



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
المدرسة الوطنية العليا للفلاحة الحراش-الجزائر
ECOLE NATIONALE SUPERIEURE AGRONOMIQUE
EI-HARRACH –ALGER

Thèse

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat 3^{ème} cycle LMD

Spécialité : Amélioration des productions végétales et agriculture durable

Thème

Génétique d'association sous stress hydrique chez le maïs

Présentée par : Mlle. RIDA Soumeya

Membres de jury

Président : M. KHELIFI Lakhdar

Professeur, ENSA, Alger

Directeur de thèse : M. MEKLIICHE Arezki

Professeur, ENSA, Alger

Examineurs : M. MEFTI Mohammed

Professeur, ENSA, Alger

M^{me}. BENKHERBACHE Nadjat

Professeur, Université Mohamed Boudiaf, M'sila

M. BENBELKACEM Abdelkader

Directeur de recherche, INRAA

Année universitaire : 2022-2023

Sommaire

Dédicace	
Remerciements	
Résumé	
Liste des abréviations	I
Liste des tableaux	III
Liste des figures	IV
Introduction générale	1
Synthèse bibliographique	
Chapitre I : Stress hydrique chez le maïs	5
1. Stratégies mises en œuvre par les plantes face au stress hydrique	5
2. Régulation des mécanismes d'adaptation et réponse des plantes au stress hydrique	6
2.1. Photosynthèse.....	7
2.2. Régulation hormonale	7
2.3. Transpiration et conductance stomatique	9
2.4. Morphologie et taille des racines.....	9
2.5. Ajustement osmotique.....	10
3. Effet du stress hydrique sur le maïs	10
3.1. Effet sur la phase végétative.....	11
3.1.1. Emergence	11
3.1.2. Croissance et développement	11
3.2. Effet sur la phase de reproduction.....	12
3.2.1. Développement du pollen	12
3.2.2. Développement des soies.....	12
3.2.3. Intervalle anthèse-soies (ASI).....	13
3.2.4. Développement de l'embryon, de l'endosperme et des graines	13
Chapitre II : Amélioration et dissection génétique de la tolérance au stress hydrique chez le maïs	15
1. Génome du maïs	15
2. Déterminisme génétique de la tolérance au stress hydrique chez le maïs	15
3. Marqueurs moléculaires	16
4. Technologies de séquençage de nouvelle génération (Next Generation Sequencing)	17
4.1. Génotypage par séquençage	18
5. Méthodes de dissection génétique du stress hydrique	19
5.1. Cartographie des QTLs (Biparentale)	20
5.2. Etude d'associations à l'échelle du génome (Genome Wide Association Study (GWAS))	21

5.2.1 Facteurs affectant la puissance des GWAS.....	24
5.2.1.1. Variation phénotypique.....	24
5.2.1.2. Taille de la population.....	24
5.2.1.3. Structure de la population.....	25
5.2.1.4. Fréquence allélique.....	25
5.2.1.5. Déséquilibre de liaison (LD).....	25
Partie 1 :	
<i>Dissection génétique de la germination et du développement des semis sous stress hydrique chez le maïs</i>	27
1. Introduction	27
2. Matériel et méthodes	30
2.1. Matériel végétal.....	30
2.2. Dispositif expérimental et collecte des données.....	33
2.3. Analyses statistiques.....	33
2.4. Sélection des SNPs, QTLs et gènes candidats	34
3. Résultats	35
3.1. Variation phénotypique et développement.....	35
3.2. Corrélations phénotypiques entre les caractères mesurés	37
3.3. Régions génomiques associées aux caractères liés à la germination et au développement des semis 38	
3.3.1. Conditions de stress hydrique.....	38
3.3.2. Conditions normales	41
3.4. Gènes candidats détectés dans les régions entourant les SNP significatifs.....	43
4. Discussion	45
5. Conclusion	53
Partie 2 :	
Cartographie d'association pour la tolérance au stress hydrique dans un panel mondial de maïs	
1. Introduction	54
2. Matériel et méthodes	57
2.1. Matériel végétal.....	57
2.2. Caractéristiques pédoclimatiques du site expérimental.....	57
2.3. Dispositif expérimental	58
2.4. Conduite de l'essai	59
2.5. Données phénotypiques.....	59
2.6. Analyses statistiques.....	61
3. Résultats	63
3.1. Variation phénotypique, moyennes et analyse de la variance.....	63

3.2.	Corrélations phénotypiques et génotypiques.....	66
3.2.1.	Corrélations génotypiques	66
3.2.2.	Corrélations phénotypiques	66
3.3.	Corrélations simples	69
3.4.	Régions génomiques associées aux différents paramètres en conditions normales.....	71
3.4.1.	Conditions normales	71
3.4.2.	Conditions de stress hydrique.....	78
4.	Discussion	97
5.	Conclusion	103
	Conclusion générale	104
	Références bibliographiques	
	<i>Annexes</i>	107

Résumé

La présente étude a été menée dans le cadre de l'amélioration du maïs face au stress hydrique, où l'objectif général était d'étudier la régulation génétique de la tolérance au stress hydrique chez le maïs lors de différents stades de son développement allant de la germination jusqu'à l'achèvement du cycle de la culture.

L'objectif de la première partie de cette étude conduite dans une chambre de culture est la détection des régions génomiques et gènes candidats impliqués dans la réponse au stress hydrique pendant la germination et le développement des semis. Nous avons évalué 420 RILs avec leurs parents provenant d'une population multiparentale (MAGIC) avec un stress hydrique induit par le PEG à la germination et pendant le développement des semis. Une étude d'association à l'échelle du génome (GWAS) a été réalisée pour identifier les régions génomiques associées à la tolérance au stress hydrique. L'étude GWAS a identifié 16 et 28 SNPs significativement associés aux paramètres étudiés dans les conditions normales et de stress, respectivement. Parmi les SNPs détectés, deux SNPs avaient des associations significatives avec plusieurs paramètres avec des corrélations positives élevées, suggérant un contrôle génétique pléiotropique. D'autres SNPs étaient situés dans des régions qui abritaient des QTLs majeurs dans des études antérieures, et colocalisées avec des QTLs pour la tolérance au froid précédemment publiés pour cette population MAGIC. Les régions génomiques comprenaient plusieurs gènes candidats liés aux stress et au développement des plantes. Il s'agit notamment de nombreux gènes et de facteurs de transcription impliqués dans la germination, les caractéristiques des semis et la tolérance à la sécheresse.

D'autre part, la GWAS réalisée lors de la deuxième partie conduite sur le terrain en évaluant 318 lignées pures issues d'un panel d'association, nous a permis d'identifier 91 et 114 SNPs significativement associés au rendement et aux paramètres corrélés (vigueur, floraison mâle et femelle, ASI, hauteur de la plante, surface foliaire, sénescence, longueur de l'épi, nombre de rangées par épi et poids de mille grains) dans les conditions normales et de stress hydrique, respectivement. Parmi ces SNPs, six étaient significativement associés avec la surface foliaire dans les deux conditions suggérant un contrôle génétique commun. Les différents SNPs détectés correspondaient à 62 et 89 QTLs dans les conditions normales et de stress hydrique, respectivement, où la majorité des QTLs étaient associés au rendement. Plusieurs QTLs étaient localisés dans des régions génomiques importantes impliquées dans la réponse à différents stress biotiques et abiotiques.

Les analyses actuelles fournissent des informations et des outils pour des études ultérieures et des programmes de sélection pour améliorer la tolérance au stress hydrique.

Mots clés : Maïs, stress hydrique, étude d'association à l'échelle du génome (GWAS), germination, rendement, intervalle anthèse-soies, gènes candidats.

ملخص

أجريت الدراسة الحالية في سياق تحسين الذرة ضد الإجهاد المائي، حيث الهدف الرئيسي هو دراسة التنظيم الوراثي لتحمل الجفاف عند الذرة خلال مراحل تطوره المختلفة من الإنبات إلى المرحلة النهائية من دورة النبات.

الهدف من الجزء الأول من هذه الدراسة الذي تم إجراؤه في غرفة النمو هو الكشف عن المناطق الجينومية والجينات المرشحة المشاركة في الاستجابة للإجهاد المائي عند الإنبات وأثناء نمو الشتلات في الذرة. قمنا بتقييم 420 من RILs مع آبائهم من (MAGIC) مع الإجهاد المائي الناجم عن PEG عند الإنبات وأثناء نمو الشتلات. تم إجراء دراسة الارتباط على مستوى الجينوم (GWAS) لتحديد المناطق الجينومية المرتبطة بتحمل الإجهاد المائي. حددت دراسة GWAS 28 و 16 SNPs المرتبطة بشكل كبير بالمعلومات التي تمت دراستها في ظل الظروف العادية وظروف الإجهاد ، على التوالي. من بين SNPs المكتشفة ، كان لاثنين من SNPs ارتباطات مهمة مع العديد من المعلومات ذات الارتباطات الإيجابية العالية ، مما يشير إلى التحكم الوراثي متعدد الاتجاهات. تم تحديد SNPs الأخرى في المناطق التي كانت تؤوي QTLs الرئيسية في الدراسات السابقة ، وتشارك مع QTLs التي تم نشرها مسبقاً لتحمل البرودة لهذه المجموعة MAGIC اشتملت المناطق الجينومية على العديد من الجينات المرشحة المتعلقة بإجهاد النبات وتطوره. وتشمل هذه العديد من الجينات وعوامل النسخ المشاركة في الإنبات وخصائص الشتلات وتحمل الجفاف .

في الجزء الثاني من الدراسة ، تم إجراء GWAS على نبات الذرة المزروع في الحقل من خلال تقييم 318 سلالة نقيّة من هذا النبات تنتمي الى panel ، مما سمح لنا بتحديد 91 و 114 من SNPs المرتبطة بشكل كبير بالمحاصيل والمعلومات المرتبطة فيما بينها (النشاط، تكوين الأزهار الذكورية و الأنثوية ، ASI ، ارتفاع النبات ، مساحة الورقة ،الضمور ، طول السنبل ، عدد الصفوف لكل سنبل ووزن الألف حبة) في الظروف العادية وظروف الجفاف ، على التوالي. من بين هذه الأشكال المتعددة ، ستة منها ارتبطت بشكل كبير بمنطقة الأوراق في كلتا الحالتين مما يشير إلى سيطرة وراثية مشتركة. تتوافق أشكال SNPs المختلفة المكتشفة مع 62 و 89 QTLs في ظل الظروف العادية وظروف الإجهاد المائي ، على التوالي ، حيث ارتبطت غالبية QTLs بالإنتاجية. تم وضع العديد من QTLs في مناطق جينومية مهمة تشارك في الاستجابة للضغوط الحيوية وغير الحيوية المختلفة. توفر التحليلات الحالية معلومات وأدوات للدراسات اللاحقة وبرامج التربية لتحسين تحمل الجفاف.

الكلمات المفتاحية: الذرة، الإجهاد المائي، دراسة الارتباط على مستوى الجينوم (GWAS) ، الإنبات ، المحصول ، فترة الازهار ، الجينات المرشحة.

Abstract

The present study was conducted in the context of maize improvement against drought stress, where the main objective was to study the genetic regulation of drought tolerance in maize during different stages of its development from germination to the final stage of the plant cycle.

The objective of the first part of this study carried out in a growth chamber was the detection of genomic regions and candidate genes involved in the response to water stress at germination and during seedling development in maize. We evaluated 420 RILs with their parents from a multiparent population (MAGIC) with PEG-induced drought at germination and during seedling development. A genome-wide association study (GWAS) was performed to identify genomic regions associated with water stress tolerance. The GWAS identified 28 and 16 SNPs significantly associated with the studied parameters under normal and stress conditions, respectively. Among the SNPs detected, two SNPs had significant associations with several parameters with high positive correlations, suggesting pleiotropic genetic control. Other SNPs were located in regions that harbored major QTLs in previous studies, and co-localized with previously published QTLs for cold tolerance for this MAGIC population. The genomic regions included several candidate genes related to plant stress and development. These include many genes and transcription factors involved in germination, seedling traits, and drought tolerance.

On the other hand, GWAS performed during the second part conducted in the field by evaluating 318 pure lines from an association panel, allowed us to identify 91 and 114 SNPs significantly associated with yield and correlated parameters (vigor, male and female flowering, ASI, plant height, leaf area, senescence, ear length, number of rows per ear and thousand kernel weight) under control and drought conditions, respectively. Among these SNPs, six were significantly associated with leaf area in both conditions suggesting a common genetic control. The different SNPs detected corresponded to 62 and 89 QTL under control and water stress conditions, respectively, where the majority of QTL were associated with yield. Several QTL were located in important genomic regions involved in the response to different biotic and abiotic stresses.

The current analyses provide information and tools for subsequent studies and breeding programs for improving drought tolerance.

Key words: maize, drought stress, Genome wide association study (GWAS), germination, yield, anthesis-silking interval, candidate genes.