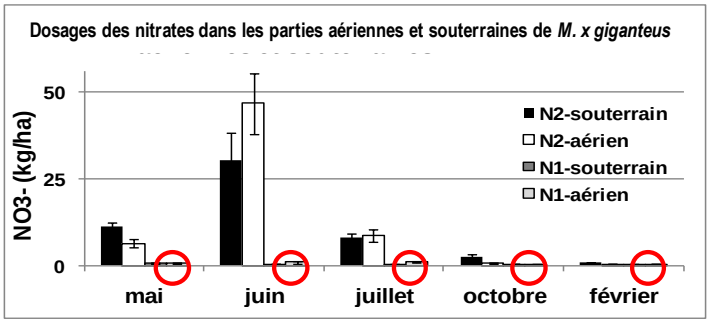


Figure 26. En l'absence de nitrates dosés dans la plante cultivée sans apport azoté (N1), on suppose un recyclage interne de l'azote par la plante (d'après thèse Guillaume Lebas, projet MISCAZOTE).

3.5 Perspectives de recherche

Mes perspectives de recherche scientifique s'inscrivent dans une stratégie de recherche se structurant en quatre objectifs : 1) affiner la définition d'idéotypes pour la culture durable du miscanthus et associer des outils de phénotypage techniquement accessibles, 2) poursuivre le développement et la caractérisation d'une collection de ressources génétiques de miscanthus à partir de prospections en Europe et dans les pays d'origine, 3) acquérir des connaissances sur le déterminisme génétique de caractères concernant la biomasse chez *M. sinensis* et 4) initier un programme d'innovation variétale en valorisant tous les objectifs précédents.

Ces perspectives de recherche s'inscrivent dans plusieurs projets déposés ou en cours de construction : BIOMASS, MISCOMVEG, « Innovation variétale miscanthus » et « Action à mener dans le prolongement de FUTUROL ». Elles s'appuient également sur des projets en cours (ARCHI C4 et MISCAZOTE).

Le projet BIOMASS ou « Biomass Crops for the Future » est coordonné par Herman Hofte (INRA IJPB Versailles) et va être redéposé à l'automne 2011 dans le cadre de l'Appel à projets « Grand emprunt » Biotechnologie et bioressources. A un niveau global, l'objectif est de développer et de mettre en oeuvre des systèmes de production et de valorisation de la biomasse lignocellulosique basés sur des variétés de sorgho et de miscanthus pour de la dépollution, la combustion, la méthanisation et les biomatériaux. La filière biocarburant est quant à elle abordée dans le cadre du projet FUTUROL. Par sa grande résistance à la sécheresse, le sorgho est destiné au sud de l'Europe tandis que le miscanthus est ciblé pour des climats plus tempérés. Pour construire le projet BIOMASS, un partenariat nouveau s'est établi entre partenaires publics (les INRA de Versailles, Mons et Narbonne, le CIRAD, Armines[4]) et privés (Aelred, Phytorestore, Agri-obtentions, A3I, Innobat). Ce projet permettra ainsi de combler notre manque de partenariat avec le secteur privé dans les projets antérieurs et élargit la recherche sur les nouveaux débouchés du miscanthus liés aux biomatériaux et à la dépollution.

Le projet BIOMASS, prévu sur une durée de 8 ans, est développé selon 5 tâches et j'ai été sollicitée pour coordonner celle concernant le miscanthus. Les objectifs de cette tâche s'inscrivent

[4] ARMINES-CEMEF : Centre de recherche de l'Ecole des Mines de Paris dédié à la transformation de la matière

pleinement dans notre stratégie globale : comprendre le déterminisme génétique pour des caractères concernant la biomasse mais aussi développer de nouvelles variétés cultivées dont la production et la composition de biomasse sont améliorées pour des utilisations finales industrielles incluant les biomatériaux, les bioplastiques, la dépollution et la bioénergie (énergie thermique, méthanisation et biocarburant de 2ème génération).

- ***Affiner la définition d'idéotypes pour la culture durable du miscanthus et associer des outils de phénotypage techniquement accessibles***

Nous avons commencé à réfléchir la définition d'idéotypes en nous intéressant à des caractères morphologiques qui pour la plupart sont facilement mesurables (Zub et al, 2011). A un niveau écophysiologique, il est en outre pertinent d'étudier la capacité du miscanthus à intercepter le rayonnement solaire et de son efficience à le convertir en biomasse soit lors de l'installation du couvert ou bien lors de la phase d'entée en pleine production. Ces études ont été initiées sur *M. x giganteus* pour différents scénarios de production : températures sub-optimales au moment de l'implantation (projet ARCHI C4 en collaboration avec Catherine Giauffret de l'UMR SADV et Olivier Postaire) ou disponibilité en azote en interaction avec la date de coupe (projet MISCAZOTE en collaboration avec Stéphane Cadoux de l'unité INRA Agro-impact et Frédéric Dubois de l'UPJV d'Amiens). Du fait de la pérennité du miscanthus, le rôle des organes de réserve est primordial et a été étudié dans la nutrition azotée de *Miscanthus x giganteus* et l'analyse du cycle interne de l'azote dans la culture (thèse Loïc Strullu (2011), unité Agro-impact). Dans une perspective d'innovation variétale, il sera néanmoins nécessaire d'élargir les investigations sur *M. sinensis* et *M. sacchariflorus* afin de connaître le degré d'extrapolation des connaissances acquises sur *M. x giganteus* et de cibler l'espèce parentale présentant le fonctionnement le plus favorable.

Du fait de la lourdeur de telles études, il sera également nécessaire de développer des outils de phénotypage techniquement adaptés pour prendre en compte un plus grand nombre de génotypes en s'appuyant en particulier sur les acquis du maïs, une plante très proche du miscanthus au niveau taxonomique et dont les résultats obtenus sur l'efficience biologique pourraient s'extrapoler.

Enfin, une forte contribution de Stéphanie Arnoult est attendue dans le cadre de sa thèse (2011-2014) dont l'objectif est de mettre en évidence les relations entre les variables associées à la qualité et à la quantité de biomasse pour identifier des espèces et variétés de miscanthus adaptées au Nord de la France pour le débouché éthanol 2G. Une analyse de méta-données issues du dispositif expérimental PEL est prévue avec les caractères associés à la production de biomasse et ceux concernant la composition de la biomasse et sa transformation en sucres (collaboration avec B Chabbert qui a développé un outil de phénotypage miniaturisé pour le dosage des sucres dans le cadre du projet FUTUROL).

- ***Développer et caractériser une collection de ressources génétiques de miscanthus à partir de prospections dans les pays d'origine***

Contrairement à l'abondance d'espèces dans le genre *Miscanthus*, il a été montré que la diversité génétique de *Miscanthus x giganteus* se réduit à quelques clones apparentés (Deuter, 2006). Ceci suscite donc un fort besoin d'élargir la diversité génétique de cette espèce par la collecte de clones « agronomiques » potentiellement intéressants pour les débouchés à venir (2G, agro-matériaux, chimie) parmi les espèces *Miscanthus sinensis* et *Miscanthus sacchariflorus* pour synthétiser de nouveaux hybrides interspécifiques de type *« giganteus »*.

Nous avons commencé à collecter du matériel en Europe, essentiellement dans les pépinières car la plante y est connue pour des besoins horticoles. Pour élargir la collection, nous mettons l'accent sur la Chine étant donné que les espèces d'intérêt en Europe sont originaires de ce pays. Notre collaboration à ce sujet avec l'équipe chinoise de l'université de Zhejiang (professeur BS Zheng et doctorante XP Feng) est donc très précieuse. En effet, de même qu'en Europe et en France, l'intérêt de la Chine est croissant pour les bioénergies. Ainsi, en 2008, BS Zheng a développé un « Key project of science and technology department » très fortement soutenu par la Province Chinoise de Zhejiang. Ce projet chinois met en avant trois objectifs : i) collecter et caractériser des clones pour les différentes espèces natives en Chine, ii) explorer ces espèces dans des conditions agronomiques chinoises et iii) disposer d'outils pour orienter au mieux la collecte (prédiction du comportement en peuplement à partir d'une plante individuelle, prédiction de la composition pariétale). Ce programme est clairement posé avec une perspective de collaboration internationale afin de viser de nouveaux débouchés pour cette plante, en particulier énergétique. En effet, lors d'un séjour en Chine en 2010, j'ai eu l'occasion de rencontrer le Professeur Zhang Ligin, vice Président de l'université de Zhejiang en charge des affaires étrangères, qui a émis un souhait

très appuyé pour une collaboration très forte et durable entre nos deux laboratoires, ce qui montre l'intérêt mutuel des deux pays. De plus, BS Zheng vient de déposer une candidature dans le cadre de l'appel d'offre « French talent innovation program » lancé par l'ambassade de France à Shanghaï pour promouvoir la coopération entre nos deux pays. Cette candidature est la plus fortement soutenue par la Mission des Relations Internationales de l'INRA (Isabelle Bordier, communication personnelle).

Pour la France comme pour la Chine, l'intérêt est économique, scientifique et technique. Au niveau économique, la création de nouvelles variétés de miscanthus adaptées à nos deux pays offre de réels débouchés économiques (bioénergie) et passe en tout premier lieu par de la collecte de matériel végétal pour disposer d'un indispensable réservoir de variabilité. Au niveau scientifique, plusieurs articles cosignés entre nos deux laboratoires sont prévus et actuellement deux manuscrits sont en cours de préparation. En effet, la thèse menée par XP Feng couvre le tout premier objectif annoncé dans le programme de BS Zheng, objectif commun à notre programme mené en France. Au niveau technique, nous avons mis au point, depuis le démarrage de notre programme à l'INRA d'Estrées-Mons en 2007, un certain nombre d'outils : protocoles expérimentaux pour la comparaison de génotypes, pour la multiplication de matériel végétal, pour la réalisation de croisements dirigés …. Des collaborations techniques peuvent s'ajouter aux collaborations scientifiques pour mettre au point des outils de prédiction de la composition pariétale par proche infra-rouge, où un grand nombre de clones variés est nécessaire pour l'obtention d'une calibration fiable et précise.

Le développement d'une collection sur miscanthus est stratégique pour le DGAP et pour l'Institut. Un des trois objectifs du DGAP est « de contribuer à la conservation et à la valorisation des ressources génétiques végétales ». Sur miscanthus, une telle mission d'ordre public rejoint les préoccupations actuelles de l'Inra qui prévoit d'identifier les espèces végétales adéquates et de développer les outils capables de produire de l'énergie sans bouleverser les équilibres écologiques ni empiéter sur la production alimentaire (Inra, document d'orientation 2010-2020). Le développement de la collection fait partie d'outils stratégiques, pouvant être valorisés à des fins d'études génétiques ou d'innovation variétale.

Dans le prolongement des travaux entrepris dans FUTUROL, j'ai proposé une action à mener au niveau de l'INRA sur le « Développement et caractérisation d'une collection de ressources génétiques de miscanthus ». Notre objectif est double :

- Dans un premier temps, il s'agit de constituer et caractériser une collection de ressources génétiques de miscanthus à l'aide de prospections dans les pays d'origine.

  Des caractères biométriques seront évalués en pépinière à partir des plantes collectées par nos collaborateurs chinois et porteront sur la production de biomasse au niveau quantitatif (hauteur, nombre de tiges par plante, nombre de feuilles sur la tige principale, diamètre des tiges…) et au niveau qualitatif (caractéristiques de la paroi).

  La collecte s'appuiera sur les caractères clés déjà identifiés lors de la définition d'idéotypes (Zub et al, 2011) ou en cours d'identification (cf § précédent).

- Dans un deuxième temps, pourra s'envisager l'étude de la variabilité naturelle au sein de cette collection à travers différents partenariats complémentaires en s'appuyant sur les connaissances acquises en amont au sein du genre miscanthus ou bien chez des espèces proches au niveau taxonomique (canne à sucre, sorgho, maïs). Seront privilégiés les caractères liés à la qualité des parois (composition, structure) et à la transformation de ses constituants en éthanol 2G. Cette analyse de variabilité devra ensuite s'accompagner d'une analyse des différences entre les organes (feuilles, tiges), de la prise en compte du stade de récolte (récolte en vert et en sec) et du milieu (disponibilité en azote). De même, la variabilité allélique de gènes clés impliqués dans l'expression de caractères liés à la production et à la composition de la biomasse sera à envisager. Le maïs pourrait faire partie des espèces modèles pour identifier des gènes candidats intervenant dans l'élaboration et la qualité de la paroi mais également pour le diamètre des tiges, la hauteur des plantes… Le sorgho et la canne à sucre, appartenant à la même tribu des *Andropogoneae*, seront à explorer également.

  <u>Pour les caractères permettant de reconnaître les espèces à collecter</u> : les résultats de la thèse de XP Feng vont être de première importance car ils vont mettre en évidence des caractères morphologiques et moléculaires permettant de reconnaître de façon sûre les espèces.

Pour les caractères à prendre en compte lors de la collecte : les acquis de la thèse d'Hélène Zub, en particulier sur l'identification des caractères clés associés à la production de biomasse chez miscanthus seront mis à profit pour la collecte (Zub et al, 2011). Ils seront complétés en outre par les résultats de la thèse de Stéphanie Arnoult concernant les relations entre les variables associées à la qualité et à la quantité de biomasse (cf § précédent).

Pour la caractérisation du matériel collecté :

- Au niveau du comportement de la plante : une synergie pourra être établie avec les écophysiologistes du site d'Estrées-Mons (unité Agro-impact) dont un des objectifs est de contribuer à définir des idéotypes chez les miscanthus.
- Au niveau de la génétique de la paroi : la caractérisation va s'appuyer sur les connaissances acquises sur des espèces proches au niveau taxonomique telles que le maïs et le sorgho qui seront utilisées comme « plantes modèles » (collaborations à envisager avec Herman Höfte et Matthieu Reymond INRA Versailles et David Pot CIRAD) mais aussi sur la canne à sucre.
- Au niveau de son aptitude à être transformée en bioéthanol : la collaboration est à poursuivre sur miscanthus avec Brigitte Chabbert de l'UMR FARE, en particulier pour les analyses de sucres en C5 (xylose, arabinose…) et C6 (glucose) comme réalisé dans le cadre du projet FUTUROL. En outre, les acquis sur la digestibilité de la paroi du maïs seront à valoriser (collaboration à envisager avec Yves Barrière, INRA Toulouse/Lusignan).

- ***Acquisition de connaissances sur le déterminisme génétique de caractères concernant la biomasse chez M. sinensis***

Le troisième objectif est d'acquérir des connaissances sur le déterminisme génétique de caractères concernant la production de biomasse en vue d'innovation variétale. Notre stratégie sera basée sur l'étude de *Miscanthus sinensis* diploïde, qui facilitera l'analyse génétique en raison de sa faible taille de génome d'environ 5000 Mpb (un génome haploïde étant estimé à 2500 Mpb selon Swaminathan et al (2010)) et de sa fertilité contrairement à l'hybride triploïde *M. x giganteus* dont la taille du génome avoisine 7500 Mbp et qui est de plus stérile. La détection QTL sera réalisée à partir de populations (voir Atienza et al (2002) et Atienza et al (2003a)) issues du croisement entre deux *Miscanthus sinensis*.

Dans le cadre du projet PEL, environ 170 croisements dirigés ont été réalisés en conditions contrôlées entre différents clones de miscanthus. Les clones étant communs avec ceux étudiés au sein de la thèse d'Hélène Zub, nous pouvons choisir les génotypes parents les plus intéressants en termes de production de biomasse (Zub et al, 2011) et de valorisation de la biomasse (projet FUTUROL).

En collaboration avec David Pot (CIRAD) et Matthieu Reymond (INRA IJPB Versailles), une carte génétique de *Miscanthus sinensis* sera construite à l'aide de marqueurs SNP/INDEL identifiés par séquençage des clones parentaux. L'ADN du clone parental sera séquencé en utilisant la technologie 454 et les autres le seront par solexa GA2 sequencing. Chez miscanthus, Swaminathan et al (2010) ont démontré la faisabilité du séquençage 454 pour identifier des marqueurs polymorphes.

Les difficultés viennent du fait que les clones parentaux sont hétérozygotes et, en conséquence, dans la population F1, quatre allèles peuvent être présents à chaque locus au lieu de deux dans le cas de parents homozygotes. Les marqueurs polymorphes qui fournissent des informations entre et dans des clones parentaux seront choisis (Atienza et al, 2003a ; Atienza et al, 2003b) ; Zub, 2010). Une fois que les marqueurs polymorphes auront été identifiés, une puce Illumina (Veracode technology) sera réalisée sur mesure pour le génotypage SNP des individus de la population.

Les génotypes portant des allèles favorables aux différents QTL détectés seront choisis pour tester leur performance dans des processus industriels. Des gènes candidats sous-jacents aux effets des QTL détectés pourront être proposés en comparant les résultats obtenus sur miscanthus à ceux obtenus sur le maïs utilisé comme plante modèle au sens large (Matthieu Reymond) et le sorgho utilisé comme modèle au sens strict (David Pot). En effet, il devrait exister une grande colinéarité entre les trois génomes du fait que les trois plantes appartiennent à la même tribu des *Andropogoneae*. Au sens strict, c'est le sorgho qui servira de modèle car la taille de son génome est beaucoup plus petite que celle du maïs : 740 contre 2500 Mpb (Vermerris, 2011). Au sens large, les connaissances acquises sur la génétique du sorgho sont plus limitées que sur maïs, réduisant ainsi les possibilités de transfert. Ces

collaborations seront enrichies par le développement d'outils de phénotypage concernant entre-autres la paroi (Herman Hofte).

Le projet MISCOMVEG, déposé au niveau de la région Picardie, prévoit le développement de la population tandis que le reste est prévu dans le projet BIOMASS.

- ***Initier un programme d'innovation variétale sur miscanthus***

L'élargissement de l'offre variétale sur miscanthus peut être espéré par le développement de trois générations de clones. La première génération consiste à rendre disponibles en quantité suffisante des clones existants dont l'intérêt a été mis en évidence dans le nord de la France (Zub et al, 2010). La faible disponibilité en matériel végétal étant un des facteurs limitant l'utilisation du miscanthus comme une ressource lignocellulosique (Atkinson, 2009), une des solutions consiste à résoudre ce problème de disponibilité en produisant de nouveaux protocoles pour la propagation de miscanthus et en les mettant en œuvre pour les clones que nous avons identifiés (Zub et al, 2011). Les protocoles s'appuieront sur le travail réalisé par Caroline Rambaud concernant la culture *in vitro* du miscanthus au sein du projet PAROIFROID.

Dans la deuxième génération, l'objectif est de développer de nouvelles variétés. De nouveaux hybrides interspécifiques dans le genre *Miscanthus* seront synthétisés ou re-synthétisés prenant en compte les caractères clés identifiés pour la production de biomasse (tardiveté, hauteur de la plante, vitesse de croissance…). D'autres caractères tels que le nombre de tiges ou la durée de croissance seront à améliorer (Zub et al, 2011). De plus, des hybrides intergénériques avec la canne à sucre seront aussi développés, en collaboration avec le CIRAD qui détient une grande expérience en matière d'hybridations intergénériques (Piperidis et al, 2000). Ceci permettra de recombiner les caractères favorables de la canne à sucre tels que l'implantation ou la production en biomasse cellulosique.

La troisième génération sera produite en intégrant les connaissances et les outils concernant le déterminisme génétique de la production de la biomasse et en s'appuyant sur du matériel végétal amélioré (de deuxième génération).

Il est prévu de commencer à développer ces générations dans le projet BIOMASS » et, de façon complémentaire, dans le projet « Innovation variétale miscanthus ».

Outre les publications, les indicateurs de réussite de ce projet seront la production de matériel végétal (population pour les études génétiques, nouveaux clones) ainsi que des protocoles adaptés pour la multiplication végétative à l'échelle semi-industrielle du matériel végétal.

Il est à noter aussi que les projets antérieurs vont continuer à être valorisés sous forme de publications : un manuscrit est en cours de finalisation par Stéphanie Arnoult sur la biologie florale du miscanthus (connaissance nécessaire pour la synchronisation des floraisons en vue de croisement), une autre par Caroline Rambaud sur la comparaison de la régénération directe à partir de tissus végétatifs chez deux espèces de miscanthus et Olivier Postaire a commencé un manuscrit sur la mise en place d'un couvert de *Miscanthus x giganteus* et l'effet de températures sub-optimales.

3.6 Conclusion

Ainsi, la thématique sur miscanthus s'est développée aux échelles locale, nationale et internationale (Chine) en tissant des collaborations interdisciplinaires à l'interface de l'agronomie, de la biologie, de la physiologie et de la biochimie. Elle prend place au sein du pôle de compétitivité à vocation mondiale « Industries et Agro-ressources » des régions Picardie et Champagne-Ardenne. Elle trouve toute sa place au niveau du centre INRA de Lille qui a axé sa politique de recherche sur les « voies d'adaptations et les options alternatives pour les régions et systèmes de grandes cultures », donnant l'opportunité scientifique d'un rapprochement de notre UMR avec l'unité INRA d'agronomie Agro-Impact de Laon-Mons et avec l'UMR FARE de Reims. Sur les aspects génétiques et de biologie végétale, de nouveaux liens sont en train de se tisser avec l'équipe d'Herman Hofte et avec les équipes de David Pot et Angélique D'hont du CIRAD. Outre la création de matériel végétal d'étude, le dispositif expérimental comparant les 21 clones au champ est devenu un élément clé pour entreprendre des partenariats. Nous avons été sollicités par l'équipe d'Hélène Carrere (INRA de Narbonne) pour comparer le pouvoir méthanogène de ces différents clones.

Depuis 2007, nous avons acquis un jeu de données conséquent et structuré sur miscanthus et avons déjà réalisé un gros effort de valorisation.

4. Conclusion générale

Ce nouveau programme correspond à mon souhait d'entreprendre un travail de génétique et me permet de valoriser plusieurs compétences ainsi que des formations diplômantes acquises sur trois espèces (chou-fleur, maïs et blé) :

- génétique des caractères complexes, en particulier la tolérance au stress azoté
- approches biométriques et agro-physiologiques des interactions génotype x milieu et des interactions QTL x milieu
- caractérisation au champ du comportement de la plante, en particulier vis-à-vis du stress azoté.

Après 22 années passées en tant que chercheur à l'INRA d'Estrées-Mons au sein du département de génétique et d'amélioration, j'ai acquis des expériences de plus en plus riches et ces dernières années m'ont procuré une véritable expérience de direction de recherche avec entre-autres la coordination de projets de recherche, l'établissement de partenariats pluridisciplinaires, l'encadrement de personnel et la formation d'étudiants de niveaux BAC+5 et BAC+8. Celle-ci avait déjà débuté lors de mon premier programme sur blé puis elle a été amplifiée avec le nouveau programme de recherche sur miscanthus, parfois même avec brio puisqu'une de nos étudiantes a reçu un premier prix de la fondation Xavier-Bernard pour son mémoire de fin d'études. C'est la raison pour laquelle je souhaite obtenir l'Habilitation à Diriger des Recherches de façon à continuer à encadrer des étudiants en thèse et en post-doc.

Sur le blé, la collaboration avec Jacques Le Gouis a été très enrichissante car elle a permis de déboucher sur une approche intéressante permettant d'identifier les principales régions chromosomiques à l'origine des interactions QTL x milieu. Pour cela, a été développée une méthodologie permettant de comprendre la spécificité de certains QTL à des conditions particulières de milieu. Cette démarche a pu être entreprise sur les deux principales composantes du rendement en grain : le nombre de grains par m² et le poids de mille grains. Lors de plusieurs contrats, mon rôle a été clé pour l'établissement de partenariats avec des sélectionneurs privés, en particulier du CETAC (Centre d'Etude Technique et d'Amélioration des Céréales), mais aussi avec des instituts techniques. Sur le miscanthus, j'ai su rapidement tisser des collaborations intéressantes : avec les collègues de l'UMR pour des caractères en lien avec la biologie florale (Marie-Christine Quillet) et la multiplication végétative (Caroline Rambaud), avec les écophysiologistes et les agronomes de l'unité Agro-Impact travaillant sur miscanthus (Stéphane Cadoux et Hubert Boizard), avec les physiologistes du métabolisme azoté de l'université d'Amiens (équipe de Frédéric Dubois). Les divers contrats m'amènent aussi à des échanges avec les collègues des autres équipes de l'UMR (Catherine Giauffret pour la mise en place d'un couvert végétal à des températures-sub-optimales, Isabelle Lejeune pour la résistance au gel, …).

Ces dernières années, je me suis impliquée de plus en plus dans l'encadrement d'étudiants en thèse. J'ai encadré Bing Song Zheng lors de son post-doc en France. J'ai dirigé la thèse d'Hélène Zub, dirige actuellement celle de Xu-Ping Feng préparée en alternance avec la Chine et participe au co-encadrement de la thèse de Guillaume Lebas avec Frédéric Dubois. Le post-doc de Bing Song Zheng (18 mois) s'est traduit par deux publications, dont une très novatrice sur la méthodologie permettant de comprendre la spécificité de certains QTL à des conditions particulières de milieux. La thèse d'Hélène Zub s'est concrétisée par cinq articles/manuscits (3 acceptés et 2 soumis), apportant des références sur la comparaison de plusieurs espèces de miscanthus en France. Elle s'est traduite aussi par un chapitre d'ouvrage associé à la revue bibliographique. La formation acquise durant sa thèse lui a permis d'obtenir très rapidement après sa soutenance un poste de chargée de projet[5] à Agro-transfert. La thèse de Xu-Ping Feng devrait initier de façon durable une collaboration avec la Chine. En effet, le vice-président de son université, que j'ai rencontré durant l'été 2010, est très favorable à une poursuite des échanges. La thèse de Stéphanie Arnoult et d'autres projets sont en perspective. Aussi, je voudrais pouvoir poursuivre ce type d'encadrement, ce qui permettrait des avancées très significatives des travaux de recherche entrepris sur miscanthus.

[5] Equivalent ingénieur de recherche

Liste des productions scientifiques

1. Articles scientifiques

1.1. Articles publiés (revues avec comité de lecture)

Brancourt-Hulmel M. 1999. Crop diagnosis and probe genotypes for interpreting genotype* environment interaction in winter wheat trials. Theor Appl Genet 99:1018-1030

Brancourt-Hulmel M., V. Biarnès-Dumoulin, J.-B. Denis. 1997. Points de repère dans l'analyse de la stabilité et de l'interaction génotype-milieu en amélioration des plantes. Agronomie 17:219-246. *Auteur principal*

Brancourt-Hulmel M., J.-B. Denis, C. Lecomte. 2000. Determining environmental covariates which explain genotype*environment interaction in winter wheat through probe genotypes and biadditive factorial regression. Theor Appl Genet 100:285-298 *Auteur principal*

Brancourt-Hulmel, M., G. Doussinault, C. Lecomte, P. Berard, B.l. Buanec, M. Trottet. 2003. Genetic improvement of agronomic traits of winter wheat cultivars released in France from 1946 to 1992. Crop Science 43:37-45 *Auteur principal*

Brancourt-Hulmel M., E. Heumez, P. Pluchard, D. Beghin, C. Depatureaux, A. Giraud, J. Le Gouis. 2005. Indirect versus Direct Selection of Winter Wheat for Low-Input or High-Input Levels. Crop Science 45:1427-1431 *Auteur principal avec J Le Gouis*

Brancourt-Hulmel M., C. Lecomte. 1994. Sélection et stabilité du rendement chez le blé tendre d'hiver. Agronomie vol. 14:611-625 *Auteur principal*

Brancourt-Hulmel, M., C. Lecomte. 2003. Effect of environmental variates on genotype x environment interaction of winter wheat: A comparison of biadditive factorial regression to AMMI. Crop Science 43:608-617 *Auteur principal*

Brancourt-Hulmel, M., C. Lecomte, J.-B. Denis. 2001. Choosing probe genotypes for the analysis of genotype- environment interaction in winter wheat trials. Theoretical and Applied Genetics 103:371-382 *Auteur principal*

Brancourt-Hulmel M., C. Lecomte, J.-M. Meynard. 1999. A diagnosis of yield-limiting factors on probe genotypes for characterizing environments in winter wheat trials. Crop Sci 39:1798-1808 *Auteur principal*

Laperche, A., **M. Brancourt-Hulmel**, E. Heumez, O. Gardet, J. Le Gouis. 2006 Estimation of genetic parameters of a DH wheat population grown at different N stress levels characterized with probe genotypes. Theoretical and Applied Genetics 112:797-807. *Co-auteur*

Laperche A., J. Le Gouis, E. Hanocq, **M. Brancourt-Hulmel**. 2007 Modelling nitrogen stress with probe genotypes to assess genetic parameters and genetic determinism of winter wheat tolerance to nitrogen contrainst. Euphytica (sous presse) *Co-auteur*

Laperche A., **M. Brancourt-Hulmel,** E. Heumez, O. Gardet, E. Hanocq, F. Devienne-Barret, J. Le Gouis. 2007 Using genotype x nitrogen interaction variables to evaluate the QTL involved in wheat tolerance to nitrogen constraints. Theoretical and Applied Genetics 115:399-415 *Co-auteur*

Laperche et al 2008. Euphytica ?

Leflon M., C. Lecomte, A. Barbottin, M.H. Jeuffroy, N. Robert, **M. Brancourt-Hulmel.** 2005. Characterization of environments and genotypes for analyzing genotype x environment interaction: some recent advances in winter wheat and prospects for QTL detection. Journal of Crop Improvement 14:249-298 *Rédaction et coordination de la rédaction*

Oury, F.X., P. Berard, **M. Brancourt-Hulmel,** C. Depatureaux, G. Doussinault, N. Galic, A. Giraud, E. Heumez, C. Lecomte, P. Pluchard, B. Rolland, M. Rousset, M. Trottet. 2003. Yield and grain protein concentration in bread wheat: a review and a study of multi-annual data from a French breeding program. Journal of Genetics & Breeding. 57:59-68 *Gestion informatique des données (regroupement multilocal et pluriannuel)*

Oury F.-X., H. Chiron, M. Pichon, A. Giraud, P. Berard, A. Faye, **M. Brancourt-Hulmel,** M. Rousset. 1999. Reliability of indirect selection in determining the quality of bread wheat for French bread-

baking. Agronomie. 19:621-634. Gestion informatique des données *(regroupement multilocal et pluriannuel)*

Robert, N., P. Bérard, **M. Brancourt-Hulmel**. 2007 Identification of factors affecting trait stability via factorial regressions and environmental variance. II. Application to end-use quality of bread wheat. Journal of crop improvement. 20:153-168 *Co-auteur avec N. Robert*

Robert, N., **M. Brancourt-Hulmel**. 2007 Identification of factors affecting trait stability via factorial regressions and environmental variance. I. Methodology. Journal of crop improvement. 20:169-191. *Co-auteur*

Zheng B.S., J. Le Gouis, D. Dorvillez, **M. Brancourt-Hulmel.** 2010. Optimal numbers of environments to assess slopes of joint regression for grain yield, grain protein yield and grain protein concentration under nitrogen constraint in winter wheat. Field Crops Research 113:187-196 *Co-auteur et encadrante*

Zheng B.S., J. Le Gouis, M. Leflon, W.Y. Rong, A. Laperche, **M. Brancourt-Hulmel**. 2010. Using probe genotypes to dissect QTL x environment interactions for grain yield components in winter wheat. Theoretical and Applied Genetics 121: 1501-1517 *Co-auteur et encadrante*

Zub H.W., **M. Brancourt-Hulmel**. 2009. Agronomic and physiological performances of different species of Miscanthus, a major energy crop. A review. Agronomy for Sustainable Development 30:201-214 *Co-auteur et encadrante*

Zub H.W., S. Arnoult, **M. Brancourt-Hulmel**. *In press*. Key traits for biomass production identified in different Miscanthus species at two harvest dates. Biomass & Bioenegy *Co-auteur et encadrante*

1.2. Articles soumis et rapports de recherche

- **Articles soumis**

Zub H.W., H. Monod, **M. Brancourt-Hulmel**. Greater intra-genotypic competition for larger genotypes of miscanthus. Submitted to Biomass & Bioenergy *Co-auteur et encadrante*

Zub H.W., **M. Brancourt-Hulmel**. Late emergence and rapid growth maximise the plant development of Miscanthus clones. Submitted to Biomass & Bioenergy *Co-auteur et encadrante*

Zub H.W., S. Arnoult, J. Younous, I. Lejeune-Hénaut, **M. Brancourt-Hulmel**. The frost tolerance of miscanthus at the juvenile stage: differences between clonres influenced by leaf-stage and acclimation. Submitted to European Journal of Agronomy *Co-auteur et encadrante*

- **Rapports de recherche**

Arnoult S., **M. Brancourt-Hulmel.** 2007. Le miscanthus : en savoir plus sur le nom, l'origine et les principales caractéristiques de cette nouvelle culture. 7 p http://www.lille.inra.fr/science_pour_tous/dossiers_thematiques/miscanthus_un_encouragement_pour_les_bioenergies

Bernicot M.-H.**, M. Brancourt-Hulmel**, C ; Lecomte. 1997. Adaptation en culture et caractéristiques variétales. Rapport final du contrat de branche 1994/1996, Ministère de l'Agriculture/ITCF, GIE-Club des 5, Nickerson, INRA. Mai 1997

Boizard H., **M. Brancourt-Hulmel**, H. Ciesielski, B. Collombel, R. Douillard, C. Durr, G. Gosse, et al 2004. Schéma de centre. Centre de Recherches de Lille 19 p

Brancourt-Hulmel M. 2000. Sélection pour l'adaptation au milieu et prise en compte des interactions génotype x milieu. OCL. 7:504-511

Brancourt-Hulmel M., M.-H. Jeuffroy. 2004. Analyser et prédire la stabilité du rendement et de la teneur en protéines du blé tendre d'hiver. Rapport final du projet CTPS 2001-2003

Brancourt-Hulmel M. 2006. Génétique du miscanthus : quelles pistes de recherche ? Rapport de recherche interne. UMR SADV Mons. 10 p

Brancourt-Hulmel M., S. Arnoult, C. Bessou, H. Boizard, S. Cadoux, F. Dubois, B. Gabrielle, P. Lerebour, J.M. Machet, M. Preudhomme, M.C. Quillet, B. Mary, S. Régnault, H. Zub. 2007.

Introduction d'espèces valorisant la plante entière pour la production de bioénergie en Picardie : analyse comparée et évaluation de la variabilité génétique. Rapport d'avancement 2007 des travaux de recherche.

Brancourt-Hulmel M., S. Arnoult, C. Bessou, H. Boizard, S. Cadoux, F. Dubois, B. Gabrielle, P. Lerebour, J.M. Machet, M. Preudhomme, M.C. Quillet, B. Mary, S. Régnault, H. Zub. 2008. Introduction d'espèces valorisant la plante entière pour la production de bioénergie en Picardie : analyse comparée et évaluation de la variabilité génétique. Rapport d'avancement 2008 des travaux de recherche.

Lecomte C., **M. Brancourt-Hulmel**, J.-B. Denis. 1999. Choix des milieux et caractérisation des essais. Dans : " Aspects méthodologiques d'une démarche qualité pour l'étude des variétés de blé tendre et de maïs ". *Rapport final d'Octobre 1999, Convention Ministère de l'Agriculture et de la Pêche / ITCF, AGPM, GEVES, INRA, Club des Cinq, CETAC, Seproma*

Lecomte C., **M. Hulmel**, M.-H. Bernicot. 1993. Utilisation du diagnostic agronomique pour modéliser l'interaction génotype-environnement. *Expérimentation INRA/ITCF. Rapport final d'avril 1993, dans le cadre de l'appel d'offre du CTPS : "Techniques d'expérimentation en vue de l'évaluation des variétés", et présentation au cours du Séminaire organisé par le Comité scientifique du CTPS, 5 mai 1993, INRA Paris*

Le Gouis J., **M. Brancourt-Hulmel**, D. Dorvillez, M.C. Mansard, C. Herbain, J.M. Machet, B. Hirel, M.H. Jeuffroy, O. Gardet, S. Gilles, L. Guerreiro, P. Gate, R. Doucet, M. Bonnefoy, V. Lein, M. Madre, P. Giraudeau, P. Momont, S. Sunderwirth, J.M. Moreau, J.M. Delhaye, P. Lerebour. 2008. Amélioration conjointe de l'efficacité d'absorption de l'azote et de la teneur en protéines chez le blé tendre. Rapport final.

Trottet M., P. Bérard, **M. Brancourt-Hulmel**, C. Lecomte, H. Taillieu, 1997. Etude de la rusticité des variétés de céréales et de maïs et recherche de variabilité pour ce caractère permettant d'orienter la création variétale dans le cadre d'une agriculture à faibles intrants. Travaux réalisés sur le blé tendre. *Rapport final du contrat de branche 1994-1996 entre le Ministère de l'Education Nationale de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche, Biocem SA Groupe Limagrain, impliquée par sa filiale Nickerson, et l'INRA*, 56 p

2. Ouvrages, chapitres d'ouvrages, rapports diplômants

2.1. Ouvrages, chapitres d'ouvrage

Leflon M., C. Lecomte, A. Barbottin, M.H. Jeuffroy, N. Robert, **M. Brancourt-Hulmel.** 2005. Characterization of environments and genotypes for analyzing genotype x environment interaction: some recent advances in winter wheat and prospects for QTL detection. In M. Kang (ed) Genetic and Production Innovations in Field Crop Technology: New Developments in Theory and Practice. The Haworth Press Inc. pp. 249-298. New-York *Invitée par M. Kang, professeur de génétique quantitative à l'université de Baton Rouge en Lousiane, j'ai proposé à d'autres collègues de participer à la rédaction. Rédaction et coordination de la rédaction du chapitre*

Zub H.W., **M. Brancourt-Hulmel**. *In press*. Agronomic and physiological performances of different species of Miscanthus, a major energy crop. A review. In Eric Lichtfouse, M. Navarrete,, P. Debaeke (ed) Sustainable Agriculture Volume 2 chapter 21

Contribution au Dictionnaire Critique et Historique "Les Mots de l'Agronom(i)e" (*rédaction en cours*). Coordination Pierre Molon INRA SAD

2.2. Rapport diplômants

Hulmel M. 1987. Etude de la fluctuation de l'incompatibilité pollinique chez le chou-fleur d'automne. Mémoire de fin d'Etudes, ENSFA Rennes. 58 p

Hulmel M. 1988. Etude du progrès génétique des hybrides de maïs à travers l'inscription de variétés au catalogue. DEA d'Amélioration des plantes, UNIVERSITE-ENSA de Rennes 39 p + annexes

Hulmel M. 1999. Expliquer l'interaction génotype x milieu par des génotypes révélateurs chez le blé tendre d'hiver. Thèse de doctorat, ENSA Rennes. 152 p

Autres références citées

Atienza S.G., Satovic Z., Petersen K.K., Dolstra O., Martin A. (2002) Preliminary genetic linkage map of *Miscanthus sinensis* with RAPD markers. Theoretical and Applied Genetics 105:946-952.

Atienza S.G., Satovic Z., Petersen K.K., Dolstra O., Martin A. (2003a) Identification of QTLs associated with yield and its components in *Miscanthus sinensis* Anderss. Euphytica 132:353-361.

Atienza S.G., Satovic Z., Petersen K.K., Dolstra O., Martin A. (2003b) Identification of QTLs influencing agronomic traits in *Miscanthus sinensis* Anderss. I. Total height, flag-leaf height and stem diameter. Theoretical and Applied Genetics 107:123-129.

Atkinson C.J. (2009) Establishing perennial grass energy crops in the UK: A review of current propagation options for miscanthus. Biomass & Bioenergy 33:752-759.

Bewa H. (2011) Evaluation de la disponibilité et de l'accessibilité de fibres végétales à usages matériaux en France, FRD-ADEME. pp. 84.

Cadoux S., Vandendriessche V., Machet J.M., Mary B., Beaudoin N., Lemaire G., Gosse G. (2008) Potential yield and main limiting factors of *Miscanthus x giganteus* in France. Identification of the needs for further research 16th European Biomass conference & exhibition, Valencia, Spain.

Cadoux S., Ferchaud F., Preudhomme M., Demay C., Fourdinier E., Strullu L., Mary B., Machet J.M., Boizard B., Gosse G. (2010) Production de biomasse et impacts environnementaux des cultures énergétiques. Colloque final du programme REGIX. Lyon 3-7 mai 2010:27-39.

Davis S.C., Parton W.J., Dohleman F.G., Smith C.M., Del Grosso S., Kent A.D., DeLucia E.H. (2010) Comparative Biogeochemical Cycles of Bioenergy Crops Reveal Nitrogen-Fixation and Low Greenhouse Gas Emissions in a *Miscanthus x giganteus* Agro-Ecosystem. Ecosystems 13:144-156.

Denis J.B. (1980) Analyse de régression factorielle. Biom. Praxim. 20:1-34.

Denis J.B. (1988) Two Way Analysis Using Covariates. Stat. 19:123-132.

Denis J.B. (1991) Ajustements de modèles linéaires et bilinéaires sous contraintes linéaires avec données manquantes. Rev. Stat. Appl. 34:5-24.

Deuter M. (2006) Sélection du miscanthus. Texte du site http://www.miscanthus.de/ traduit de l'allemand en français par Roswitha JUDOR, Service linguistique, DISI-IST, INRA Versailles-Grignon. pp. 24 p.

Deuter M., Abraham J. (1998) Genetic resources of miscanthus and their use in breeding, in: H. Kopetz, et al. (Eds.), Biomass for Energy and Industry. pp. 775-777.

Farrell A.D., Clifton-Brown J.C., Lewandowski I., Jones M.B. (2006) Genotypic variation in cold tolerance influences the yield of miscanthus. Annals of Applied Biology 149:337-345.

Finlay K.W., Wilkinson G.N. (1963) The analysis of adaptation in a plant-breeding program. Aust. J. Agric. Res. 14:742-754.

Hastings A., Clifton-Brown J., Wattenbach M., Stampfl P., Mitchell C.P., Smith P. (2008) Potential of miscanthus grasses to provide energy and hence reduce greenhouse gas emissions. Agronomy for Sustainable Development 28:465-472.

Heaton E.A., Dohleman F.G., Long S.P. (2008) Meeting US biofuel goals with less land: the potential of miscanthus. Global Change Biology 14:2000-2014.

Herbain C. (2006) Utilisation du modèle Azodyn pour prévoir le comportement de variétés de blé tendre d'hiver vis-à-vis de nutritions azotées sub-optimales., Université d'Amiens, Amiens.

Hodkinson T.R., Chase M.W., Lledo M.D., Salamin N., Renvoize S.A. (2002) Phylogenetics of *Miscanthus, Saccharum* and related genera (*Saccharinae, Andropogoneae, Poaceae*) based on DNA sequences from ITS nuclear ribosomal DNA and plastid trnL intron and trnL-F intergenic spacers. Journal of Plant Research 115:381-392.

Jeuffroy M.H., Recous S. (1999) Azodyn: a simple model simulating the date of nitrogen deficiency for decision support in wheat fertilization. European Journal of Agronomy 10:129-144.

Jorgensen U., Muhs H. (2001) Miscanthus : Breeding and Improvement, in: M. Jones and M. Walsh (Eds.), Miscanthus for energy and fibre, James and james, London. pp. 68-85.

Le Gouis J., Beghin D., Heumez E., Pluchard P. (2000) Genetic differences for nitrogen uptake and nitrogen utilisation efficiencies in winter wheat. European Journal of Agronomy 12:163-173.

Lecomte C. (2005) L'évaluation expérimentale des innovations variétales. Proposition d'outils d'analyse de l'interaction génotype x milieu adaptés à la diversité des besoins et des contraintes des acteurs de la filière semence, Institut national agronomique, Paris-Grignon. pp. 173.

Leterme P., Manichon H., Rogerestrade J. (1994) Yield Analysis of Wheat Grown in an on-Farm Field Network in Thymerais (France). Agronomie 14:341-361.

Meynard J.M., Sebillotte M. (1983) Diagnosis of the causes of variations in wheat yield in a small region. Colloques de l'INRA:157-168.

Parisot-Baril C. (1992) Etude de la stabilité du rendement chez le blé tendre d'hiver (*Triticum aestivum* L. Thell.), Thèse Université de Paris-Sud Centre d'Orsay, Orsay, France.

Piperidis G., Christopher M.J., Carroll B.J., Berding N., D'Hont A. (2000) Molecular contribution to selection of intergeneric hybrids between sugarcane and the wild species Erianthus arundinaceus. Genome 43:1033-1037.

Quinn L.D., Allen D.J., Stewart J.R. (2010) Invasiveness potential of *Miscanthus sinensis*: implications for bioenergy production in the United States. Global Change Biology Bioenergy 2:310-320.

Romagosa I., Ullrich S.E., Han F., Hayes P.M. (1996) Use of the additive main effects and multiplicative interaction model in QTL mapping for adaptation in barley. Theoretical and Applied Genetics 93:30-37.

Sebillotte M. (1980) An analysis of yield elaboration in wheat, Wheat technical monograph, CIBA-GEIGY, Basel. pp. 25-32.

Strullu L. (2011) Flux d'azote dans une culture pérenne à vocation énergétique, *Miscanthus x giganteus* : étude expérimentale et éléments de modélisation, Thèse AgroParisTech, Paris. pp. 108.

Sun Q.A., Lin Q., Yi Z.L., Yang Z.R., Zhou F.S. (2010) A taxonomic revision of *Miscanthus* s.l. (Poaceae) from China. Botanical Journal of the Linnean Society 164:178-220.

Swaminathan K., Alabady M.S., Varala K., De Paoli E., Ho I., Rokhsar D.S., Arumuganathan A.K., Ming R., Green P.J., Meyers B.C., Moose S.P., Hudson M.E. (2010) Genomic and small RNA sequencing of *Miscanthus x giganteus* shows the utility of sorghum as a reference genome sequence for Andropogoneae grasses. Genome Biology 11.

Van Eeuwijk F.A. (1995) Linear and Bilinear Models for the Analysis of Multi- Environment Trials .1. An Inventory of Models. Euphytica 84:1-7.

Vermerris W. (2011) Survey of Genomics Approaches to Improve Bioenergy Traits in Maize, Sorghum and Sugarcane Free Access. Journal of Integrative Plant Biology 53:105-119.

Résumé de l'activité de recherche

Mon activité de recherche s'est successivement orientée dans deux voies : 1) la méthodologie des génotypes révélateurs pour analyser les interactions génotype x milieu et QTL[6] x milieu du blé tendre d'hiver et 2) l'analyse des déterminants de la production de biomasse du miscanthus en lien avec la production de carbone renouvelable.

Travaux sur blé tendre d'hiver

Ayant montré au préalable que peu de travaux relevaient d'une démarche complète intégrant les aspects agro-physiologiques dans la modélisation statistique (Brancourt-Hulmel et al 1997), nous avons développé une démarche d'analyse de l'interaction génotype x milieu qui se base sur l'observation de génotypes révélateurs. Il s'agit d'un petit nombre de variétés choisies *a priori* sur leurs comportements spécifiques et complémentaires vis à vis d'un ou plusieurs facteurs du milieu. Elles couvrent aussi la gamme des précocités des génotypes testés dans les essais de façon à représenter des sensibilités variées vis-à-vis des facteurs limitants du rendement les plus fréquents (Brancourt-Hulmel et al 1999).

La démarche consiste à réaliser un diagnostic agronomique de l'action de facteurs du milieu sur le comportement des génotypes révélateurs dans chaque milieu d'expérimentation. Par comparaison du comportement à un potentiel théorique, la présence et l'intensité des facteurs peuvent être révélées pendant le cycle du développement. Ce potentiel a été obtenu par procédure d'échantillonnage aléatoire à partir de données expérimentales (Brancourt-Hulmel et al 1999). L'interaction génotype x milieu est ensuite modélisée à l'aide de modèles statistiques (régression factorielle, régression factorielle biadditive) au regard des facteurs limitants identifiés lors du diagnostic (Brancourt-Hulmel 1999 ; Brancourt-Hulmel et al 2000), permettant ainsi l'estimation de la réponse ou sensibilité des génotypes aux facteurs limitants du milieu.

Pour choisir les génotypes révélateurs de façon complémentaire, nous avons pu mettre en évidence trois critères (Brancourt-Hulmel et al 2001). Concernant le modèle biométrique, nous avons montré la pertinence de la régression factorielle biadditive par rapport au modèle AMMI, un autre modèle multiplicatif très usuel (Brancourt-Hulmel et Lecomte 2003). Concernant la caractérisation du milieu, nous nous sommes interrogés sur le type de variables qui peuvent être des indicateurs directs de facteurs limitants ou des indicateurs indirects tels les mesures de réponse des plantes aux conditions de milieux (Brancourt et al 2000 ; Robert et Brancourt-Hulmel 2007 ; Robert et al 2007 ; Laperche et al 2008). Nous avons aussi défini le nombre optimal de milieux pour estimer les réponses des génotypes aux conditions environnementales (Zheng et al 2009).

Ayant montré que peu de recherches ont été menées sur l'analyse de la spécificité de QTL à certains milieux (Leflon et al 2005), nous avons formulé l'hypothèse que les génotypes révélateurs pourraient contribuer à identifier la spécificité des QTL à des conditions particulières de milieu. Ainsi, nous avons développé avec succès une stratégie en quatre étapes pour disséquer l'interaction QTL x milieu pour les composantes de rendement chez le blé tendre d'hiver (Zheng et al 2010).

Travaux sur miscanthus

Parmi les plantes non alimentaires, le miscanthus est une graminée pérenne au métabolisme photosynthétique en C4 à laquelle on s'intéresse de plus en plus en Europe comme aux USA (Hastings et al 2008; Heaton et al 2008) pour diverses valorisations (énergie thermique, agro-matériaux…).

La stratégie de recherche globale pour analyser la variabilité de la production de biomasse peut se décomposer en trois étapes. La culture étant récente en France et limitée à la seule espèce hybride *M. x giganteus*, et aucune étude n'ayant comparé différentes espèces en France, une première étape vise à **explorer les potentialités agronomiques de différentes espèces de miscanthus** dans le but de déterminer une (ou plusieurs) espèce(s) adéquate(s) pour les conditions françaises et **identifier les principaux caractères clés liés à la production de biomasse**. Ce travail a été initié par la thèse d'Hélène Zub (Zub, 2010 ; Zub et al 2011). Il se continue dans le cadre de la thèse de Xu-Ping Feng pour identifier des caractères en vue de diriger la collecte des miscanthus natifs de Chine. Parallèlement, les facteurs abiotiques qui peuvent influencer le comportement de la plante sont à explorer. La bibliographie fait apparaître que peu de facteurs biotiques (maladies, ravageurs) sont rencontrés en Europe sur le miscanthus (Zub et Brancourt-Hulmel 2009), d'où une concentration des efforts sur les facteurs abiotiques. En tenant compte de l'espèce et du facteur du milieu d'intérêt précédemment identifiés, ces objectifs seront poursuivis dans une deuxième étape par des études génétiques pour **comprendre le déterminisme génétique de la production de biomasse et des caractères associés**. Une dernière étape consistera à valoriser les acquis précédents pour **créer des innovations variétales adaptées aux régions septentrionales françaises et limitrophes** dont la biomasse et sa composition auront été façonnées pour les différents débouchés précités.

[6] Quantitative Trait Loci ou région chromosomique associée à un caractère quantitatif