

Réflexions et enjeux associés
aux réseaux expérimentaux et
au phénotypage
chez les arbres forestiers
en vue de création variétale

- Création variétale « Peuplier » en France
 - Objectifs
 - Schémas
 - **Dispositifs d'évaluation**
 - Organisation des tâches entre partenaires
 - **Optimisation de méthodes de phénotypage**

- Autres dispositifs « génétique » en réseaux: le réseau Plantacomp

Historique

- **Avant 1997** : plusieurs organismes de recherche menant leurs propres travaux sur la génétique du peuplier / réseaux distincts:
 - **INRA**
 - **Cemagref**
 - **AFOCEL**

- **Entre 1997 et 2001** : volonté commune de mutualiser les moyens de recherche autour d'un projet commun et d'un seul programme d'amélioration génétique :
 - **premiers travaux communs, soutenus par le Ministère de l'Agriculture,**
 - **création d'un Groupement d'Intérêt Scientifique (GIS) ...**

- **Signature en 2001** de la convention constitutive du GIS « Peuplier ».

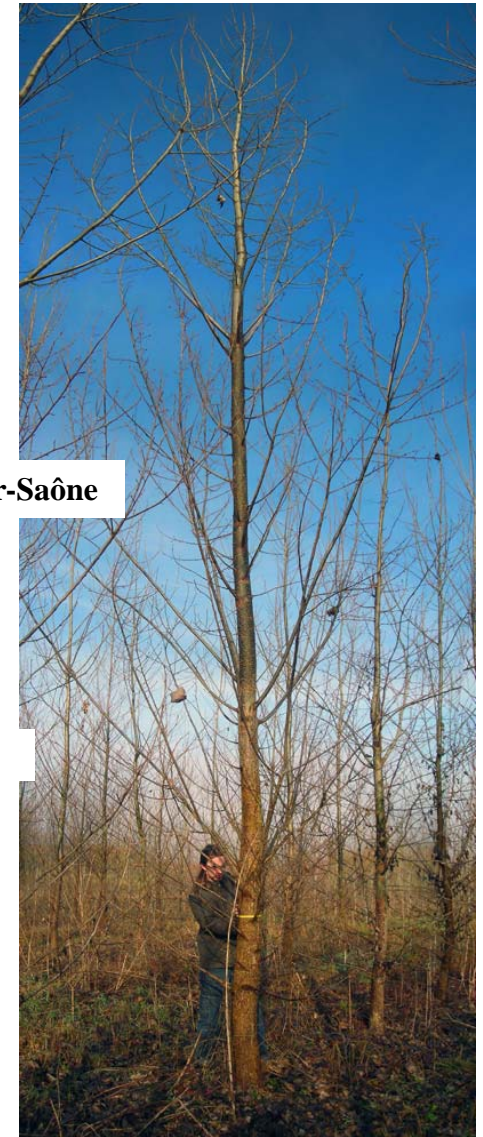
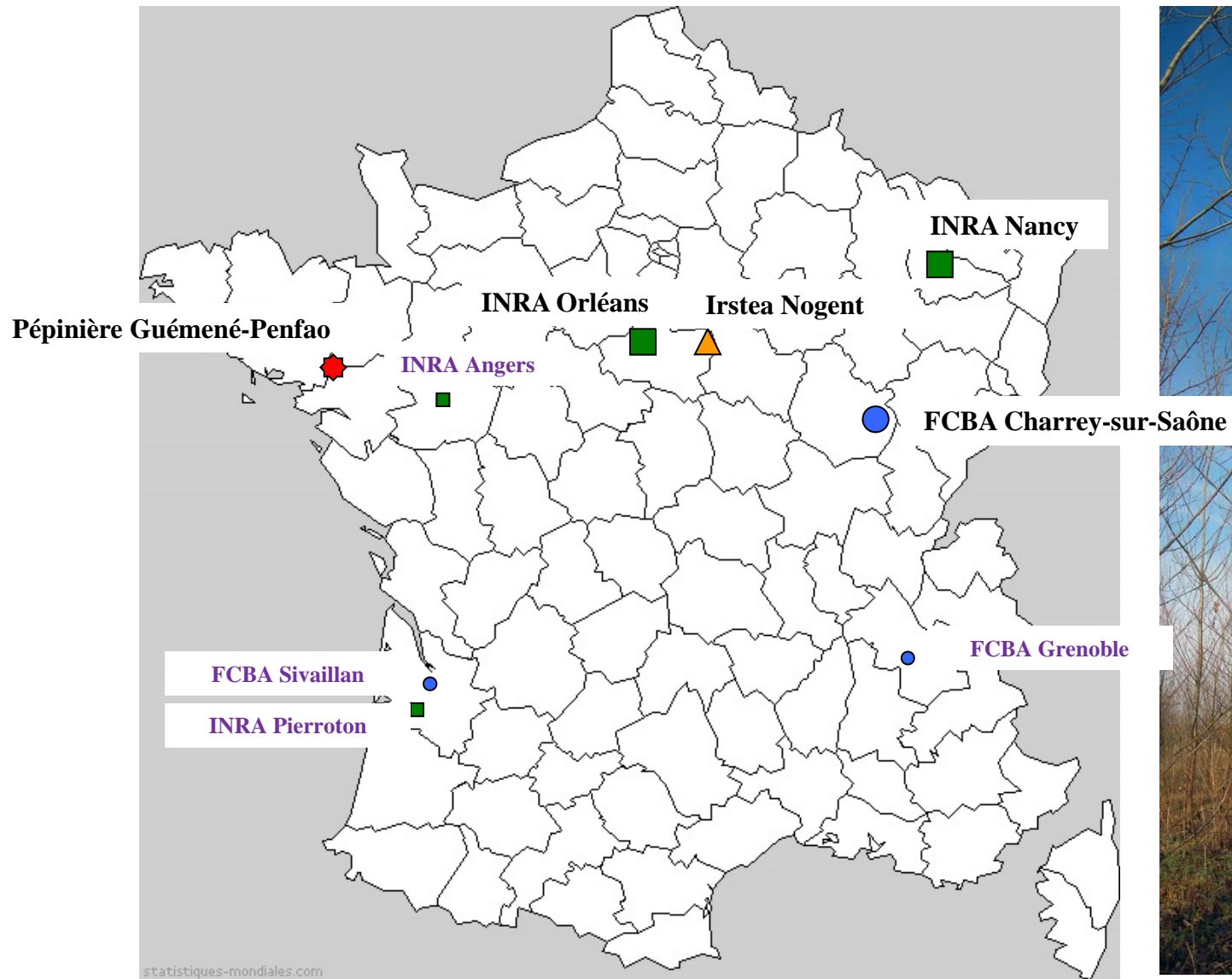
Les missions du GIS Peuplier

Les objectifs du GIS Peuplier sont inscrits dans ses statuts :

- **Concevoir et gérer** un programme d'amélioration génétique à court, moyen et long terme pour un objectif bois d'œuvre et biomasse ligno-cellulosique
- **Diffuser à la filière, des clones performants et à caractéristiques stables, avec l'appui d'organismes de développement.**



Les localisations (membres et partenaires du GIS)



1. Les ressources génétiques

- valoriser la **variabilité naturelle** présente dans les différentes espèces de peuplier

P. nigra



~ 1000 clones

P. deltoides



~ 650 clones

P. trichocarpa

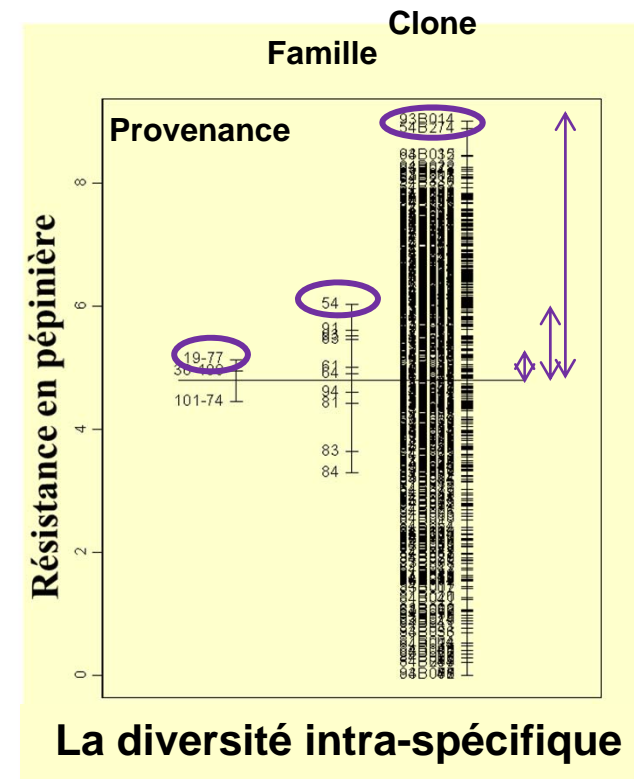


~ 650 clones

P. maximowiczii



~ 180 clones



2. Les critères de sélection



Coll. LBLGC, Univ Orléans

3. Les étapes de sélection



Sélection de 20-30 géniteurs

20-25 fam / 10000 graines 1500 ind.

800 clones

800 clones

50 clones

25 clones

5 clones

Croisements/semis

Multiplication
végétative

Test en pépinière (Guéméné-penfao)

Tests pathologiques (Mlp, Marsso, chancre)
1^{ers} populeturns à parcelle monoarbre

2^{èmes} populeturns à parcelle pluri-arbre
Suivi sanitaire

Homologation, Protection communautaire
Démonstration (réseau IDF)

Commercialisation

3. Les étapes de sélection

Sélection de 20-30 géniteurs



20-25 fam / 1200 ind.

800 clones

800 clones

50 clones

25 clones

5 clones



S Multiplication végétative



S Croissance juvénile, Résist. rouille, Branchaison



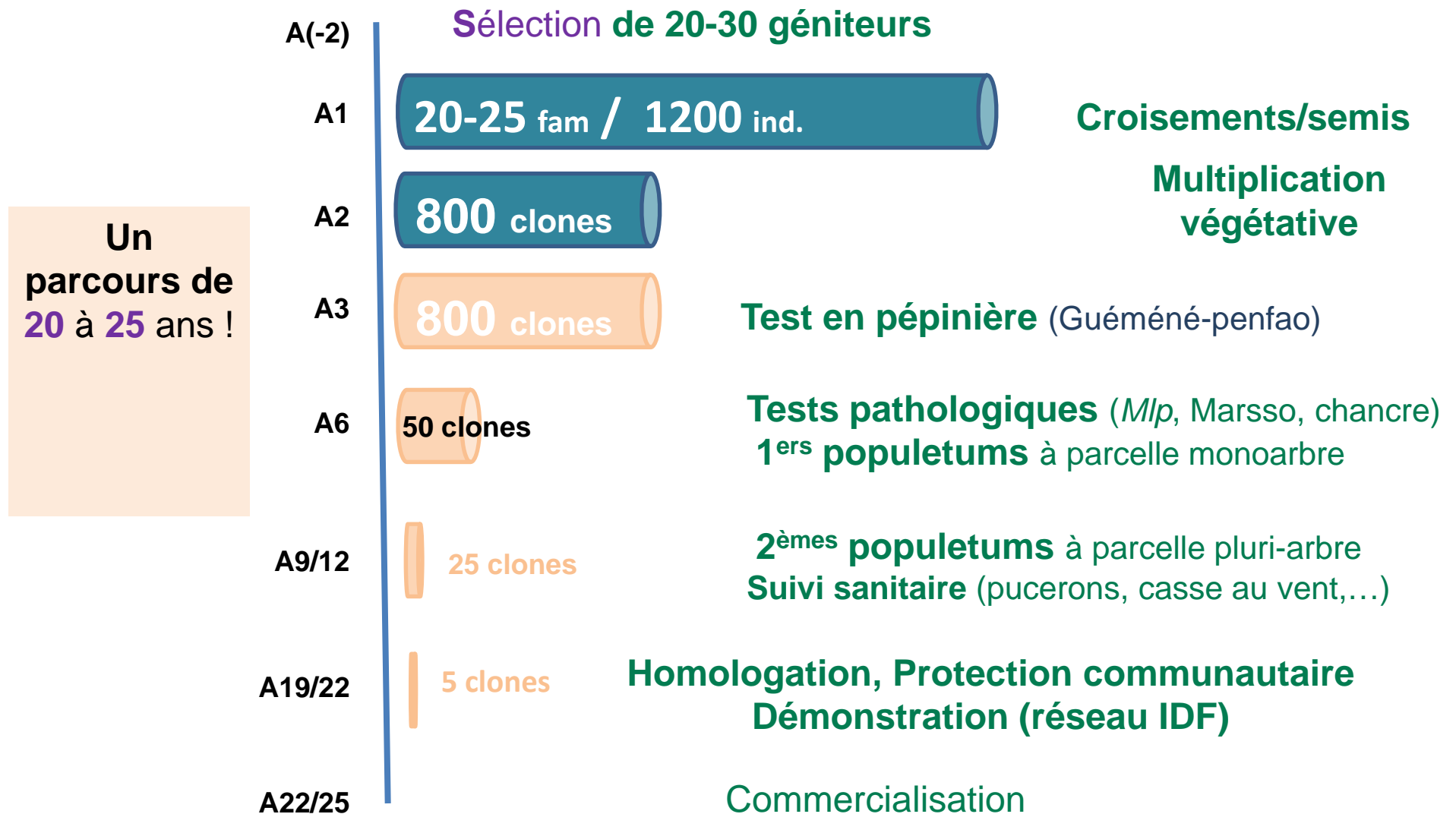
S Résistance aux ravageurs, Stabilité de la croissance, Forme



S Tous les critères y compris propriétés du bois

Commercialisation

3. Les étapes de sélection



3. Les dispositifs d'évaluation

Tests en pépinière

Objectifs : Tests juvéniles permettant le screening du matériel issu de croisement

- un grand nb de clones en test
- une durée de suivi d'au maximum 4 ans (2+2)
- proximité des bases techniques pour faciliter le phénotypage
- protocoles expérimentaux spécifiques / populiculture classique
- un test de référence obligatoire pour l'homologation

Test « généraliste »



Tests d'évaluation
« comportement »

Tests spécialisés

Sensibilité
et tolérance à la
rouille foliaire

Sensibilité au
chancre
bactérien

Sensibilité à
Marssonina
brunnea



3. Les dispositifs d'évaluation



Tests « généralistes » en pépinière

Objectifs : Tests juvéniles permettant le screening du matériel issu de croisement
- un test de référence obligatoire pour l'homologation *provisoire*

durée de suivi = 4 ans (2+2)

Lieu de test = Guéméné-Penfao

Caractères évalués:

- survie (aptitude bouturage)
- Croissance en hauteur
- Croissance en diamètre
- Débourrement végétatif
- Arrêt de croissance
- Angle moyen de branchaison
- Flexuosité de la tige
- Sensibilité à *Mlp* (inf. naturelle)
- [aptitude au recépage]
- [biomasse fraîche et sèche]

Dispositif expérimental :

- Blocs complets randomisés : 6
- Nb clones dont témoins: **max 350**
- Parcelle **unitaire mono-arbre**
- densité visant une faible compétition



Mesure de phénologie: 1 jour à 2

$H^2_{\text{géno}} > 0,8$

Sélection combinée Famille-Individu



3. Les dispositifs d'évaluation



Tests « spécialisés » en pépinière (1)

Objectifs : Evaluation de la Sensibilité et de Tolérance à *Mlp*.

- deuxième étape de tri des clones
- un test de référence obligatoire pour l'homologation provisoire

durée de suivi = 1 + 2 ans

Caractères évalués:

- Croissance 1^{ère} année
- Sensibilité à *Mlp* 2^{ème} année (2 dates)
- Hauteur finale 2^{ème} année
- Circonférence 2^{ème} année
- Biomasse 2^{ème} année
- Sensibilité à *Mlp* 3^{ème} (2 dates)
- Hauteur finale 3^{ème} année
- Circonférence 3^{ème} année
- Biomasse 3^{ème} année



Lieu de test = Charrey sur Saône

Dispositif expérimental :

Partie Traitée / Partie non Traitée

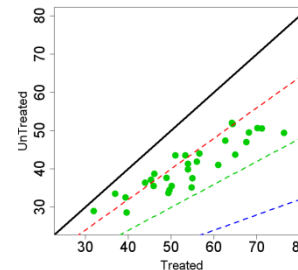
Blocs complets randomisés : 20 (2x10)

Nb clones dont témoins: **max 100**

Parcelle **unitaire mono-arbre**

Lignes intercalaires de Mélèze

Contrôle de la population de *Mlp*





3. Les dispositifs d'évaluation



Tests « spécialisés » en pépinière (1)

- Objectifs :** Evaluation de la Sensibilité au chancre bactérien
- deuxième étape de tri des clones
 - un test de référence obligatoire pour l'homologation définitive

durée de suivi = 5 ans

Lieu de test = Angers / Orléans

Caractères évalués:

- diamètre à 2 ans avant inoculation
- Longueur chancre 1an-pi
- Indice de ceinturation 1 an-pi
- Longueur chancre 2ans-pi
- Indice de ceinturation 2ans-pi
- Longueur chancre 3ans-pi
- Indice de ceinturation 3ans-pi

Dispositif expérimental :

- Blocs complets randomisés : 4-6
- Nb clones dont témoins: **max 120**
- Parcelle **unitaire linéaire 3 arbres**
- Inoculation artificielle: 3 points / arbre



Longueur du chancre
Indice de ceinturation (0-5)

✓ lecture 2 à 3 ans après inoculation





3. Les dispositifs d'évaluation



Tests « spécialisés » en pépinière (1)

- Objectifs :** Evaluation de la Sensibilité et de la Tolérance à *Marssonina brunnea*
- deuxième étape de tri des clones
 - un test de référence obligatoire pour l'homologation provisoire

durée de suivi = 1+1+1 (+1) ans

Lieu de test = Nogent sur Vernisson

Caractères évalués:

- croissance 1^{ère} année
- score densité acervules sur ttes les feuilles du plant (2 dates)

Dispositif expérimental :

Partie traitée / Partie non traitée
 Blocs complets randomisés : 2 x (4-6)
 Nb clones dont témoins: **max 120**
 Parcelle **unitaire linéaire 2-3 arbres**
 Ligne intercalaire Magistère géant

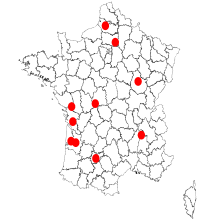


1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44
49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62
69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82
89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102
111	112	113	114	115	116	117	118	119	120	121	122	123	124
131	132	133	134	135	136	137	138	139	140	141	142	143	144
151	152	153	154	155	156	157	158	159	160	161	162	163	164
171	172	173	174	175	176	177	178	179	180	181	182	183	184
191	192	193	194	195	196	197	198	199	200	201	202	203	204
211	212	213	214	215	216	217	218	219	220	221	222	223	224
231	232	233	234	235	236	237	238	239	240	241	242	243	244
251	252	253	254	255	256	257	258	259	260	261	262	263	264
271	272	273	274	275	276	277	278	279	280	281	282	283	284
291	292	293	294	295	296	297	298	299	300	301	302	303	304
311	312	313	314	315	316	317	318	319	320	321	322	323	324
331	332	333	334	335	336	337	338	339	340	341	342	343	344
351	352	353	354	355	356	357	358	359	360	361	362	363	364
371	372	373	374	375	376	377	378	379	380	381	382	383	384
391	392	393	394	395	396	397	398	399	400	401	402	403	404
411	412	413	414	415	416	417	418	419	420	421	422	423	424
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444
451	452	453	454	455	456	457	458	459	460	461	462	463	464
471	472	473	474	475	476	477	478	479	480	481	482	483	484
491	492	493	494	495	496	497	498	499	500	501	502	503	504
511	512	513	514	515	516	517	518	519	520	521	522	523	524
531	532	533	534	535	536	537	538	539	540	541	542	543	544
551	552	553	554	555	556	557	558	559	560	561	562	563	564
571	572	573	574	575	576	577	578	579	580	581	582	583	584
591	592	593	594	595	596	597	598	599	600	601	602	603	604
611	612	613	614	615	616	617	618	619	620	621	622	623	624
631	632	633	634	635	636	637	638	639	640	641	642	643	644
651	652	653	654	655	656	657	658	659	660	661	662	663	664
671	672	673	674	675	676	677	678	679	680	681	682	683	684
691	692	693	694	695	696	697	698	699	700	701	702	703	704
711	712	713	714	715	716	717	718	719	720	721	722	723	724
731	732	733	734	735	736	737	738	739	740	741	742	743	744
751	752	753	754	755	756	757	758	759	760	761	762	763	764
771	772	773	774	775	776	777	778	779	780	781	782	783	784
791	792	793	794	795	796	797	798	799	800	801	802	803	804
811	812	813	814	815	816	817	818	819	820	821	822	823	824
831	832	833	834	835	836	837	838	839	840	841	842	843	844
851	852	853	854	855	856	857	858	859	860	861	862	863	864
871	872	873	874	875	876	877	878	879	880	881	882	883	884
891	892	893	894	895	896	897	898	899	900	901	902	903	904
911	912	913	914	915	916	917	918	919	920	921	922	923	924
931	932	933	934	935	936	937	938	939	940	941	942	943	944
951	952	953	954	955	956	957	958	959	960	961	962	963	964
971	972	973	974	975	976	977	978	979	980	981	982	983	984
991	992	993	994	995	996	997	998	999	1000	1001	1002	1003	1004





3. Les dispositifs d'évaluation



Tests en plantations

Objectifs : Tests agronomiques permettant le test des clones en conditions sylvicoles classiques dans différents environnements en France
- min. 3 tests obligatoires pour l'homologation *provisoire*

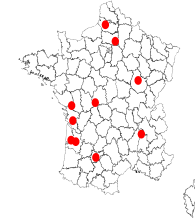
durée de suivi = rotation classique 12-18 ans en populiculture classique
2 -3 rotations de 4 à 7 ans pour les taillis à courtes rotations

Lieux de test = couverture des climats et stations potentiels
sous convention avec populteurs

Sylviculture = modalités classiques
+ 1 modalité « faible intrant » sur un site (nouveau 2013)



3. Les dispositifs d'évaluation



Tests en plantations

Dispositif monoarbre:

Blocs complets randomisés : **10**

Nb clones dont témoins: **max 60**

Parcelle **unitaire monoarbre**

Nb sites : 4-5

Dispositif pluri-arbre :

Blocs complets randomisés: **3-4**

Nb clones dont témoins: **max 20**

Parcelle unitaire : **9=3x3 arbres**

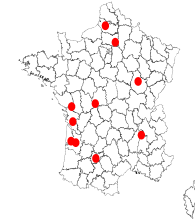
Nb sites : 4-5

Caractères évalués:

- Croissance en hauteur 1 an après plantation, ts les ans jusqu'à 12m
- Croissance en circonférence 1 an après plantation, ts les ans jusqu'à 5 ans, puis ts les 2-3 ans
- Flexuosité de la tige
- Branchaison : nb, grosseurs, angle moyen
- Défauts de fourchaison
- À la récolte : prélèvement échantillons bois pour tests mécaniques et industriels



3. Les dispositifs d'évaluation



Tests en plantations

Forme et qualité de branchaison

✓ des caractères observables sur des dispositifs jeunes (3-5 ans)

- Rectitude
- Angle de branchaison
- Branchaison continue-discontinue



✓ sont jugés sur des dispositifs plus âgés (7-12 ans)

- Fourches
- Nombre et Grosseur des branches



✓ autres critères

- Cicatrisation après élagage
- Sensibilité à la casse
- Cylindricité de la tige

Les moyens et les équipes



Organisme :	GIS peuplier :	Peuplier hors GIS :	Total :
INRA Orléans+Nancy:	3 ETP : stratégie de sélection, « croisements », tests pépinière, évaluation rouille, chancre, qualité du bois, étapes de sélection	5,5 ETP (CR et IR) + 3 techniciens + 2 thésards : peuplier noir, biomasse, écophysologie, réseau expérimental, marquage moléculaire, QB...	> 10 ETP
Irstea:	1,5 ETP : évaluation Marssonina, tests agronomiques,	0,5 ETP : évaluation clones GIS et hors GIS, BDD, appui technique.	= 2 ETP
FCBA :	1 ETP : évaluation rouille, tests agronomiques, qualité du bois	1,0 à 1,5 ETP : mesure réseau d'essai « peuplier » et « biomasse », qualité bois et fibres, etc.	= 2 à 2,5 ETP
Guéméné-ONF (MIG Ministère)		1,5 ETP: maintien des collections, tests en pépinières et élevage des tests en plantation	= 1,5 ETP

5,5 ETP

#13,5 ETP

3. Les dispositifs d'évaluation

Organisation du suivi des dispositifs

Type de test	Préparation	Plantation	Mesures	Analyses des données	Validation des sélections
Test pépinière généraliste	INRA/Guém.	Guém.	INRA/Guém	INRA	INRA+Irstea+FCBA
Test Sens./Tol Mlp	FCBA/Guém	FCBA	INRA/FCBA	FCBA/INRA	
Test Sens. / Tol Marsso	Irstea/Guém	Irstea	Irstea	Irstea/INRA	
Test Sens. Chancre bactérien	INRA/Guém	INRA	INRA	INRA	
Populetum mono-arbres	Guém	FCBA / Irstea	FCBA / Irstea	FCBA/Irstea/INRA	
Populetum pluri-arbres	Guém	FCBA / Irstea	FCBA / Irstea	FCBA/Irstea/INRA	
Test Sens Mlp- laboratoire	INRA		INRA	INRA	
Test Sens pucerons	INRA		INRA	INRA	
Evaluation QB	FCBA/INRA		FCBA/INRA	FCBA/INRA	

3. Les dispositifs d'évaluation

Programme de travail annuel, planification semestrielle

- 1 à 2 tests /an en pépinière à Guéméné-Penfao
- 1 test Mlp T/NT tous les 3 ans à Charrey sur Saône
- 1 test Chancre tous les 5-6 ans à Angers ou Orléans
- 1 test Marsso brunnea tous les 4 ans à Nogent sur Vernisson

- 2 plantations /an IRSTEA + 2 plantations/an FCBA

- Mesures de 8-10 populetum par an (pour chacun IRSTEA et FCBA)

3. Les dispositifs d'évaluation

Connexion du réseau GIS avec d'autres réseaux de tests réalisés par des partenaires européens (Tree4Future)

- Discussion sur les protocoles d'évaluation: effectifs minimum
- Harmonisation des listes de cultivars témoins pour les différents caractères d'intérêt
- Harmonisation des différents protocoles d'observation:
 - Croissance (qqs âges de référence 1-5-8-12-15-20 ans)
 - Phénologie (débourrement, arrêt de croissance, défeuillaison)
 - Sensibilité aux ravageurs
 - Biomasse
- Identification de laboratoires « référents » par catégorie de caractères
- Base de méta-données décrivant les dispositifs

3. Les méthodes de phénotypage

Mise au point de protocoles d'observations
(phénologie végétative)

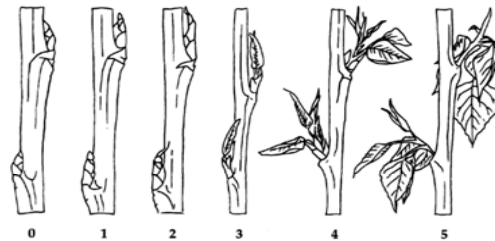
Débourrement végétatif

Score 0/1 tous les 2 jours pdt 3 semaines
remplacé par

Score 6 classes sur 3 passages avec calage sur témoins

Populus nigra NETWORK. SECOND MEETING 21

Ad 2.13. and 2.31. Stages of bud burst



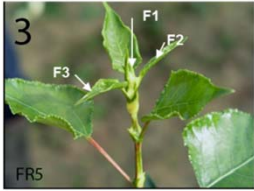

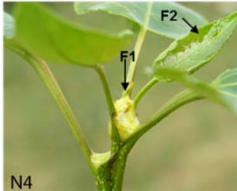
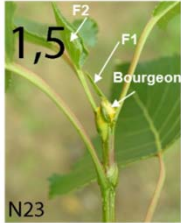



- 0 Dormant bud completely enveloped by the scales (= perulae)
- 1 Bud swelling with scales slightly diverging showing a narrow yellow margin; presence of one or more droplets of balsam
- 2 Bud sprouting, with tips of the small leaves emerging out of the scales
- 3 Buds completely opened with leaves still clustered together; scales still present
- 4 Leaves diverging with their blades still rolled up; scales may be present or absent
- 5 Leaves completely unfolded (but smaller in size than mature ones); lengthening of the axis of the shoot evident; scales absent.

3. Les méthodes de phénotypage

Mise au point de protocoles d'observations
(phénologie végétative)

Date arrêt de croissance

Score 7 classes sur 4-5 passages avec calage sur témoins

Présence de feuilles enroulées	 <p>Score 3 Plus de 2 feuilles enroulées Beaucoup de baume couvrant plusieurs entrenoeuds</p>	 <p>Score 2,5 F1 et F2 enroulées, même niveau Apex et plusieurs entrenoeuds couverts de baume</p>	 <p>Score 2 F1 enroulée, pas de bourgeon Apex et dernier entrenoeud couvert de baume</p>	 <p>Score 1,5 F1 enroulée en partie, bourgeon visible, Baume limité à l'apex le plus souvent</p>
	Plus de feuille enroulée	 <p>Score 1 Plus de feuille enroulée F1 aspect juvénile, quelquefois atypique, bourgeon non fermé vert Bourgeon non recouvert de baume</p>	 <p>Score 0,5 Plus de feuille enroulée bourgeon vert fermé Stipules de F1 et F2 vertes Bourgeon restant « collant » et brillant de baume</p>	 <p>Score 0 Feuilles aspect adulte Bourgeon fermé rouge-marron Plus de baume visible</p>

3. Les méthodes de phénotypage

Mise au point de protocoles d'observations
(Biomasse fraîche)

Calibration sur 50 arbres (échant choisi sur HT et Circonférence)
R² compris entre 0,7 et 0,9



3. Les méthodes de phénotypage

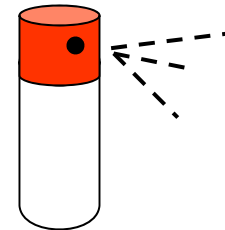
Caractérisation des $R_{complètes}$ à *Mlp* en laboratoire



Collection de souches **12 à 20** souches de pathotypes différents

cv. 'Ogy'	R1	
cv. 'Candicans'	R2	
cv. 'Brabantica'	R3	
cv. 'Unal'	R4	
cv. 'Rap'	R5	
87B12	R6	
cv. 'Beaupré'	R7	
cv. 'Hoogvorst'	R8	

Pathotype 2-4-7
(Virulences 2, 4 et 7)

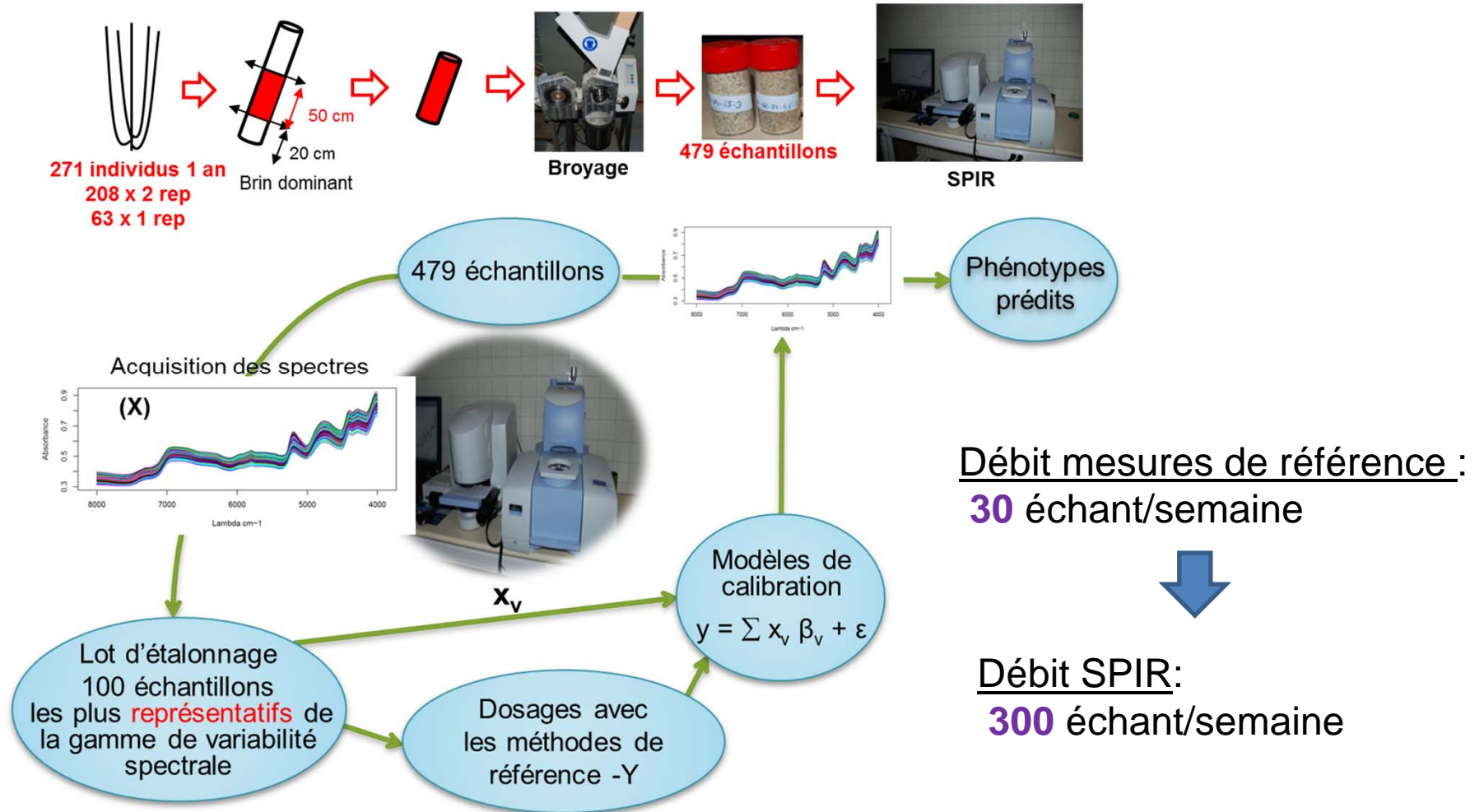


Inoculation à **forte densité** en tests randomisés à 10 répétitions

Durée du test = **14 Jours**

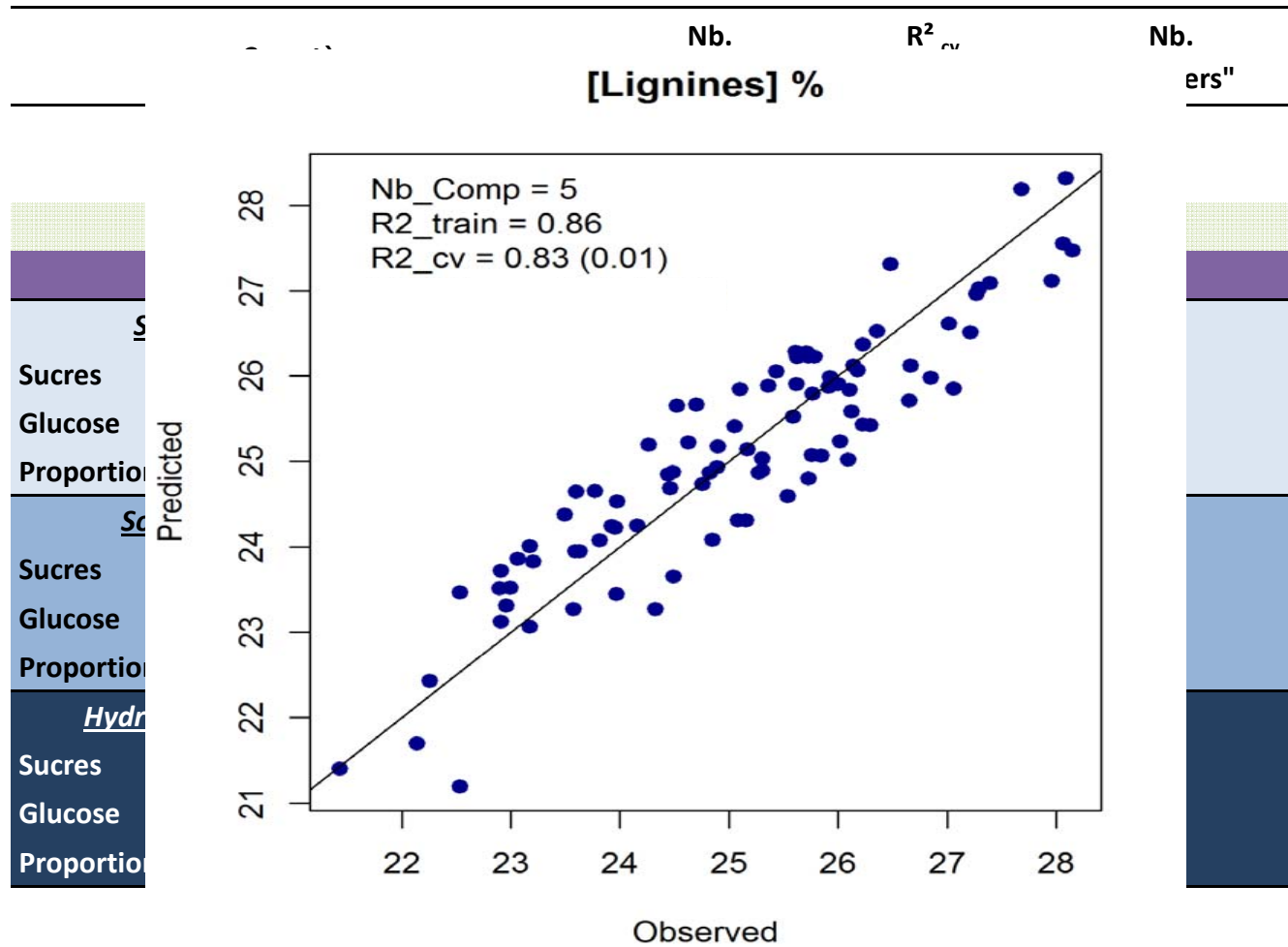
3. Les méthodes de phénotypage

Méthode de phénotypage haut débit de la qualité du bois chez le peuplier



3. Les méthodes de phénotypage

Modèles de calibration





Présentation de l'action PlantaComp





Présentation du réseau PlantaComp

Contexte général

- 1960' : développement de l'expérimentation en vue de produire du Matériel Forestier de Reboisement et de créer des variétés améliorées
- Installation de réseaux de **Plantations Comparatives** :

➤ *Expérimentations répétées dans des milieux variés qui permettent de comparer plusieurs unités génétiques et ainsi d'étudier des paramètres génétiques et d'en apprécier la variabilité*

➤ Tests de comparaison

- d'espèces
- de provenances
- de descendances
- de clones

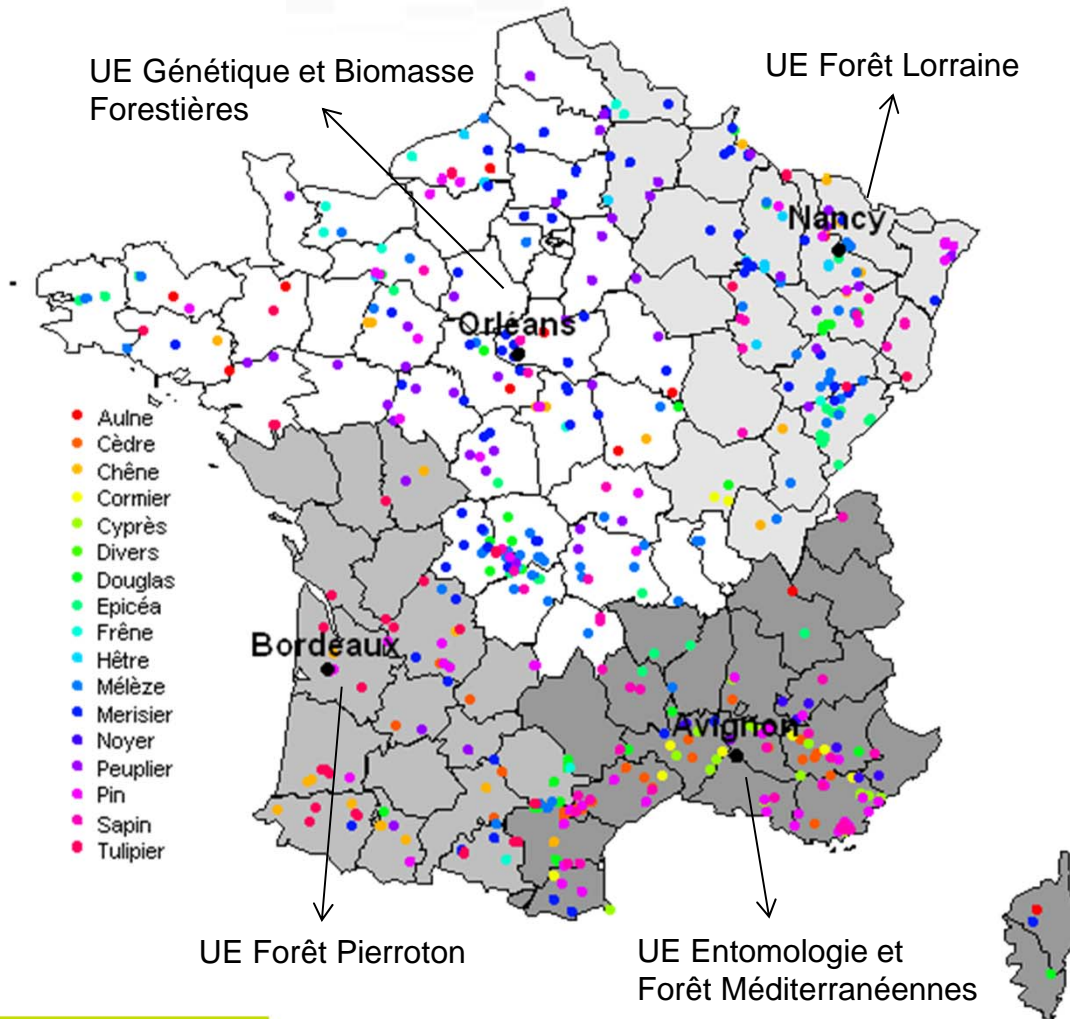


➤ Mises en place par l'INRA mais aussi d'autres organismes (ONF, FCBA, ...)



Présentation du réseau PlantaComp

Description du réseau



➤ Gestion technique répartie géographiquement sur 4 UEs EFPA (~7 ETP permanents)

➤ Suivi scientifique assuré par des responsables espèces (UR AGPF, UR FM, UmR Biogeco)

➤ Quelques chiffres :

~ 50 espèces/genres testées

~ 1000 dispositifs installés

~ 2000 ha d'expérimentation

~ 2.5 millions d'arbres plantés

➤ Investissements :

~ 85k€ projet patrimoine EFPA depuis 2005

~ 35k€ enveloppe PlantaComp depuis 2009

~ 60k€/an dépensés pour entretien et suivi



Présentation du réseau PlantaComp

Thématiques de recherche

- Originelles
Le réseau sert de support aux travaux d'amélioration génétique réalisés depuis plusieurs dizaines d'années
- Récentes
Les répétitions multi-sites du matériel génétique testé permettent d'explorer de nouvelles pistes d'adaptation dans le cadre du changement climatique



Limites : le réseau n'a pas été conçu pour répondre à ces nouvelles questions, nécessité de certains aménagement (installation de nouveaux dispositifs, introduction de nouveau matériel, collaboration avec partenaires)



Présentation du réseau PlantaComp

Action PlantaComp

- Lancement de l'action PlantaComp en 2009 avec un poste EFPA dédié

Animation

- Créer un dynamique autour du réseau PlantaComp
- Renforcer les interactions entre les unités du réseau
- Interagir avec les partenaires extérieurs

Exemple : Organisation d'une rencontre annuelle des praticiens du réseau

Coordination

- Améliorer la gestion et le suivi des tests
- Travailler sur les méthodes d'acquisition des données
- Mettre en place des outils pour mieux gérer les données du réseau

Exemple : Réflexion sur la mise en place d'un système d'information central

Valorisation

- Intégrer le réseau à de nouveaux projets de recherche
- Accroître la visibilité du réseau

Exemple : Création de la lettre d'information du réseau annuelle