



HAL
open science

Prédiction assistée par marqueurs de la performance hybride dans un schéma de sélection réciproque : simulations et évaluation expérimentale pour le maïs ensilage

Adama Innocent Seye

► To cite this version:

Adama Innocent Seye. Prédiction assistée par marqueurs de la performance hybride dans un schéma de sélection réciproque : simulations et évaluation expérimentale pour le maïs ensilage. Génétique des plantes. Université Paris-Saclay, 2019. Français. NNT : 2019SACLS078 . tel-02514347v1

HAL Id: tel-02514347

<https://theses.hal.science/tel-02514347v1>

Submitted on 22 Mar 2020 (v1), last revised 4 May 2020 (v2)

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Prédiction assistée par marqueurs de la performance hybride dans un schéma de sélection réciproque : simulations et évaluation expérimentale pour le maïs ensilage

Thèse de doctorat de l'Université Paris-Saclay

préparée à l'Université Paris-Sud

École doctorale n°581 :

Agriculture, Alimentation, Biologie, Environnement et Santé (ABIES)

Spécialité de doctorat : Sciences agronomiques

Thèse présentée et soutenue à Gif-sur-Yvette, le 21 mars 2019, par

M. Adama Innocent SEYE

Composition du Jury :

Mme Christine DILLMANN Professeur, Université Paris-Sud (GQE - Le Moulon, Gif-sur-Yvettes)	Présidente
M. Charles-Éric DUREL Directeur de Recherche, INRA (IRHS, Angers)	Rapporteur
Mme Brigitte MANGIN Directrice de Recherche, INRA (LIPM, Toulouse)	Rapporteuse
M. Nourollah AHMADI Directeur de Recherche, CIRAD (UMR AGAP, Montpellier)	Examineur
Mme Caroline VIGUIE Sélectionneur, Caussade-semences (représentante ProMaïs)	Examinatrice
Mme Laurence MOREAU Directrice de Recherche, INRA (GQE - Le Moulon, Gif-sur-Yvettes)	Directrice de thèse
M. Alain CHARCOSSET Directeur de Recherche, INRA (GQE - Le Moulon, Gif-sur-Yvettes)	Co-directeur de thèse
M. Daniel FONCEKA Chargé de recherche, CIRAD (CERAAS, Sénégal, représentant WAAPP)	Invité

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier ma directrice de thèse Laurence Moreau, mon co-directeur de thèse Alain Charcosset et mon co-encadreur Cyril Bauland pour leur encadrement rigoureux ainsi que pour leur soutien tout le long de ce travail de recherche. J'ai énormément appris à vos côtés. Je témoigne ma profonde reconnaissance envers vous pour m'avoir accordé votre confiance et m'avoir donné la liberté de m'organiser à ma guise.

Je remercie plus particulièrement Laurence M. pour son encadrement quotidien et sa disponibilité pour répondre à mes questions, pour les discussions constructives et les réflexions pertinentes, souvent autour d'une console R.

Je souhaite remercier Tristan Mary-Huart pour son aide sur l'écriture des modèles statistiques mais aussi pour avoir mis à notre disposition le package MM4LMM.

Je remercie Stéphane Nicolas pour avoir mis à notre disposition des programmes pour le contrôle qualité de données génotypiques et pour son aide pour l'accès à plus de ressources informatiques.

Je souhaite remercier tous les partenaires privés du projet SAMMCR pour avoir permis sa mise en œuvre et pour les discussions constructives lors de nos réunions de projet. Je remercie également Héloïse Giraud, Alban Besnard pour leur aide concernant l'analyse des données du projet. Un grand merci à Valérie Combes et à Delphine Madur concernant les aspects de génotypage ainsi qu'à Philippe Jamin et Cécile Monteil pour la préparation des expérimentations. Merci encore à Cyril B pour les visites des parcelles expérimentales et pour m'avoir sensibilisé sur le travail du sélectionneur.

Je témoigne ma gratitude au Programme de Productivité Agricole en Afrique de l'Ouest (PPAAO/WAAPP) pour avoir cofinancé ma thèse. Je remercie Jean Luc Bosio ainsi que Madeleine Aïdi pour avoir géré mes financements de thèse et pour leur collaboration. A travers vous je remercie également l'administration de Montpellier SupAgro.

Je remercie particulièrement Ndiaga Cissé et Daniel Foncéka pour m'avoir accordé leur confiance ainsi que pour les échanges constructifs à l'occasion de mes déplacements au CERAAS.

Je remercie Brigitte Mangin, Charles Éric Durel, Christine Dillmann, Nourollah Ahmadi et Caroline Viguié pour avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse et pour leur évaluation rigoureuse.

Je souhaite également remercier tous les membres de mon comité de thèse pour leurs conseils : Jean François Rami, Leopoldo Sanchez, Valérie Méchin, Matthieu Reymond et Daniel Foncéka.

Je remercie mes amis et collègues de bureau Antoine, Clément et Simon d'avoir rendu notre cohabitation fort sympathique et pour tous les moments partagés notamment ceux pendant l'organisation des colloques scientifiques. Comme dirait Alain C. « il s'est produit comme un miracle sociologique [entre ces mousquetaires] »

Je remercie particulièrement André Gallais pour m'avoir offert son précieux livre « Théorie de la sélection en amélioration des plantes ». Il s'agit d'une source d'information inestimable dont je me sens privilégié de disposer.

D'une façon plus générale, je remercie tous les membres de l'équipe GQMS pour leur bienveillance, pour leur aide et précisions sur des aspects divers. Un grand merci également à tout le personnel de l'UMR GQE – Le Moulon pour la bonne ambiance qui y règne et pour les discussions et activités

intéressantes ouverte à tou(te)s. Un spéciale remerciement à Jérôme et Mélisande pour avoir coanimé avec moi « l'atelier dérive génétique » mais aussi aux membres des clubs basketball et jardinage pour les bons moments passés ensemble.

Je témoigne ma reconnaissance à toutes les personnes qui m'ont formé, conseillé, inspiré et soutenu le long de mon cursus scolaire et professionnel. Merci au personnel de l'école maternelle de Médina Fall (1992-1994) ; à l'ensemble de mes instituteur(ices) à l'école élémentaire Daniel Brottier de Thiès (1996-2002 : M. Léon, Mme Danielle-Mame Diarra, Mme Annette, M. Ambroise et M. Pascal) ; à tous les professeurs du collège Saint Gabriel de Thiès (pour n'en citer que quelques un.e.s 2003-2009 : Fr. Henry, M. Joachin, Fr. Rémy, M. Tine, M. Coly, ...) ; et au personnel du lycée Galandou Diouf de Dakar (2009-2010 : Mme Mbengue – tata Rama, M. Ly, M. Sokhna, Mme Wane, feu M. Fall, M. Seck, M. Gueye, M. Ndong, Mme Sylla, ...). Merci également à l'ensemble des encadrants de la formation BTS-Agronomie Productions Végétales de l'école supérieure des Etablières de la Roche sur Yon (2010-2012 : M. Montassier, Mme Lebreton, M. Gautier, M. Brunault, Mme Matay-Lebrun, Mme Lahuec, M. Rouault, M. Logeais, Mme Noirault, M. Vergneau, ...). Merci à tout le personnel de l'école supérieure agronomique de Montpellier SupAgro qui de près ou de loin m'ont aidé à concrétiser mes projets de formation. Je remercie les responsables de la formation SAADS (Jérôme Thonnat, Gaëlle Bosio, ...) pour avoir accepté et encouragé ma spécialisation en APIMET. Je ne saurais oublier de remercier tout le personnel de l'Institut des Régions Chaudes (IRC) ainsi que toute la promotion 2012 des ingénieurs SAADS avec qui j'ai passé des moments inoubliables. Je remercie également tous les responsables de la formation APIMET/SEPMET, spécialement les professeurs Jaques DAVID, Jean Luc REGNARD, Jean Claude DAVIDIAN, Pierre BERTHOMIEU, Dominique THIS mais aussi Mme Isabel Martin GRANDE pour avoir coaché et accompagné mon intégration dans cette formation ainsi que ma poursuite en thèse au Moulon.

Merci également à tous mes maîtres de stage pour m'avoir aidé à consolider et valoriser mes connaissances théoriques ainsi que pour vos conseils. Merci également à tous mes collègues élèves et étudiants pour tout ce que nous avons vécu et partagé ensemble.

Je tiens particulièrement à remercier mes parents qui n'ont ménagé aucun effort pour me donner la meilleure éducation que je puisse espérer et qui ont su mobiliser toutes les opportunités pour rendre possible ma formation dans les domaines que j'ai choisis. Je tiens à manifester toute ma reconnaissance et ma gratitude envers vous, envers mes frères et sœurs ainsi que toute la famille (au sens africain). Je remercie particulièrement tonton Assane Touré et tonton Adama Diop pour leurs aides et conseils.

Je remercie vivement ma belle-famille pour leur sens de l'accueil et de l'hospitalité (à la vendéenne) qui m'ont facilité mon travail loin des miens.

Enfin, je ne saurais finir sans remercier ma chère épouse, Amélie Tétaud, pour son soutien quotidien indéfectible et sa patience notamment pendant la phase prenante de la « fin de thèse ». Notre famille a grandi en même temps que mon projet scientifique, le premier servant de socle solide à l'épanouissement du second. Merci à mon fils pour avoir été vraiment « très cool » avec papa lors des weekends de garde souvent teintés de génétique quantitative (oups)! Tu mérites vraiment qu'on agrandisse encore la famille sans oublier les projets scientifiques 🤝

*A mes parents
Meissa Ndew SEYE
et Khady BABOU*

« À vaincre sans péril, on triomphe sans gloire »

Pierre Corneille, Le Cid

Table des matières

Remerciements	5
Sigles et acronymes	13
Résumé.....	15
Abstract.....	16
Introduction générale.....	19
1. De la domestication à la sélection moderne des plantes : le succès du maïs.....	21
2. La sélection hybride et ses limites chez le maïs.....	24
3. Le maïs fourrage.....	26
Les particularités du maïs fourrage (ensilage)	26
L'intérêt des prédictions NIRS pour la sélection de variétés de maïs fourrage.....	28
4. Apports des marqueurs pour l'étude des bases génétiques des caractères quantitatifs et la sélection.....	29
La détection de QTL.....	29
Sélection Assistée par Marqueurs (SAM)	30
Prédiction génomique.....	31
5. Prédiction de la valeur hybride.....	33
6. Enjeux de la thèse	35
Références bibliographiques.....	38
Chapitre I.....	49
Quantitative Trait Loci mapping in hybrids between Dent and Flint maize multiparental populations reveals group specific QTL for silage quality traits with variable pleiotropic effects on yield.....	51
Key Message	51
Abstract	52
Introduction.....	53
Material and Methods	54
Biological material	54
Genotypic data	55
Field trial design and analysis.....	55
Variance component analysis.....	56
QTL detection.....	58
Results.....	60
Hybrid variance components	60
Adjusted means and correlations between traits.....	63
QTL detection.....	65
R ² - Cross-validation results	69
Discussion	74
Predominance of QTL showing group specific GCA effects.....	74

Relationship between feeding value, digestibility and biomass yield.....	74
Co-localization between QTL of silage quality and production traits	75
Comparison with QTL detected in the literature	76
Implications on breeding strategies	77
References	80
Chapitre II.....	87
Genomic prediction of hybrid performances for silage quality traits	89
Key message.....	89
Abstract	90
Introduction.....	91
Material and Methods	92
Adjusted means (least-square means) and correlations between traits	92
QTL predictions.....	93
Genomic predictions.....	93
Comparison of predictive abilities between GBLUP and QTL models.....	94
Results.....	95
QTL predictions.....	95
Predictive ability of GBLUP models compared to best QTL models.....	95
Predictive quality of flint and dent GCA	97
Discussion	99
Conclusion.....	100
References	101
Chapitre III.....	105
Validation expérimentale	107
Matériels et méthodes.....	107
Dispositif expérimental SAMMCR2.....	107
Expérimentation au champ et phénotypage.....	109
Correction spatiale et décomposition de la variance.....	111
Analyse du dispositif factoriel	111
Analyse du dispositif testeur.....	113
Impact de la sélection sur les performances et sur les composantes de la variance....	114
Calcul des Héritabilités au sens large.....	114
BLUP des AGC et calcul des moyennes ajustées	115
Résultats et discussion	115
Corrélations entre caractères de productivité et de digestibilité	115
Décomposition de la variance génétique	116
Effet de la sélection sur les performances des individus sélectionnés : progrès génétique	120
Impact de la sélection sur la variance génétique	124
Comparaison des variances estimées dans les dispositifs factoriels SAMMCR1 et	

SAMMCR2 (considérant que les hybrides aléatoires).....	125
Comparaison des AGCs estimées par le dispositif factoriel et les dispositifs testeurs .	125
Validation expérimentale des prédictions génomiques calibrées sur les données de SAMMCR1 sur les performances des lignées de SAMMCR2	128
Conclusion.....	130
Références	131
Chapitre IV	133
Revisiting hybrid breeding designs using genomic predictions calibrated on factorials between segregating families: a simulation study	135
Key message.....	135
Abstract	136
Introduction.....	137
Materials and Methods.....	139
Founder lines	139
Simulation of QTL effects	140
Initial generation G0	140
Calibration hybrids.....	141
Genomic Best Linear Unbiased Prediction (GBLUP) models.....	141
Next generations	142
Validation of predictions and genetic gains.....	143
Results.....	143
Percentage of SCA according to the QTL effects and group divergence level.....	143
Influence of genetic parameters, statistical models and training set sizes on the prediction accuracy.....	144
Comparison of tester and factorial based scenarios	145
Genetic gain and accuracies over generations	147
Optimization of DH line contributions to the factorial training set	148
Discussion	150
SCA proportion.....	150
Efficiency of factorial over testcross design	150
Prediction of T2, T1, and T0 hybrids.....	151
Revisiting maize hybrid breeding programs	152
References	154
Discussion générale et perspectives	159
I Compréhension des bases génétiques des caractères d'intérêt pour le maïs ensilage .	161
Importance relative de l'AGC et de l'ASC pour les caractères étudiés :.....	161
Relations entre les caractères agronomiques et de qualité pour l'ensilage de maïs	162
Étude des bases génétiques des caractères complexes	163
II Prédiction génomique de la performance hybride et de ses composantes	165
Intérêt de la sélection génomique dans un dispositif factoriel	165

Perspectives d'amélioration des modèles de prédictions génomiques hybrides	166
Perspectives pour la sélection hybride chez le maïs ensilage.....	167
Perspectives sur les travaux de simulation	168
Conclusion.....	169
Références.....	170
Annexes	173
Annexes chapitre I.....	175
Annexes chapitre II	193
Annexes chapitre IV.....	195

Sigles et acronymes

ADF : Acid Detergent Fiber

ADL : Acid Detergent Lignin

AGAP : Amélioration Génétique et Adaptation des Plantes (méditerranéennes et tropicales)

AGC (GCA) : Aptitude Générale à la Combinaison (General Combining Ability)

AIC : Akaike Information Criterion – critère d'information d'Akaike

ASC (SCA) : Aptitude Spécifique à la Combinaison (Specific Combining Ability)

BLUP : Best Linear Unbiased Prediction

CELL : Teneur en cellulose de la fraction pariétale

CERAAS : Centre d'étude Régional pour l'Amélioration de l'Adaptation à la Sécheresse

CIRAD : Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement

cM: CentiMorgan (distance génétique)

DINAG : Digestibilité de la partie Non Amidon, non Glucides solubles de la plante entière

DINAGZ : Digestibilité de la partie Non Amidon, non Glucides solubles et non matière azotée de la plante entière

DL (LD) : Déséquilibre de Liaison (Linkage Disequilibrium)

DMC : Dry Matter Content (teneur en matière sèche de la plante entière)

DMY : Dry Matter Yield (rendement ensilage de la plante entière)

DtAnt : Date to Anthesis (date de floraison mâle)

DtSILK : Date to Silking (date de floraison femelle)

EH : Ear High (hauteur d'insertion de l'épi)

F1 : Croisement entre deux lignées pures (homozygotes à tous les loci)

GQE : Génétique Quantitative et Evolution

GxE : Interactions Génotype Environnement

HCELL : Teneur en hémicellulose de la fraction pariétale

HD (DH) : Haploïde Doublé (Doubled Haploid)

IC : Intervalle de Confiance

iid : Indépendant et Identiquement Distribué (Independently and Identically Distributed)

IVDMS : digestibilité in vitro de la matière sèche

INRA : Institut National pour la Recherche Agronomique (France)

IRHS : Institut de Recherche en Horticulture et Semences

LA : Linkage Analysis

LIGNIN : Teneur en lignine de la fraction pariétale

LIPM : Laboratoire des Interactions Plantes-Microorganismes

LDLA : Linkage Disequilibrium- Linkage Analysis

NIRS : Near Infra-Red Spectroscopy

MAF : Minor Allele Frequency – Fréquence de l'Allèle Minoritaire

MAT : teneur en Matière Azotée Totale

MFU (UFL) : Milk Fodder Unit (valeur énergétique de 1kg de matière sèche d'ensilage)

NDF : Neutral Detergent Fiber

NA : missing data (données manquantes)

PH : Plant High (hauteur de la plante)

PPAAO : Programme de Productivité Agricole en Afrique de l'Ouest

QTL : Quantitative Trait Locus – locus impliqué dans la variation d'un caractère quantitatif

RPU : Rendement Pondéré UFL (index économique utilisé pour l'inscription des variétés ensilage jusqu'en 2018)

SAM : Sélection Assistée par Marqueurs

SAMMCR : Sélection Assistée par Marqueurs Multiparentale Connectée Réciproque

SNP : Single Nucleotide Polymorphism - polymorphisme d'un seul nucléotide

SG (GS) : Sélection génomique (Genomic Selection)

SPIR : Spectroscopie Proche Infra-Rouge

STARCH : teneur en amidon de la plante entière

TS : Training Set (ensemble de calibration)

UFL : Unité Fourragère Lait (valeur énergétique de 1kg de matière sèche d'ensilage)

UMR : Unité Mixte de Recherche

VS : Validation Set (ensemble de validation)

WAAPP : West Africa Agricultural Productivity Program

Résumé

Le maïs (*Zea mays* L.) est la plante la plus cultivée au monde. Pour valoriser le fort effet d'hétérosis pour les caractères liés à la biomasse, la diversité génétique du maïs est structurée en groupes hétérotiques et les variétés cultivées sont majoritairement des hybrides F1 entre lignées de groupes complémentaires. La valeur hybride se décompose comme la somme de l'Aptitude Générale à la Combinaison (AGC) de chacune des lignées parentales et de l'Aptitude Spécifique à la Combinaison (ASC) du couple. En Europe du Nord, le maïs est souvent utilisé en ensilage destiné à l'alimentation animale. L'objectif de sélection est d'améliorer la productivité et d'assurer une bonne digestibilité du maïs ensilage.

Les objectifs de cette thèse étaient : (i) d'estimer l'importance de l'AGC et de l'ASC dans la variance génétique hybride pour les caractères de qualité de l'ensilage, (ii) d'identifier les locus (QTL) impliqués dans ces caractères et d'étudier leur colocalisation avec des QTL de productivité, (iii) d'évaluer l'intérêt de la sélection génomique pour la prédiction des performances hybrides et (iv) de comparer l'efficacité de deux dispositifs de calibration des prédictions basés sur un factoriel ou l'utilisation classique de testeurs du groupe complémentaire.

Dans le cadre du projet SAMMCR, 6 familles biparentales connectées ont été créés dans les groupes « corné » et « denté » à partir de 4 lignées fondatrices. Dans une première phase, 822 lignées cornées et 802 dentées ont été génotypées pour 20k SNP et croisées selon un factoriel incomplet pour produire 951 hybrides, phénotypés pour des caractères de qualité et de productivité (étudiés par H. Giraud pendant sa thèse).

L'analyse des caractères de qualité a montré une prédominance de l'AGC par rapport à l'ASC ainsi qu'une corrélation négative entre les caractères de qualité et le rendement. De nombreux QTLs multi-alléliques ont été détectés, la plupart spécifiques d'un groupe et dont certains colocalisent avec des QTL de rendement. Par validation croisée, la qualité de prédictions basées sur les QTL détectés s'est avérée plus faible que celle obtenue par prédiction génomique. La prise en compte de l'ASC n'a pas permis d'améliorer sensiblement la qualité de prédictions des modèles.

Dans une seconde phase, 90 lignées ont été choisies par groupe : 30 sélectionnées sur la base de leurs prédictions génomiques pour la productivité et la valeur énergétique et 60 choisies aléatoirement parmi les 6 familles. Ces lignées ont été croisées selon un factoriel incomplet pour produire 360 nouveaux hybrides : 120 issus des lignées sélectionnées et 240 issus des lignées choisies au hasard. Les 90 lignées de chaque groupe ont aussi été croisées à deux lignées fondatrices du groupe complémentaire (testeurs). Les hybrides issus des lignées sélectionnées se sont avérés plus productifs mais de moins bonne qualité. Nous avons confirmé la bonne qualité des prédictions génomiques obtenus dans le factoriel initial sur les nouveaux hybrides évalués dans d'autres environnements et après sélection et observé une bonne corrélation entre les AGC estimées dans le factoriel et dans le dispositif testeurs.

Des dispositifs factoriels et testeurs ont été simulés en faisant varier la part d'ASC, le nombre d'hybrides et la contribution de chaque lignée dans le jeu de calibration. A moyens expérimentaux égaux, le dispositif factoriel s'est avéré plus efficace en termes de capacité prédictive et de gain génétique cumulé que le dispositif testeur (jusqu'à +50%) pour un caractère présentant de l'ASC et équivalent pour un caractère purement additif.

Les résultats de cette thèse ouvrent de nouvelles perspectives pour revisiter les schémas de sélection hybrides en remplaçant l'évaluation des lignées candidates, classiquement faite sur testeur, par l'évaluation directe d'hybrides issus d'un factoriel incomplet. La mise en œuvre de tels dispositifs nécessitera de réorganiser la logistique des programmes de sélection.

Abstract

Maize (*Zea mays* L.) is the most cultivated crop in the world. To exploit the strong heterosis for traits related to biomass, the genetic diversity of maize is structured into heterotic groups and cultivated varieties are mainly F1 hybrids obtained by crossing lines from complementary groups. The hybrid value can be decomposed as the sum of the General Combining Ability (GCA) of each parental line and the Specific Combining Ability (SCA) of the cross. In northern Europe, maize is often used as silage for animal feed and the breeding objective is to improve productivity while ensuring a good energetic value and digestibility of the silage.

The objectives of this thesis were: (i) to estimate the importance of GCA and SCA in hybrid genetic variance for silage quality traits, (ii) to identify loci (QTL) involved in these traits and to study their colocalization with QTL for productivity traits, (iii) to evaluate the interest of genomic selection for the prediction of hybrid performances and (iv) to compare the prediction accuracies of two calibration designs either based on a factorial or on the conventional use of testers from the complementary group.

As part of the SAMMCR project, 6 biparental connected families were created in the "flint" and "dent" groups from 4 founder lines. In a first phase, 822 flint and 802 dent lines were genotyped for 20k SNPs and crossed according to an incomplete factorial to produce 951 hybrids which were phenotyped for quality traits and for productivity traits (studied by H. Giraud during her PhD). Quality trait analysis showed a predominance of GCA over SCA and a negative correlation between digestibility traits and silage yield. Several multi-allelic QTLs were detected, most of them being specific to one group. Several colocalizations were found with yield QTL.

Using cross-validation, we observed that the predictive ability of models based on detected QTLs was lower than that obtained by genomic predictions. Considering the SCA did not improve model predictive abilities for most of the traits.

In a second phase, 90 lines were chosen per group: 30 were selected based on their genomic predictions for productivity and the energetic value and 60 were randomly sampled from the 6 families. These lines were crossed according to an incomplete factorial to produce 360 new hybrids: 120 from selected lines and 240 from randomly chosen lines. The 90 lines of each group were also crossed to two lines of the complementary group (testers). Hybrids from the selected lines were more productive but had a lower silage quality. We confirmed the good accuracy of the genomic predictions obtained in the initial factorial on the new hybrids evaluated in other environments and after selection. We also observed good correlations between GCA estimated in the factorial and in the testcross design.

Different factorial and testcross designs were simulated by varying the proportion of dominance/SCA, the number of hybrids and the contribution of each line to the calibration set. Considering the same number of hybrids in the calibration set, the factorial was more efficient in terms of predictive ability and cumulative genetic gain (up to + 50%) than the testcross design for traits showing SCA and was similar for purely additive traits.

The results of this thesis open new perspectives to revisit hybrid breeding schemes by replacing the evaluation of candidate lines, classically made on testcross, by the direct evaluation of hybrids resulting from an incomplete factorial. The implementation of such designs will require reorganizing the logistics of selection programs.

Introduction générale

Le maïs (*Zea mays* L.) est une plante herbacée annuelle de la famille des Poacées (graminées), largement cultivée comme céréale pour ses grains riches en amidon, mais aussi comme plante fourragère. Le maïs est l'espèce pionnière pour l'étude de la valeur hybride et qui a motivé la définition du concept hétérosis (Shull 1914) et le développement d'hybrides F1 (Shull 1908), conduisant ultérieurement à la mise en œuvre de la méthode de sélection réciproque utilisée actuellement. Cette dernière consiste à sélectionner deux groupes de parents au sein desquels les candidats sont sélectionnés sur leur capacité à bien se combiner (c'est-à-dire donner de bons hybrides) avec l'autre groupe.

Dans cette introduction, nous présenterons une brève histoire de la domestication du maïs jusqu'à l'avènement des variétés hybrides. Ensuite, nous présenterons la sélection hybride et ses limites actuelles chez le maïs. Puis nous amènerons des éléments de contexte sur le maïs ensilage et les caractères de qualité avant de donner un aperçu de la contribution de la spectroscopie proche infrarouge (SPIR ou NIRS) pour la mesure de ces caractères. Par la suite, nous présenterons l'apport des marqueurs moléculaires à la fois pour comprendre le déterminisme génétique de caractères d'intérêt et pour prédire les performances hybrides en vue d'améliorer les programmes de sélection. Enfin, nous présenterons brièvement le matériel expérimental et les approches qui ont été menées au cours de cette thèse.

1. De la domestication à la sélection moderne des plantes : le succès du maïs

Il y a environ 10 000 ans, l'homme est passé d'une ère de nomadisme où il vivait de cueillette, de chasse et de pêche à une ère de sédentarité où il a commencé à récolter les produits issus des plantes qu'il avait semées. Dans ce contexte, l'alternance du semis et de la récolte pendant de nombreux cycles et la sélection massale faite par l'homme qui a retenu et ressemé les plantes les plus adaptées à ses goûts et ses besoins ont conduit à la domestication des espèces végétales (Gallais 2013, 2015). C'est la naissance de l'agriculture qui engendrera d'autres révolutions à la base des civilisations humaines contemporaines.

A la base de la chaîne alimentaire, les espèces végétales, en particulier les céréales (*Poaceae*) fournissent directement une partie importante des calories alimentaires de l'humanité mais sont aussi la principale source de nutriments des herbivores sauvages comme domestiques. Parmi les espèces de cette famille, le maïs qui constituait l'aliment de base des peuples amérindiens (Olmèques, Mayas et Aztèques), est une espèce singulièrement liée à l'homme. Il a été domestiqué dans les régions montagneuses du sud du Mexique à partir de la téosinte (Doebley et al., 1984). Sa domestication s'est faite il y a au moins 8700 ans et a été suivie de plusieurs vagues de diffusion dans le monde entier à l'origine de sa structuration en divers groupes génétiques (Tenaillon et Charcosset, 2011).

L'amélioration génétique des plantes est la science et l'art de la création de nouvelles populations, appelées variétés, répondant de mieux en mieux aux besoins de l'homme, en lien avec les contraintes de l'environnement (Gallais 2015). La sélection massale de populations par les agriculteurs a commencé avec la domestication et s'est poursuivie jusqu'au milieu du 19^e siècle. Les variétés cultivées jusqu'à cette époque correspondent à des populations d'individus génétiquement différents les uns des autres, résultant de croisements aléatoires de plantes de la génération précédente. Ces populations, chez le maïs, ont été créées par sélection massale à partir de populations ancestrales originaires du Mexique. L'ère de la sélection « consciente », dirigée, en vue d'améliorer les

performances de la population cultivée (variété) commença avec les travaux de Louis Lévêque de Vilmorin (1816-1860) qui partit du postulat que pour apprécier la valeur d'une plante, il fallait étudier sa descendance. Ces travaux établirent les bases de la sélection généalogique qui aboutira plus tard au développement des variétés lignées pures (individus homozygotes) chez les plantes autogames, qui s'autofécondent naturellement (Gallais 2011). En 1856, de Vilmorin proposa la méthode de la sélection familiale demi-frères qui fut efficace pour améliorer la teneur en sucre chez la betterave. A la suite du succès de cette méthode chez une plante allogame (à fécondation croisée), Hopkins (1899) la mit en œuvre chez le maïs et la qualifia de méthode « ear-to-row » traduite par « méthode un épi à la ligne ». La méthode eut peu de succès pour améliorer le rendement mais elle fut très efficace pour modifier la teneur en huile et en protéines des grains (Gallais, 2011). La redécouverte des lois de Mendel à la fin du 19^e siècle permit l'identification des bases génétiques de la sélection généalogique et sa généralisation mais aussi le développement d'autres techniques de sélection comme le rétrocroisement. Le début du 20^e siècle marque un tournant décisif pour l'amélioration du maïs avec la mise en évidence de l'intérêt de l'hybridation par les travaux de Shull (1908). Selon son raisonnement, il existe au sein d'une population de plantes un individu plus performant que les autres et que fabriquer ce génotype à grande échelle permettrait d'avoir la meilleure variété issue de cette population. Il proposa de fabriquer des lignées par autofécondation et de recroiser les lignées obtenues entre elles pour détecter le meilleur hybride simple (F1) clonant ainsi ce génotype au travers d'un hybride parfaitement reproductible. Par ailleurs, East et Shull (1908) ont montré l'intérêt des variétés hybrides souvent plus vigoureuses que les populations grâce à l'hétérosis chez le maïs. Selon les généticiens, l'hétérosis ou la vigueur hybride est le fait que la performance d'un hybride dépasse la moyenne des performances de ses deux parents pour un caractère donné. En revanche, pour le sélectionneur, un avantage à produire un hybride n'existe que si ce dernier est supérieur aux meilleures variétés des autres types, compte tenu des aspects économiques de coûts de production de semences. C'est le cas chez le maïs pour lequel, grâce à l'hétérosis, à un régime de reproduction et une morphologie favorable à l'hybridation à grande échelle, les hybrides simples sont plus intéressants que les autres types de variétés (Gallais 2009).

La théorisation du phénomène d'hétérosis par East et Shull (1908) a permis la transition des cultures de maïs à base de variétés dites « de pays » ou « populations à pollinisation libre » (« landraces ») aux variétés hybrides aux États-Unis. Le développement de la sélection hybride a conduit à la définition de groupes hétérotiques (groupes génétiquement distants, complémentaires qui maximisent la performance d'hybrides inter-groupes), structurant la diversité génétique chez le maïs et permettant de mieux valoriser ce phénomène. Chez le maïs, le passage aux variétés hybrides a engendré un progrès de productivité fulgurant (Figure 1).

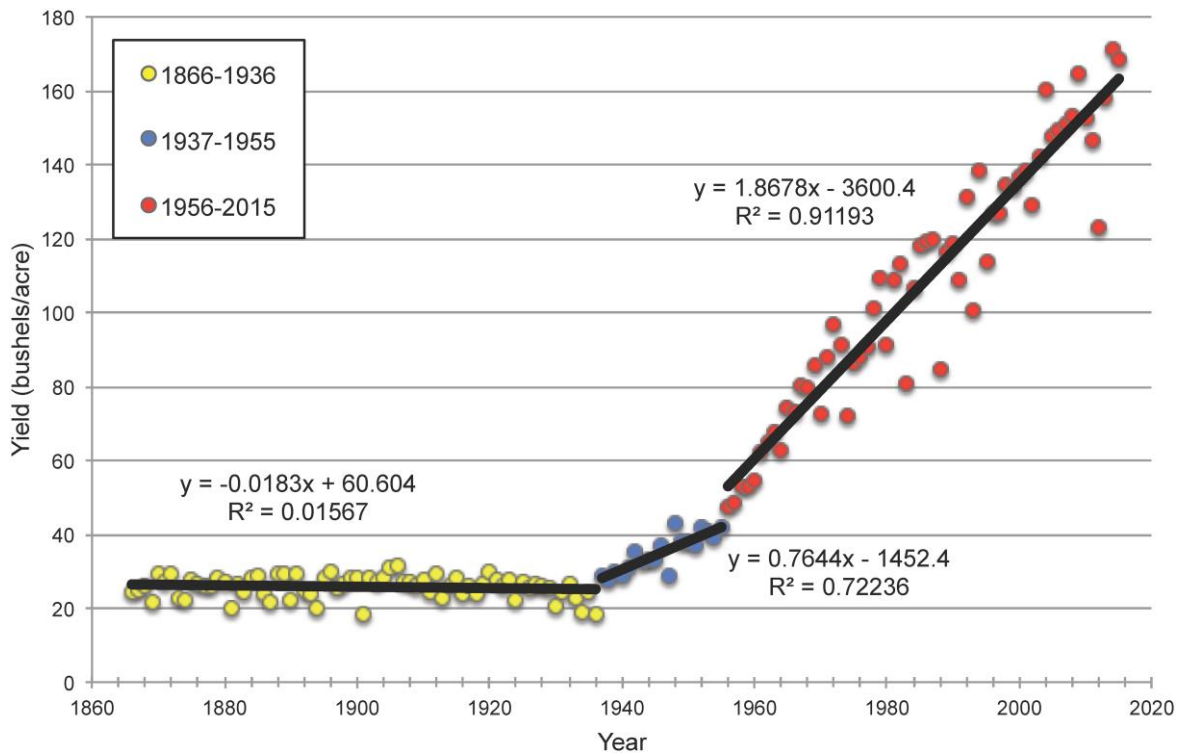


Figure 1: Evolution du rendement grain du maïs et du type de variétés aux Etats-Unis (Beckett et al. 2017). Les points jaunes correspondent aux variétés populations, les points bleus aux hybrides doubles (croisement de deux hybrides simples) et des hybrides trois voies (croisement d'un hybride simple avec une lignée à trois voies) et les points rouges aux hybrides simples.

Actuellement, le maïs est la plante la plus cultivée dans le monde devant le blé et le riz. Grâce à une grande adaptabilité dans des environnements contrastés, une grande aptitude à produire de la biomasse (plante C4) et une diversité d'utilisations possibles, il est cultivé sur tous les continents. Récolté en grain ou en fourrage, le maïs couvre environ 140 millions d'hectares à travers le monde, pour une production d'environ un milliard de tonnes de grain (Statista 2018). A l'échelle mondiale, l'alimentation animale est le principal débouché du maïs, qu'il soit récolté en grain ou en fourrage. Le maïs grain est généralement destiné aux volailles, ovins et porcins, le maïs fourrage aux bovins. Toutefois, d'autres utilisations telles que l'alimentation humaine, les bioénergies et biomatériaux sont également connues. En outre, le maïs est une espèce très étudiée aussi bien en recherche fondamentale qu'appliquée, dont le génome a été séquencé (Schnable et al., 2009) et annoté. C'est une espèce pour laquelle plusieurs outils de génotypage dense à haut débit sont disponibles : puce 50K SNP (Ganal et al. 2011), puce 600K SNP (Unterseer et al. 2014), génotypage par séquençage (Elshire et al. 2011). Plus récemment, le reséquençage du génome entier de plusieurs autres lignées de maïs de diverses origines a permis de s'affranchir du biais de découverte des SNP (lié à l'utilisation jusqu'à présent de la seule référence B73) et de découvrir davantage de polymorphismes structuraux de type CNV (copy number variation), PAV (presence absence variation) mais aussi de nouveaux SNP parfois dans les variants structuraux (Darracq et al. 2018).

2. La sélection hybride et ses limites chez le maïs

Depuis 1908, les travaux de Shull ont été à la base de la création de variétés hybrides chez le maïs. Cela a abouti sur une méthode de sélection en deux étapes, consistant d'abord à développer des lignées pures, puis à rechercher les meilleures combinaisons hybrides (Gallais, 2009). La plupart des programmes de sélection hybrides, repose sur cette méthode en utilisant des croisements entre lignées pures de groupes hétérotiques différents pour mieux exploiter l'hétérosis. Cette méthode a soulevé deux principales questions. La première, lors de sa mise en œuvre, était liée à la difficulté de produire des hybrides simples à partir de lignées pures de faible valeur agronomique. En effet, la fertilité mâle comme femelle était fortement affectée par la dépression de consanguinité dans les premières générations de lignées créées à partir de l'autofécondation de variétés populations. Grâce aux travaux de Jones en 1918, le premier problème a été résolu en utilisant des hybrides doubles et des hybrides trois voies. Ceci a permis de minimiser l'impact de la dépression de consanguinité.

La deuxième préoccupation concernait le grand nombre de lignées à croiser entre elles. Un plan de croisement en factoriel complet, réalisé en faisant toutes les combinaisons deux-à-deux entre les lignées des différents groupes permet d'évaluer les performances de tous les hybrides simples (Hallauer et al. 2010). Cependant, le grand nombre de lignées à évaluer par groupe hétérotique et la combinatoire exponentielle du nombre d'hybrides qui en résulte rendent cette approche prohibitive. Par exemple, considérer deux groupes hétérotiques et 100 lignées par groupe (un nombre inférieur à celui des lignées candidates produites annuellement pour chaque groupe) conduirait à la production et à l'évaluation de 10 000 hybrides, ce qui est irréalisable. En pratique, seule l'évaluation d'un nombre limité de croisements est possible, imposant la nécessité d'un criblage préalable des lignées au sein de chaque groupe hétérotique.

Toutefois, sélectionner les lignées qui donneront les meilleurs hybrides, implique de prédire la valeur des hybrides à partir des informations parentales. Plusieurs approches ont été utilisées pour évaluer la valeur génétique des lignées pour leur capacité à produire des hybrides performants. Ces approches incluent d'une part, la valeur propre des lignées et d'autre part, leur valeur moyenne en combinaison hybride. En 1929, Jenkins proposa d'abord de sélectionner les lignées sur leur valeur propre. Cependant, la corrélation entre la valeur propre d'une lignée et sa valeur moyenne en combinaison hybride s'est avérée faible pour les caractères présentant de l'hétérosis (Smith 1986; Hallauer 1977). Par la suite, Jenkins et Brunson (1932) ont montré que la valeur moyenne des hybrides dérivés d'une lignée est mieux corrélée à la valeur de sa descendance lorsqu'elle est croisée à une autre lignée, un hybride ou une population, qu'à sa valeur propre. Ils ont donc suggéré l'utilisation de croisements sur testeur (topcross ou testcross, c'est-à-dire des croisements entre des lignées et une population, un hybride ou une autre lignée) pour évaluer la valeur génétique des lignées en combinaison hybride. L'efficacité de cette approche a été illustrée par Sprague et Tatum (1942), qui ont introduit le partitionnement de la valeur hybride en termes d'aptitudes générale et spécifique à la combinaison (AGC et ASC, respectivement). Ils ont défini l'AGC d'une lignée i comme étant la performance moyenne de cette lignée dans les combinaisons hybrides, et l'ASC du croisement entre la lignée i et une lignée j comme étant l'écart par rapport à la performance attendue sur la base des AGC des deux lignées. Les résultats ont montré l'efficacité de l'utilisation du testcross qui permet un criblage efficace des lignées pour leur aptitude générale à la combinaison, réduisant ainsi le nombre de parents d'hybride potentiels lors de la première phase du processus de création de variétés hybrides. C'est seulement

dans la dernière étape qu'une sélection sur l'ASC est réalisée en testant plusieurs combinaisons entre les lignées sélectionnées en amont (Lonnquist et Rumbaugh 1958).

De nos jours, la méthode de sélection hybride en deux étapes est la référence chez le maïs. La figure 2 illustre les deux étapes de cette méthode : (i) utilisation de testeur(s) d'un groupe complémentaire pour cribler les plantes candidates non fixées (hétérozygotes) sur leur AGC et en dériver des lignées par autofécondation (ii) identification des meilleures combinaisons hybrides sur la base d'un croisement factoriel entre lignées dérivées et sélectionnées dans les deux groupes. Il est à noter que si des haploïdes doublées sont disponibles, l'évaluation en test peut se faire directement avec des lignées fixées. Néanmoins, cette approche en deux étapes augmente le temps nécessaire pour le développement d'hybrides commerciaux. En outre, l'évaluation de nombreuses plantes candidates sur des testeurs reste difficile (Albrecht et al. 2011) et nécessite le phénotypage d'un nombre relativement important d'hybrides (au moins autant d'hybrides que de lignées candidates dans chaque groupe). De plus, la présélection des lignées ne permet pas d'évaluer toutes les combinaisons hybrides possibles parmi les lignées disponibles et l'utilisation d'un testeur peut influencer l'estimations des AGC. Par conséquent, cette approche ne garantit pas l'identification des lignées conduisant aux meilleures combinaisons hybrides. Il est donc d'un intérêt primordial de revisiter le processus de sélection des hybrides de maïs afin de le rendre plus simple et plus efficace. Une piste prometteuse est de s'affranchir de l'utilisation de testeur pour travailler directement au niveau de la valeur hybride et donc sur les complémentarités entre les génotypes produits dans chacun des pools génétiques. Cela devrait permettre d'améliorer à la fois l'AGC et l'ASC dès les premières étapes de sélection. Cette approche est d'autant plus séduisante que désormais les sélectionneurs de maïs ont recours à la technique d'haplo-diploïdisation qui leur permet de dériver directement des lignées pures (100% homozygotes) dans chaque groupe ce qui leur permet de produire des hybrides F1 (homogènes) entre lignées candidates.

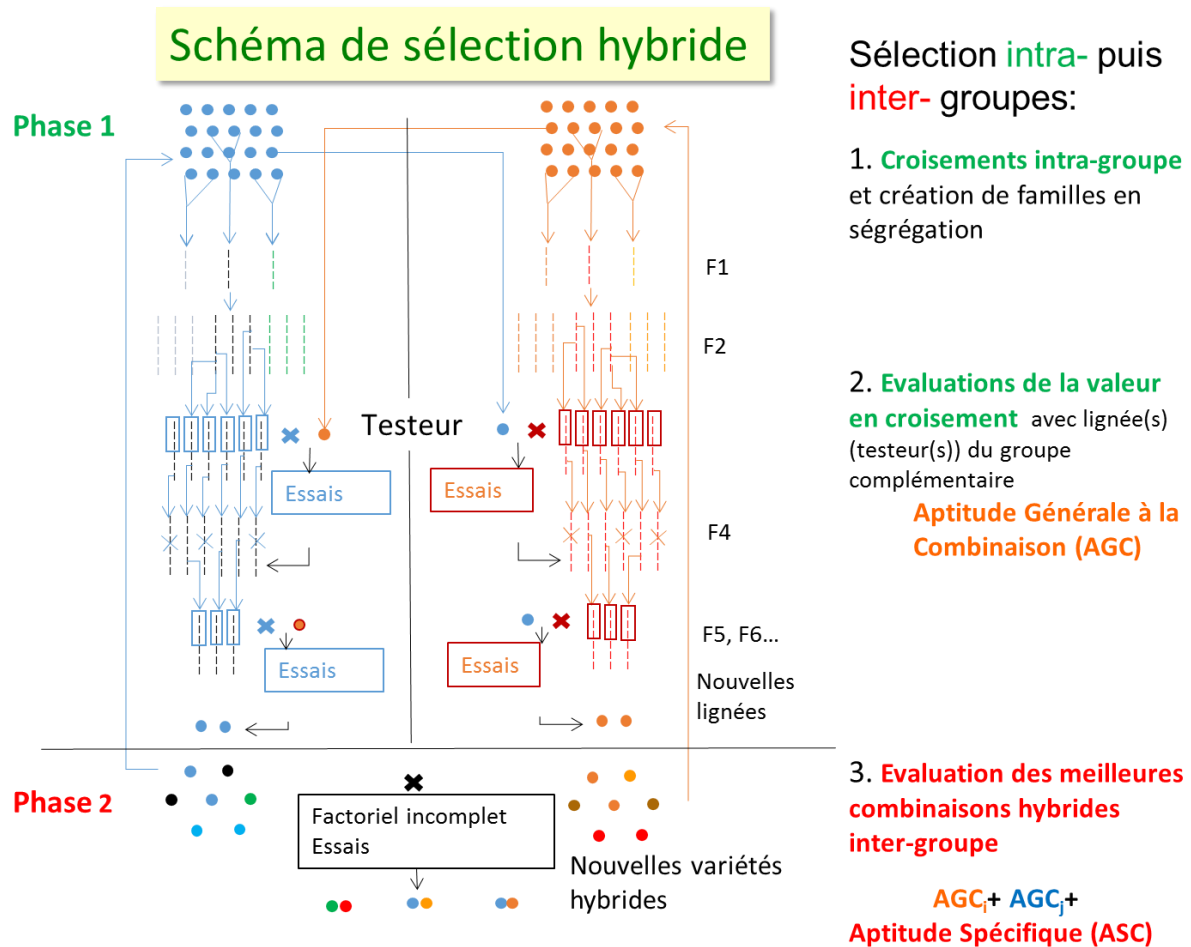


Figure 2: Schéma classique de sélection d'hybride de maïs entre deux groupes hétérotiques

3. Le maïs fourrage

Les particularités du maïs fourrage (ensilage)

Le maïs ensilage comme fourrage destiné aux bovins est une spécialité de la zone européenne, où près de 4.8 millions d'hectares de maïs sont ensilés tous les ans, principalement en Europe du Nord (Barrière *et al.*, 2015). En France, le maïs ensilage constitue 84% de la surface totale couverte en fourrages annuels, soit 1.4 million d'hectares (Eurostat, 2013). Il est exclusivement destiné à l'alimentation des ruminants, principalement les bovins laitiers de par sa forte densité énergétique. Sa répartition suit celle de la production laitière : les régions Pays-de-Loire, Bretagne et Basse Normandie totalisent à elles seules 60 % de la sole de maïs fourrage.

L'originalité du maïs ensilage est d'être récolté en plante entière et donc de contenir à la fois des grains et des tiges, conduisant à un fourrage mixte contenant à la fois des glucides de réserve (amidon) et des glucides structuraux (lignocellulose). Le grain est à la fois un facteur de valeur énergétique et de densité énergétique. Il est aussi un facteur de régularité de la valeur énergétique de la biomasse récoltée. Cela fait du maïs ensilage la seule plante fourragère permettant, à toute période de l'année, une production laitière régulière, élevée et de qualité (Barrière et Emile 2000; Wertz 2010). Classiquement, les unités fourragères ou UF (Leroy, 1951) sont utilisées pour exprimer la valeur énergétique des aliments destinés aux animaux d'élevage (bovins, ovins, caprins, équidés, ...). Elles

permettent de comparer l'énergie apportée par 1 kg d'aliment dont l'animal dispose pour vivre, grandir, produire du lait, etc., à la valeur énergétique d'1 kg d'orge (par définition 1 UF). Le maïs ensilage est l'une des rares cultures destinées au fourrage pouvant dépasser la densité énergétique de l'orge. Concrètement, la valeur alimentaire d'un fourrage est l'ensemble des critères alimentaires caractérisant une plante fourragère. Parmi ces critères, on peut distinguer ceux ciblés par les sélectionneurs parce qu'étant directement liés à la valeur énergétique de la plante à savoir la digestibilité de la plante entière et la teneur en azote et ceux qui ne sont pas utilisés en sélection tels que l'ingestibilité et l'appétence car nécessitant des mesures sur animaux difficilement réalisables en routine. La valeur énergétique du maïs ensilage (pour les bovins laitiers) est appréciée avec le critère UFL (Unité Fourragère Lait), mis au point à l'INRA de Lusignan (Andrieu et Aufrère, 1996). Ce critère permet de quantifier l'énergie calorifique apportée par 1 kg de fourrage de maïs ensilage pour des vaches laitières. Il a été introduit comme critère de l'index utilisé pour l'inscription des variétés au catalogue de plusieurs pays [1986 aux Pays-Bas, 1998 en France (Argillier et Barrière, 1996)]. Pour comprendre ce qui fait la valeur énergétique de l'ensilage et l'améliorer de façon efficace, il faut disséquer la plante entière en composantes plus ou moins digestibles. La digestibilité est définie comme le pourcentage d'ensilage (plante entière broyée) qui est absorbé dans le tractus digestif des animaux (Barrière *et al.*, 2003). Il est possible de distinguer d'une part le contenu cellulaire et la partie grain (principalement de l'amidon et des glucides solubles), complètement digestibles, et d'autre part la fraction pariétale qui est, au contraire, à peine digérée dans le rumen des bovins (Figure 3). Cette dernière fraction est mesurée, *in vitro*, par le critère NDF (Neutral Detergent Fiber). La faible digestibilité du NDF est par conséquent le principal facteur limitant de la valeur alimentaire du maïs ensilage. Augmenter la digestibilité du NDF est une piste intéressante pour améliorer la digestibilité de la plante entière de maïs ensilage et donc sa valeur énergétique.

La digestibilité de la plante entière de maïs résulte essentiellement de sa teneur en amidon, en glucides solubles, et du niveau de digestibilité des parois, facteurs qui dépendent de mécanismes génétiques différents (Barrière et Emile 2000). Il faut donc que le sélectionneur puisse différencier les génotypes qui, à valeur énergétique égale, ont soit une teneur plus élevée en amidon, soit des tiges de meilleure qualité. Le critère DINAG ou coefficient de digestibilité est ainsi une estimation de la digestibilité de la partie non-amidon non-glucides solubles (donc du NDF). Le critère DINAGZ est une autre estimation de la digestibilité du NDF mais ne prenant pas en compte les matières azotées. Ces critères supposent que l'amidon et les glucides solubles sont complètement digestibles. Ils permettent de lever cette dualité amidon / parois dans la valeur énergétique du maïs fourrage.

$$\text{DINAG} = 100 \times \frac{(\text{IVDMS}\% - \text{Amidon}\% - \text{Glucides solubles}\%)}{(100 - \text{Amidon}\% - \text{Glucides solubles}\%)}$$

IVDMS : digestibilité *in vitro* de la matière sèche

MAT : teneur en matière azotée totale

$$\text{DINAGZ} = 100 \times \frac{(\text{IVDMS}\% - \text{Amidon}\% - \text{Glucides solubles}\% - \text{MAT}\%)}{(100 - \text{Amidon}\% - \text{Glucides solubles}\% - \text{MAT}\%)}$$

La paroi cellulaire des graminées est constituée de cellulose (45%), d'hémicelluloses (principalement arabinoxylanes, près de 45 %) et de composés phénoliques (10%). Ces composés phénoliques incluent la lignine et les acides p-hydroxycinnamiques. Plusieurs études ont identifié la teneur en lignine comme le facteur limitant la digestibilité du NDF (Fontaine *et al.*, 2003). Une des méthodes pour accéder aux

composantes de la paroi cellulaire (NDF) consiste en des traitements successifs, *in vitro*, avec des solutions acides (Van Soest *et al.*, 1991). Après le traitement du NDF par une solution au détergent acide, les hémicelluloses sont solubilisées laissant un résidu appelé ADF (acid detergent fiber) contenant principalement la cellulose et la lignine. La teneur en hémicelluloses est donc estimée par la différence entre le NDF et l'ADF. Après un nouveau traitement à l'acide, la cellulose et la partie acido-soluble des lignines sont solubilisées, ce qui donne l'ADL (acid detergent lignin) considérée comme la teneur en lignine. La teneur en cellulose est estimée par différence entre l'ADF et l'ADL (Dence 1992).

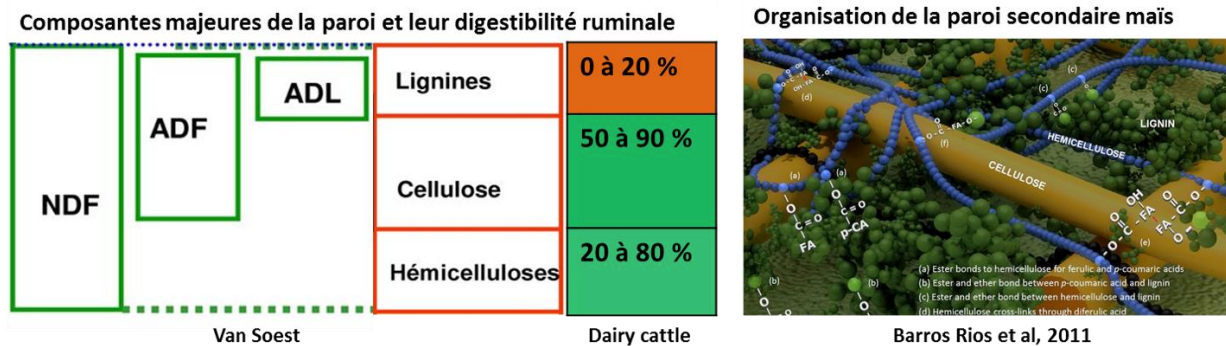


Figure 3: Les composantes majeures de la paroi secondaire, leur digestibilité et leur organisation (source Méchin)

L'intérêt des prédictions NIRS pour la sélection de variétés de maïs fourrage

L'intégration des critères de qualité de l'ensilage dans les schémas de sélection nécessite l'utilisation de méthodes de phénotypage à grande échelle et peu coûteuses. Or les mesures *in vivo* de la digestibilité chez les animaux sont trop complexes à réaliser et aussi trop coûteuses pour être utilisées en routine dans les programmes de sélection. Les mesures *in vitro*, bien que plus simples d'utilisation, ne peuvent pas non plus être utilisées à grande échelle. La méthode NIRS (spectroscopie proche infra-rouge) permet de prédire en routine un certain nombre de paramètres liés à la digestibilité. Elle est utilisable sur de grands effectifs, à partir d'échantillons prélevés lors de la récolte. La méthode consiste à calibrer une équation de prédiction sur des échantillons de référence dont les spectres de réflectance dans le proche infra-rouge et les mesures *in vitro* sont à disposition. Par la suite, cette équation est utilisée pour prédire des individus pour lesquels seuls des spectres de réflectance sont disponibles. Cette technique a montré son intérêt tant par sa rapidité d'emploi que par sa fiabilité. Les critères de qualité du fourrage, en particulier la digestibilité, sont prédits avec des niveaux de précision très acceptables (Bertrand *et al.*, 1987). Généralement, la précision des résultats obtenus par NIRS est du même niveau que celle des analyses de référence (*in vitro*). Ce qui fait des prédictions NIRS, la méthode de référence actuelle pour le phénotypage des caractères de qualité de l'ensilage.

Un des objectifs de cette thèse est d'étudier le déterminisme génétique des composantes hybrides pour les caractères de qualité maïs également de comprendre les relations entre ces caractères et les caractères agronomiques.

4. Apports des marqueurs pour l'étude des bases génétiques des caractères quantitatifs et la sélection

La détection de QTL

Un QTL (quantitative trait locus) est un locus impliqué dans le déterminisme génétique d'un caractère quantitatif c'est-à-dire un caractère présentant une variation continue. La détection de QTL consiste à identifier des liaisons statistiques entre des polymorphismes aux marqueurs et la variation phénotypique considérée. En pratique, la détection de QTL peut avoir deux finalités : (1) c'est une première étape vers l'identification des gènes ou polymorphismes causaux (2) les associations marqueurs-QTL peuvent être utilisées en sélection par des approches de sélection assistée par marqueurs (SAM). Une préoccupation majeure en génétique quantitative est de cartographier des QTL et d'obtenir un aperçu de leurs effets (dans un dispositif expérimental et un fond génétique donné) afin d'améliorer l'efficacité de la sélection chez les plantes comme chez les animaux.

Pour cartographier les QTL, chez les plantes, l'approche la plus fréquente consiste à rechercher des associations marqueurs-QTL dans des populations en ségrégation issues de croisement entre deux lignés pures (Lander et Botstein, 1989; Jansen et Nap, 2001; Bernardo, 2008). Cette approche est souvent appelée cartographie de liaison, « Linkage Analysis » - LA mapping. L'approche repose sur le déséquilibre de liaison (association statistique entre polymorphismes) entre des marqueurs et des QTL dû à la co-ségrégation, au sein de la population, d'allèles issus d'un même parent pour des locus proches. La plupart des analyses de QTL dans les populations biparentales conduisent à une faible résolution (précision limitée) de la position des QTL en raison du faible nombre d'événements de recombinaison se produisant dans ces populations de cartographie (Bardol *et al.*, 2013). D'autre part, chaque population biparentale ne représente qu'une faible proportion de la variabilité génétique disponible ce qui limite l'intérêt en sélection des QTL trouvés. La nécessité de faire la détection de QTL sur une base génétique plus large s'est donc imposée. Parmi les approches proposées, l'une d'elle consiste à analyser conjointement plusieurs populations biparentales, si possible connectées entre elles par l'utilisation de lignées parentales communes. Plusieurs travaux expérimentaux ont montré que sous l'hypothèse d'absence d'épistasie (interaction entre locus), l'analyse conjointe de populations connectées permet un gain de puissance pour la détection de QTL par rapport à l'analyse individuelle de populations biparentales (Rebaï et Goffinet 2000; Verhoeven *et al.*, 2005; Blanc *et al.*, 2006; Yu *et al.*, 2008; Buckler *et al.*, 2009; Coles *et al.*, 2010; Steinhoff *et al.*, 2011; Würschum, 2012; Giraud *et al.*, 2014; Ogut *et al.*, 2015).

Les QTL peuvent être détectés également par cartographie d'association, « linkage disequilibrium » – LD mapping (Pritchard and Przeworski 2001). Le principe est d'utiliser le déséquilibre de liaison entre des marqueurs et des QTL d'une population de pedigree inconnu, en général une collection de diversité. Cette approche permet de valoriser des recombinaisons historiques et donc d'avoir une meilleure résolution que l'approche LA. Cependant, l'histoire de la population peut avoir entraîné une structuration en sous-populations et un apparentement entre individus pouvant générer du déséquilibre de liaison (LD) entre locus non liés physiquement. Ceci peut générer de fausses associations si ces effets de structure et d'apparentement ne sont pas pris en compte dans le modèle de détection (Yu et al. 2006).

L'approche LDLA (Linkage Disequilibrium – Linkage Analysis) a été développée comme moyen de combiner les avantages de ces deux méthodes d'identification des QTL en termes de puissance de détection et de résolution de leur position en utilisant les deux types d'information (LD marqueurs-QTL au niveau de lignées fondatrices et ségrégations intra-famille dans des populations issues de ces lignées fondatrices). Cette approche a été notamment proposée pour analyser des dispositifs « NAM » (« Nested-association mapping ») constituées de familles obtenues en croisant plusieurs lignées à une même lignée centrale (Yu et al. 2008). Dans ces dispositifs, l'utilisation de familles permet de contrôler la structure de la population étudiée et d'éviter les problèmes de faux-positifs liés au LD entre locus non liés. Le pedigree connu permet de plus de tracer les allèles parentaux. L'information de marquage dense au niveau des fondateurs permet de regrouper les allèles parentaux en fonction de leur similarité locale au niveau d'un marqueur ou d'un haplotype (Bardol et al. 2013; Leroux et al. 2014; Giraud et al. 2014; Garin et al. 2017).

Depuis les années 90s, plusieurs études ont permis la détection de QTL pour les caractères de qualité de l'ensilage en utilisant des dispositifs biparentaux (Lübberstedt et al. 1997a, b, 1998; Méchin et al. 2001; Roussel et al. 2002; Krakowsky et al. 2003; Cardinal et al. 2003; Krakowsky et al. 2005, 2006; Barrière et al. 2007; Riboulet et al. 2008; Barrière et al. 2008, 2010; Torres et al. 2013; Courtial et al. 2013, 2014; Penning et al. 2014; Leng et al. 2018). Plusieurs QTL ont été détectés à la fois pour des caractères de composition et de digestibilité des parois. Dans une méta-analyse de QTL associés aux caractères qualité de l'ensilage basé sur 11 différentes études, Truntzler et al. (2010) ont identifié 26 et 42 méta-QTL (MQTL) de digestibilité et de composition des parois, respectivement. Plus récemment, Barrière et al., (2015) ont réalisé des synthèses de QTL de lignine et de QTL de digestibilité du NDF (Barrière et al., 2016) à partir de plusieurs études pour analyser leurs colocalisations avec une liste de gènes candidats potentiels. Leurs conclusions suggèrent un rôle prépondérant des facteurs de transcriptions de la voie de biosynthèse des composantes de la paroi secondaire sur la variation de ces caractères.

Les travaux réalisés jusqu'ici sur la détection de QTL pour des caractères liés à la digestibilité du maïs ensilage ne l'ont été que sur des populations biparentales (pour une synthèse des études voir Truntzler et al., 2010). Certaines de ces études ont été réalisées sur la valeur propre des lignées et d'autres ont été réalisées sur des performances d'hybrides obtenus en croisant les lignées étudiées avec un testeur. L'étude de performances hybrides permet d'évaluer les plantes dans des conditions agronomiques « classiques » et de mesurer des performances liées au rendement. A ce jour, aucune expérience de détection de QTL n'a été réalisée dans des croisements multi-parentaux pour les caractères de digestibilité.

Sélection Assistée par Marqueurs (SAM)

La connaissance des régions génomiques responsables de la variation de caractères d'intérêt est d'une importance certaine en biologie fondamentale comme appliquée. L'utilisation de marqueurs physiquement liés aux QTL d'intérêt offre des perspectives intéressantes pour la sélection assistée par marqueur (SAM). L'intérêt des marqueurs pour la sélection a été abordé pour la première fois par Neimann-Sorensen et Robertson (1961) dans un contexte de sélection animale. Ce n'est que vingt années après, lorsque les techniques de génotypage se sont développées, que le concept de SAM s'est généralisé aussi bien en sélection végétale qu'animale.

Actuellement, plusieurs approches de SAM sont mises en œuvre dans les programmes de sélections modernes selon le type de caractères et les objectifs des sélectionneurs. Une des applications de la SAM concerne l'amélioration de caractères déterminés par un gène majeur et difficiles ou coûteux à phénotyper. Dans ces cas, lorsque l'allèle favorable au gène majeur est associé à un allèle spécifique d'un marqueur, il peut être plus facile voire moins cher de génotyper les candidats et de les cribler pour le marqueur associé que de les phénotyper. Une deuxième application de la SAM concerne les caractères plus complexes, influencés à la fois par plusieurs gènes. Pour ces cas, Lande et Thompson (1990) ont proposé d'estimer la valeur génétique des candidats à la sélection en sommant les effets des marqueurs significativement associés aux QTL et de combiner ou non cette information avec les performances des candidats pour sélectionner simultanément sur les QTL détectés et le reste du fond génétique. Hospital et al. (1997) ont montré par simulation une augmentation du gain génétique par unité de temps lorsque des cycles de sélection uniquement basés sur les informations moléculaires sont alternés avec d'autres intégrant à la fois les informations moléculaires et phénotypiques. Les résultats théoriques montrent que pour les caractères à faible héritabilité, la SAM est plus intéressante que la sélection conventionnelle basée sur le phénotype à condition de mettre en œuvre un dispositif expérimental de grande taille permettant la détection de QTL malgré la faible héritabilité du caractère (Hospital et al. 1997; Moreau et al. 1998). Toutefois, ces approches de SAM basées sur la détection de QTL comportent des limites notamment du fait de la dépendance des effets des QTL à la population de cartographie utilisée lors de la détection et de la possible perte des liaisons marqueur-QTL au fil des générations de sélection. Une autre limite de ces approches est que la sélection sur les seuls marqueurs mène rapidement à la fixation des allèles favorables aux QTL majeurs (Hospital et al. 1997; Moreau et al. 2004) tandis que les allèles défavorables peuvent être fixés aux QTL de plus petits effets surtout lorsque ces derniers sont liés aux QTL d'intérêt. Une autre limite est que les effets des QTL détectés sont souvent surestimés en raison de l'effet Beavis (Beavis 1998) ce qui conduit à une mauvaise pondération des effets des QTL dans les prédictions basées sur les marqueurs et une efficacité réduite de la SAM (Moreau et al. 1998; Melchinger et al. 1998). En utilisant les seuls QTL détectés, une proportion limitée de la variance génétique est prise en compte engendrant une partie importante d'« héritabilité manquante » (Maher 2008). Même si certaines études ont signalé une efficacité limitée de la SAM chez les populations biparentales (Moreau et al. 2004), d'autres, notamment certaines issues du secteur privé, font part de son intérêt (Eathington et al. 2007). La SAM apparaît particulièrement intéressante lorsque des populations multiparentales connectées sont considérées pour rassembler des allèles favorables issus de plusieurs lignées fondatrices dans des individus élites. L'intérêt de cette approche a été évalué par des simulations (Blanc et al. 2008) et validés expérimentalement (Moreau et Charcosset 2011).

Prédiction génomique

La prédiction génomique ou sélection génomique (SG) est une approche de SAM relativement récente qui utilise l'ensemble des marqueurs moléculaires disponibles pour prédire la valeur génétique de candidats à la sélection pour des caractères complexes (Meuwissen et al. 2001). La principale différence entre la SG et les formes traditionnelles de SAM est l'utilisation simultanée d'un grand nombre de marqueurs répartis sur tout le génome, sans se limiter aux seuls marqueurs significativement associés aux QTL. L'objectif est d'utiliser les marqueurs comme des prédicteurs de la valeur génétique de candidats sans rechercher de façon explicite à localiser les QTL ni à estimer leurs effets. L'hypothèse derrière cette approche est que si suffisamment de marqueurs sont disponibles,

le LD entre les marqueurs et les QTL permettra aux marqueurs de capturer les effets des QTL et d'évaluer l'apparentement entre individus. Cependant, le nombre de marqueurs étant généralement supérieur au nombre de phénotypes (observations), les modèles conventionnels à effets fixes utilisés pour la détection de QTL ne sont pas applicables. En 2000, Whittaker et al. ont proposé d'utiliser la régression de crête (Ridge-Regression) pour estimer les effets de marqueurs et ont montré son intérêt par rapport aux prédictions basées sur la détection de QTL. Meuwissen et al. (2001) ont défini le concept de sélection génomique et ont proposé d'utiliser différentes approches de prédictions dont certaines basées sur les statistiques bayésiennes, pour estimer les effets des marqueurs. Ils ont également proposé une approche de sélection génomique (appelée « GBLUP » dans la suite du manuscrit) qui consiste à utiliser des marqueurs pour estimer les relations de parenté entre individus et utiliser cette matrice dans un modèle BLUP pour prédire les valeurs d'individus non phénotypés à l'aide de performances de ceux phénotypés. Ce modèle GBLUP est statistiquement équivalent à la régression aléatoire (RR-BLUP) ou la « ridge » régression (Habier et al. 2007). Il faut noter qu'une approche très similaire au modèle GBLUP avait déjà été proposée par Bernardo (1994) qui utilisait des matrices de distances entre lignées parentales d'hybrides phénotypés et non phénotypés basées sur des marqueurs RFLP pour prédire les performances d'hybrides non phénotypés. (cf. partie prédiction hybride). Le développement de la SG a réellement débuté à la fin des années 2000, favorisé par les progrès des méthodes de génotypage à haut débit qui sont maintenant disponibles à un coût raisonnable pour la plupart des espèces d'intérêt agronomique (Figure 4).

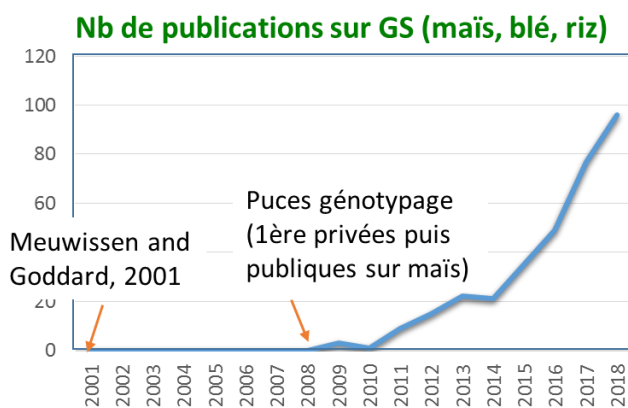


Figure 4 : Nombre de publications par an sur la GS pour les trois principales espèces d'intérêt agronomique (source Moreau)

La mise en œuvre de la prédiction génomique nécessite le développement d'une population d'entraînement (ou de calibration) composée d'un ensemble d'individus qui ont tous été phénotypés et génotypés. Dans un premier temps, un modèle statistique est calibré (étalonné) sur ce jeu d'entraînement. Dans un deuxième temps, le modèle calibré est utilisé pour prédire la valeur génétique d'individus qui sont uniquement génotypés. Les équations de prédiction sont basées sur plusieurs méthodes paramétriques comme le GBLUP (équivalent à RR-BLUP) et les méthodes bayésiennes, ou non paramétriques comme les méthodes d'espaces de Hilbert à noyau reproduisant et la méthode des réseaux de neurones (voir Heslot et al. (2012) pour une revue). Des modèles de prédiction génomique ont été mis au point, avec des stratégies différentes estimant les effets des marqueurs à l'échelle du génome ou modélisant les relations génomiques entre individus (Campos et al. 2013).

La SG a montré son intérêt pratique chez les vaches laitières depuis 2006, où elle est maintenant largement mise en œuvre. En amélioration des plantes, des simulations comme des études expérimentales ont été utilisées pour étudier l'intérêt de la SG dans des populations présentant des niveaux de diversité variables. Par exemple, Bernardo et Yu (2007) ont montré, à l'aide de stimulations, que la SG permettait de 18 à 43% plus de gain par cycle par rapport à la sélection récurrente assistée par marqueur basée sur les QTL dans le cadre de populations biparentales. Plusieurs études ont montré l'avantage de la SG par rapport à une prédiction basée sur les QTL notamment pour les caractères complexes (Lorenzana et Bernardo 2009; Massman et al. 2013; Voss-Fels, et al. 2018))

Afin d'optimiser la qualité des prédictions génomiques, certains facteurs influençant cette dernière ont été identifiés et doivent être pris en compte lors de la conception des procédures de SG. Le choix du modèle statistique et de la densité de marquage est important. De même, la taille du jeu de calibration (Technow et al. 2013; Lehermeier et al. 2014) et le choix des individus qui le composent (Rincent et al. 2012; Akdemir et al. 2015), ainsi que, la distance génétique entre le jeu de calibration et la population à prédire (Riedelsheimer et al. 2013; Lehermeier et al. 2014) doivent être pris en considération. Certaines limites des approches de SG actuelles sont à l'étude, telles que l'incorporation dans le modèle des interactions GxE (Burgueño et al. 2012; Heslot et al. 2014; Ferrao et al. 2018), la prise en compte des effets non additifs (Vitezica et al. 2016; Bouvet et al. 2016; Mangin et al. 2017) et l'impact de la structure génétique sur la précision de prédiction (Rio et al. 2019).

5. Prédiction de la valeur hybride

La prédiction de la performance hybride a été proposée, pour la première fois, par Jenkins (1934) pour prédire la performance d'hybrides trois voies ou doubles à partir d'équations tenant compte de la valeur des croisements simples non-parentaux. Des stratégies plus récentes utilisant les BLUPs basés sur le pédigré et la prédiction assistée par marqueurs moléculaires ont montré la possibilité de prédire les performances d'hybrides simples non évalués en champs. En utilisant des matrices de parentés basées sur le pédigré des hybrides phénotypés et non phénotypés d'un programme avancé de sélection d'hybrides de maïs, Bernardo (1996a) a montré que l'utilisation de BLUP basé sur le pédigré était efficace pour prédire les performances d'hybrides non phénotypés pour lesquels les deux parents ont été testés dans d'autres combinaisons du jeu d'hybrides phénotypés. Sur la base des résultats d'une étude complémentaire, Bernardo (1996b) a rapporté une diminution importante de la capacité prédictive lorsque l'un des parents ou les deux n'étaient pas testés dans les combinaisons du jeu de calibration.

La disponibilité des marqueurs moléculaires a ouvert des perspectives pour la prédiction de la valeur hybride. Dans ce contexte, les marqueurs moléculaires peuvent être utilisés pour estimer la distance génétique entre les lignées parentales, et passer d'un BLUP calculé sur la base du pedigree à un BLUP génomique (ou GBLUP).

Bien que l'hétérosis soit fortement corrélée à la distance génétique entre les lignées parentales (Lee et al. 1989), les premières tentatives de prédiction des performances d'hybrides inter-groupes hétérotiques basées sur les distances mesurées à l'aide de marqueurs moléculaires (RLFP) se sont avérées peu efficaces (Melchinger 1999 ; Lee et al. 2007). Cela peut être dû à une faible association entre les QTL et les marqueurs utilisés pour estimer la distance génétique et / ou à la divergence des QTL entre groupes hétérotiques (R. Bernardo 1992; Charcosset et Essioux 1994).

En utilisant les marqueurs moléculaires pour calculer les covariances entre hybrides, estimées à partir d'informations moléculaires sur les lignées parentales, Bernardo (1994) a pu prédire de manière efficace les performances d'hybrides non phénotypés à partir de celles d'hybrides apparentés phénotypés en utilisant un modèle similaire au GBLUP. Charcosset et al. (1998) ont proposé une méthode pour intégrer la composante d'ASC dans les prédictions de la valeur hybride. Cette approche est basée sur le principe que deux hybrides dont les parents sont similaires au niveau de marqueurs doivent avoir des effets d'ASC similaires. Dans ce cas, les marqueurs ont été utilisés pour générer des co-variables pour l'ASC au moyen d'une analyse en composantes principales.

Par ailleurs, Vuylsteke et al. (2000) ont proposé de prédire la valeur hybride et l'ASC en utilisant les effets de marqueurs associés aux QTL. Cependant, cette approche s'est avérée inférieure à la méthode empirique basée sur l'AGC. D'autres études ont montré que l'extension de la prédiction des AGC avec l'estimation des ASC à partir de marqueurs associés aux QTL détectés n'améliore pas les prédictions (Schrag et al. 2006, 2007).

Parmi les différentes approches de prédiction proposées, une des plus prometteuses pour la prédiction de la valeur hybride est la sélection génomique qui fait suite aux travaux de Bernardo 1994, conduits initialement sur de petits factoriels de maïs. Plusieurs études récentes ont été publiées sur la prédiction des hybrides entre deux populations ainsi que sur l'inclusion de la dominance et/ou de l'ASC dans les modèles de SG. Cette question est d'un grand intérêt pour la génétique animale (Toro et Varona 2010; Amuzu-Aweh et al. 2013; Ertl et al. 2014; Sun et al. 2014) et pour la génétique végétale : Zhao et al. (2013) pour un exemple chez le blé; Reif et al. (2013); Mangin et al. (2017) chez le tournesol; Xu et al. (2014) pour un exemple chez le riz. Des résultats basés sur des simulations et des études expérimentales ont montré l'utilité des modèles de SG pour prédire les performances hybrides chez le maïs (Maenhout et al. 2007, 2010; Albrecht et al. 2011; Riedelsheimer et al. 2012; Windhausen et al. 2012; Technow et al. 2012, 2014; Massman et al. 2013; Jacobson et al. 2014; Kadam et al. 2016; Lyra 2017; Fritsche-Neto et al. 2018; Giraud et al. in prep.). Cependant, la plupart des études expérimentales sont axées sur la prédiction de performances hybrides dans des dispositifs avec un testeur unique (Albrecht et al. 2011, 2014; Riedelsheimer et al. 2012; Windhausen et al. 2012; Jacobson et al. 2014). A ce jour, seules quelques études ont porté sur la prédiction d'hybrides incluant des effets d'AGC et d'ASC par des modèles GBLUP (Maenhout et al. 2010; Massman et al. 2013; Technow et al. 2014; Kadam et al. 2016; Fritsche-Neto et al. 2018; Giraud et al. in prep.). Les précisions de prédiction obtenues dans ces études sont en général élevées, dépassant souvent 0,75 pour le rendement grain. D'autres études sont encore nécessaires sur la prédiction hybride, en particulier pour les hybrides entre des lignées dérivées directement à partir de populations en ségrégation disponibles dans les premières étapes de sélection.

Parmi les études conduites sur la prédiction hybride, une seule (Fritsche-Neto et al. 2018) a étudié la question du dispositif de prédiction en comparant les prédictions hybrides obtenues avec des modèles calibrés sur différents dispositifs (NCII ou factoriel, testeur, diallèle complète). Cependant, les auteurs se sont basés sur des tailles du jeu de calibration très faibles pour le dispositif testeur et n'ont pas tenu compte de ce fait dans les comparaisons avec les autres dispositifs. La question de l'optimisation des dispositifs et de la population de calibration pour la prédiction hybride reste donc importante.

6. Enjeux de la thèse

L'histoire de l'amélioration du rendement du maïs ensilage en Europe, s'est accompagnée d'une baisse de la digestibilité, ce qui alerta les spécialistes des filières semencières qui en 1998 ont décidé d'intégrer le caractère UFL dans l'index officiel utilisé pour l'inscription de nouvelles variétés au catalogue. Malgré cette avancée, la qualité de l'ensilage des hybrides élites ne s'est pas améliorée dans les 15 années qui ont suivi l'intégration de l'UFL (Barriere et al. 2004). Ce n'est que dans les 10 dernières années que les efforts de sélection pour la valeur alimentaire ont commencé à se faire sentir chez les hybrides élites, inscrits en France (Baldy et al. 2017). Dans ce contexte, il est apparu important d'étudier l'intérêt des marqueurs moléculaires pour améliorer les performances d'hybrides sélectionnés pour l'ensilage qui est une spécificité importante du maïs cultivé au nord de la France.

Cette thèse s'inscrit dans le cadre du projet SAMMCR (pour « Sélection Assistée par Marqueurs Multi-Cross Réciproque ») mis en œuvre par l'INRA et huit entreprises semencières membres de l'association Promais. L'objectif général du projet est de développer différentes approches de SAM, basées sur les QTL et les prédictions génomiques, dans un dispositif multi-parental connecté réciproque afin d'améliorer la valeur hybride pour du maïs ensilage. Ce projet a donné lieu à une première thèse, soutenue par Héloïse Giraud en 2016.

Les travaux réalisés au cours de ma thèse s'appuient sur un matériel génétique original développé dans le projet SAMMCR. Il est composé de deux populations multi-parentales de lignées provenant chacune du groupe hétérotique « corné » ou « denté ». Dans chaque groupe, 6 familles biparentales connectées ont été créées à partir de 4 lignées fondatrices dont 3 sont d'intérêt agronomique et une a été choisie pour sa bonne digestibilité. Au total, 863 lignées dentées et 879 lignées cornées ont été produites. Les huit lignées fondatrices ont été génotypées pour 50K SNPs et les 1742 lignées pour environ 20K SNPs. Dans une première phase, 822 lignées cornées et 802 dentées ont été croisées entre elles selon un factoriel incomplet pour produire 951 hybrides. Les hybrides ont été phénotypés pour des caractères de qualité de l'ensilage et de productivité. Ce premier dispositif factoriel (Figure 5) a été analysé par Héloïse Giraud qui a étudié les caractères agronomiques et développé des modèles d'analyse (détection de QTL, prédiction génomique...) que nous avons en grande partie repris pour analyser les données de qualité. Les modèles de détection de QTL et les résultats obtenus sur les caractères de productivité ont fait l'objet de deux publications (Giraud et al. 2017a, 2017b).

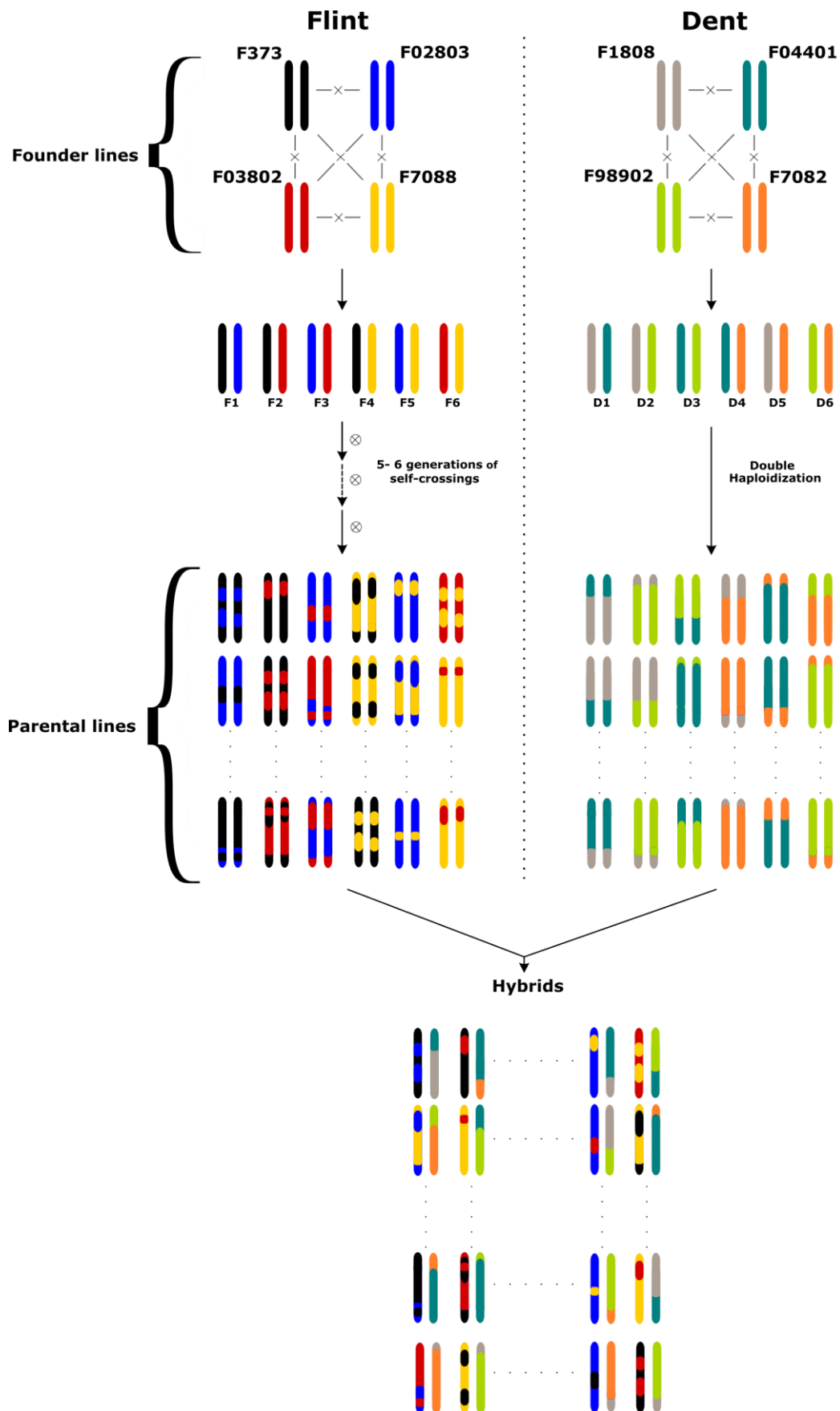


Figure 5: Dispositif expérimental SAMMCR de la première phase

Dans une seconde phase du projet, 90 lignées ont été choisies par groupe : 30 sélectionnées sur la base de leurs prédictions génomiques pour la productivité et la valeur énergétique et 60 choisies aléatoirement parmi les 6 familles. Ces lignées ont été croisées selon un factoriel incomplet pour produire 360 nouveaux hybrides : 120 issus des lignées sélectionnées et 240 issus des lignées choisies au hasard. Les 90 lignées de chaque groupe ont aussi été croisées à deux lignées fondatrices du groupe complémentaire (testeurs). Les hybrides ont été phénotypés pour les mêmes caractères que ceux de la première phase en plus d'autres caractères complémentaires.

Enfin, en complément des données expérimentales, des dispositifs factoriels et testeurs ont été simulés en faisant varier la part d'ASC, le nombre d'hybrides et la contribution de chaque lignée dans le jeu de calibration.

En se basant sur ces données, cette thèse vise à étudier: (i) l'importance de l'AGC et de l'ASC sur la variance génétique des hybrides ainsi que le lien entre les caractères de qualité et ceux de productivité, (ii) les bases génétiques des caractères de qualité de l'ensilage avec un dispositif multiparental, (iii) l'intérêt de la sélection génomique pour la prédiction des performances hybrides pour les caractères qualité et (v) l'efficacité des dispositifs factoriel et testeur pour la prédiction de la valeur hybride et l'optimisation du factoriel. Ainsi, cette thèse tente d'apporter de nouveaux éclairages tant sur la compréhension du déterminisme génétique de la performance hybride pour les caractères liés à l'ensilage que sur des aspects plus méthodologiques liés à la prédiction de la valeur hybride.

Les deux premiers chapitres du manuscrit reposent sur les données de la première phase du projet.

Le chapitre I est dédié à l'étude du déterminisme génétique des caractères impliqués dans la qualité de l'ensilage. Après avoir décomposé la variance hybride en AGC et ASC nous avons étudié les corrélations entre les caractères de qualité et de productivité. Nous avons ensuite réalisé une détection de QTL pour les caractères de qualité et étudié les co-localisations avec les caractères de productivité. Ce chapitre est présenté sous forme d'article publié dans *Theoretical and Applied Genetics*.

Le chapitre II porte sur les prédictions génomiques des performances hybrides pour les caractères de qualité et sur une comparaison des capacités prédictives des modèles de sélection génomique avec ceux basés sur les QTL détectés dans le chapitre I. Ce chapitre est présenté sous forme d'article en préparation en vue d'une future soumission.

Le chapitre III est consacré à la validation expérimentale des précédents résultats sur les nouveaux hybrides produits à partir d'un dispositif factoriel plus complet et de deux dispositifs testeurs de la deuxième phase du projet SAMMCR. La comparaison du dispositif factoriel avec le dispositif conventionnel, basé sur l'utilisation de testeur, est un enjeu majeur de cette thèse.

Enfin, le chapitre IV s'appuie sur des travaux de simulations pour comparer les dispositifs « factoriel » et « testeur » de manière plus fine en considérant différents scénarios génétiques. Une autre partie de ce chapitre aborde l'optimisation du dispositif factoriel pour mieux prédire la valeur hybride. Ce chapitre est rédigé sous forme d'un article en préparation que nous pensons soumettre très prochainement.

NB : les illustrations (tableaux et figures) ont été numérotées indépendamment dans chaque chapitre. Pour les chapitres I, II et IV, certaines illustrations ont été mises dans des annexes spécifiques, toutes regroupées à la fin du manuscrit.

Références bibliographiques

- Akdemir, Deniz, Julio I Sanchez, et Jean-Luc Jannink. 2015. « Optimization of genomic selection training populations with a genetic algorithm ». *Genetics, Selection, Evolution: GSE* 47 (1).
- Albrecht, Theresa, Valentin Wimmer, Hans-Jürgen Auinger, Malena Erbe, Carsten Knaak, Milena Ouzunova, Henner Simianer, et Chris-Carolin Schön. 2011. « Genome-Based Prediction of Testcross Values in Maize ». *Theoretical and Applied Genetics* 123 (2): 339.
- Amuzu-Aweh, E. N., P. Bijma, B. P. Kinghorn, A. Vereijken, J. Visscher, J. Am van Arendonk, et H. Bovenhuis. 2013. « Prediction of Heterosis Using Genome-Wide SNP-Marker Data: Application to Egg Production Traits in White Leghorn Crosses ». *Heredity* 111 (6): 530-38.
- Gallais, André. 2013. *De la domestication à la transgénèse: Évolution des outils pour l'amélioration des plantes*. Editions Quae.
- Gallais, André. 2015. *Comprendre l'amélioration des plantes Enjeux, méthodes, objectifs et critères de sélection*. Quae.
- Argillier, O., et Y. Barriere. 1996. « Genotypic variation for digestibility and composition traits of forage maize and their changes during the growing season ». *Maydica* 41 (4): 279-85.
- Baldy, Aurélie, Marie Pierre Jacquemot, Yves Griveau, Cyril Bauland, Matthieu Reymond, et Valerie Mechin. 2017. « Energy values of registered corn forage hybrids in France over the last 20 years rose in a context of maintained yield increase ». *American Journal of Plant Sciences* 08 (06): 1449-61.
- Bardol, N., M. Ventelon, B. Mangin, S. Jasson, V. Loywick, F. Couton, C. Derue, P. Blanchard, A. Charcosset, et Laurence Moreau. 2013. « Combined Linkage and Linkage Disequilibrium QTL Mapping in Multiple Families of Maize (*Zea Mays* L.) Line Crosses Highlights Complementarities between Models Based on Parental Haplotype and Single Locus Polymorphism ». *Theoretical and Applied Genetics* 126 (11): 2717-36.
- Barriere, Y., et J. C. Emile. 2000. « Le maïs fourrage. 1. Origine, évolution, ressources génétiques et méthodes de sélection », 107-19.
- Barriere, Y., J. C. Emile, R. Traineau, F. Surault, M. Briand, et A. Gallais. 2004. « Genetic Variation for Organic Matter and Cell Wall Digestibility in Silage Maize. Lessons from a 34-Year Long Experiment with Sheep in Digestibility Crates ». *Maydica* 49 (2): 115-26.
- Barrière, Y., J. Thomas, et D. Denoue. 2008. « QTL mapping for lignin content, lignin monomeric composition, p-hydroxycinnamate content, and cell wall digestibility in the maize recombinant inbred line progeny F838 × F286 ». *Plant Science* 175 (4): 585-95.
- Barriere, Yves, Audrey Courtial, Anne-Laure Chateigner-Boutin, Dominique Denoue, et Jacqueline Grima-Pettenati. 2016. « Breeding maize for silage and biofuel production, an illustration of a step forward with the genome sequence ». *Plant Science* 242 (janvier): 310-29.
- Barrière, Yves, Audrey Courtial, Marçal Soler, et Jacqueline Grima-Pettenati. 2015. « Toward the Identification of Genes Underlying Maize QTLs for Lignin Content, Focusing on Colocalizations with Lignin Biosynthetic Genes and Their Regulatory MYB and NAC Transcription Factors ». *Molecular Breeding* 35 (3): 1-23.
- Barrière, Yves, et J. C. Emile. 2000. « Le maïs ensilage: évaluation et perspectives de progrès génétiques sur les caractères de valeurs alimentaire - Recherche Google ». *Fourrages* 163: 221-38.
- Barrière, Yves, Carine Guillet, Deborah Goffner, et Magalie Pichon. 2003. « Genetic variation and breeding strategies for improved cell wall digestibility in annual forage crops. A review ». *Animal Research* 52 (3): 193-228.

- Barrière, Yves, Valérie Méchin, Dominique Denoue, Cyril Bauland, et Jacques Laborde. 2010. « QTL for Yield, Earliness, and Cell Wall Quality Traits in Topcross Experiments of the F838 × F286 Early Maize RIL Progeny ». *Crop Science* 50 (5): 1761-72.
- Barrière, Yves, Cédric Riboulet, Valérie Méchin, Stéphane Maltese, Magalie Pichon, Andrea Cardinal, Catherine Lapierre, T. Lubberstedt, et Jean-Pierre Martinant. 2007. « Genetics and genomics of lignification in grass cell walls based on maize as model species ». *Genes Genomes Genomics* 1: 133–156.
- Beavis WD (1998) QTL analysis: Power, precision, and accuracy. In: Paterson AH, editor. *Molecular dissection of complex traits*. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Beckett, Travis J., A. Jason Morales, Klaus L. Koehler, et Torbert R. Rocheford. 2017. « Genetic Relatedness of Previously Plant-Variety-Protected Commercial Maize Inbreds ». *PLOS ONE* 12 (12): e0189277.
- Bernardo, Rex. 1992. « Relationship between Single-Cross Performance and Molecular Marker Heterozygosity ». *Theoretical and Applied Genetics* 83 (5): 628-34.
- Bernardo, Rex. 1994. « Prediction of Maize Single-Cross Performance Using RFLPs and Information from Related Hybrids ». *Crop Science* 34 (1): 20-25.
- Bernardo, Rex. 1996a. « Best linear unbiased prediction of maize single-cross performance ». *Crop Science* 36 (1): 50–56.
- Bernardo, Rex. 1996b. « Best Linear Unbiased Prediction of the Performance of Crosses between Untested Maize Inbreds ». *Crop Science* 36 (4): 872-76.
- Bernardo, Rex. 2008. « Molecular Markers and Selection for Complex Traits in Plants: Learning from the Last 20 Years ». *Crop Science* 48 (5): 1649.
- Bernardo, Rex, et Jianming Yu. 2007. « Prospects for Genomewide Selection for Quantitative Traits in Maize ». *Crop Science* 47 (3): 1082-90.
- Bertrand, Dominique, Marc Lila, Vincent Furtoss, Paul Robert, et Gerard Downey. 1987. « Application of Principal Component Analysis to the Prediction of Lucerne Forage Protein Content and in Vitro Dry Matter Digestibility by NIR Spectroscopy ». *Journal of the Science of Food and Agriculture* 41 (4): 299-307.
- Blanc, G., A. Charcosset, B. Mangin, A. Gallais, et L. Moreau. 2006. « Connected Populations for Detecting Quantitative Trait Loci and Testing for Epistasis: An Application in Maize ». *Theoretical and Applied Genetics* 113 (2): 206-24.
- Blanc, Guylaine, Alain Charcosset, Jean-Baptiste Veyrieras, André Gallais, et Laurence Moreau. 2008. « Marker-Assisted Selection Efficiency in Multiple Connected Populations: A Simulation Study Based on the Results of a QTL Detection Experiment in Maize ». *Euphytica* 161 (1): 71-84.
- Bouvet, J-M, G Makouanzi, D Cros, et Ph Vigneron. 2016. « Modeling additive and non-additive effects in a hybrid population using genome-wide genotyping: prediction accuracy implications ». *Heredity* 116 (2): 146-57.
- Buckler, Edward S., James B. Holland, Peter J. Bradbury, Charlotte B. Acharya, Patrick J. Brown, Chris Browne, Elhan Ersoz, et al. 2009. « The Genetic Architecture of Maize Flowering Time ». *Science* 325 (5941): 714-18.
- Burgueño, Juan, Gustavo de los Campos, Kent Weigel, et José Crossa. 2012. « Genomic Prediction of Breeding Values When Modeling Genotype × Environment Interaction Using Pedigree and Dense Molecular Markers ». *Crop Science* 52 (2): 707-19.
- Campos, Gustavo de los, Ana I. Vazquez, Rohan Fernando, Yann C. Klimentidis, et Daniel Sorensen. 2013. « Prediction of Complex Human Traits Using the Genomic Best Linear Unbiased Predictor ». *PLOS Genetics* 9 (7): e1003608.

- Cardinal, A., M. Lee, et K. Moore. 2003. « Genetic Mapping and Analysis of Quantitative Trait Loci Affecting Fiber and Lignin Content in Maize ». *Theoretical and Applied Genetics* 106 (5): 866-74.
- Charcosset, A., B. Bonnisseau, O. Touchebeuf, J. Burstin, Y. Barrière, A. Gallais, et J.-B. Denis. 1998. « Prediction of Maize Hybrid Silage Performance Using Marker Data: Comparison of Several Models for Specific Combining Ability ». *Crop Science* 38 (1): 38-44.
- Charcosset, A., et L. Essioux. 1994. « The Effect of Population Structure on the Relationship between Heterosis and Heterozygosity at Marker Loci ». *Theoretical and Applied Genetics* 89 (2): 336-43.
- Coles, Nathan D., Michael D. McMullen, Peter J. Balint-Kurti, Richard C. Pratt, et James B. Holland. 2010. « Genetic Control of Photoperiod Sensitivity in Maize Revealed by Joint Multiple Population Analysis ». *Genetics* 184 (3): 799-812.
- Courtial, Audrey, Valérie Méchin, Matthieu Reymond, Jacqueline Grima-Pettenati, et Yves Barrière. 2014. « Colocalizations Between Several QTLs for Cell Wall Degradability and Composition in the F288 × F271 Early Maize RIL Progeny Raise the Question of the Nature of the Possible Underlying Determinants and Breeding Targets for Biofuel Capacity ». *BioEnergy Research* 7 (1): 142-56.
- Courtial, Audrey, Justine Thomas, Matthieu Reymond, Valérie Méchin, Jacqueline Grima-Pettenati, et Yves Barrière. 2013. « Targeted Linkage Map Densification to Improve Cell Wall Related QTL Detection and Interpretation in Maize ». *Theoretical and Applied Genetics* 126 (5): 1151-65.
- Darracq, Aude, Clémentine Vitte, Stéphane Nicolas, Jorge Duarte, Jean-Philippe Pichon, Tristan Mary-Huard, Céline Chevalier, et al. 2018. « Sequence Analysis of European Maize Inbred Line F2 Provides New Insights into Molecular and Chromosomal Characteristics of Presence/Absence Variants ». *BMC Genomics* 19 (1): 119.
- de vilmorin L., 1846. Note sur la création d'une nouvelle race de betterave. Considérations sur l'hérédité des végétaux. C. R. Acad. Sci., XLIII 18, 871-874.
- Dence, C. W. 1992. « The Determination of Lignin ». In *Methods in Lignin Chemistry*, édité par Dr Stephen Y. Lin et Professor Emeritus Dr Carlton W. Dence, 33-61. Springer Series in Wood Science. Springer Berlin Heidelberg.
- Doebley, John F., Major M. Goodman, et Charles W. Stuber. 1984. « Isoenzymatic Variation in Zea (Gramineae) ». *Systematic Botany* 9 (2): 203-18.
- Eathington, Sam R., Theodore M. Crosbie, Marlin D. Edwards, Robert S. Reiter, et Jason K. Bull. 2007. « Molecular Markers in a Commercial Breeding Program ». *Crop Science* 47 (Supplement_3): S-154-S-163.
- Elshire, Robert J., Jeffrey C. Glaubitz, Qi Sun, Jesse A. Poland, Ken Kawamoto, Edward S. Buckler, et Sharon E. Mitchell. 2011. « A Robust, Simple Genotyping-by-Sequencing (GBS) Approach for High Diversity Species ». *PLoS ONE* 6 (5): e19379.
- Ertl, Johann, Andrés Legarra, Zulma G. Vitezica, Luis Varona, Christian Edel, Reiner Emmerling, et Kay-Uwe Götz. 2014. « Genomic analysis of dominance effects on milk production and conformation traits in Fleckvieh cattle ». *Genetics Selection Evolution* 46 (1): 40.
- Ferrao, Luis Felipe Ventrone, Caillet Dornelles Marinho, Patricio R. Munoz, et Marcio FR Resende. 2018. « Integration of Dominance and Marker x Environment Interactions into Maize Genomic Prediction Models ». *BioRxiv*, juillet, 362608.
- Fontaine, A. S., S. Bout, Y. Barrière, et W. Vermerris. 2003. « Variation in cell wall composition among forage maize (*Zea mays* L.) inbred lines and its impact on digestibility: Analysis of neutral detergent fiber composition by pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry ». *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51 (27): 8080-87.

- Fristche-Neto, Roberto, Deniz Akdemir, et Jean-Luc Jannink. 2018. « Accuracy of Genomic Selection to Predict Maize Single-Crosses Obtained through Different Mating Designs ». *Theoretical and Applied Genetics* 131 (5): 1153-62.
- Fristche-Neto, Roberto, Deniz Akdemir, et Jean-Luc Jannink. 2018. « Correction to: Accuracy of Genomic Selection to Predict Maize Single-Crosses Obtained through Different Mating Designs ». *Theoretical and Applied Genetics* 131 (7): 1603-1603.
- Gallais, André. 2009. *Hétérosis et variétés hybrides en amélioration des plantes. Synthèses*. Paris: Quae.
- Gallais, André. 2011. *Méthodes de création de variétés en amélioration des plantes. Savoir faire*. Paris: Quae.
- Gama, Elto E. G. e, et Arnel R. Hallauer. 1977. « Relation Between Inbred and Hybrid Traits in Maize1 ». *Crop Science* 17 (5): 703.
- Ganal, Martin W., Gregor Durstewitz, Andreas Polley, Aurélie Bérard, Edward S. Buckler, Alain Charcosset, Joseph D. Clarke, et al. 2011. « A Large Maize (*Zea mays* L.) SNP Genotyping Array: Development and Germplasm Genotyping, and Genetic Mapping to Compare with the B73 Reference Genome ». *PLoS ONE* 6 (12): e28334.
- Garin, Vincent, Valentin Wimmer, Sofiane Mezouk, Marcos Malosetti, et Fred van Eeuwijk. 2017. « How do the type of QTL effect and the form of the residual term influence QTL detection in multi-parent populations? A case study in the maize EU-NAM population ». *TAG. Theoretical and Applied Genetics. Theoretische Und Angewandte Genetik* 130 (8): 1753-64.
- Giraud, Héloïse, Cyril Bauland, Matthieu Falque, et al. 2017a. « Linkage Analysis and Association Mapping QTL Detection Models for Hybrids Between Multiparental Populations from Two Heterotic Groups: Application to Biomass Production in Maize (*Zea mays* L.) ». *G3: Genes|Genomes|Genetics* 7 (11): 3649-57.
- Giraud, Héloïse, Cyril Bauland, Matthieu Falque, et al. 2017b. « Reciprocal Genetics: Identifying QTL for General and Specific Combining Abilities in Hybrids Between Multiparental Populations from Two Maize (*Zea Mays* L.) Heterotic Groups ». *Genetics* 207 (3): 1167-80.
- Giraud, Héloïse, Christina Lehermeier, Eva Bauer, Matthieu Falque, Vincent Segura, Cyril Bauland, Christian Camisan, et al. 2014. « Linkage Disequilibrium with Linkage Analysis of Multiline Crosses Reveals Different Multiallelic QTL for Hybrid Performance in the Flint and Dent Heterotic Groups of Maize ». *Genetics* 198 (4): 1717-34.
- Habier, D., R. L. Fernando, et J. C. M. Dekkers. 2007. « The Impact of Genetic Relationship Information on Genome-Assisted Breeding Values ». *Genetics* 177 (4): 2389-97.
- Hallauer, AR, Miranda Filho, et MJ Carena. 2010. *Quantitative Genetics in Maize Breeding*. 3e éd. New York: Springer.
- Heslot, Nicolas, Deniz Akdemir, Mark E. Sorrells, et Jean-Luc Jannink. 2014. « Integrating Environmental Covariates and Crop Modeling into the Genomic Selection Framework to Predict Genotype by Environment Interactions ». *Theoretical and Applied Genetics* 127 (2): 463-80.
- Heslot, Nicolas, Hsiao-Pei Yang, Mark E. Sorrells, et Jean-Luc Jannink. 2012. « Genomic Selection in Plant Breeding: A Comparison of Models ». *Crop Science* 52 (1): 146-60.
- Hopkins, Cyril G. 1899. « IMPROVEMENT IN THE CHEMICAL COMPOSITION OF THE CORN KERNEL. » *Journal of the American Chemical Society* 21 (11): 1039-57.
- Hospital, Frédéric, L. Moreau, F. Lacoudre, A. Charcosset, et A. Gallais. 1997. « More on the Efficiency of Marker-Assisted Selection ». *Theoretical and Applied Genetics* 95 (8): 1181-89.
- Jacobson, Amy, Lian Lian, Shengqiang Zhong, et Rex Bernardo. 2014. « General Combining Ability Model for Genomewide Selection in a Biparental Cross ». *Crop Science* 54 (3): 895-905.

- Jansen, Ritsert C., et Jan-Peter Nap. 2001. « Genetical genomics: the added value from segregation ». *TRENDS in Genetics* 17 (7): 388–391.
- Jenkins M.T., 1929. Correlation studies with inbred and crossbred strains in Maize. *J. Agric. Res.*, 39, 677-722
- Jenkins, M. T. 1934. « Methods of Estimating the Performance of Double Crosses in Corn ». *Journal of the American Society of Agronomy*.
- Jenkins, M. T., et A. M. Brunson. 1932. « Methods of Testing Inbred Lines of Maize in Crossbred Combinations ». *Journal of the American Society of Agronomy*.
- Jones, D. F. 1918. « The Effect of Inbreeding and Crossbreeding Upon Development ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 4 (8): 246-50.
- Kadam, Dnyaneshwar C., Sarah M. Potts, Martin O. Bohn, Alexander E. Lipka, et Aaron J. Lorenz. 2016. « Genomic Prediction of Single Crosses in the Early Stages of a Maize Hybrid Breeding Pipeline ». *G3: Genes, Genomes, Genetics* 6 (11): 3443-53.
- Krakowsky, M. D., M. Lee, H. H. Beeghly, et J. G. Coors. 2003. « Characterization of Quantitative Trait Loci Affecting Fiber and Lignin in Maize (*Zea Mays* L.) ». *Maydica* 48 (4): 283-92.
- Krakowsky, M. D., M. Lee, et J. G. Coors. 2005. « Quantitative Trait Loci for Cell-Wall Components in Recombinant Inbred Lines of Maize (*Zea Mays* L.) I: Stalk Tissue ». *Theoretical and Applied Genetics* 111 (2): 337-46.
- Krakowsky, M. D., M. Lee, et J. G. Coors. 2006. « Quantitative Trait Loci for Cell Wall Components in Recombinant Inbred Lines of Maize (*Zea Mays* L.) II: Leaf Sheath Tissue ». *Theoretical and Applied Genetics* 112 (4): 717-26.
- Lande, R., et R. Thompson. 1990. « Efficiency of Marker-Assisted Selection in the Improvement of Quantitative Traits. » *Genetics* 124 (3): 743-56.
- Lander, E. S., et D. Botstein. 1989. « Mapping Mendelian Factors Underlying Quantitative Traits Using RFLP Linkage Maps. » *Genetics* 121 (1): 185-99.
- Lee, E. A., M. J. Ash, et B. Good. 2007. « Re-Examining the Relationship between Degree of Relatedness, Genetic Effects, and Heterosis in Maize ». *Crop Science* 47 (2): 629-35.
- Lee, M., E. B. Godshalk, K. R. Lamkey, et W. W. Woodman. 1989. « Association of Restriction Fragment Length Polymorphisms among Maize Inbreds with Agronomic Performance of Their Crosses ». *Crop Science* 29 (4): 1067-71.
- Lehermeier, Christina, Nicole Krämer, Eva Bauer, Cyril Bauland, Christian Camisan, Laura Campo, Pascal Flament, et al. 2014. « Usefulness of Multiparental Populations of Maize (*Zea Mays* L.) for Genome-Based Prediction ». *Genetics* 198 (1): 3-16.
- Leng, Pengfei, Milena Ouzunova, Matthias Landbeck, Gerhard Wenzel, Joachim Eder, Birte Darnhofer, et Thomas Lübberstedt. 2018. « Quantitative Trait Loci Mapping of Forage Stover Quality Traits in Six Mapping Populations Derived from European Elite Maize Germplasm ». *Plant Breeding* 137 (2): 139-47.
- Leroux, Damien, Abdelaziz Rahmani, Sylvain Jasson, Marjolaine Ventelon, Florence Louis, Laurence Moreau, et Brigitte Mangin. 2014. « Clusthaplo: A Plug-in for MCQTL to Enhance QTL Detection Using Ancestral Alleles in Multi-Cross Design ». *Theoretical and Applied Genetics* 127 (4): 921-33.
- Lonnquist, J. H., et M. D. Rumbaugh. 1958. « Relative Importance of Test Sequence for General and Specific Combining Ability in Corn Breeding 1 ». *Agronomy Journal* 50 (9): 541-44.

- Lorenzana, Robenzon E., et Rex Bernardo. 2009. « Accuracy of Genotypic Value Predictions for Marker-Based Selection in Biparental Plant Populations ». *Theoretical and Applied Genetics* 120 (1): 151-61.
- Lübberstedt, Thomas, Albrecht E. Melchinger, Susanne Fähr, Dietrich Klein, Andreas Dally, et Peter Westhoff. 1998. « QTL Mapping in Testcrosses of Flint Lines of Maize: III. Comparison across Populations for Forage Traits ». *Crop Science* 38 (5): 1278-89.
- Lübberstedt, Thomas, Albrecht E. Melchinger, Dietrich Klein, Heinz Degenhardt, et Christian Paul. 1997. « QTL Mapping in Testcrosses of European Flint Lines of Maize: II. Comparison of Different Testers for Forage Quality Traits ». *Crop Science* 37 (6): 1913-22.
- Lübberstedt, Thomas, Albrecht E. Melchinger, Chris C. Schön, H. Friedrich Utz, et Dietrich Klein. 1997. « QTL Mapping in Testcrosses of European Flint Lines of Maize: I. Comparison of Different Testers for Forage Yield Traits ». *Crop Science* 37 (3): 921-31.
- Lyra, Danilo Hottis. 2017. « Multi-Trait Genomic Prediction for Nitrogen Response Indices in Tropical Maize Hybrids ». *Mol Breeding*, 14.
- Maenhout, Steven, Bernard De Baets, et Geert Haesaert. 2010. « Prediction of Maize Single-Cross Hybrid Performance: Support Vector Machine Regression versus Best Linear Prediction ». *TAG. Theoretical and Applied Genetics. Theoretische Und Angewandte Genetik* 120 (2): 415-27.
- Maher, Brendan. 2008. « Personal genomes: The case of the missing heritability ». *Nature* 456 (7218): 18-21.
- Mangin, Brigitte, Fanny Bonnafous, Nicolas Blanchet, Marie-Claude Boniface, Emmanuelle Bret-Mestries, Sébastien Carrère, Ludovic Cottret, et al. 2017. « Genomic Prediction of Sunflower Hybrids Oil Content ». *Frontiers in Plant Science* 8.
- Massman, Jon M., Andres Gordillo, Robenzon E. Lorenzana, et Rex Bernardo. 2013. « Genomewide Predictions from Maize Single-Cross Data ». *Theoretical and Applied Genetics* 126 (1): 13-22.
- Massman, Jon M., Hans-Joachim G. Jung, et Rex Bernardo. 2013. « Genomewide Selection versus Marker-Assisted Recurrent Selection to Improve Grain Yield and Stover-Quality Traits for Cellulosic Ethanol in Maize ». *Crop Science* 53 (1): 58-66.
- Meanhout, S. 2007. « Support vector machine regression for the prediction of maize hybrid performance - Springer ». 2007.
- Méchin, Valérie, Odile Argillier, Yannick Hébert, Emmanuelle Guingo, Laurence Moreau, Alain Charcosset, et Yves Barrière. 2001. « Genetic Analysis and QTL Mapping of Cell Wall Digestibility and Lignification in Silage Maize ». *Crop Science* 41 (3): 690-97.
- Melchinger, Albrecht E., H. Friedrich Utz, et Chris C. Schön. 1998. « Quantitative Trait Locus (QTL) Mapping Using Different Testers and Independent Population Samples in Maize Reveals Low Power of QTL Detection and Large Bias in Estimates of QTL Effects ». *Genetics* 149 (1): 383-403.
- Meuwissen, T. H. E., B. J. Hayes, et M. E. Goddard. 2001. « Prediction of Total Genetic Value Using Genome-Wide Dense Marker Maps ». *Genetics* 157 (4): 1819-29.
- Moreau, L., A. Charcosset, et A. Gallais. 2004. « Experimental Evaluation of Several Cycles of Marker-Assisted Selection in Maize ». *Euphytica* 137 (1): 111-18.
- Moreau, L., A. Charcosset, F. Hospital, et A. Gallais. 1998. « Marker-Assisted Selection Efficiency in Populations of Finite Size ». *Genetics* 148 (3): 1353-65.

- Moreau L., Charcosset, A. (2011) Marker-assisted selection in maize. In *Advance in Maize* Ed J.L. Prioul, Society for Experimental Biology, UK
- Melchinger, A.E. (1999) Genetic Diversity and Heterosis. In: Coors, J.G. and Stuber, J.E., Eds., *The Genetics and Exploitation of Heterosis and Crop Plants*, Crop Science Society of America, Madison, 99-118.
- Neimann-Sorensen, A., et A. Robertson. 1961. « The Association between Blood Groups and Several Production Characteristics in Three Danish Cattle Breeds ». *Acta Agriculturae Scandinavica* 11 (2): 163-96.
- Ogut, F., Y. Bian, P. J. Bradbury, et J. B. Holland. 2015. « Joint-Multiple Family Linkage Analysis Predicts within-Family Variation Better than Single-Family Analysis of the Maize Nested Association Mapping Population ». *Heredity* 114:552-63.
- Penning, Bryan W., Robert W. Sykes, Nicholas C. Babcock, Christopher K. Dugard, Michael A. Held, John F. Klimek, Jacob T. Shreve, et al. 2014. « Genetic Determinants for Enzymatic Digestion of Lignocellulosic Biomass Are Independent of Those for Lignin Abundance in a Maize Recombinant Inbred Population1[W][OPEN] ». *Plant Physiology* 165 (4): 1475-87.
- Pritchard, Jonathan K., et Molly Przeworski. 2001. « Linkage Disequilibrium in Humans: Models and Data ». *The American Journal of Human Genetics* 69 (1): 1-14.
- REBAÏ, AHMED, et BRUNO GOFFINET. 2000. « More about quantitative trait locus mapping with diallel designs ». *Genetical research* 75 (02): 243-247.
- Reif, Jochen C., Yusheng Zhao, Tobias Würschum, Manje Gowda, et Volker Hahn. 2013. « Genomic Prediction of Sunflower Hybrid Performance ». *Plant Breeding* 132 (1): 107-14.
- Riboulet, C., F. Fabre, D. Dénoue, J. P. Martinant, B. Lefevre, et Yves Barrière. 2008. « QTL mapping and candidate gene research from lignin content and cell wall digestibility in a top-cross of a flint maize recombinant inbred line progeny harvested at silage stage. » *Maydica* 53 (1): 1.
- Riedelsheimer, Christian, Angelika Czedik-Eysenberg, Christoph Grieder, Jan Lisec, Frank Technow, Ronan Sulpice, Thomas Altmann, Mark Stitt, Lothar Willmitzer, et Albrecht E. Melchinger. 2012. « Genomic and Metabolic Prediction of Complex Heterotic Traits in Hybrid Maize ». *Nature Genetics* 44 (2): 217-20.
- Riedelsheimer, Christian, Jeffrey B. Endelman, Michael Stange, Mark E. Sorrells, Jean-Luc Jannink, et Albrecht E. Melchinger. 2013. « Genomic Predictability of Interconnected Biparental Maize Populations ». *Genetics* 194 (2): 493-503.
- Rincent, R., D. Laloë, S. Nicolas, T. Altmann, D. Brunel, P. Revilla, V.M. Rodríguez, et al. 2012. « Maximizing the Reliability of Genomic Selection by Optimizing the Calibration Set of Reference Individuals: Comparison of Methods in Two Diverse Groups of Maize Inbreds (*Zea mays* L.) ». *Genetics* 192 (2): 715-28.
- Rio, Simon, Tristan Mary-Huard, Laurence Moreau, et Alain Charcosset. 2019. « Genomic Selection Efficiency and a Priori Estimation of Accuracy in a Structured Dent Maize Panel ». *Theoretical and Applied Genetics* 132 (1): 81-96.
- Roussel, Valérie, C Gibelin, Anne-Sophie Fontaine, et Yves Barrière. 2002. « Genetic analysis in recombinant inbred lines of early dent forage maize. II - QTL mapping for cell wall constituents and cell wall digestibility from per se value and top cross experiments ». *Maydica* 47 (janvier): 9-20.
- Schnable, Patrick S., Doreen Ware, Robert S. Fulton, Joshua C. Stein, Fusheng Wei, Shiran Pasternak, Chengzhi Liang, et al. 2009. « The B73 Maize Genome: Complexity, Diversity, and Dynamics ». *Science* 326 (5956): 1112-15.

- Schrag, T. A., A. E. Melchinger, A. P. Sørensen, et M. Frisch. 2006. « Prediction of Single-Cross Hybrid Performance for Grain Yield and Grain Dry Matter Content in Maize Using AFLP Markers Associated with QTL ». *Theoretical and Applied Genetics* 113 (6): 1037-47.
- Schrag, Tobias A., Hans Peter Maurer, Albrecht E. Melchinger, Hans-Peter Piepho, Johan Peleman, et Matthias Frisch. 2007. « Prediction of Single-Cross Hybrid Performance in Maize Using Haplotype Blocks Associated with QTL for Grain Yield ». *Theoretical and Applied Genetics* 114 (8): 1345-55.
- Shull, G. H. 1908. « A New Mendelian Ratio and Several Types of Latency ». *American Naturalist* 42: 433-51.
- Shull, George H. 1908. « The Composition of a Field of Maize ». *Journal of Heredity* 4 (1): 296-301.
- Shull, George Harrison. 1914. « Duplicate Genes for Capsule-Form InBursa Bursa-Pastoris ». *Zeitschrift Für Induktive Abstammungs- Und Vererbungslehre* 12 (1): 97-149.
- Smith, O. S. 1986. « Covariance between Line per Se and Testcross Performance 1 ». *Crop Science* 26 (3): 540-43.
- Sprague, G. F., et Loyd A. Tatum. 1942. « General vs. Specific Combining Ability in Single Crosses of Corn ». *Agronomy Journal* 34 (10): 923-32.
- Steinhoff, Jana, Wenxin Liu, Hans Peter Maurer, Tobias Würschum, H. Longin C. Friedrich, Nicolas Ranc, et Jochen C. Reif. 2011. « Multiple-Line Cross Quantitative Trait Locus Mapping in European Elite Maize ». *Crop Science* 51 (6): 2505.
- Sun, Chuanyu, Paul M. VanRaden, John B. Cole, et Jeffrey R. O'Connell. 2014. « Improvement of Prediction Ability for Genomic Selection of Dairy Cattle by Including Dominance Effects ». *PLOS ONE* 9 (8): e103934.
- Technow, Frank, Anna Bürger, et Albrecht E. Melchinger. 2013. « Genomic Prediction of Northern Corn Leaf Blight Resistance in Maize with Combined or Separated Training Sets for Heterotic Groups ». *G3: Genes, Genomes, Genetics* 3 (2): 197-203.
- Technow, Frank, Christian Riedelsheimer, Tobias A. Schrag, et Albrecht E. Melchinger. 2012. « Genomic Prediction of Hybrid Performance in Maize with Models Incorporating Dominance and Population Specific Marker Effects ». *Theoretical and Applied Genetics* 125 (6): 1181-94.
- Technow, Frank, Tobias A. Schrag, Wolfgang Schipprack, Eva Bauer, Henner Simianer, et Albrecht E. Melchinger. 2014. « Genome Properties and Prospects of Genomic Prediction of Hybrid Performance in a Breeding Program of Maize ». *Genetics* 197 (4): 1343-55.
- Tenaillon, Maud Irène, et Alain Charcosset. 2011. « A European Perspective on Maize History ». *Comptes Rendus Biologies* 334 (3): 221-28.
- Toro, Miguel A., et Luis Varona. 2010. « A note on mate allocation for dominance handling in genomic selection ». *Genetics Selection Evolution* 42 (1): 33.
- Torres, Andres, Richard Visser, et Luisa Trindade. 2013. « Bioethanol from maize cell walls: Genes, molecular tools, and breeding prospects ». *GCB Bioenergy* 7 (décembre).
- Truntzler, M., Y. Barrière, M. C. Sawkins, D. Lespinasse, J. Betran, A. Charcosset, et L. Moreau. 2010. « Meta-Analysis of QTL Involved in Silage Quality of Maize and Comparison with the Position of Candidate Genes ». *Theoretical and Applied Genetics* 121 (8): 1465-82.
- Unterseer, Sandra, Eva Bauer, Georg Haberer, Michael Seidel, Carsten Knaak, Milena Ouzunova, Thomas Meitinger, et al. 2014. « A powerful tool for genome analysis in maize: development and evaluation of the high density 600k SNP genotyping array ». *BMC genomics* 15 (1): 823.

- Van Soest, P. J., J. B. Robertson, et B. A. Lewis. 1991. « Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition ». *Journal of Dairy Science* 74 (10): 3583-97.
- Verhoeven, K. J. F., J.-L. Jannink, et L. M. McIntyre. 2005. « Using Mating Designs to Uncover QTL and the Genetic Architecture of Complex Traits ». *Heredity* 96 (2): 139-49.
- Vitezica, Zulma G., Luis Varona, Jean-Michel Elsen, Ignacy Misztal, William Herring, et Andrès Legarra. 2016. « Genomic BLUP including additive and dominant variation in purebreds and F1 crossbreds, with an application in pigs ». *Genetics Selection Evolution* 48: 6.
- Voss-Fels, Kai Peter, Mark Cooper, et Ben John Hayes. 2018. « Accelerating Crop Genetic Gains with Genomic Selection ». TAG. Theoretical and Applied Genetics. Theoretische Und Angewandte Genetik, décembre.
- Vuylsteke, M., M. Kuiper, et P. Stam. 2000. « Chromosomal Regions Involved in Hybrid Performance and Heterosis: Their AFLP®-Based Identification and Practical Use in Prediction Models ». *Heredity* 85 (3): 208-18.
- Wertz, Jean-Luc. 2010. « La lignine ». Rapport de synthèse, Document ValBiom-Gembloux AgroBio Tech (Novembre 2010).
- Whittaker, J. C., R. Thompson, et M. C. Denham. 2000. « Marker-Assisted Selection Using Ridge Regression ». *Genetical Research* 75 (2): 249-52.
- Windhausen, Vanessa S., Gary N. Atlin, John M. Hickey, Jose Crossa, Jean-Luc Jannink, Mark E. Sorrells, Babu Raman, et al. 2012. « Effectiveness of Genomic Prediction of Maize Hybrid Performance in Different Breeding Populations and Environments ». *G3: Genes|Genomes|Genetics* 2 (11): 1427-36.
- Würschum, Tobias. 2012. « Mapping QTL for Agronomic Traits in Breeding Populations ». *Theoretical and Applied Genetics* 125 (2): 201-10.
- Xu, Shizhong, Dan Zhu, et Qifa Zhang. 2014. « Predicting Hybrid Performance in Rice Using Genomic Best Linear Unbiased Prediction ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 111 (34): 12456-61.
- Yu, Jianming, James B. Holland, Michael D. McMullen, et Edward S. Buckler. 2008. « Genetic Design and Statistical Power of Nested Association Mapping in Maize ». *Genetics* 178 (1): 539-51.
- Yu, Jianming, Gael Pressoir, William H. Briggs, Irie Vroh Bi, Masanori Yamasaki, John F. Doebley, Michael D. McMullen, et al. 2006. « A Unified Mixed-Model Method for Association Mapping That Accounts for Multiple Levels of Relatedness ». *Nature Genetics* 38 (2): 203-8.
- Zhao, Yusheng, Jian Zeng, Rohan Fernando, et Jochen C. Reif. 2013. « Genomic Prediction of Hybrid Wheat Performance ». *Crop Science* 53 (3): 802-10.

Quantitative Trait Loci mapping in hybrids between Dent and Flint maize multiparental populations reveals group specific QTL for silage quality traits with variable pleiotropic effects on yield

Adama I. Seye¹, Cyril Bauland¹, Heloïse Giraud^{1,2}, Valérie Mechin³, Matthieu Reymond³, Alain Charcosset¹, Laurence Moreau^{1*}

¹ UMR 0320, Quantitative Genetic and Evolution (GQE) - Le Moulon, INRA, Université Paris-Sud, CNRS, AgroParisTech, Université Paris-Saclay, 91190 Gif-sur-Yvette, France

² Bayer Crop Science NV, Technologiepark 38, B-9052 Gent, Belgium

³ UMR 1318, Institut Jean-Pierre Bourgin, INRA-AgroParisTech, CNRS, Université Paris-Saclay, 78026 Versailles Cedex, France

* Corresponding author: laurence.moreau@inra.fr

Key Message

Silage quality traits of maize hybrids between the Dent and Flint heterotic groups mostly involved QTL specific of each parental group, some of them showing unfavorable pleiotropic effects on yield.

Abstract

Maize (*Zea mays L.*) is commonly used as silage for cattle feeding in Northern Europe. In addition to biomass production, improving whole plant digestibility is a major breeding objective. To identify loci involved in the General (GCA, parental values) and Specific Combining Ability (SCA, cross specific value) components of hybrid value, we analyzed an incomplete factorial design of 951 hybrids obtained by crossing inbred lines issued from two multiparental connected populations, each specific to one of the heterotic groups used for silage in Europe ("Dent" and "Flint"). Inbred lines were genotyped for approximately 20K single nucleotide polymorphisms (SNPs) and hybrids were phenotyped in 8 environments for 7 silage quality traits measured by near infrared spectroscopy (NIRS), biomass yield and precocity (partly analyzed in a previous study). We estimated variance components for GCA and SCA and their interaction with environment. We performed QTL detection using different models adapted to this hybrid population. Strong family effects and a predominance of GCA components compared to SCA were found for all traits. In total, 230 QTL were detected, with only two showing SCA effects significant at the whole genome level. More than 80% of GCA QTL were specific of one heterotic group. QTL explained individually less than 5% of the phenotypic variance. QTL co-localizations and correlation between QTL effects of quality and productivity traits suggest at least partial pleiotropic effects. This work opens new prospects for improving maize hybrid performances for both biomass productivity and quality accounting for complementarities between heterotic groups.

Key words: QTL mapping, hybrid factorial design, multiparental populations, maize, silage digestibility

Introduction

Silage maize is an important crop for cattle feeding, especially in Northern Europe. One important challenge is to improve maize varieties for their silage productivity (biomass production) as well as for their feeding value that corresponds to the energy available for cattle.

Silage maize energy is determined by (i) the proportion of grains and cellular content of stalks and leaves, which are assumed to be fully digestible and (ii) the digestibility of cell walls, which is highly variable. Cell wall is mainly composed of polysaccharidic compounds (cellulose and hemicelluloses) and of phenolic compounds (lignin and p-hydroxycinnamic acids). Cell wall digestibility is the most limiting factor of silage value (Barrière et al. 2003) and was found to mainly depend on lignin content and cross-linkages between lignin and the other cell wall components (Hartley 1972; Ralph et al. 1994; Grabber et al. 1996; Méchin et al. 2000; Fontaine et al. 2003; Zhang et al. 2011; El Hage et al. 2018). In Northern Europe, maize varieties commonly used as silage for cattle feeding are hybrids resulting from crosses between the “Dent” and the “Flint” heterotic groups. In a first step, lines are selected within each heterotic group for their General Combining Ability (GCA), i.e. the average performance of their hybrid progeny with lines from the other group. In a second step, selected lines are crossed to identify inter-group hybrids showing the best Specific Combining Abilities (SCA). As SCA is only evaluated in the second step for pairs of lines already selected based on their GCA value, the observed variation for this component may be biased, potentially hindering the identification of the best hybrid combinations. One important issue for the optimization of hybrid mating designs is therefore to evaluate the magnitude of SCA compared to GCA and to evaluate the sensitivity of these components to environmental conditions. The Dent group, mostly from recent US origin, generally confers productivity whereas the Flint group confers adaptation to European conditions. In the eighties, most of successful hybrids in Europe were derived from the cross between Dent lines from the Iodent subgroup, and Flint lines related to the Lacaune population, which produced the key founder line F2. These two origins showed good combining ability for yield related traits but their use in Europe resulted in a decrease of cell wall digestibility due to a negative correlation between these traits (Barrière et al. 2003). To stop this decrease, a new trait, the Milk Fodder Unit (MFU), which represents the energy available for milk production per kg of silage dry matter was added in 1998 in the official tests performed in France for the registration of silage maize varieties. The correlation between silage yield and cell wall digestibility depends on the genetic material considered. For instance, no correlation was found by Argillier et al. (2000) on a set of hybrids between different heterotic groups, whereas Barrière and Emile (2000) and Surault et al. (2005) found a correlation of -0.5 between these traits. These contrasting results call for a better understanding of the genetic architecture of digestibility related traits and their relationship with biomass yield.

Since later 90s, several studies have been carried out in order to detect loci (or QTL) involved in the architecture of silage quality traits (Lübberstedt et al. 1997a, b, 1998; Méchin et al. 2001; Roussel et al. 2002; Krakowsky et al. 2003; A. Cardinal et al 2003; Krakowsky et al 2005, 2006; Barrière et al. 2007; Riboulet et al. 2008; Barrière et al 2008, 2010; Courtial et al. 2013, 2014; Torres et al. 2014; Penning et al. 2014; Leng et al. 2018) and QTL related to cell wall digestibility and cell wall composition were found all over the maize genome. In a meta-analysis of QTL associated with maize silage quality traits based on eleven experiments, Truntzler et al. (2010) identified numerous meta-QTL (MQTL) for digestibility and cell wall composition traits (26 and 42 MQTL, respectively). These studies emphasize the genetic complexity of silage quality traits, which mainly involve QTL with small effects. QTL

detections conducted so far for biomass quality traits were mostly carried out on recombinant inbred lines (RIL) populations evaluated *per se* or on test-cross hybrids obtained by crossing RILs to a single inbred line from a complementary group (called tester). These populations cannot be used to detect dominance effects. Consequently, little is known on the additive/dominance or GCA/SCA QTL effects. Significant correlations between *per se* and test-cross values were found in some studies, suggesting a small impact of the dominance on silage quality traits (Barrière et al. 2003, 2010). Recently, Leng et al. (2018) found only moderate correlations between *per se* and test-cross performances for silage quality traits in a Dent and in a Flint population, resulting in a small consistency between QTL detected in both types of populations, therefore leaving the question of the role of dominance open. Another limit of studies conducted so far is that they mostly involved biparental populations analyzed separately, each representing only a small part of the variability available for breeding. Compared to biparental populations, multiparental populations enable to estimate allelic series at QTL but they never have been used so far to study traits related to silage digestibility.

This work aimed at getting more insight into the genetic architecture of silage quality traits in Dent-Flint hybrids. We used an original hybrid population issued from a factorial design obtained by crossing lines issued from a Dent and a Flint multiparental populations, composed each of six connected unselected biparental families. This population was first analyzed for silage productivity traits and precocity (Giraud et al. 2017a, b). The family structure of the population enabled performing QTL detection using a combination of linkage and association mapping approaches that were found complementary. However, Giraud et al. (2017a, b) did not consider environmental variation. Our objectives in the present study were to (i) evaluate GCA/SCA variance components for silage quality traits and compare them with those found for productivity traits, with a focus on their interaction with the environment (ii) measure correlations between traits and (iii) implement QTL detection for silage biomass quality traits considering GCA and SCA components or additive/dominance effects depending on the model. This enabled us to evaluate the group specificity of the QTL involved in hybrid variation and the importance of dominance/SCA for silage quality traits. We then compared QTL results with those obtained for biomass yield and precocity by Giraud et al. (2017a, b) to better decipher potential correlations between biomass production and quality traits. Finally, we evaluated prospects of these results for breeding.

Material and Methods

Biological material

We used the same hybrid population as Giraud et al. (2017a, b). This population was obtained by crossing segregating biparental families from the Dent and Flint group. In each group, four founder inbred lines (F373, F03802, F02803 and F7088 for the Flint group, F98902, F1808, F04401 and F7082 for the Dent group, Table S1) were crossed following a half-diallel mating design to derive six Dent biparental families (called D1 to D6) obtained by haplodiploidization and six Flint biparental families (called F1 to F6) obtained by four generations of Single Seed Descent (SSD) (Table S2). Among the founders of each group, one inbred line (F7088 for the Flint and F7082 for the Dent) was selected for its good biomass digestibility, and the three others for their good agronomical potential for yield and precocity. In the Flint group, founder lines except F7088, mostly originated from material issued from

the French Lacaune open-pollinated population crossed with other sources of early Flint material. F7088 derived from the cross between the F4 line and a commercial hybrid, both known for their good digestibility (Barrière et al., 2017, and C. Bauland, personal communication). In the Dent group, founder lines except F7082 derived from synthetics of commercial hybrids mostly related to the Iodent heterotic group. F7082, which was chosen for its high digestibility, derived from a cross between a line from the Stiff-Stalk group and a line from the Minnesota13 group, known for its good digestibility. Each bi-parental family of one group was crossed with all the bi-parental families of the other group (Table S2). To evaluate as many lines as possible, most lines contributed to only one hybrid (699 in the Dent and 732 in the Flint), but about 20% of them contributed to two hybrids (163 in the Dent group and 146 in the Flint group) to allow estimation of GCA and SCA variance components. Note that only one Dent and one Flint line contributed to three or four hybrids, respectively. Founder lines of each group were crossed to produce 16 Dent-Flint hybrids, further referred to as “founder hybrids”, that were used as checks in field trials. All biological materials are described in detail in Giraud et al. (2017a).

Genotypic data

Founder and parental lines were genotyped with a 18480 SNPs Affymetrix® array provided by Limagrain. For QTL detection, we considered 9548 SNP markers that were mapped on the Dent-Flint consensus map established for the population (Giraud et al. 2017a). This map had a total length of 1578.6 cM and 5216 unique positions. Missing genotypes were imputed with Beagle v3.0 (Browning and Browning 2007). At each marker, probabilities of the four Flint (respectively Dent) founder alleles transmitted to the parental lines were inferred using PlantImpute (Hickey et al. 2015). Detailed information on the map, quality control of the data, imputation and computation of founder allele probabilities are given in Giraud et al. (2017a). All the genotypic data and the map positions are available as supplemental files of Giraud et al. (2017a).

Field trial design and analysis

Hybrids were evaluated for silage in 8 different environments over two years (4 in 2013 and 4 others in 2014) in Northern France and in Germany (Table S3). Field experiments were laid out as an augmented p-rep design (Williams et al. 2011) and were constituted of 1088 elementary plots, each containing two rows of five meters long. Plots were split into 68 incomplete blocks of 16 elementary plots each. Most of experimental hybrids were evaluated only once in each trial. Founder hybrids and around 17 % of experimental hybrids were evaluated twice. In each block, five to six plots were used for repeated genotypes and hybrids were allocated to block to form an efficient incomplete block design. At harvest, a sample was taken from each plot, dried and ground. Silage quality traits were predicted using Near Infrared Reflectance Spectrometry (NIRS) equations on silage powder. For six over the eight field trials, NIRS predictions were made at INRA from spectra supplied by experimenters using the 2013 equation of Gembloux University (version “135b”). For the two remaining field trials, predictions were directly supplied by experimenters and spectra were not transmitted. Seven silage quality traits were considered: cell wall content of the harvested dry matter measured by the neutral detergent fiber content (NDF in % of dry matter), Cellulose, Hemicellulose and Lignin contents in the cell wall NDF (CELL, HCELL and LIGNIN in % of NDF) evaluated according to the method of Goering and Van Soest (1970), feeding value (MFU in Milk Fodder Unit per kilogram of dry matter (Andrieu 1995)),

cell wall in vitro digestibility of the “non-starch and non-soluble carbohydrates” part of silage (DINAG in %) and cell wall in vitro digestibility of the “non-starch, non-soluble carbohydrates and non-crude protein” part of silage (DINAGZ in %). These two digestibility criteria were proposed by Argillier et al. (1995). Data from all eight environments were available for MFU and DINAG; for NDF, Cellulose, Hemicellulose and Lignin, data from seven trials were available and six for DINAGZ. For trials for which we did not have access to spectra, we checked that the predictions of silage quality traits were well correlated to those obtained at INRA for the other trials (results not shown). In this study, we also considered silage yield (DMY in tons of dry matter per ha), dry matter content at harvest (DMC in %) and female flowering time (DtSILK in days after January the first) to complete the analyses previously done by Giraud et al. (2017a, b) by estimating (i) variance components including G×E interactions and (ii) correlations with digestibility traits.

An exploratory analysis was carried out for each trait and each trial to eliminate outlying observations (7 observations in total). Then, all data of hybrids with dry matter content at silage harvest below 25% (33 observations) and above 45% (53 observations) were considered as missing data because NIRS predictions are unreliable for samples presenting extreme moisture (Baker et al. 1994; Stuth et al. 2003; Méchin and Reymond, personal communication). 951 experimental hybrids, corresponding to hybrids with validated phenotypic records and for which both parental lines had genotypic data consistent with their pedigree (821 flint and 801 dent parental lines), were considered for further analyses. The number of analyzed hybrids derived from each biparental family varied between 126 (for family D6) and 178 (for family F1). For each Flint-Dent family combination, between 15 (Dent family D6 - Flint family F3) and 34 hybrids (Dent family D2 - Flint family F1) were evaluated (Table S2).

Variance component analysis

Before performing QTL detection, we estimated heritabilities, GCA and SCA variance components and the contribution of the family structure to the hybrid variation for silage quality traits. Genetic variance decomposition was done on the single-plot performances using the ASReml-R package (Butler et al. 2007; R Core Team 2013). We used models that included a genetic effect of the hybrids, a fixed trial effect and some random effects controlling spatial heterogeneities within trials (using either a row-column effects or block effects).

$$Y_{hlxyz} = \mu + \lambda_l + \tau_h + H_h + (\tau\lambda)_{hl} + (H\lambda)_{hl} + P_{xyz(l)} + E_{hlxyz}$$

Where Y_{hlxyz} was the phenotypic value of the hybrid h evaluated in the trial l at the plot located at row x , column y and in block z . μ was the intercept, λ_l is the fixed effect of the trial l . To distinguish between the checks and the experimental hybrids, two genetic effects were included: τ_h was a fixed genetic effect for the checks which had a specific level for each check and the same level for all experimental hybrids, H_h was a random genetic effect with one level per experimental hybrid and the same level for all checks. $(\tau\lambda)_{hl}$ and $(H\lambda)_{hl}$ were the corresponding genotype by trial interaction effects, considered as fixed for the checks and as random for the experimental hybrids. $P_{xyz(l)}$ was the effect of the plot within the trial l . Depending of the trial, we used either the sum of a random row and a random column effect or a random block effect to model $P_{xyz(l)}$. E_{hlxyz} was the residual of the model assumed to be independent and identically distributed (iid) within a given trial but with a

different variance in each trial. In this generic model, the hybrid value was decomposed into GCA and SCA components with or without considering the family structure. In a first model (model 1) the family structure was not considered:

$$H_{h(kk')} = P_k + P'_{k'} + (PP')_{kk'}$$

Where $H_{h(kk')}$ was the genetic effect of the experimental hybrid h between the Flint parental line k and the Dent parental line k' . P_k (respectively $P'_{k'}$) was the random effect of the parental line k (respectively k') issued from the Flint founder lines i and j (respectively Dent founder lines i' and j'), corresponding to the GCAs of the parental lines with $P_k \hookrightarrow N(0, \sigma_{GCA}^2)$ and assumed to be iid (respectively $P'_{k'} \hookrightarrow N(0, \sigma_{GCAf}^2)$, iid). $(PP')_{kk'}$ was the random effect of the interaction between the inbred line k and the inbred line k' , corresponding to the SCA with $(PP')_{kk'} \hookrightarrow N(0, \sigma_{SCA}^2)$ iid. The same decomposition of $H_{h(kk')}$ was done for the interaction with the environment $(H\lambda)_{h(kk')l}$:

$$(H\lambda)_{h(kk')l} = (P\lambda)_{kl} + (P'\lambda)_{k'l} + (PP'\lambda)_{kk'l}$$

With $(P\lambda)_{kl} \hookrightarrow N(0, \sigma_{GCA \times E}^2)$ iid. $(P'\lambda)_{k'l} \hookrightarrow N(0, \sigma_{GCAf \times E}^2)$ iid and $(PP'\lambda)_{kl} \hookrightarrow N(0, \sigma_{SCA \times E}^2)$ iid.

In the second model, hybrid value was decomposed into family effects and within-family GCA and SCA effects. Thus $H_{kk'}$ was decomposed into:

$$H_{kk'} = \alpha_{ij} + \beta_{i'j'} + (\alpha\beta)_{iji'j'} + P_k^* + P'^*_{k'} + (PP')^*_{kk'} \quad (2)$$

Where α_{ij} (respectively $\beta_{i'j'}$) was the fixed effect of the Flint (respectively Dent) family origin of the Flint (respectively Dent) parental line k (respectively k'), $(\alpha\beta)_{iji'j'}$ was the fixed interaction effect between the Flint and Dent family origins of the parental lines. P_k^* , $P'^*_{k'}$ and $(PP')^*_{kk'}$ were the within-family equivalents of P_k , $P'_{k'}$ and $(PP')_{kk'}$ in the model (1). Similarly, the genotype by environment interaction $(H\lambda)_{h(kk')l}$ was decomposed as the sum of the interactions between the family and the environment, considered as fixed, and the interactions between the within-family GCA and SCA components and the environment, considered as random.

The percentage of within family hybrid variance was estimated from the comparison of variance components issued from model (1) and (2). Broad sense heritability H^2 at the whole design level was calculated for each trait from model (1) as: $H^2 = \frac{\sigma_H^2}{\sigma_H^2 + \frac{\sigma_{H \times E}^2}{nsite_H} + \frac{\sigma_E^2}{nrep_H}}$ where σ_H^2 was the genetic variance of the hybrids computed as the sum of the GCA and SCA components, $nsite_H$ and $nrep_H$ were the average number of trials and the average number of plots per experimental hybrid in the whole design, respectively, $\sigma_{H \times E}^2$ was the hybrid by environment interaction (equaled to the sum of $\sigma_{GCA \times E}^2$, $\sigma_{GCAf \times E}^2$ and $\sigma_{SCA \times E}^2$), σ_E^2 was the average residual variance of the model over the different environments. The within-family heritability was calculated similarly but using the within family variance components from model (2). Standard errors of estimation of heritabilities were obtained with the delta method implemented in the "pin" function of the R package "nadiv" (Wolak 2012). For each model we also estimated the percentages of SCA in the hybrid variance (with and without including SCA×E and GCA×E variance components) and the ratio of the G×E variance components over the total genetic variance component ($100 \times \sigma_{H \times E}^2 / (\sigma_H^2 + \sigma_{H \times E}^2)$). Note that in model 2, genetic variance components were assumed to be identical in all families. We relaxed this assumption by

considering family specific variances, but this did not improve significantly the likelihood of the models at a 5% level risk (results not shown).

QTL detection were based on the least square-means (ls-means) of each hybrid over the different environments. To obtain ls-means, we first corrected the individual single plot performances by the best linear unbiased predictions (BLUPs) of the spatial effects (block or row-column effects depending on their significance for the trait and trial considered) obtained with model (2). Then for each trait, ls-means of hybrids were derived from a fixed effect model including a hybrid and a trial effect and considering residual variances specific of each trial. Pearson's correlations between the different traits and their significance level were calculated based on the ls-means of experimental hybrids used for QTL detection. Plot performances of experimental hybrids, corrected for spatial heterogeneities, were analyzed with a bivariate model to estimate genetic variances and covariances between traits and derive genetic correlations. In the bivariate model, we considered a fixed trial effect and a random hybrid effect and took into account the heterogeneity of error variances among trials. Due to convergence issues, G×E interactions were not included in this model. The R "nadiv" (Wolak 2012) package was used to compute standard errors of estimation of the genetic correlations.

QTL detection

In addition to the possibility of estimating SCA/dominance effects at QTL, an advantage of the studied population is to enable different allele codings for QTL detection, making it possible to test whether QTL are specific or common to the two heterotic groups and/or if there is an allelic series at each QTL. Following Giraud et al. (2017a, b), three models that differed in the allele coding were tested for QTL detection of silage quality traits. The general QTL detection model can be written as:

$$y = 1.\mu + A.\alpha + B.\beta + C.(\alpha\beta) + X_q.\gamma_q + Z_f.u_f + Z_d.u_d + e \quad (3)$$

Where y is a $(N \times 1)$ vector of the ls-means of the hybrids with N being the number of experimental hybrids phenotyped for the considered trait; μ is the intercept, 1 is a $(N \times 1)$ vector of 1. α (respectively β) is a (6×1) vector of the fixed effects of the Flint (respectively Dent) family of origin of the Flint (Dent) parental line, $(\alpha\beta)$ is the (36×1) vector of the fixed interaction effects between the Flint and Dent families of parental lines. A , B and C are the corresponding design matrices. u_f (respectively u_d) is the $(N_f \times 1)$ (respectively $(N_d \times 1)$) vector of the random effects of the N_f Flint (respectively N_d Dent) parental lines, with $u_f \hookrightarrow N(0, I\sigma_{u_f}^2)$, *iid* (respectively $u_d \hookrightarrow N(0, I\sigma_{u_d}^2)$, *iid*). γ_q is the vector of QTL effects for locus q and X_q is the incidence matrix that includes information based on marker genotypes (see below for the three different QTL models implemented). Z_f and Z_d are the design matrices that relate the N experimental hybrids to the N_f Flint and N_d Dent parents. These genetic effects corresponding to the parents of the hybrids are included to account for the fact that some hybrids were derived from the same parental inbred lines. e is the $(N \times 1)$ column vector of the residuals of the model with $e \hookrightarrow N(0, I\sigma_e^2)$, *iid*.

The first QTL model, called "Founder alleles", considers that each of the eight founder lines carries a different allele and decomposes QTL effect into its GCA and SCA components. In this model γ_q contains 24 effects, four corresponding to the Flint parental GCA allelic effects, 4 to the Dent GCA parental allelic effects and 16 pairwise SCA interactions between the Dent and Flint allelic effects. X_q is the matrix including the founder allele probabilities. The four first columns correspond to the

probabilities (between 0 and 1) that a given hybrid received a given Flint founder line allele, the four next ones contain the founder allele probabilities for the Dent founder lines. The last 16 columns correspond to the Hadamard product of the four columns of X_q corresponding to the four Dent alleles with the ones corresponding to the four Flint alleles. This model has 3 degrees of freedom (df) for the Dent and the Flint GCA allelic effects, respectively and 9 df for the interactions, corresponding to SCA effects.

The second model, called “SNP within-group”, considers observed alleles at SNP received from each parental line, assuming different effects in the two heterotic groups. This model assumes that two inbred lines from the same group that share the same allele at SNP are IBD (identical by descent). γ_q contains three parameters, one GCA SNP effect per group and one SCA SNP effect. X_q has three columns. The two first ones correspond to the SNP genotypes of the Dent and Flint parental lines, respectively, each coded as 0, 1 or 2 for genotypes AA, AB, and BB, respectively (if B is the reference allele). The last column is the product of the two first ones and corresponds to the SCA effect. This model has one df for the allelic effect of each group and one df for the interaction. These two first models decompose QTL effects into GCA and SCA components by considering the parental group origin of the alleles.

The third model called “Hybrid genotype” directly considers the genotype of the hybrid and makes the strong assumption that QTL effects are the same in both heterotic groups. For this model, X_q has two columns, one with 0, 1 and 2 if the hybrid genotype at marker q is AA, AB and BB, respectively and the second one with 0 for hybrids that are homozygotes and 1 for heterozygotes. This model decomposes the hybrid QTL effect γ_q into an additive and a dominance term, with one df each. More details can be found in Giraud et al. (2017b).

QTL analysis was performed with ASReml-R (Butler et al. 2007). The “SNP within-group” and the “Hybrid genotype” models were run on the 4758 mapped markers which were polymorphic in both heterotic groups and with a minor allele frequency (MAF) superior to 5% in both heterotic groups to avoid identifiability issues. The “Founder alleles” model was performed on the 9548 mapped markers. For each model, we considered a 5% genome-wide significance threshold based on the number of efficient markers (Gao et al. 2008) and determined by Giraud et al. (2017a, b) as being equal to 3.84 for the “Founder alleles” model, 4.40 for the “SNP within-group” model and 4.53 for the “Hybrid genotype”. A multi-marker procedure was implemented using a forward and backward marker selection process. At each step of the forward process, the most significant maker (based on the total locus effect or on one of the GCA/additive or SCA/dominance effect) was added to the model as cofactor until no more marker had a significant effect at the 5% genome-wide risk level. Then all markers were jointly tested, and we removed step by step, in a backward process each marker with non-significant effect until we only kept markers for which the total effect or one of its components (GCA or SCA / additivity or dominance) was significant. Graphics for visualizing QTL were based on the $-\log(p\text{-values})$ of marker Wald test in a model that considered as cofactor only markers located at more than 10 cM from the tested position.

For each model we estimated the proportion of the phenotypic variance explained by both QTL and family effects (R^2_{global}) that was defined as the squared correlation between predicted (based on these two parameters) and observed hybrid performances (ls-means). The percentage of phenotypic variance explained by the family effects (R^2_{fam}) and the percentage of variance jointly

explained by the detected QTL (R_{QTL}^2) and by each individual QTL were estimated by adapting the R^2 estimation process proposed by Nakagawa and Schielzeth (2013) for mixed models. From these parameters, we estimated the percentage of within-family phenotypic variance explained by the QTL as $R_{QTL}^{2*} = \frac{R_{QTL}^2}{1 - R_{fam}^2}$.

The quality of prediction of these models was evaluated by cross-validation using 80% of the data as calibration set and the remaining 20% as validation set. Sampling was stratified by families and repeated 100 times. To reduce computation time, we did not perform a *de novo* QTL detection for each calibration set. Instead, we considered the QTL detected in the whole data set, removed the ones that were not significant in the calibration set and re-estimated the effects of the remaining QTL. The percentages of variance explained by the models were estimated by the squared correlation between the hybrid value predictions and ls-means of the validation set. To evaluate the interest of adding SCA/dominance to the model, the cross-validations were done with and without considering SCA/dominance QTL effect (using an individual significance risk level of 5%). A model including only the family effects was also implemented and used as a benchmark.

Using Biomeqator (Sosnowski et al. 2012), we compared our QTL with those of silage productivity traits detected by Giraud et al. (2017a, b), considering an arbitrary 20cM confidence interval for each detected QTL. To facilitate comparison with QTL found in literature, we indicated for each QTL the chromosome bin where it was detected, using the bins defined in the MaizeGDB database (Lawrence et al. 2004). QTL were also projected on the physical map of maize reference genome v3 (Lawrence et al. 2004). We positioned on this physical map Meta-QTL of traits related to cell wall biomass composition and cell wall biomass digestibility published by Truntzler et al. (2010), and QTL of in vitro digestibility of NDF (IVNDFD) summarized in a recent study of Barrière et al. (2016). We also compared QTL positions with those of genes involved in the biosynthesis of cell wall as well as those of the maize brown midrib mutant genes (bm), well known to affect lignin content and cell wall digestibility.

Results

Hybrid variance components

Broad sense heritabilities at the design level (H^2) were high for all traits and ranged between 0.69 (NDF) and 0.87 (LIGNIN) for silage quality traits and between 0.82 (DMY) and 0.89 (DMC and DtSILK) for agronomical traits (Table 1). When family effects were not considered (model 1), hybrid variance decomposition (Table 1, Fig1 and Table S4) showed a predominance of GCA components over SCA. SCA variance explained between less than 1% of the hybrid genetic variance σ_H^2 for DINAG, DINAGZ, CELL and HCELL to 10 % for NDF and was not significant. Proportions of SCA were higher for agronomical traits and varied between 14% for DMC and 19% for DMY. It was significant at a 5% level for DMY and DtSILK. Dent and Flint GCA were significant for all traits (Table S4) but Dent GCA (GCA_d) variance was globally larger than Flint GCA (GCA_f) variance for all traits but NDF and DMC. The Dent GCA variance explained up to 70 % of the hybrid variance for HCELL and LIGNIN (Table S4).

Table 1: Synthetic parameters on the experimental hybrid variation for the different silage quality traits and agronomic traits.

Parameter	Model ^a	MFU	DINAG	DINAGZ	NDF	CELL	HCELL	LIGNIN	DMC	DMY	DtSILK
% of within family variance ^b		59	42	41	84	44	39	38	67	77	87
Heritability H ² (se) ^c	Global	0.76 (0.012)	0.83 (0.009)	0.77 (0.012)	0.69 (0.015)	0.73 (0.013)	0.81 (0.009)	0.87 (0.006)	0.89 (0.005)	0.82 (0.009)	0.89 (0.005)
	Within family	0.64 (0.017)	0.66 (0.017)	0.56 (0.022)	0.64 (0.018)	0.54 (0.023)	0.62 (0.019)	0.72 (0.014)	0.85 (0.008)	0.77 (0.012)	0.88 (0.006)
%SCA / H ^d	Global	7.9	0	0	10.5	0	0.01	2.1	14.3	18.7	16.8
	Within family	6.4	9.4	0	7.0	16.4	18.8	13.2	24.2	26.6	22.8
% (SCA+SCA×E) / (H+H×E) ^e	Global	26.3	7.2	0	33.8	0.03	0.02	7.9	16.8	24.1	14.8
	Within family	35.1	25.3	0	32.1	11.8	14.3	24.5	28.7	29.6	21.8
% (H×E) / (H+ H×E) ^f	Global	24.6	16.4	18.3	34.8	20.0	15.1	11.8	20.9	24.6	12.0
	Within family	31.3	25.5	28.8	35.0	28.6	24.0	20.7	25.0	25.9	11.6

^a: parameter estimated using variance components obtained with model 1 (Global) or with model 2, taking into family structure (Within family).

^b: percentage of within family variance computed as $100 \times \sigma_{H^*}^2 / \sigma_H^2$;

^c: (se): standard error of estimates of heritabilities.

^d: percentage of main hybrid variance due to SCA ($100 \times \sigma_{SCA}^2 / \sigma_H^2$);

^e: percentage of hybrid variance due to SCA, including interaction with the environment: $100 \times (\sigma_{SCA}^2 + \sigma_{SCA \times E}^2) / (\sigma_H^2 + \sigma_{H \times E}^2)$;

^f: percentage of variance due to interactions with the environment in the total genetic variance: $100 \times \sigma_{H \times E}^2 / (\sigma_H^2 + \sigma_{H \times E}^2)$

Family effects were highly significant for all traits (model 2) but were globally more important for silage quality traits than for agronomical traits. Except for NDF and DMC, the Dent family effects were more significant than the Flint family effects. The interaction between the Flint and Dent family effects were only significant for HCELL and DMC (results not shown). Family fixed effects absorbed more than 50% of the hybrid genetic variance for silage quality traits (except MFU and NDF) and they absorbed less than 25% of the hybrid genetic variance for agronomical traits (Table 1). Within-family heritabilities (H^2_*) were lower than H^2 and varied between 0.54 (CELL) and 0.72 (LIGNIN) for silage quality traits and between 0.77 (DMC) to 0.88 (DtSILK) for agronomical traits. When family effects were considered (model 2), the proportion of hybrid variance due to GCAs decreased. This affected more the Dent GCA than the Flint GCA, so that Flint and Dent within family GCA variance components were of the same magnitude. Including family effects slightly increased the SCA variance component for most traits (except MFU and NDF) but this component remained low for all silage quality traits (between less than 1 % (DINAG) and 19% (HCELL)) and moderate for agronomical traits (between 23% (DtSILK) and 27% (DMY)). Likelihood ratio test on random effects showed that none of the SCA variance components was significant for silage quality traits whereas they were significant for the three agronomical traits.

Genotype by environment interactions explained between 12% (DtSILK, LIGNIN) and 35% (NDF) of the total genetic variance (Figure 1, Table 1). They were globally small for silage quality traits except for MFU and NDF that both showed a large SCA×E variance component, significant at 5% risk level (Table S4). Considering SCA×E variance component increased the proportion of SCA in the total hybrid variance for these traits (Table1), but the estimation error of these SCA×E variance components was large. Genotype by environment interactions were moderate for the agronomical traits DMY and DMC. For these traits, interactions were mostly associated with GCA×E interactions significant at a 0.1% risk level (Table S4). None of the SCA × E interactions was significant for agronomical traits. In model 2, family × E interactions effects were significant for all traits (results not shown). As for main effects, including family effects in the model reduced the hybrid by environment variance components but this reduction was small.

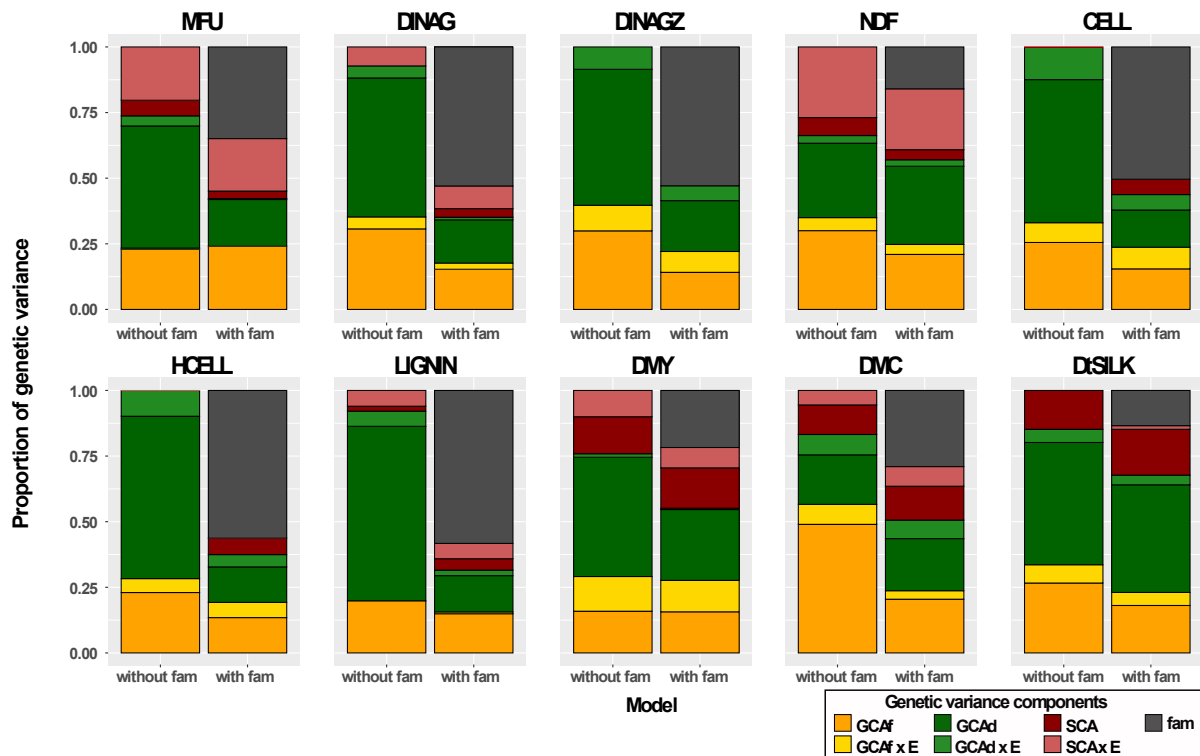


Fig1: Hybrid genetic variance components for silage quality traits and agronomical traits. For each trait, the graphic on the left corresponds to the model that does not consider family effects (“without fam”, model 1); the graphic on the right represents the model that takes family effects into account (“with fam”, model2). The different colors correspond to the different variance components (GCAf, GCAAd and SCA in green, orange and red, respectively) with in a lighter shade the corresponding interactions with the environmental conditions. The grey bars correspond to the proportion of genetic variance absorbed by family fixed effects.

Adjusted means and correlations between traits

Experimental hybrid performances were on average close to founder hybrid performances but showed a variation that exceeded that of founder hybrids for all traits (Table 2). On average, experimental hybrids derived from one or both founder lines F7088 and F7082 that were chosen for their good digestibility, had the best performance for DINAG (+0.43 points for F7088 and +0.44 for F7082). For MFU, founder lines with the best performances were F373 for the Flint group (+0.004 MFU.kg⁻¹) and F7082 for the Dent group (+0.006 MFU.kg⁻¹). The hybrid between the founder lines F7088 and F7082 had the best digestibility profile among founder hybrids, with high values for MFU, DINAG, DINAGZ and HCELL and low values for LIGNIN and CELL. Founder hybrids derived from crosses involving the Dent founder line F98902 had the lowest digestibility profile, except the one derived from the Flint line chosen for its digestibility (F7088 x F98902) which showed intermediate performances (Fig S1). Hybrids derived from F98902 had the best performances for DMY, illustrating potential antagonism between silage quality and productivity.

Table 2: Adjusted means of experimental hybrids and founder hybrids, and phenotypic effects of founder lines for the different traits.

	MFU (MFU/kg)	DINAG (%)	DINAGZ (%)	NDF (%)	CELL (%)	HCELL (%)	LIGNIN (%)	DMC (%)	DMY (t.ha ⁻¹)	DtSILK (d/1 st January)
Experimental hybrids										
Mean	0.90	50.60	45.25	41.84	50.26	43.46	6.275	33.0	16.0	211.5
Min – max	0.83 - 0.96	45.1 - 55.6	39.7 - 51.6	37.1 - 49.1	48.4 - 52.1	40.6 - 46.3	5.2 - 7.4	25.7 - 41.3	11.8 - 20.2	206.7-217.9
Founder hybrids										
Mean	0.90	50.10	44.69	42.09	50.32	43.37	6.311	33.5	16.5	211.6
Min – max	0.85 - 0.94	45.6 - 54.0	39.8 - 48.3	39.3 - 44.7	49.2 - 51.9	40.6 - 45.1	5.7 - 7.4	30.2-36.1	14.8-18.4	209.2-213.6
Founder line phenotypic effects ^a										
F02803 (Flint)	-0.006	-0.047	0.152	0.744	0.056	-0.026	-0.029	-0.52	0.24	0.43
F03802 (Flint)	-0.001	-0.043	-0.013	0.117	-0.019	-0.007	0.030	0.12	-0.17	0.14
F373 (Flint)	0.004	0.190	0.092	-0.485	0.054	-0.070	0.010	-0.37	-0.3	-0.34
F7088 (Flint)	0.001	0.426	0.523	0.080	-0.071	0.098	-0.029	-0.99	0.09	0.36
F1808 (Dent)	0.002	0.027	-0.009	-0.231	0.059	-0.01	-0.043	0.44	0.05	-0.11
F04401 (Dent)	0.002	0.041	-0.020	0.074	-0.048	0.108	-0.063	0.49	-0.28	-0.30
F98902 (Dent)	-0.011	-1.234	-1.269	0.203	0.358	-0.632	0.275	0.38	0.45	0.23
F7082 (Dent)	0.006	0.444	0.374	-0.322	-0.226	0.340	-0.113	0.306	-0.17	-0.385

^a: founder line effects were computed as the difference between the average value of all experimental hybrids derived from a given founder and the average value of all experimental hybrids.

Pearson's correlations based on Is-means and genetic correlations showed consistent results (Fig2 for correlations based on Is-means, and Table S5 for the genetic correlations). The MFU of experimental hybrids was positively correlated with the two digestibility traits DINAG and DINAGZ, these two traits being highly correlated. These three traits were positively correlated with HCELL and negatively correlated with NDF, CELL, and LIGNIN. The two digestibility traits (DINAG and DINAGZ) were strongly correlated with LIGNIN, HCELL and CELL and to a lesser extent with NDF. MFU, which is the main target in selection was strongly correlated with HCELL (0.81 based on Is-means, 0.87 for the genetic correlation) and NDF (-0.80 on Is-means, -0.79 for the genetic correlation). Among cell wall traits, HCELL, CELL and LIGNIN were highly correlated and showed moderate correlations with NDF.

Silage quality traits showed moderate to weak correlations with agronomical traits based on Is-means. More particularly, DMY showed negative correlations with MFU (-0.53) and to a lesser extent with digestibility traits (-0.39 with DINAG and -0.28 with DINAGZ). Higher genetic correlations were found between DMY and MFU (-0.72) and digestibility traits (-0.53 with DINAG and -0.48 with DINAGZ). Correlations between silage dry matter content (DMC) and silage quality traits were low (<0.3 in absolute value for Is-means, <0.4 for the genetic correlations).

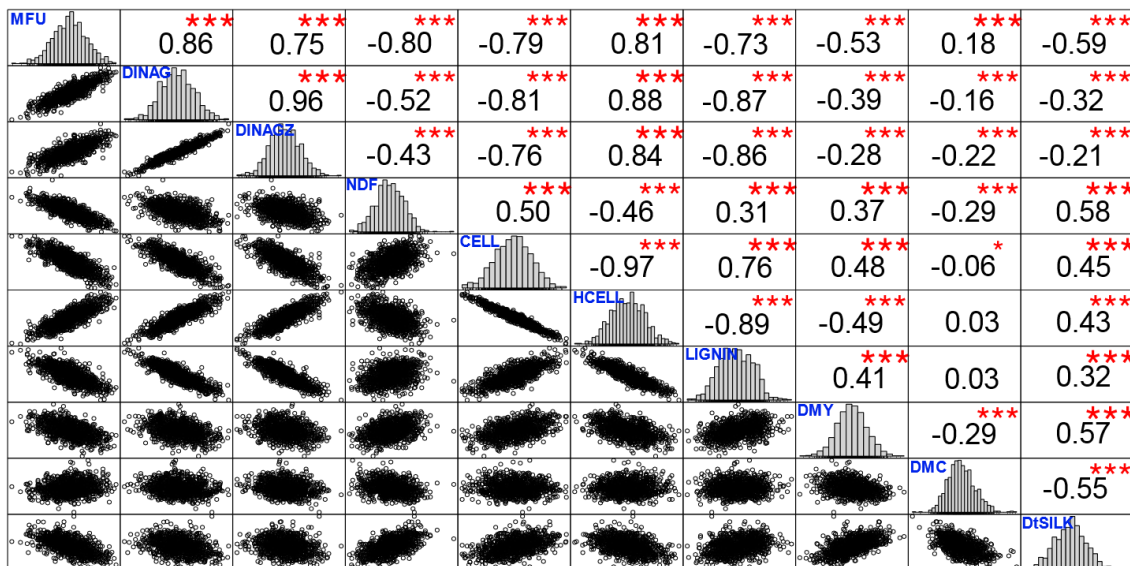


Fig2: Pearson's correlation matrix based on experimental hybrid Is-means for silage biomass quality traits and for silage biomass productivity traits. The histograms of these traits are shown on the diagonal. Symbols "****", "***", "**" correspond to the level of significance of the Person's correlation corresponding to p-values of 0.001, 0.01 and 0.05, respectively.

QTL detection

In total, the "SNP within group" model detected 80 QTL against 76 and 74 respectively for the "Founder alleles" and "Hybrid genotype" models (Table 3, Tables S6-8). "SNP within-group" model detected more QTL for all traits, but MFU and HCELL for which more QTL were detected with the "Hybrid genotype". Among all the detected QTL, a majority (39) was detected by all three models (Fig S2). However, some QTL were model specific. The "SNP within group" model shared a lot of QTL with

the “Founder allele” model (54) and the “Hybrid genotype” model (50), which shared together fewer QTL (43).

Most of the QTL detected with the “Founder allele” and/or the “SNP within group” model showed GCA effects that were group specific (Table 3 and example of chromosome 1 for DINAG on Fig S3). A small number of QTL (between 0 and 3) were significant for both their GCA_f and GCA_d components. Few QTL which were significant for one component (mostly one GCA or the additive component) were not significant for the global effect. We detected more QTL for GCA_d than for GCA_f with the “SNP within group” model and more QTL for GCA_f than for GCA_d with the “Founder allele” model. Very few QTL were detected for SCA/dominance effects. At the whole genome 5% risk level, only one QTL with significant SCA effect was detected by the “Founder alleles” model for LIGNIN and one QTL with a significant dominance effect was detected by the “Hybrid genotype” model for DINAG. Among all detected QTL, on average, between 0 and 2 QTL had significant SCA/dominance effects at a 5% individual marker risk level, depending on the traits and models. Globally over the different traits, the “Founder alleles” model detected more significant SCA/dominant QTL at this risk level than the other models (12 compared to 8 and 7 for the “SNP within group” and “Hybrid genotype” models, respectively).

Table 3: Number of QTL detected with the 3 different QTL models for silage quality traits considering global QTL effect or specific components (GCAd, GCAf, SCA or Additivity/Dominance). For the non-additive effects (SCA/dominance), the number of QTL with SCA effects significant at an individual 5% level risk are shown between brackets.

Model	Tested effect	MFU (UFL/kg)	DINAG (%)	DINAGZ (%)	NDF (%)	CELL (%)	HCELL (%)	LIGNIN (%)	Total QTL
Founder alleles	Total ^b	10	13	11	8	10	10	14	76 (12) ^a
	Global ^c	8	10	7	7	7	6	12	
	GCAf ^d	6	10	6	4	6	7	8	
	GCAd ^d	5	6	3	3	6	6	6	
	Common for GCA ^e	1	3	1	0	3	3	0	
	SCA ^f	0 (0) ^a	0 (3)	0 (2)	0 (3)	0 (0)	0 (1)	1 (3)	
SNP within group	Total	11	13	11	10	10	9	16	80 (8)
	Global	10	13	9	7	8	7	13	
	GCAf	6	8	4	3	3	4	8	
	GCAd	6	5	7	6	5	6	7	
	Common for GCA	2	1	1	0	1	3	1	
	SCA	0 (0)	0 (0)	0 (1)	0 (2)	0 (2)	0 (1)	0 (2)	
Hybrid genotype	Total	12	12	9	9	8	10	14	74 (7)
	Global	11	7	7	8	6	10	11	
	Additivity	12	11	9	9	8	10	14	
	Dominance	0 (1)	1 (2)	0 (1)	0 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (1)	

^a: number of QTL with SCA effects significant at an individual 5% level risk are shown between brackets.

^b: number of QTL detected in total (on their global effect for one of the GCA/additivity or SCA/dominance component).

^c: number of QTL detected for their global effect (GCA+SCA or Additivity+Dominance effects).

^d: number of QTL detected on one of the GCA component (GCAd or GCAf).

^e: number of QTL with a significant effect of both GCA components.

^f: number of QTL with a significant effect on the SCA component.

QTL models explained between 33 % (NDF, “Hybrid genotype” model, without dominance) and 77% (LIGNIN, “Founder alleles” model, with SCA effects significant at 5% individual risk level) of the total phenotypic variance (Table 4). These high R² are mainly explained by the strong family structure effects on biomass quality traits ranging between 14.71% for the less affected trait (NDF) to 56.77% for the most affected one (LIGNIN). The detected QTL explained between 21.02% (NDF, “Hybrid genotype” model, without dominance) and 49% (LIGNIN, “Founder alleles” model, with SCA effects when significant) of the within-family phenotypic variance. Compared to the other models, the “Founder alleles” model explained a larger part of the phenotypic variance for all traits, whereas the

“Hybrid genotype” explained a lower one (except for HCELL). When dominance/SCA was considered, the increase in percentage of explained phenotypic variance compared to models including only GCA/additive effect was small. It was lower for the “SNP within-group” model (from +0.2 for MFU to +1.3 for NDF) and for the “Hybrid genotype” model (+0.2 for CELL to +2 for NDF) than for the “Founder alleles” model (+2.8 for HCELL to +6.5 for NDF). When considered separately, individual QTL explained a small percentage of phenotypic variance ranging between <1% and 4.5% (Table S6 to S8).

Table 4: Quality of adjustment of QTL models for the different traits compared to a model only considering family effect (R^2_{fam}).

Trait	R^2_{fam}	Model	Nb QTL ^a	R^2_{global} ^b		R^2_{QTL} ^c		R^{2*}_{QTL} ^d	
				Without SCA	With SCA	Without SCA	With SCA	Without SCA	With SCA
MFU (MFU/kg)	33.83	Founder alleles	10 (0)	55.93	55.93	22.36	22.36	33.79	33.79
		SNP within-group	11 (0)	54.70	54.70	20.73	20.73	31.33	31.33
		Hybrid genotype	12 (1)	53.03	53.28	18.86	19.12	28.51	28.90
DINAG (%)	51.34	Founder alleles	13 (3)	71.52	72.84	20.53	22.16	42.19	45.54
		SNP within-group	13 (0)	68.58	68.58	16.92	16.92	34.77	34.77
		Hybrid genotype	12 (2)	64.41	65.23	12.65	13.63	26.00	28.00
DINAGZ (%)	48.58	Founder alleles	11 (2)	65.38	67.09	17.37	19.24	33.79	37.42
		SNP within-group	11 (1)	62.85	63.09	14.27	14.51	27.74	28.21
		Hybrid genotype	9 (1)	60.41	60.65	11.45	11.68	22.28	22.71
NDF (%)	14.71	Founder alleles	8 (3)	36.50	40.82	22.25	26.69	26.09	31.30
		SNP within-group	10 (2)	36.01	37.18	21.50	22.67	25.21	26.58
		Hybrid genotype	9 (2)	32.77	34.14	17.93	19.28	21.02	22.60
CELL (%)	42.78	Founder alleles	10 (0)	60.84	60.84	18.71	18.71	32.70	32.70
		SNP within-group	10 (2)	57.14	57.57	14.48	14.90	25.31	26.03
		Hybrid genotype	8 (0)	55.03	55.03	12.17	12.17	21.27	21.27
HCELL (%)	51.67	Founder alleles	10 (1)	68.82	69.11	17.55	17.94	36.31	37.12
		SNP within-group	9 (1)	64.30	64.46	12.62	12.82	26.12	26.52
		Hybrid genotype	10 (0)	64.69	64.69	12.81	12.81	26.51	26.51
LIGNIN (%)	56.77	Founder alleles	14(3)	76.21	77.11	19.99	21.20	46.23	49.03
		SNP within-group	16 (2)	74.12	74.39	17.08	17.35	39.50	40.14
		Hybrid genotype	14 (1)	71.55	71.68	14.68	14.79	33.96	34.22

^a: Nb QTL: Number of QTL detected in total and between brackets, number of QTL with SCA/dominance effects significant at a 5% level risk considered for the prediction models including SCA (“with SCA”)

^b: R^2_{global} : Percentage of the total phenotypic variance explained by all parameters

^c: R^2_{QTL} : Percentage of phenotypic variance explained by the QTL

^d: R^{2*}_{QTL} : Percentage of within-family phenotypic variance explained by the QTL

For each trait, all founder lines carried both favorable and unfavorable alleles (results not shown). The two founder lines chosen for their good digestibility (F7082 for the Dent and F7088 for the Flint) carried more favorable alleles than the other ones for the digestibility trait DINAG, but not for MFU (Fig3).

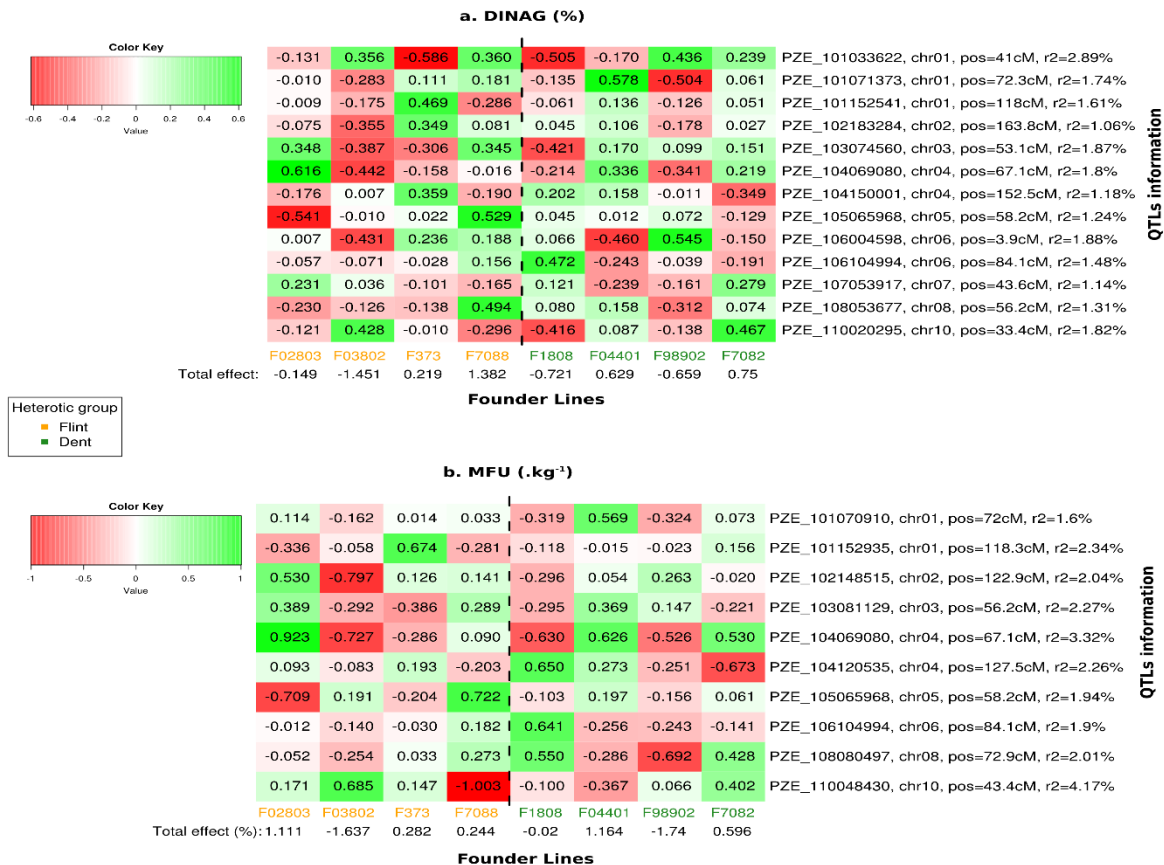


Fig3: QTL allelic effects of founder inbred lines (from the “Founder alleles” model) for cell wall digestibility (DINAG, a) and silage feeding value (MFU, b). For each QTL, associated marker, chromosome location, genetic position and the proportion of total phenotypic variance explained are indicated. For each founder inbred line, the genotypic value based on QTL was calculated as the sum of its allelic effects over all the detected QTL.

R² - Cross-validation results

A cross-validation procedure was carried out to assess the predictive abilities of the different QTL based models and correct for potential bias due to an over-fitting of the QTL model when the same data are used for QTL detection and R² estimation. The QTL detection model leading to the highest R² varied depending on the trait (Table 5). As expected, the phenotypic variance explained by QTL based on the cross-validation was lower than that obtained on the whole dataset: for instance, 20.64 % instead of 34.14 % for NDF with the “Hybrid genotype” model and 67.33% instead of 76.21% for LIGNIN with the “Founder allele” model. Based on cross-validation results, the best predicting model was generally not the model that detected the highest number of QTL. The “Founder alleles”

model led to the highest cross-validation R^2 only for HCELL and LIGNIN. The “SNP within group” gave the highest cross-validation R^2 for DINAG, MFU and NDF whereas the highest cross-validation R^2 for DINAGZ and CELL were obtained with “Hybrid genotype” model. Adding SCA/dominance in prediction models generally decreased R^2 (only a slight increase of about +0.1 was found for NDF with all models). Considering the best model for each trait, cross-validation R^2 ranged between 20.64% for NDF, “Genotype Hybrid” with dominance effects model and 67.33% for LIGNIN, “Founders alleles” with no SCA in the model.

Table 5: Cross-validation estimates of the quality of prediction (mean R^2 and standard deviation, sd, of the mean) of the different QTL models, including or not SCA compared to a model only including family effects

Model		DINAG (%)	DINAGZ (%)	MFU (MFU/kg)	NDF (%)	CELL (%)	HCELL (%)	LIGNIN (%)
Family effects	<i>No QTL</i>	49.24	45.90	29.58	9.34	39.82	49.73	54.67
		sd 3.83	sd 3.7	sd 4.32	sd 3.47	sd 5.34	sd 3.91	sd 3.40
Founder alleles	<i>GCA</i>	61.17	52.54	41.63	18.97	46.41	59.39	67.33
		sd 4.21	sd 3.86	sd 5.26	sd 4.31	sd 4.89	sd 3.91	sd 3.65
	<i>GCA + SCA^a</i>	59.70	51.84	40.72	19.98	45.76	58.00	66.58
		sd 4.45	sd 3.81	sd 5.13	sd 4.20	sd 4.80	sd 3.90	sd 3.66
SNP within-group	<i>GCA</i>	61.18	53.21	44.34	19.61	46.53	57.08	66.36
		sd 3.59	sd 3.91	sd 4.31	sd 4.24	sd 4.88	sd 3.76	sd 3.38
	<i>GCA + SCA^a</i>	61.06	52.92	44.23	20.61	46.33	56.96	65.95
		sd 3.57	sd 4.01	sd 4.32	sd 4.38	sd 4.83	sd 3.79	sd 3.40
Hybrid genotype	<i>Additive</i>	57.49	53.28	40.98	19.47	47.43	57.22	63.37
		sd 3.61	sd 4.04	sd 4.65	sd 4.62	sd 5.06	sd 3.66	sd 3.48
	<i>Additive + dominance^a</i>	57.16	53.18	40.59	20.64	47.35	57.05	63.13
		sd 3.69	sd 4.20	sd 4.54	sd 4.76	sd 5.06	sd 3.70	sd 3.56

^a: for model including SCA/dominance effects, only QTL significant at a 5% level risk were included

Digestibility and productivity QTL co-localization

Using Biomeqator (Sosnowski et al., 2012), we plotted the QTL detected for silage quality traits and added QTL for silage agronomical traits detected by Giraud et al, (2017a, b). For each trait we plotted the QTL found with the model that was considered as being the best one based on cross-validation. We considered an arbitrary 20 cM confidence interval (CI).

We observed many co-localizations between QTL detected for the different quality traits (Fig4). Highly correlated traits (DINAG vs DINAGZ, CELL vs HCELL, ...) usually had QTL located in the same genomic regions. About 25% of the QTL were mapped on chromosome 1 into 4 non-overlapping regions. One of these regions from bin 1.02 to 1.04 gathered QTL for all silage quality traits (but NDF). Except for MFU, the QTL mapped in this region are the most significant ones for each trait. This region therefore seems to play an important role in the variation of silage quality.

Some regions appeared specific to silage quality or cell wall composition traits and did not carry QTL for agronomical traits. Among these regions, some affected only one trait (QTL NDF2 on bin 1.07, QTL DINAG4 on bin 2.10, QTL NDF8 on 5.07 and QTL LIGNIN9 on bin 7.00) while other regions displayed QTL for several quality traits (bin 6.06 for DINAG and MFU, bin 7.02 for DINAG and all cell wall components, and bin 10.07 for HCELL and LIGNIN). Reciprocally, some regions with QTL for silage agronomical traits (such as DMY3 on bin 3.06, DMC5 on bin 3.07, DMC9 on bin 6.05, DtSILK13 on bin 7.05 and DMC4-DtSILK5 on bin 2.09) showed no QTL for silage quality or composition traits. Except these above-mentioned specific regions, all remaining regions showed co-localizations of QTL for silage quality and silage agronomical traits. Interestingly, two genomic regions located on chromosome 8 (from bin 8.03 to 8.05) and on chromosome 10 (from bin 10.03 to 10.04) displayed co-localizations of all traits.

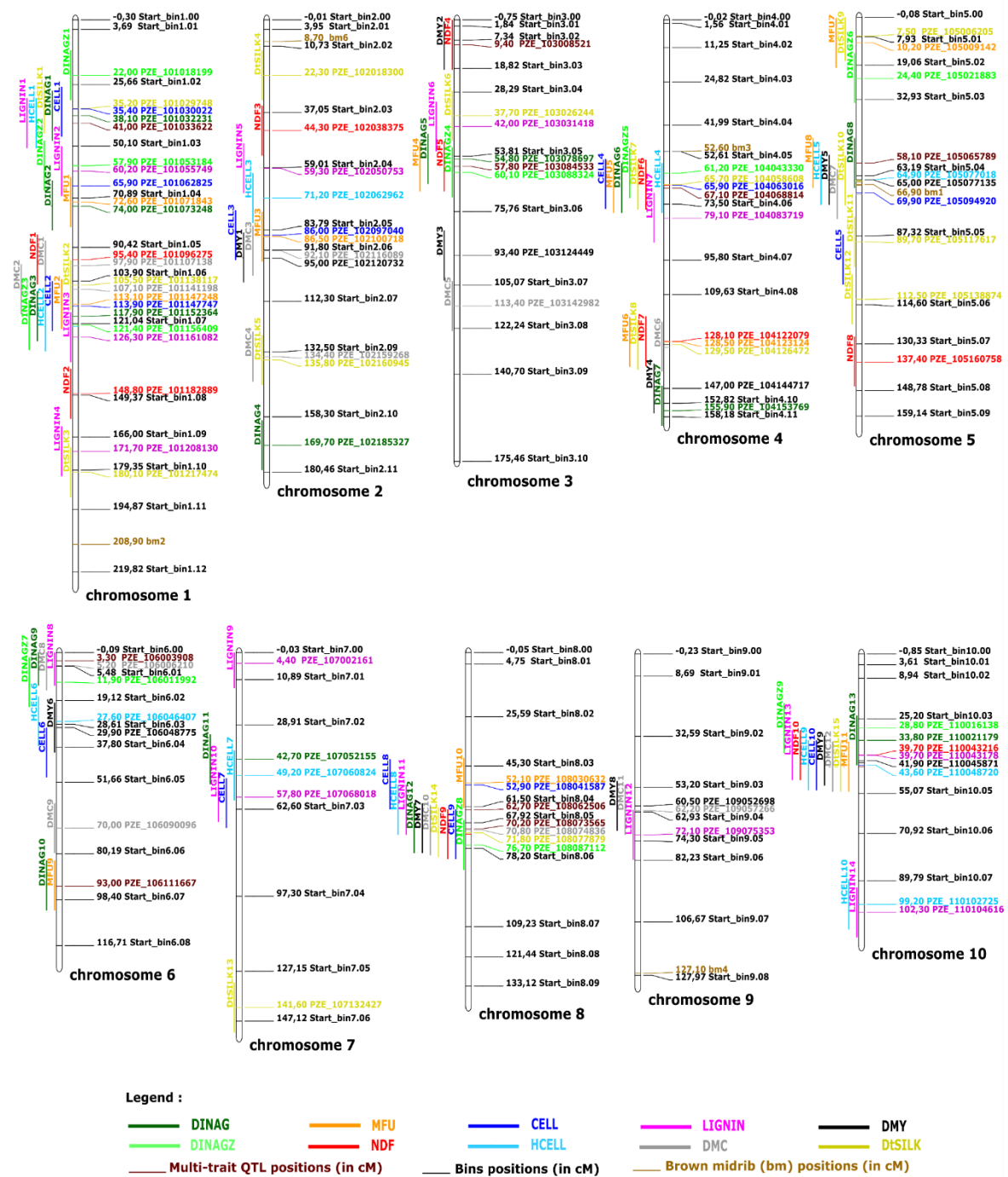


Fig4: Co-localization of the best model QTL (based on R^2 of cross-validation) for silage quality traits and silage productivity traits on the genetic map.

For regions which showed an overlap between QTL for DMY and those for MFU, DINAG or DINAGZ, we looked at the relationship between the GCA parental allelic effects estimated for these

different traits with the “Founder alleles” model. In all the cases, we observed a negative correlation between the QTL allelic effects estimated for MFU and DMY (Fig5). The same tendency was observed for some of the QTL detected for DINAG and DINAGZ (Fig S4 and S5) but not all. So, in these regions where QTL for DMY overlapped with QTL for quality traits, the parental alleles increasing DMY usually had a negative effect on MFU (and to a lesser extent on DINAG and DINAGZ).

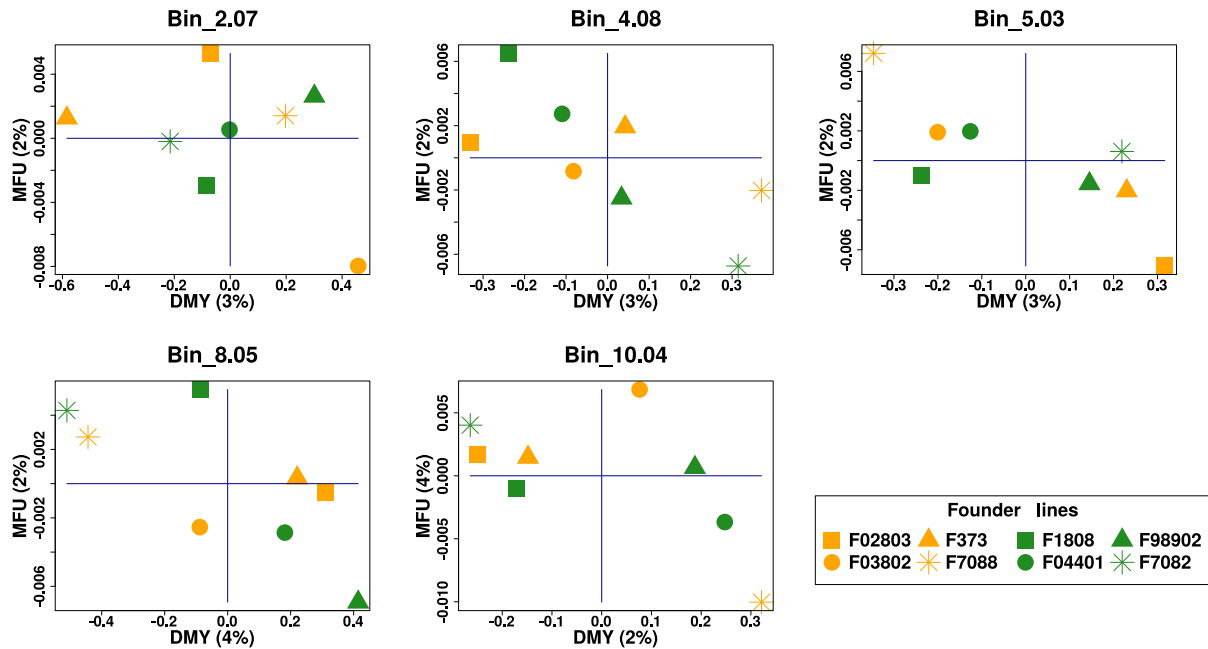


Fig5: Relationship between QTL allelic effects of the 8 founder lines (in orange for Flint ones and in green for Dent ones) for silage feeding value (MFU) and silage productivity (DMY) for regions carrying QTL for these two traits. For each region, the chromosome bin location, and the phenotypic variation explained for each trait and each region (between brackets) are indicated. Within each genetic group, the founder line that was chosen for its silage quality is plotted with the “*” symbol.

Discussion

Predominance of QTL showing group specific GCA effects

To our knowledge, this is the first study that estimated GCA and SCA variance components in a Dent-Flint factorial for maize silage quality traits. The proportion of SCA and within-family SCA variance for silage quality traits was small and lower than that observed for agronomical traits. Our results for agronomical traits confirmed the first estimations done by Giraud et al. (2017a) using a model that did not consider G×E interactions. They showed that SCA explained about 20% of the hybrid variance for DMY while the highest proportion of SCA obtained for silage quality traits was 10% (for NDF). These results agree with the limited contribution of SCA effects observed by Argillier et al. (2000) for digestibility related traits in a factorial. Despite the small number of experimental hybrids derived per parental line, our population enables the simultaneous detection of QTL involved in the GCA of each group and in the SCA component of hybrid value. We did not find strong evidence of SCA QTL for silage quality traits. The low SCA variance and the small number of QTL showing SCA effects can be either due to (i) the fact that these traits involved QTL with biological additive effects or (ii) to the divergence between Flint and Dent heterotic groups for QTL showing dominance. In this second case, additive and dominance effects are confounded, and both contribute to GCA (Reif et al. 2007). In the literature, strong correlations have been found between *per-se* and test-cross values (Argillier et al. 2000; Torres et al. 2015) for silage quality traits, which supports the first hypothesis. However, recently Leng et al. (2018) found only moderate correlations between *per se* and testcross silage quality performances for a Dent and a Flint segregating population. This result and the fact that we detected QTL specific of the Dent and the Flint heterotic groups in our study using the “SNP within group” and the “Founder alleles” models suggest that the lack of SCA for silage quality traits in our experiment may also be due, at least partly, to group divergence for QTL showing dominance.

Even if SCA seemed to be limited when considering average performances of hybrids in our experimental design, the SCA × E variance component was found to be relatively important for NDF, MFU, which is the main targeted trait for improving silage quality, and, to a lesser extent, for DINAG, DMY and DMC. Even if this variance component was not estimated with a high accuracy in our experiment, this suggests that the best hybrid combinations for silage might depend on the environment, confirming breeder observations (P. Carolo, personal communication).

In this study, we performed QTL detection on the average hybrid performances. This strategy is clearly justified since for most traits G × E interactions explained a small part of the variance. Nevertheless, at least for some traits, it would clearly be interesting to extend QTL models to identify regions involved in GCA × E and SCA × E interactions. This is beyond the scope of this paper, but this is an interesting prospect for future studies. The factorial population we developed between unselected biparental families is well adapted for this objective.

Relationship between feeding value, digestibility and biomass yield

Animal performances (milk or meat yield) are related to both silage feeding value (MFU) and the dry matter intake (DMI) which is the amount of silage ingested by animals. This later criterion is known to vary with starch/NDF ratio in whole maize plant (Khan et al. 2015) and reaches its optimum

value at silage physiological maturity ($30\% < \text{DMC} < 35\%$). Barrière and Emile (2000) showed that silage feeding value was mainly explained by NDF digestibility ($r^2 = 0.59$) and to a lesser extent by starch content ($r^2 = 0.36$). In this study, we did not investigate starch content. This component is supposed to be completely digestible and as it impacts not only the MFU but also the dry matter intake it is not the main target for improving MFU. We chose to focus more on cell wall digestibility that is known to be the limiting factor for improving maize silage feeding value (Barrière and Emile 2000).

Our experimental hybrids showed performances for silage quality traits consistent with those described in the literature for early and semi-early hybrids. The MFU value in our study varied between 0.83 and 0.96 while that of registered hybrids in the French Official Catalog of Species and Varieties ranged from 0.79 to 0.97 MFU.kg⁻¹ (Barrière and Emile 2000; Baldy et al. 2017). Also, Baldy et al. (2017) observed DINAG performances of registered hybrids ranging from 42 and 48%, while that of our study ranged from 45 to 56%.

We found a negative correlation of -0.53 between MFU and DMY ls-means and a genetic correlation of -0.72 between them. This correlation is thus stronger than the negative correlation (-0.50) reported by Barrière and Emile (2000) and Surraut et al. (2005). Argillier et al. (2000) found no correlation between DMY and digestibility traits (closely linked to MFU) in a factorial between lines from different origins (issued from different Dent and Flint groups). Baldy et al. (2017) reported even a positive relationship between DMY and MFU when analyzing recently registered hybrids of the French catalogue (the most recent hybrids showing increased DMY and better digestibility compared to older ones). This confirms that these correlations depend on the material tested. In our case, three of the Dent founder lines (except F7088) belong to the Iodent group, known to have a good combining ability with Flint lines for DMY but also a poor digestibility (Barrière et al. 2003). This variability among the Dent founder lines is consistent with the importance of Dent GCA variance component relative to the Flint GCA for silage quality traits and DMY. It may also explain most of the observed correlations between these traits. The heterotic groups we used and the choice in each group of a founder line based on its good digestibility may have reinforced the negative correlation between DMY and silage quality traits. Better understanding of the genetic bases of this correlation (pleiotropy versus linkage) is therefore of key importance for a breeding prospect as the objective is to improve simultaneously DMY and MFU.

Co-localization between QTL of silage quality and production traits

Graphical representation of all QTL along the genome is consistent with the correlations between silage quality traits. Indeed, QTL of correlated traits were often detected in same genomic regions. These multi-trait QTL co-localizations suggest a complex genetic determinism implying pleiotropic QTL. For instance, 9 of the 14 regions with QTL of cell wall digestibility (DINAG and DINAGZ) traits also carried QTL of lignin content. This is consistent with the strong negative correlation between lignin content and digestibility observed in our study and often reported in the literature (see for instance Jung et al. 1997; Giordano et al. 2014). Lignin being not digestible and impeding cellulose and hemicellulose digestion (Jung and Vogel 1986; Cornu et al. 1994; Moore and Jung 2001), it is reasonable to assume that QTL for lignin content may directly affect digestibility. However, all cell wall digestibility QTL did not co-localize with those of lignin content and reciprocally. Other parameters than lignin content affect cell wall digestibility and selecting for varieties with low lignin content is not the only way to select for digestibility, as stated for instance in Méchin et al. (2005), Zhang et al. (2012)

or El Hage et al. (2018). In this study, we also measured two other cell wall components: the cellulose and the hemicellulose contents that were found to be highly correlated with the lignin content. All QTL detected for CELL and HCELL co-localized with LIGNIN QTL, except one on chromosome 5. It would be interesting to evaluate other traits such as the structure and composition of the lignin in its different subunits as well as the content of *p*-hydroxycinnamic acids (ferulic and *p*-coumaric acids) that are involved in cross linkages between cell wall components and found to explain part of the cell-digestibility by Zhang et al. (2012). Recently, El Hage et al. (2018) found that beyond lignin content and cell wall composition, the distribution of lignified cell types in maize internodes was highly variable and may play an important role in cell wall digestibility. This is consistent with the meta-analysis results of Truntzler et al. (2010) who found only a partial overlap between digestibility MQTL and cell wall component MQTL. Thus, identifying QTL for other cell wall components, for lignin structure as well as for the repartition of different tissues in stem would be of interest for forage quality breeding. This calls for further development of easy ways to measure all these parameters on a large number of hybrids evaluated in field conditions (using NIRS calibration for instance).

Adding QTL detected by Giraud et al (2017a) for agronomical traits, we observed 15 regions with co-localizations between silage quality and silage agronomical traits among all the 28 QTL regions that were detected in this study. Among them, co-localizations between QTL for all silage quality and all agronomical traits were found on chromosome 8 (bin 8.03 to 8.05) and chromosome 10 (bins 10.3 to 10.04). These two regions are known to carry cloned QTL involved in maize flowering time (Salvi et al. 2002; Ducrocq et al. 2009). Consistent with trait correlations, founder allelic effects on DtSILK at these QTL were negatively correlated with allelic effects on MFU and to a lesser extent with digestibility effects (results not shown). Cell wall digestibility traits (DINAG and DINAGZ) and feeding value (MFU) were often found in regions involving silage dry matter yield (DMY). Five among the 14 regions involved in DINAG or DINAGZ and five among the 11 regions involved in MFU also contained DMY QTL. The negative correlation between overlapping QTL effects for DMY and MFU suggests that at least some QTL may have pleiotropic effects on both traits. Such pleiotropy may limit the possibility of selecting early maize varieties with both high DMY and good digestibility. The biological relationship between digestibility related traits and biomass production could be explained by the known negative impact of cell wall degradability on traits such as plant resistance to stalk lodging, pest, diseases and abiotic stress (Buendgen et al. 1990; Flint-Garcia et al. 2003; Cardinal and Lee 2005; Barros-Rios et al. 2011; Santiago et al. 2013; Le Gall et al. 2015; Li et al. 2016; Badji et al. 2018) that contribute to higher productivity.

Nevertheless, some silage quality QTL (for instance on bins 1.07, 2.10, 5.07, 6.06 and 7.02) seem physically distant from silage productivity QTL and thus may be used to improve silage quality without impacting silage productivity. Results from Baldy et al. (2017) showed that in recent varieties, breeders succeeded in improving simultaneously yield and digestibility. It would be interesting to know which regions have been selected for during this process.

Comparison with QTL detected in the literature

We compared the detected QTL with those already published for related traits, and more specifically those issued from a meta-analysis of QTL for traits related to cell wall biomass composition and cell wall biomass digestibility (Truntzler et al. 2010), and from Barrière et al. (2016) that assembled QTL of in vitro digestibility of NDF (IVDADF) and identified their co-localizations with different families

of candidate genes. Most of the QTL we identified are localized in the same regions than those cited in at least one of these publications. Only one QTL for the NDF was detected in a region (bin 7.05 by the "Hybrid genotype" model) where no Meta-QTL and no IVDNDF QTL were identified. This QTL only co-localized with female flowering time (DtSILK) and might therefore correspond to an indirect effect of flowering time on NDF. Reciprocally, most of the QTL regions reported in these syntheses are identified in our analysis. This illustrates the power of this multi-parental hybrid population for detecting QTL and suggests that most QTL with sizeable effects in these genetic pools have now been detected.

Interestingly, we found QTL co-localization close to regions where some maize *bm* mutations were mapped. Maize *bm* mutations are known to affect the lignin composition and its degradability (Vermerris et al. 2010). For instance, the *bm3*, that codes for the COMT gene, involved in the mognolignol pathway is in bin 4.05 where we detected QTL for all silage quality traits and where MQTL for both cell wall biomass composition and cell wall biomass digestibility were identified (Truntzler et al. 2010) as well as a QTL for IVDNDF (Barrière et al. 2016). Also, the *bm1*, *bm5* and *bmr2* were positioned in bin 5.04 and co-localize with QTL of quality and productivity traits of this study as well as MQTL for both cell wall biomass composition and digestibility. As none of our parents carried any of the *bm* mutations, these QTL might thus correspond to allelic variation at the same genes, or in regions involved in their regulation. All co-localizations between our QTL and those published by Barrière et al (2016) correspond to regions where these authors identified candidate genes that encode transcription factors such as MYB and NAC, involved in the lignin biosynthesis pathway. The resolution of our QTL mapping does not allow to go further in the identification of the causal genes. Our results can be used to initiate fine mapping, but this process might be difficult since our QTL generally present small effects. One notable exception is the region on chromosome 1 (bin 1.02) which displays large effects for several quality traits and no effect on biomass production. Interestingly, the same region was also identified by Barrière et al. (2010) who pointed out its interest for improving maize cell wall digestibility.

In recent studies, Wang et al. (2016) and Li et al. (2016) performed genome-wide association analysis of forage quality in maize mature stalk of inbred lines evaluated for *per se* value. They investigated cell wall composition (NDF, ADF, LIGNIN, CELL and HCELL) and its digestibility via the *in vitro* dry matter (IVDMD) of stalk using a diverse maize population of 368 inbred lines genotyped for 560k SNP. Significant associations between SNP and these traits were found with small effect on the phenotypic variation (4 to 7%). Interestingly, they found a strong association involving NDF, ADF, IVDMD and LIGNIN at 155.65 Mbp in the chromosome bin 6.06, a region where we found QTL co-localization between DINAG, DINAGZ and MFU and where major QTL of digestibility and lignin content were found by Roussel et al. (2002) in a RIL progeny. Furthermore, the associated SNP is contained in the first intron of the gene GRMZM2G140817 (ZmC3H2) that is involved in cell wall components biosynthesis pathway.

Implications on breeding strategies

Compared to tester-based evaluation in each heterotic group the use of an incomplete factorial can reduce by a factor 2 the phenotyping effort for a same number of tested lines. Also, compared to hybrid panels that have been used to perform GWAS, the family structure of our

population makes it possible to trace founder alleles in the experimental hybrids and to easily control for spurious associations due to long range linkage disequilibrium at the level of the founder lines.

QTL detection allows the estimation of allelic effects of the different founder lines. The founder lines, chosen for their digestibility within each group (F7088 for Flint, and F7082 for Dent), have a genotypic score of +1.38 and +0.75 points of digestibility (DINAG) respectively (Fig3). This is consistent with the good performance of the founder hybrid F7088 x F7082 and the fact that each of these lines led to the best experimental hybrids based on ls-means for digestibility criteria. Interestingly, the founder line that carries the most interesting allele within each group is not the same for all QTL. For DINAG, the best Flint founder line (F7088) has a predicted value at detected QTL which represents only 32% of the best Flint ideotype (obtained by summing the best allelic values over detected QTL). The corresponding score for the best Dent founder line (F7082) corresponds to less than 20%. For MFU, these values are 24% for the best Flint founder line (F02803) and 26% the best Dent founder line (F04401). This suggests that there is room for possible improvement of future inbred lines within each group for these traits.

Using Marker-Assisted Selection (MAS), QTL offer the possibility to carry out early screening of the available genetic material based only on molecular marker information. Furthermore, QTL permit to follow alleles of interest in the progeny at different stages of the selection scheme. Inbred lines complementary at the QTL level can be easily identified to produce the best intergroup hybrid combinations for both silage productivity and silage digestibility performances. QTL information can also be used within each group to define genotypic ideotypes, select the best inbred lines, and then guide their intercrossing with the aim of producing future parental inbred lines combining the best favorable alleles. This can complement genomewide predictions by allowing a specific monitoring of genomic regions with main effects.

Compliance with ethical standards

Conflict of interest: the authors declare that they have no conflict of interest.

Ethical standards: the authors declare that the experiments comply with the current laws of the countries in which the experiments were performed.

Author contribution statement:

C.B., A.C. and L.M. initiated this project. L.M. and C.B coordinated it. C.B., A.C. and L.M. supervised this work. H.G. and A.I.S. designed the statistical models and their implementation. A.I.S analyzed the data and prepared the manuscript. M.R. and V.M. supervised analyses and interpretations related to silage quality traits. All authors discussed the results and contributed to the final manuscript. All authors revised and approved the manuscript.

Acknowledgements

A. I. Seye's PhD was funded by the Senegalese Institute of Agricultural Research (ISRA) through a Scholarship from the West Africa Agricultural Productivity Program (WAAPP) given by the National Institute of Higher Education in Agricultural Sciences - Montpellier SupAgro. We are grateful to Caussade Semences, Euralis Semences, Limagrain Europe, Maisadour Semences, Pioneer Genetics, R2n, Syngenta Seeds and KWS grouped in the frame of the ProMais "SAMMCR" program for the funding, inbred lines development, hybrid production and phenotyping. We also thank scientists from these companies for helpful discussions on the results. We thank Magali Joannin of the INRA station of GQE Le Moulon for seed management and D. Madur and V. Combes for DNA extraction and genotyping analyses. We thank C. Palaffre and the INRA experimental unit of Saint-Martin-de-Hinx for seed production and seed management. We thank Dominique Kermarrec and the INRA station of Ploudaniel for their support to ProMais in phenotyping. We thank Pierre Dardenne from CRA-Wallonie for the NIRS prediction equations of silage quality traits.

References

- Andrieu, J. (1995). Prédiction de la digestibilité et de la valeur énergétique du maïs fourrage à l'état frais. *INRA Productions Animales* 8 (4): 273–74.
- Argillier, O., Barrière, Y., and Y. Hebert. (1995). Genetic-variation and selection criterion for digestibility traits of forage maize. *Euphytica* 82 (2): 175–84.
- Argillier, O., Mechin, V., and Barrière, Y. (2000). Inbred line evaluation and breeding for digestibility-related traits in forage maize. *Crop Science* 40 (6): 1596–1600.
- Badji, A., Otim, M., Machida, L., Odong, T., Bomet Kwemoui, D., Okii, D., Agbahoungba, S. et al. (2018). Maize combined insect resistance genomic regions and their co-localization with cell wall constituents revealed by tissue-specific QTL meta-analyses. *Frontiers in Plant Science* 9.
- Baker, C. W., Givens, D.I., and Deaville, E.R. (1994). Prediction of organic matter digestibility in vivo of grass silage by near infrared reflectance spectroscopy: effect of calibration method, residual moisture and particle size. *Animal Feed Science and Technology* 50 (1): 17–26.
- Baldy, A., Jacquemot, M.P., Griveau, Y., Bauland, C., Reymond, M. and Mechin, V. (2017). Energy values of registered corn forage hybrids in France over the last 20 years rose in a context of maintained yield increase. *American Journal of Plant Sciences* 08 (06): 1449–61.
- Barrière, Y., and Emile, J.C. (2000). Le maïs fourrage: III. évaluation et perspectives de progrès génétiques sur les caractères de valeurs alimentaire. *Fourrages* 163: 221–238.
- Barrière, Y., Guillet, C., Goffner, D., and Pichon, M. (2003). Genetic variation and breeding strategies for improved cell wall digestibility in annual forage crops. a review. *Animal Research* 52 (3): 193–228.
- Barrière, Y., Riboulet, C., Méchin, V., Maltese, S., Pichon, M., Cardinal, A., Lapierre, C., Lubberstedt, T. and Martinant, J.P. (2007). Genetics and genomics of lignification in grass cell walls based on maize as model species. *Genes Genomes Genomics* 1: 133–156.
- Barrière, Y., Thomas, J., and Denoue, D. (2008). QTL mapping for lignin content, lignin monomeric composition, p-hydroxycinnamate content, and cell wall digestibility in the maize recombinant inbred line progeny F838 × F286. *Plant Science* 175 (4): 585–95.
- Barrière, Y., Méchin, V., Denoue, D., Bauland, C., and Laborde, J. (2010). QTL for yield, earliness, and cell wall quality traits in topcross experiments of the F838 × F286 early maize RIL progeny. *Crop Science* 50 (5): 1761–72.
- Barrière, Y., Courtial, A., Chateigner-Boutin, A.-L., Denoue, D., and Grima-Pettenati, J. (2016). Breeding maize for silage and biofuel production, an illustration of a step forward with the genome sequence. *Plant Science* 242 (January): 310–29.
- Barrière, Y., Guillaumie, S., Denoue, D., Pichon, M., Goffner, D., Martinant, J.P. (2017) Investigating the unusually high cell wall digestibility of the old INRA early flint F4 maize inbred line. *Maydica* 62: M31
- Barros-Rios, J., Malvar, R.A., Jung, H.-J. G., and Santiago, R. (2011). Cell wall composition as a maize defence mechanism against corn borers. *Phytochemistry* 72 (4): 365–71.
- Browning, S. R., and Browning, B.L. (2007). Rapid and accurate haplotype phasing and missing-data inference for whole-genome association studies by use of localized haplotype clustering. *The American Journal of Human Genetics* 81 (5): 1084–97.
- Buendgen, M. R., Coors, J.G., Grombacher, A.W., and Russell, W.A. (1990). European corn borer resistance and cell wall composition of three maize populations. *Crop Science* 30 (3): 505–10.

- Butler, D. G., Cullis, B.R., Gilmour, A.R., and Gogel, B.J. (2007). ASReml-R reference manual. *The State of Queensland, Department of Primary Industries and Fisheries, Brisbane*.
- Cardinal, A., Lee, M., and Moore, K. (2003). Genetic mapping and analysis of quantitative trait loci affecting fiber and lignin content in maize. *Theoretical and Applied Genetics* 106 (5): 866–74.
- Cardinal, A. J., and Lee, M. (2005). Genetic relationships between resistance to stalk-tunneling by the european corn borer and cell wall components in maize population B73xB52. *Theoretical and Applied Genetics* 111 (1): 1–7.
- Cornu, A., Besle, J.M., Mosoni, P., and Grenet, E.. (1994). Lignin-carbohydrate complexes in forages: structure and consequences in the ruminal degradation of cell wall carbohydrates. *Reproduction Nutrition Development* 34 (5): 385–98.
- Courtial, A., Thomas, J., Reymond, M., Méchin, V., Grima-Pettenati, J., and Barrière, Y. (2013). Targeted linkage map densification to improve cell wall related QTL detection and interpretation in maize. *Theoretical and Applied Genetics* 126 (5): 1151–65.
- Courtial, A., Méchin, V., Reymond, M., Grima-Pettenati, J., and Barrière, Y. (2014). Colocalizations between several QTLs for cell wall degradability and composition in the F288 x F271 early maize RIL progeny raise the question of the nature of the possible underlying determinants and breeding targets for biofuel capacity. *BioEnergy Research* 7 (1): 142–56.
- Ducrocq, S., Giauffret, C., Madur, D., Combes, V., Dumas, F., Jouanne, S., Coubriche, D., Jamin, P., Moreau, L., and Charcosset, A. (2009). Fine mapping and haplotype structure analysis of a major flowering time quantitative trait locus on maize chromosome 10. *Genetics* 183 (4): 1555–63.
- El Hage, F., Legland, D., Borrega, N., Jacquemot, M.-P., Griveau, Y., Coursol, S., Méchin, V., and Reymond, M. (2018). Tissue lignification, cell wall p-coumaroylation and degradability of maize stems depend on water status. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 66 (19): 4800–4808.
- Flint-Garcia, S. A., Jampatong, C., Darrah, L.L., and McMullen, M.D. (2003). Quantitative Trait Locus analysis of stalk strength in four maize populations. *Crop Science* 43 (1): 13.
- Fontaine, A. S., Bout, S., Barrière, Y., and Vermerris, W. (2003). Variation in cell wall composition among forage maize (*Zea Mays* L.) inbred lines and its impact on digestibility: analysis of neutral detergent fiber composition by pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51 (27): 8080–87.
- Gao, X., Starmer, J., and Eden R. Martin, E.R. (2008). A multiple testing correction method for genetic association studies using correlated single nucleotide polymorphisms. *Genetic Epidemiology* 32 (4): 361–69.
- Giordano, A., Liu, Z., Panter, S.N., Dimech, A.M., Shang, Y., Wijesinghe, H., Fulgueras, K., et al. (2014). Reduced lignin content and altered lignin composition in the warm season forage grass *paspalum dilatatum* by down-regulation of a cinnamoyl CoA reductase gene. *Transgenic Research* 23 (3): 503–17.
- Giraud, H., Bauland, C., Falque, M., Madur, D., Combes, V., Jamin, P., Monteil, C., et al. (2017a). Linkage analysis and association mapping QTL detection models for hybrids between multiparental populations from two heterotic groups: Application to biomass production in maize (*Zea Mays* L.). *G3* 7 (11): 3649–57.
- Giraud, H., Bauland, C., Falque, M., Madur, D., Combes, V., Jamin, P., Monteil, C., et al. (2017b). Reciprocal genetics: identifying QTL for General and Specific Combining Abilities in hybrids between multiparental populations from two maize (*Zea Mays* L.) heterotic groups. *Genetics* 207 (3): 1167–80.

- Goering, H. K., and Van Soest, P.J. (1970). Forage fiber analyses (apparatus, reagents, procedures, and some applications). U.S. Agricultural Research Service Handbook p. 1–379.
- Grabber, J. H., Quideau, S., and Ralph, J. (1996). P-coumaroylated syringyl units in maize lignin: implications for β -ether cleavage by thioacidolysis. *Phytochemistry* 43 (6): 1189–94.
- Hartley, R. D. (1972). P-coumaric and ferulic acid components of cell walls of ryegrass and their relationships with lignin and digestibility. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 23 (11): 1347–54
- Hickey, J. M., Gorjanc, G., Varshney, R.K., and Nettelblad, C. (2015). Imputation of single nucleotide polymorphism genotypes in biparental, backcross, and topcross populations with a hidden markov model. *Crop Science* 55 (5): 1934.
- Jung, H. G., and Vogel, K.P. (1986). Influence of lignin on digestibility of forage cell wall material. *Journal of Animal Science* 62 (6): 1703–12.
- Jung, H. G., Mertens, D.R., and Payne, A.J. (1997). Correlation of acid detergent lignin and klason lignin with digestibility of forage dry matter and neutral detergent fiber. *Journal of Dairy Science* 80 (8): 1622–28.
- Khan, N. A., Yu, P., Ali, M., Cone, J.W., and Hendriks, W.H. (2015). Nutritive value of maize silage in relation to dairy cow performance and milk quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 95 (2): 238–52.
- Krakowsky, M. D., Lee, M., Beeghly, H.H., and Coors, J.G. (2003). Characterization of quantitative trait loci affecting fiber and lignin in maize (*Zea Mays* L.). *Maydica* 48 (4): 283–92.
- Krakowsky, M. D., Lee, M., and Coors, J.G. (2005). Quantitative Trait Loci for cell wall components in recombinant inbred lines of maize (*Zea Mays* L.) I: stalk tissue. *Theoretical and Applied Genetics* 111 (2): 337–46.
- Krakowsky, M. D., Lee, M., and Coors, J.G. (2006). Quantitative Trait Loci for cell wall components in recombinant inbred lines of maize (*Zea Mays* L.) II: leaf sheath tissue. *Theoretical and Applied Genetics* 112 (4): 717–26.
- Lawrence, C.J., Dong, Q., Polacco, M.L., Seigfried, T.E., and Brendel, V. (2004). MaizeGDB, the community database for maize genetics and genomics. *Nucleic Acids Research* 32 (Database issue): D393-397.
- Le Gall, H., Philippe, F., Domon, J.-M., Gillet, F., Pelloux, J., and Rayon, C. (2015). Cell wall metabolism in response to abiotic stress. *Plants* 4 (1): 112–66.
- Leng, P., Ouzunova, M., Landbeck, M., Wenzel, G., Eder, J., Darnhofer, B., and Lübberstedt, T. (2018). Quantitative Trait Loci mapping of forage stover quality traits in six mapping populations derived from European elite maize germplasm. *Plant Breeding* 137 (2): 139–47.
- Li, K., Wang, H., Hu, X., Liu, Z., Wu, Y., and Huang, C. (2016). Genome-wide association study reveals the genetic basis of stalk cell wall components in maize. *PLOS ONE* 11 (8): e0158906.
- Lübberstedt, T., Melchinger, A.E., Schön, C.C., Utz, H.F., and Klein, D. (1997a). QTL mapping in testcrosses of European flint lines of maize: I. Comparison of different testers for forage yield traits. *Crop Science* 37 (3): 921–31.
- Lübberstedt, T., Melchinger, A.E., Klein, D., Degenhardt, H., and Paul, C. (1997b). QTL mapping in testcrosses of European flint lines of maize: II. Comparison of different testers for forage quality traits. *Crop Science* 37 (6): 1913–22.
- Lübberstedt, T., Melchinger, A.E., Fähr, S., Klein, D., Dally, A., and Westhoff, P. (1998). QTL mapping in testcrosses of flint lines of maize: III. Comparison across populations for forage traits. *Crop Science* 38 (5): 1278–89.

- Méchin, V., Argillier, O., Menanteau, V., Barrière, Y., Mila, I., Pollet, B., and Lapierre, C. (2000). Relationship of cell wall composition to in vitro cell wall digestibility of maize inbred line stems. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80 (5): 574–80.
- Méchin, V., Argillier, O., Hébert, Y., Guingo, E., Moreau, L., Charcosset, A., and Barrière, Y. (2001). Genetic analysis and QTL mapping of cell wall digestibility and lignification in silage maize. *Crop Science* 41 (3): 690–97.
- Méchin, V., Argillier, O., Rocher, F., Hébert, Y., Mila, I., Pollet, B., Barrière, Y., and Lapierre, C. (2005). In Search of a Maize Ideotype for Cell Wall Enzymatic Degradability Using Histological and Biochemical Lignin Characterization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53 (15): 5872–81
- Moore, K. J., and Jung, H.-J.G. (2001). Lignin and fiber digestion. *Journal of range Management* 54 (4): 420–30.
- Penning, B.W., Sykes, R.W., Babcock, N.C., Dugard, C.K., Held, M.A., Klimek, J.F., Shreve, J.T., et al. (2014). Genetic determinants for enzymatic digestion of lignocellulosic biomass are independent of those for lignin abundance in a maize recombinant inbred population1. *Plant Physiology* 165 (4): 1475–87.
- Ralph, J., Hatfield, R.D., Quideau, S., Helm, R.F., Grabber, J.H. and Jung, H.-J. G. (1994). Pathway of p-coumaric acid incorporation into maize lignin as revealed by NMR. *Journal of the American Chemical Society* 116 (21): 9448–56.
- Reif, J. C., Gumpert, F.-M., Fischer, S., and Melchinger, A.E. (2007). Impact of Interpopulation Divergence on additive and dominance variance in hybrid populations. *Genetics* 176 (3): 1931–34.
- Riboulet, C., Fabre, F., Dénoue, D., Martinant, J.P., Lefevre, B., and Barrière, Y. (2008). QTL mapping and candidate gene research from lignin content and cell wall digestibility in a top-cross of a flint maize recombinant inbred line progeny harvested at silage stage. *Maydica* 53 (1): 1.
- Roussel, V., Gibelin, C., Fontaine, A.-S., and Barrière, Y. (2002). Genetic analysis in recombinant inbred lines of early dent forage maize. II - QTL mapping for cell wall constituents and cell wall digestibility from per se value and top cross experiments. *Maydica* 47 (January): 9–20.
- Salvi, S., Tuberosa, R., Chiapparino, E., Maccaferri, M., Veillet, S., van Beuningen, L., Isaac, P., Edwards, K., and Phillips, R.L. (2002). Toward positional cloning of vgt1, a QTL controlling the transition from the vegetative to the reproductive phase in maize. *Plant Molecular Biology* 48 (5–6): 601–13
- Santiago, R., Barros-Rios, J., and Malvar, R.A. (2013). Impact of cell wall composition on maize resistance to pests and diseases. *International Journal of Molecular Sciences* 14 (4): 6960–80.
- Sosnowski, O., Charcosset A., and Joets, J. (2012). BioMercator V3: An upgrade of genetic map compilation and quantitative trait loci meta-analysis algorithms. *Bioinformatics* 28 (15): 2082–83.
- Stuth, J., Jama, A., and Tolleson, D. (2003). Direct and indirect means of predicting forage quality through near infrared reflectance spectroscopy. *Field Crops Research*, 12.
- Surault, F., Emile, J.C., Briand, M., Barrière, Y., and Traineau, R. (2005). Variabilité génétique de la digestibilité in vivo d'hybrides de maïs. Bilan de 34 années de mesures. *Fourrages* (183), 459-474. (2005).
- Torres, A. F., Noordam-Boot, C.M.M., Dolstra, O., van der Weijde, T., Combes, E., Dufour, P., Vlaswinkel, L., Visser, R.G.F., and Trindade, L.M. (2014). Cell wall diversity in forage maize: genetic complexity and bioenergy potential. *BioEnergy Research* 8 (1): 187–202.
- Torres, A. F., Noordam-Boot, C.M.M. Dolstra, O., Vlaswinkel, L., Visser, R.G.F. and Trindade, L.M. (2015). Extent of genotypic variation for maize cell wall bioconversion traits across environments and among hybrid combinations. *Euphytica* 206 (2): 501–11.

- Truntzler, M., Barrière, Y., Sawkins, M.C., Lespinasse, D., Betran, J., Charcosset, A., and Moreau, L. (2010). Meta-analysis of QTL involved in silage quality of maize and comparison with the position of candidate genes. *Theoretical and Applied Genetics* 121 (8): 1465–82.
- Vermerris, W., Sherman, D.M., and McIntyre, L.M. (2010). Phenotypic plasticity in cell walls of maize brown midrib mutants is limited by lignin composition. *Journal of Experimental Botany* 61 (9): 2479–90
- Wang, H., Li, K., Hu, X., Liu, Z., Wu, Y., and Huang, C. (2016). Genome-wide association analysis of forage quality in maize mature stalk. *BMC Plant Biology* 16: 227.
- Williams, E., Piepho, H.-P., and Whitaker, D. (2011). Augmented p-rep designs. *Biometrical Journal* 53 (1): 19–27.
- Wolak, M. E. (2012). 'Nadiv : An R Package to Create Relatedness Matrices for Estimating Non-Additive Genetic Variances in Animal Models'. *Methods in Ecology and Evolution* 3 (5): 792–96.
- Zhang, Y., Culhaoglu, T., Pollet, B., Melin, C., Denoue, D., Barrière, Y., Baumberger, S., and Méchin, V. (2011). Impact of lignin structure and cell wall reticulation on maize cell wall degradability. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59 (18): 10129–35.
- Zhang, Y., Yang, D-Q., Wang, X-M., Feng, M. and Brunette, G. (2012). Process for fungal modification of lignin and preparing wood adhesives with the modified lignin and wood composites made from such adhesives. *Patent*. WO 2012/113058 A1.

Genomic prediction of hybrid performances for silage quality traits

Adama I. Seye¹, Heloïse Giraud^{1,2}, Cyril Bauland¹, Alain Charcosset¹, Laurence Moreau^{1*}

¹UMR 0320, Quantitative Genetic and Evolution (GQE) - Le Moulon, INRA, Université Paris-Sud, CNRS, AgroParisTech, Université Paris-Saclay, 91190 Gif-sur-Yvette, France

²Bayer Crop Science NV, Technologiepark 38, B-9052 Gent, Belgium

*Corresponding author: laurence.moreau@inra.fr

Key message

Prediction of single-cross performance has always been a major goal in hybrid breeding programs. Molecular markers aided prediction have shown to be of interest for this objective. We implemented both QTL and genomic prediction (GP) models in an original factorial design between “Dent” and “Flint” maize heterotic groups. We obtained relevant predictive abilities with both genomic and QTL based predictions and observed a clear advantage of GP models.

Abstract

Maize (*Zea mays L.*) biomass has received an increasing consideration for animal feeding and biofuels. Traits related to biomass production exhibit a substantial heterosis effect (hybrid vigor). For enhancing maize biomass energy value, we generated 951 hybrids based on the Flint x Dent heterotic pattern through an incomplete factorial crossing between 821 flint and 801 dent inbred lines derived from two multi-parental populations. Inbred lines were genotyped for 20K SNPs and hybrids phenotyped in eight environments during two years for seven silage quality traits obtained by Near Infra-Red Spectroscopy (NIRS) prediction on silage powder. We (i) estimated general and specific combining abilities (GCA and SCA) components of hybrid genetic variance, (ii) predicted GCA and SCA components of hybrid values using adapted genomic best linear unbiased prediction (GBLUP) models including or not the SCA component, then (iii) using cross-validations, we compared predictive abilities of the different GBLUP models with those based on QTL previously detected in the same experimental design. We find similar pattern of hybrid genetic variance composition either based on molecular marker estimation or phenotypic evaluation for all silage quality traits for which broad sense heritabilities range from 0.70 and 0.88. We obtain relevant predictions of hybrid values and its GCA and SCA components with both GBLUP and QTL even if GBLUP outperformed QTL based prediction models. This work opens new prospects for improving maize hybrid performances for biomass degradability.

Introduction

The major objective in maize breeding is to identify parental lines leading to superior hybrids. To better harness heterosis, ie. the superiority of hybrid performance compared to those of its parents, maize hybrids are almost exclusively obtained by crossing inbred lines from segregating families of different heterotic groups. One challenge is therefore to evaluate the inbred lines on their ability to produce high performing hybrids when crossed with inbred lines of the complementary group. In 1942, Sprague and Tatum proposed to decompose the hybrid value into general combining abilities (GCA) and specific combining ability (SCA). They defined the GCA of an inbred line as the average performance of its offspring. The SCA of a given cross is the deviation of its performance from the sum of the GCA of the parental lines. The most straightforward method to access GCA and SCA is to perform a full factorial crossing design between segregating lines of both heterotic groups (Comstock and Robinson 1948). However, field evaluations of such a design is prohibitive because of a very large number of lines to be evaluated yearly, making the number of all possible simple crosses extremely large. For example, 10k simple hybrids should be analyzed to evaluate 100 lines in each heterotic group, which is below the number of lines evaluated in commercial hybrid breeding programs. For this reason, the prediction of single hybrid performance has always been a major concern for hybrid breeding programs (Schrag et al., 2009). Several approaches have been developed to evaluate the genetic value of inbred lines for the performance of their hybrids. These methods comprise per se observations and that of testcross progeny with a line of the complementary group (called tester). The line per se value is generally a poor predictor of its combining ability, especially for traits such as grain yield that show strong heterosis (Love and Wentz 1914, Hallauer 1977, Smith 1986). Testcross evaluation is the approach conventionally used to estimate the genetic merit of inbred lines (Jenkins and Brunson 1932), in the first stage of a hybrid breeding scheme. However, the evaluation of many lines on testers is difficult (Albrecht et al., 2011), and requires to phenotype many hybrids (as many hybrids as there are lines to evaluate in each group). In addition, the selection based on single-cross performances are performed in a later stage on lines selected for testcross value which limits the possibility to select on SCA. This two stages selection process increases the time required for commercial hybrid development and does not guarantee to identify the most favorable hybrid combinations among potential candidate lines. It is therefore of key interest to find alternative breeding strategies adapted to hybrid breeding. Bernardo (1996a) demonstrated the possibility of using pedigree-based BLUPs to predict untested hybrids using pedigree-based covariance matrices of tested and untested hybrids to obtain BLUPs for untested hybrids. Correlations between observed and predicted performances were moderate to high (0.43-0.76) for hybrids with both parents tested but decreased rapidly when one or both parents were not tested (Bernardo, 1996b). Since the 90s, the development of molecular markers has opened the way to marker-assisted approaches. Heterosis is known to be highly correlated with the genetic distance of parental lines, measured by molecular markers when both intra and inter-group hybrids are considered. However, the first predictions of inter-heterotic hybrid performances based on genetic distances were low (Melchinger 1999, Lee et al., 2007) probably due to a weak association between QTL and markers used to estimate genetic distance and/or to divergence of QTL between heterotic groups (Charcosset and Essioux 1993, Bernardo 1992). The prediction of hybrid performance based on only significant markers has been suggested by Vuylsteke et al. (2000), but this approach gave inferior results to the conventional GCA estimated by the testcross method. In addition, extending predictions of GCA with estimated SCA based on associated markers did not improve the accuracy of predictions (Schrag et al., 2006, 2007, Giraud et

al., 2017a-b). Recently genomic selection (GS) approach has been proposed (for a review, see Crossa et al. 2017) as an alternative to conventional marker-assisted predictions based on QTL. Instead of limiting prediction to only markers that are significantly associated with QTL, it consists in using markers distributed throughout the genome to predict the genetic merit of candidate lines. This approach appears particularly promising for traits with complex determinism that involved many QTL with small effects.

Several results based on simulations and experimental studies have indicated the usefulness of genomic selection models to predict hybrids (for a review, see Zhao et al. 2015). However, most experimental studies focused on predicting hybrid testcross performances, mostly with a single tester. Models have been proposed to predict hybrid performance on larger datasets using GBLUP models adapted to hybrid with estimates of GCA and SCA (Maenhout et al., 2010, Massman et al., 2013; et al., 2014, Kadam et al., 2016, Giraud et al., in prep.). These studies used covariances between tested and untested hybrids estimated from genomic relationship matrices to predict the performance of untested hybrids.

Silage maize is an important crop for cattle feeding in Northern Europe. One important challenge is to improve maize varieties for silage productivity as well as silage quality (including feeding value, cell wall digestibility and composition). These traits are known to have complex genetic architecture carrying several QTL of small effects suggesting that genomic selection models might be of great interest for predicting hybrid performances of such traits. To our knowledge genomic prediction has never been applied to silage quality traits.

This work aimed at getting more insight into the prediction of hybrid performances for silage quality traits in dent-flint heterotic pattern. We used an original factorial design obtained by crossing lines issued from a dent and a flint multiparental population composed each of connected unselected biparental families. This design was first analyzed for silage productivity traits and precocity (Giraud et al. 2017a, b) and silage quality traits (Seye et al. 2019). The family structure of the design enabled the authors to perform QTL detection using a combination of linkage and association mapping approaches that were found complementary. GCA and SCA effects were estimated for each QTL. For silage productivity traits and precocity, Giraud et al., in prep. (cf results shown in supplementary Table S1) evaluated the quality of predictions based on the detected QTL and compared it with the quality of genomic predictions obtained with approaches adapted to factorial designs (Bernardo 1994; Maenhout et al. 2010; Massman et al. 2013; Technow et al. 2014). The objective of the present study was to compare the predictive abilities of these QTL and GS models for silage quality traits.

Material and Methods

We used the same experimental material than in chapter I. For more details on the genetic material, see Giraud et al. (2017a, b) and Seye et al. (2019).

Adjusted means (least-square means) and correlations between traits

QTL detection and genomic predictions were based on the least square-means (ls-means) of each hybrid over the different environments. To obtain ls-means, we first corrected the individual

single plots performances by the BLUPs of the spatial effects (block or row-column) obtained in a joint analysis of the different field trials. Then for each trait, hybrid ls-means were derived considering jointly the experimental hybrids and the check hybrids in the following model: $Y_{hlxyz}^* = \mu + \lambda_l + \gamma_h + E_{hlxyz}$ where Y_{hlxyz}^* was the performance of the hybrid h corrected for the field effects and located at position x, y and block z in the environment l . μ was the intercept, λ_l was the fixed effect of the environment l , γ_h was the hybrid genetic effect considered as fixed in this model. E_{hlxyz} was the residual of the model for each environment with $E_{hlxyz} \hookrightarrow N(0, \sigma_{El}^2)$ id.

QTL predictions

We considered the results of the three models that were used to detect QTL previously in chapter I.

The quality of prediction of QTL based models was evaluated by cross-validation using 80% of the data as calibration set and the remaining 20% as validation set. Sampling was stratified by families and repeated 100 times. To reduce computation time, we did not perform a de novo QTL detection for each calibration set. Instead, we considered only the QTL positions detected in the whole dataset, removed the ones that were not significant in the calibration set and re-estimated the effects of the remaining QTL. Hybrid value was predicted as the sum of family and QTL effects corresponding to each hybrid. The predictive abilities of the models were estimated by the correlation between the hybrid value predictions and the ls-means of the validation set. To evaluate the interest of adding SCA/dominance to the model, the cross-validations were done with and without considering SCA/dominance QTL effect (using an individual significance risk level of 5%). For the comparison with the GS models, we only considered results of the QTL model (among the “Founder alleles”, the “SNP within group” and the “Hybrid genotype” models) that led to the highest predictive abilities for each silage quality trait (cf chapter I).

Genomic predictions

Genomic predictions were done using the hybrid ls-means as for QTL detection. We tested two Genomic Best Linear unbiased prediction (GBLUP) models that differed for the inclusion or not of SCA effects.

The GBLUP model considering SCA component was defined as:

$$y = 1 \cdot \mu + Z_{GCA_f} g_{GCA_f} + Z_{GCA_d} g_{GCA_d} + Z_{SCA} s_{SCA} + e \quad (2)$$

Where y is the vector of ls-means of the N hybrids and μ is the general mean. 1 is a vector of 1. g_{GCA_f} (respectively g_{GCA_d}) was the $(n_f \times 1)$ (respectively $(n_d \times 1)$) vector of the random effects corresponding to the n_f flint (respectively n_d dent) GCA of the flint (respectively dent) parental lines of the hybrids, with $g_{GCA_f} \hookrightarrow N(0, G_{GCA_f} \sigma_{GCA_f}^2)$ and $g_{GCA_d} \hookrightarrow N(0, G_{GCA_d} \sigma_{GCA_d}^2)$ where G_{GCA_f} (respectively G_{GCA_d}) was the $(n_f \times n_f)$ (respectively $(n_d \times n_d)$) genomic relationship matrix between the flint (respectively dent) inbred lines, and $\sigma_{GCA_f}^2$ (respectively $\sigma_{GCA_d}^2$) was the flint (respectively dent) GCA variance component. s_{SCA} was the $(N \times 1)$ vector of the random effects corresponding to the SCA with $s_{SCA} \hookrightarrow N(0, S_{SCA} \sigma_{SCA}^2)$ where S_{SCA} was a $(N \times N)$ genomic relationship matrix and σ_{SCA}^2 was the variance component associated with SCA effects of the N hybrids. Z_{GCA_f} , Z_{GCA_d} , Z_{SCA}

were the $(N \times n_f)$, $(N \times n_d)$, and $(N \times N)$ incidence matrices that linked y to g_{GCA_f} , g_{GCA_d} and s_{SCA} . e was the $(N \times 1)$ vector of the residual effects associated to the model with $e \sim N(0, I\sigma_e^2)$.

The genomic relationship coefficient of the G_{GCA_f} matrix between the flint parental lines i and j based on the observed SNPs was computed according to VanRaden (2008) as $G_{GCA_f,ij} = \frac{\sum_{l=1}^L (x_{il} - p_l)(x_{jl} - p_l)}{\sum_{l=1}^L p_l(1 - p_l)}$, where p_l was the frequency calculated over the flint lines of the allele coded 1 of marker l , x_{il} (respectively x_{jl}) was the genotype of the flint inbred line i (respectively j) at the marker l coded in 0, 0.5, 1, and L was the total number of markers. Genomic relationship matrix between the dent parental lines (i' and j') was calculated in a similar way. Following Technow et al. (2014), the S_{SCA} component between hybrids ii' and jj' was computed as the product between the G_{GCA_f} coefficient of lines i and j and the G_{GCA_f} coefficient of lines i' and j' . It can be noted that unlike QTL detection models, family structure was not included in the GS models. Previous results (Giraud et al. in prep.) showed that kinship matrices implicitly reflect the family structure of our design and taking it into account did not improve predictions but could even worsened them.

Both the QTL and GBLUP models (with and without SCA) were implemented in ASReml-R (Butler et al. 2007).

Comparison of predictive abilities between GBLUP and QTL models

Using the same cross-validation sampling than the one used to evaluate the percentage of variance explained by the QTL models in chapter I, we compared predictive abilities of different GBLUP and QTL models for silage quality traits. Predictive ability is defined as the correlation between the hybrid predicted value and the ls-mean of the hybrids in the validation set. For each model, we calculated the mean of predictive abilities and the standard error of the mean over the 100 replications (standard errors of the means were computed as the square roots of the standard deviation of predictive abilities in the different samples divided by the number of samples). Only the best QTL models (based on cross-validation R^2) were considered in this study for each silage quality trait. Within family predictive abilities were calculated for each replication by correcting both predictive values and ls-means with family effects directly estimated from ls-means.

For the GBLUP and the QTL models, we evaluated the quality of prediction of the flint and dent GCA components of the hybrid value. To do so, for each replication, we estimated the correlation between the ls-means of the hybrids and the GCA of their dent (flint) parental lines, predicted using the GBLUP or the QTL models. As this correlation depends on the percentage of the phenotypic variance explained by the GCA component, we divided predictive abilities of each GCA component by the square root of the proportion of the corresponding GCA variance in the ls-means (i.e. for the dent GCA, we divided the predictive ability by $\sqrt{\text{var}(GCA_d)/\text{var}(Y)}$ where $\text{var}(GCA_d)$ is the dent GCA variance estimated with the model that did not consider markers (chapter I) and $\text{var}(Y)$ is the variance of the hybrid ls-means for the studied trait).

Results

QTL predictions

The QTL model leading to the best predictions (highest predictive ability) for the cross validations varied depending on the trait. Considering the best model for each trait, predictive abilities ranged between 0.46 for NDF, “Genotype Hybrid” with dominance effects model and 0.82 for LIGNIN, “Founders alleles” without SCA model. The “Founder alleles” model led to the highest predictive abilities for HCELL and LIGNIN. The “SNP within group” gave the highest predictive abilities for DINAG, MFU and NDF whereas the highest predictive abilities for DINAGZ and CELL were obtained with “Hybrid genotype” model (see chapter I for more details).

Predictive ability of GBLUP models compared to best QTL models

Predictive abilities based on GBLUP were higher on average than those based on the best QTL models for all silage quality traits (Table 1). Whatever the trait considered, the GBLUP model led to better predictive abilities than the QTL-based prediction model in at least 96% of the replications (between 96% for DINAG – no SCA and up to 100% for DINAGZ, MFU, NDF, CELL – all models). Predictive abilities of GBLUP models ranged from 0.593 for NDF (without SCA) to 0.858 for Lignin (the same model). Considering SCA effects in GBLUP models gave equivalent or slightly lower predictive abilities for all traits. Including SCA also reduced predictive abilities of QTL models for all silage quality traits except for NDF for which SCA increased predictive ability by 0.01 point.

Table 1 : Predictive abilities obtained by cross-validations for GBLUP model and QTL best models for silage quality traits: feeding value (MFU in UFL per kg of dry matter), Neutral Detergent Fiber or cell wall dry matter part of silage (NDF in %), in-vitro digestibility of the “non-starch and non-soluble carbohydrates” part of silage (DINAG in %), in-vitro digestibility of the “non-starch, non-soluble carbohydrates and non-crude protein” part of silage (DINAGZ in %), and cellulose (CELL in %), hemicellulose (HCELL in %) and lignin (LIGNIN in %) content of NDF. Predictive abilities are computed as the correlations between hybrid predicted values and ls-means. For GBLUP and QTL models, we included or not SCA. For QTL models, the family effects were included in the predictions. For the QTL model including SCA, we considered only SCA QTL effects significant at a 5% individual risk level. As a benchmark we also considered a model only including family effects (“Family”).

		DINAG %	DINAGZ %	MFU UFL/kg	NDF %	CELL %	HCELL %	LIGNIN %
<i>Heritability</i>		<i>0.815</i>	<i>0.801</i>	<i>0.74</i>	<i>0.695</i>	<i>0.748</i>	<i>0.819</i>	<i>0.88</i>
Prediction model	Component							
Family	Family	0.701	0.677	0.542	0.300	0.630	0.705	0.739
		sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd
		0.027	0.027	0.040	0.057	0.043	0.028	0.023
GBLUP								

GCA	0.816	0.786	0.728	0.593	0.734	0.809	0.858
	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd
GCA + SCA	0.020	0.025	0.027	0.042	0.033	0.020	0.016
	0.816	0.785	0.727	0.592	0.734	0.808	0.857
	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd
	0.020	0.025	0.027	0.042	0.033	0.020	0.016
Best QTL							
Fam ^a + GCA	0.782	0.729	0.665	0.440	0.688	0.770	0.820
	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd
Fam + GCA + SCA	0.023	0.028	0.033	0.048	0.037	0.026	0.022
	0.781	0.729	0.664	0.451	0.687	0.761	0.816
	sd	sd	sd	sd	sd	sd	sd
	0.023	0.029	0.033	0.048	0.037	0.026	0.023

^a family effects

Within-family predictive abilities (estimated by removing family effects from both hybrid value predictions and ls-means) were lower than the global predictive abilities and were higher for GBLUP models (ranging from 0.431 for CELL to 0.611 for LIGNIN) than for QTL models - between 0.257 for NDF and 0.480 for LIGNIN (Table 2).

Table 2 : Within family predictive abilities obtained by cross-validation for GBLUP model and QTL best models for silage quality traits. For each sampling, predictive ability is computed as the correlation between hybrid predicted values (with or without SCA) and ls-means both corrected by family estimated effects.

Models	Component	DINAG	DINAGZ	MFU	NDF	CELL	HCELL	LIGNIN
Best QTL	GCA	0.436	0.290	0.400	0.257	0.276	0.390	0.480
		sd	sd 0.070	sd	sd	sd	sd	sd
		0.058		0.055	0.068	0.065	0.068	0.066
	GCA + SCA	0.434	0.290	0.398	0.278	0.275	0.371	0.470
		sd	sd 0.073	sd	sd	sd	sd	sd
		0.058		0.055	0.063	0.064	0.067	0.066
GBLUP	GCA	0.547	0.490	0.533	0.488	0.431	0.513	0.609
		sd	sd 0.049	sd	sd	sd	sd	sd
		0.043		0.044	0.048	0.053	0.049	0.045
	GCA + SCA	0.547	0.492	0.533	0.489	0.432	0.514	0.611
		sd	sd 0.049	sd	sd	sd	sd	sd
		0.043		0.044	0.048	0.054	0.049	0.045

Correlation between GBLUP and QTL predictions were high for each trait. They varied between 0.805 for NDF and 0.941 for LIGNIN (Table 3). This suggests that predictions based on QTL models are consistent with those based on GBLUP.

Table 3 : Correlation between GBLUP and QTL predictions for silage quality traits.

	DINAG %	DINAGZ %	MFU UFL/kg	NDF %	CELL %	HCELL %	LIGNIN %
cor (GBLUP, QTL)	0.925	0.909	0.887	0.805	0.907	0.936	0.941

Predictive quality of flint and dent GCA

Predictive abilities of both flint and dent GCA were higher for GBLUP model than for QTL model for all silage quality traits. For the flint GCA, average correlations varied between, 0.355 for CELL and 0.473 for DINAG and DINAGZ with GBLUP model whereas it ranged from 0.238 (CELL) to 0.423 (DINAGZ) with QTL model (Table 4). For the dent GCA, they ranged from 0.368 (NDF) to 0.772 (LIGNIN) with GBLUP model and from 0.259 (NDF) to 0.734 (LIGNIN) with QTL model. These correlations should be put in relation with the percentage of flint GCA variance (respectively dent GCA variance) in the total phenotypic variance, which varied depending on the trait. The flint GCA variance component represented between 19.3% (LIGNIN) and 32.8% (NDF) of the total phenotypic variance and the dent GCA variance component varied between 30.2% (NDF) and 63.5% (LIGNIN) of the total phenotypic variance. Thus, we computed accuracies of the GCA predictions, based on predictive abilities and on the proportion of the GCA in the hybrid variance. The accuracies of GBLUP predictions varied between 0.719 (CELL) and 0.921 (DINAGZ) for the flint GCA and between 0.669 (NDF) and 0.968 (LIGNIN) for the dent GCA. They were lower for QTL-based predictions and ranged from 0.441 (CELL) to 0.824 (DINAGZ) for flint GCA and from 0.471 (NDF) to 0.921 (LIGNIN) for the dent GCA. For all silage quality traits, dent GCAs were better predicted than flint GCAs with both GBLUP and QTL models except for NDF (opposite trend).

Table 4 : Quality of prediction of flint and dent GCAs (GCA_f and GCA_d , respectively) for silage quality traits. Standard deviation (sd) of each correlation mean is indicated. Accuracies of each GCA component were derived from correlations between predicted GCA (with GBLUP or QTL models) and hybrid ls-means and the percentage of GCA in the ls-means variance.

	DINAG	DINAGZ	MFU	NDF	CELL	HCELL	LIGNIN
Percentage of GCA in hybrid variance							
% GCA_f	29.5	26.3	25.4	32.8	24.4	21.4	19.3
% GCA_d	50.9	45.0	45.1	30.2	51.8	59.7	63.5
GBLUP predictive abilities							
GCA_f	0.473	0.473	0.418	0.440	0.355	0.369	0.393
	sd 0.045	sd 0.044	sd 0.052	sd 0.049	sd 0.057	sd 0.052	sd 0.046
GCA_d	0.667	0.631	0.572	0.368	0.639	0.716	0.772
	sd 0.030	sd 0.035	sd 0.039	sd 0.052	sd 0.037	sd 0.028	sd 0.022
GBLUP accuracies							
GCA_f	0.871	0.921	0.829	0.769	0.719	0.799	0.894
GCA_d	0.934	0.941	0.852	0.669	0.888	0.927	0.968
QTL - based predictive abilities							

Chapitre II : Prédiction génomique de la valeur hybride pour la qualité de l'ensilage

GCA_f	0.42 sd 0.05	0.423 sd 0.049	0.325 sd 0.053	0.299 sd 0.063	0.238 sd 0.061	0.29 sd 0.063	0.356 sd 0.06
GCA_d	0.632 sd 0.033	0.59 sd 0.037	0.541 sd 0.038	0.259 sd 0.061	0.606 sd 0.041	0.676 sd 0.032	0.734 sd 0.027
QTL - based accuracies							
GCA_f	0.772	0.824	0.645	0.522	0.481	0.627	0.81
GCA_d	0.886	0.879	0.807	0.471	0.842	0.876	0.921

Discussion

Predictive abilities of hybrid values for silage quality traits are relatively high using both GBLUP and QTL models. To our knowledge, no results have been published so far on GS efficiency for maize silage quality traits. It is therefore not possible to compare our results with those of other studies. Silage agronomic traits were more heritable than quality traits, but prediction accuracies are not higher (cf supplementary table S1 showing results obtained by Giraud et al. in prep. on silage productivity and precocity traits). This can be explained by the higher effect of family structure for quality traits (chapitre I) that is well predicted by GS models.

QTL models explained only a small proportion of the total hybrid variation and genomic selection led to better predictions of hybrid value for all silage traits. This is consistent with the known complex genetic determinism of silage quality traits that limits the power of QTL detection and thus the predictive abilities of QTL models whereas GBLUP models are able to capture variation explained by QTL with low effects. This result confirms both simulations and empirical studies that were carried out in segregating biparental populations showing a clear advantage of GS over QTL-based predictions for complex traits controlled by many QTL with minor effects or low heritability (Bernardo et Yu 2007b; Mayor et Bernardo 2009; Heffner et al. 2010; Guo et al. 2013; Cerrudo et al. 2018).

Including QTL information in GBLUP models has proven, in some cases, to enhance the prediction accuracies when combining the two sources of information, giving more weight in prediction to the most important QTL than when considering only kinship matrices. For instance, QTL information has successfully been included in GS models using different species and approaches. On hybrid wheat, Zhao et al. (2014) proposed a weighted best linear unbiased prediction (W-BLUP) model for treating the effects of known functional markers by considering their additive and dominance effects as fixed which resulted in an increase of the prediction accuracies compared to marker-based predictions and to genomic predictions using RR-BLUP and BayesC π models. In a GBLUP model, Brøndum et al. (2015) included a second component with its own variance corresponding to QTL identified from association mapping on dairy cows. This improved the predictive abilities, especially for production traits presenting major QTLs. On French trotters, Brard and Ricard (2015) observed an increase in prediction accuracies when including in the GBLUP model SNP strongly associated with the studied traits as fixed effects. The high correlation between GBLUP and QTL predictions and the superiority of GBLUP prediction accuracies, suggest that the effects of GBLUP models capture most of the variation of QTL that were detected in this population. This suggests that combining QTL information with GBLUP models could be beneficial to predict complex traits controlled by both major and minor QTL.

Information on detected QTL could be used to enrich alleles for silage productivity and quality traits and guide line intercrossing in recurrent breeding program, while GS could be used in more advanced stage to additionally capture alleles with smaller additive effects (Heffner et al., 2010; Cao et al., 2017). Selection could be carried out for major and minor additive effects simultaneously by using major QTL as fixed cofactors in GS models as described by Bernardo (2014) and as applied by Zhao et al. (2014) or Brard and Ricard (2015). This strategy remains to be tested on our dataset.

Interestingly, our results showed that even with a highly incomplete factorial design, we obtained high predictive abilities of parental lines effects including those that did not contribute to calibration hybrids. This is not achievable in such an incomplete design without the use of markers.

The two-stage hybrid breeding process that first requires the selection of inbred lines through their testcross value followed by the identification of the best hybrid combinations between selected lines is known to be heavy and does not guarantee to release the best hybrids. We propose a simplified and efficient scheme based on the use of both molecular markers and double haploid (DH) technology. This pipeline implies to (1) derive segregating candidate lines within each heterotic group (2) cross part of the candidates between each group using incomplete factorial design (3) genotype all candidate lines and phenotype hybrids included in the training set in order to calibrate GS models and/or detect QTL, (4) predict non-phenotyped single-cross performances, then identify the best hybrid combinations. To advance the recurrent selection program, lines can be selected based on their GCA predicted by GS and intercrossed within each heterotic group to generate the next generation of candidate lines. QTL approaches would allow to choose relevant inter-crossing based on QTL allelic profile of selected candidate lines. This would lead to enhanced segregating lines for a next hybrid selection cycle. In each cycle, GS and QTL models should be recalibrated to account for new allelic frequencies. Also, considering the strong correlation between maize silage agronomic and quality traits, it would be interesting to assess the interest of multi-traits GS that proved to increase prediction accuracy. Benefits of multi-trait GS over single-trait GS have been reported for different species in simulated (Calus and Veerkamp 2011) and real data (Jia and Jannink 2012; Schulthess et al. 2016, Fernandes et al. 2017).

Conclusion

Relevant prediction of hybrid performances and GCA of parental lines were obtained with both GBLUP and QTL approaches even if GBLUP outperformed QTL based prediction models. This study emphasizes that genomic selection and QTL mapping, implemented in multiparental designs, allow accurate prediction of hybrid performances and identification of the most valuable inbred lines that will suit commercial hybrid production. The originality of this reciprocal multiparental connected design is to simultaneously evaluate the inbred lines in both heterotic groups, thus reducing the number of plots by a factor of 2 compared to a testcross approach. Thanks to the availability of molecular markers, the use of incomplete factorial design allowed one to evaluate accurately general combining abilities of candidate inbred lines. Further design optimization is needed as well as comparative studies between “factorial” and “testcross” designs. This will allow to evaluate the interest of genomic prediction calibrated on these designs and their ability to identify the best hybrid combinations. Our results clearly highlight the possibility to revisit hybrid breeding scheme with genomic selection.

References

- Albrecht, Theresa, Valentin Wimmer, Hans-Jürgen Auinger, Malena Erbe, Carsten Knaak, Milena Ouzunova, Henner Simianer, et Chris-Carolin Schön. 2011. « Genome-Based Prediction of Testcross Values in Maize ». *Theoretical and Applied Genetics* 123 (2): 339.
- Bernardo, R. 1992. « Relationship between Single-Cross Performance and Molecular Marker Heterozygosity ». *Theoretical and Applied Genetics* 83 (5): 628-34.
- Bernardo, Rex. 1996a. « Best linear unbiased prediction of maize single-cross performance ». *Crop Science* 36 (1): 50–56.
- Bernardo, Rex. 1996b. « Best Linear Unbiased Prediction of the Performance of Crosses between Untested Maize Inbreds ». *Crop Science* 36 (4): 872-76.
- Bernardo, Rex. 2014. « Genomewide Selection When Major Genes Are Known ». *Crop Science* 54 (1): 68-75.
- Bernardo, Rex, et Jianming Yu. 2007. « Prospects for Genomewide Selection for Quantitative Traits in Maize ». *Crop Science* 47 (3): 1082-90.
- Brard, S., et A. Ricard. 2015. « Should We Use the Single Nucleotide Polymorphism Linked to DMRT3 in Genomic Evaluation of French Trotter? ». *Journal of Animal Science* 93 (10): 4651-59.
- Calus, M. P. L., et R. F. Veerkamp. 2010. « Increase in Accuracy Using Multi-Trait Genomic Breeding Value Estimation ». *Advances in Animal Biosciences* 1 (1): 60-60.
- Cao, Shiliang, Alexander Loladze, Yibing Yuan, Yongsheng Wu, Ao Zhang, Jiafa Chen, Gordon Huestis, et al. 2017. « Genome-Wide Analysis of Tar Spot Complex Resistance in Maize Using Genotyping-by-Sequencing SNPs and Whole-Genome Prediction ». *The Plant Genome* 10 (2).
- Cerrudo, Diego, Shiliang Cao, Yibing Yuan, Carlos Martinez, Edgar Antonio Suarez, Raman Babu, Xuecai Zhang, et Samuel Trachsel. 2018. « Genomic Selection Outperforms Marker Assisted Selection for Grain Yield and Physiological Traits in a Maize Doubled Haploid Population Across Water Treatments ». *Frontiers in Plant Science* 9 (mars).
- Charcosset, A., et L. Essioux. 1994. « The Effect of Population Structure on the Relationship between Heterosis and Heterozygosity at Marker Loci ». *Theoretical and Applied Genetics* 89 (2): 336-43.
- Comstock, R. E., et H. F. Robinson. 1948. « The Components of Genetic Variance in Populations of Biparental Progenies and Their Use in Estimating the Average Degree of Dominance ». *Biometrics* 4 (4): 254-66.
- Crossa, José, Paulino Pérez-Rodríguez, Jaime Cuevas, Osval Montesinos-López, Diego Jarquín, Gustavo de los Campos, Juan Burgueño, et al. 2017. « Genomic Selection in Plant Breeding: Methods, Models, and Perspectives ». *Trends in Plant Science* 22 (11): 961-75.
- Fernandes, Samuel B., Kaio O. G. Dias, Daniel F. Ferreira, et Patrick J. Brown. 2018. « Efficiency of Multi-Trait, Indirect, and Trait-Assisted Genomic Selection for Improvement of Biomass Sorghum ». *Theoretical and Applied Genetics* 131 (3): 747-55.
- Giraud, Héloïse, Cyril Bauland, Matthieu Falque, et al. 2017a. « Linkage Analysis and Association Mapping QTL Detection Models for Hybrids Between Multiparental Populations from Two Heterotic Groups: Application to Biomass Production in Maize (*Zea mays* L.) ». *G3: Genes|Genomes|Genetics* 7 (11): 3649-57.

- Giraud, Héloïse, Cyril Bauland, Matthieu Falque, et al. 2017b. « Reciprocal Genetics: Identifying QTL for General and Specific Combining Abilities in Hybrids Between Multiparental Populations from Two Maize (*Zea Mays* L.) Heterotic Groups ». *Genetics* 207 (3): 1167-80.
- Guo, Zhigang, Dominic M. Tucker, Daolong Wang, Christopher J. Basten, Elhan Ersoz, William H. Briggs, Jianwei Lu, Min Li, et Gilles Gay. 2013. « Accuracy of Across-Environment Genome-Wide Prediction in Maize Nested Association Mapping Populations ». *G3* (Bethesda, Md.) 3 (2): 263-72.
- Hallauer, A. R., 1977 Relation between inbred and hybrid traits in maize. *Crop Sci.* 17: 703–706.
- Heffner, Elliot L., Aaron J. Lorenz, Jean-Luc Jannink, et Mark E. Sorrells. 2010. « Plant Breeding with Genomic Selection: Gain per Unit Time and Cost ». *Crop Science* 50 (5): 1681-90.
- Jia, Yi, et Jean-Luc Jannink. 2012. « Multiple-Trait Genomic Selection Methods Increase Genetic Value Prediction Accuracy ». *Genetics* 192 (4): 1513-22.
- Kadam, Dnyaneshwar C., Sarah M. Potts, Martin O. Bohn, Alexander E. Lipka, et Aaron J. Lorenz. 2016. « Genomic Prediction of Single Crosses in the Early Stages of a Maize Hybrid Breeding Pipeline ». *G3: Genes, Genomes, Genetics* 6 (11): 3443-53.
- Lee, E. A., M. J. Ash, et B. Good. 2007. « Re-Examining the Relationship between Degree of Relatedness, Genetic Effects, and Heterosis in Maize ». *Crop Science* 47 (2): 629-35.
- Love, H., and B. Wentz, 1914 Correlations between ear characters and yield in corn. *Laboratory Papers.* 1: 3.
- Maenhout, Steven, Bernard De Baets, et Geert Haesaert. 2010. « Prediction of Maize Single-Cross Hybrid Performance: Support Vector Machine Regression versus Best Linear Prediction ». *TAG. Theoretical and Applied Genetics. Theoretische Und Angewandte Genetik* 120 (2): 415-27.
- Massman, Jon M., Hans-Joachim G. Jung, et Rex Bernardo. 2013. « Genomewide Selection versus Marker-Assisted Recurrent Selection to Improve Grain Yield and Stover-Quality Traits for Cellulosic Ethanol in Maize ». *Crop Science* 53 (1): 58-66.
- Mayor, Patricio J., et Rex Bernardo. 2009. « Genomewide Selection and Marker-Assisted Recurrent Selection in Doubled Haploid versus F 2 Populations ». *Crop Science* 49 (5): 1719-25.
- Schrag, T. A., M. Frisch, B. S. Dhillon, et A. E. Melchinger. 2009. « Marker-Based Prediction of Hybrid Performance in Maize Single-Crosses Involving Doubled Haploids. ». *Maydica* 54 (2/3): 353-62.
- Schrag, T. A., A. E. Melchinger, A. P. Sørensen, et M. Frisch. 2006. « Prediction of Single-Cross Hybrid Performance for Grain Yield and Grain Dry Matter Content in Maize Using AFLP Markers Associated with QTL ». *Theoretical and Applied Genetics* 113 (6): 1037-47.
- Schrag, Tobias A., Hans Peter Maurer, Albrecht E. Melchinger, Hans-Peter Piepho, Johan Peleman, et Matthias Frisch. 2007. « Prediction of Single-Cross Hybrid Performance in Maize Using Haplotype Blocks Associated with QTL for Grain Yield ». *Theoretical and Applied Genetics* 114 (8): 1345-55.
- Schulthess, Albert Wilhelm, Yu Wang, Thomas Miedaner, Peer Wilde, Jochen C. Reif, et Yusheng Zhao. 2016. « Multiple-Trait- and Selection Indices-Genomic Predictions for Grain Yield and Protein Content in Rye for Feeding Purposes ». *Theoretical and Applied Genetics* 129 (2): 273-87.
- Seye, Adama I., Cyril Bauland, Héloïse Giraud, Valérie Mechin, Matthieu Reymond, Alain Charcosset, et Laurence Moreau. 2019. « Quantitative Trait Loci Mapping in Hybrids between Dent and Flint Maize Multiparental Populations Reveals Group-Specific QTL for Silage Quality Traits with Variable Pleiotropic Effects on Yield ». *Theoretical and Applied Genetics*, février.

- Smith, O., 1986 Covariance between line per se and testcross performance. *Crop Sci.* 26: 540–543.
- Sprague, G. F., et Loyd A. Tatum. 1942. « General vs. Specific Combining Ability in Single Crosses of Corn ». *Agronomy Journal* 34 (10): 923-32.
- Technow, Frank, Tobias A. Schrag, Wolfgang Schipprack, Eva Bauer, Henner Simianer, et Albrecht E. Melchinger. 2014. « Genome Properties and Prospects of Genomic Prediction of Hybrid Performance in a Breeding Program of Maize ». *Genetics* 197 (4): 1343-55.
- VanRaden, P. M. 2008. « Efficient Methods to Compute Genomic Predictions ». *Journal of Dairy Science* 91 (11): 4414-23.
- Vuylsteke, M., M. Kuiper, et P. Stam. 2000. « Chromosomal Regions Involved in Hybrid Performance and Heterosis: Their AFLP®-Based Identification and Practical Use in Prediction Models ». *Heredity* 85 (3): 208-18.
- Zhao, Y, M F Mette, M Gowda, C F H Longin, et J C Reif. 2014. « Bridging the gap between marker-assisted and genomic selection of heading time and plant height in hybrid wheat ». *Heredity* 112 (6): 638-45.
- Zhao, Yusheng, Michael F. Mette, et Jochen C. Reif. 2015. « Genomic Selection in Hybrid Breeding ». Édité par F. Ordon. *Plant Breeding* 134 (1): 1-10.

Validation expérimentale

Ce chapitre est consacré à l'analyse des données issues de la seconde phase du projet SAMMCR. Cette nouvelle phase, a pour objectif d'apporter des réponses à différentes questions : (i) les modèles utilisés pour prédire les composantes de la valeur hybride sont-ils suffisamment robustes pour être utilisés dans un programme de sélection ? (ii) Quel est l'intérêt relatif d'un dispositif factoriel multi-parental connecté par rapport à une approche plus classique basée sur l'utilisation de testeurs pour l'estimation des composantes de la variance et la prédiction de nouveaux hybrides ? (iii) Pouvons-nous optimiser le dispositif expérimental pour mieux prédire la valeur hybride ?

Matériels et méthodes

Dispositif expérimental SAMMCR2

Le matériel génétique de cette phase est composé de 720 hybrides. La moitié est issue d'un croisement factoriel entre des lignées parentales cornées et dentées et l'autre moitié, du croisement entre ces mêmes lignées et deux lignées fondatrices du groupe complémentaire utilisées comme testeurs. Dans chaque groupe, 90 lignées parentales ont été choisies. Parmi elles, 30 ont été sélectionnées sur la base de leurs prédictions génomiques d'AGC selon un index combinant le rendement, la matière sèche et leur valeur d'UFL. Les 60 autres lignées de chaque groupe ont été tirées au hasard au sein des familles parentales, de façon équilibrée (10 lignées par famille).

Les lignées sélectionnées ne représentent que 3 familles dans chaque groupe (Figure 1). De même, la contribution des familles sélectionnées dans chacun des groupes est très déséquilibrée avec une majorité de lignées cornées appartenant à la famille C1 (F 373 x F02803) et une majorité de lignées dentées issues de la famille D2 (F1808 x F98902).

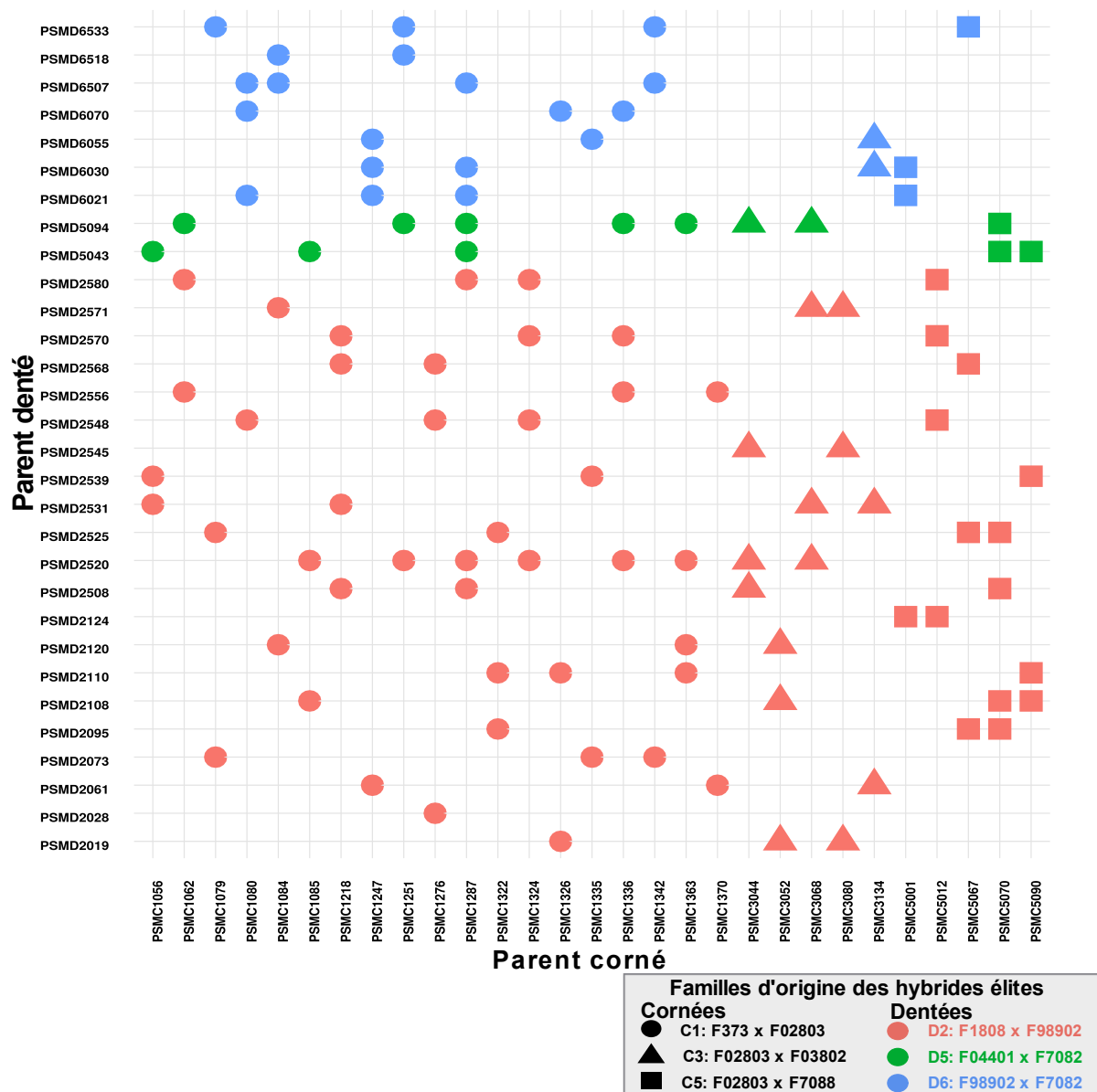


Figure 1: Répartition des hybrides élites selon la famille d'origine des lignées parentales

Pour le dispositif factoriel, afin d'augmenter la précision de l'estimation des composantes de la variance hybride (ASC/AGC), chacune des lignées a contribué à la production de 4 hybrides. Les 30 « meilleures » lignées de chaque groupe ont été croisées avec les 30 « meilleures » lignées du groupe complémentaire pour produire 120 « hybrides élites ». Parallèlement, 240 « hybrides aléatoires » issus de croisements entre les 60 lignées choisies aléatoirement dans chacune des 6 familles par groupe ont été produits. Les 120 « hybrides élites » et les 240 « hybrides aléatoires » constituent les 360 hybrides du nouveau dispositif factoriel.

Pour le dispositif testeur, les 90 lignées cornées (les 30 « meilleures » et les 60 aléatoires) ont été croisées chacune avec les deux lignées fondatrices dentées F1808 et F98902. Réciproquement, les 90 lignées dentées ont été croisées aux deux fondatrices cornées F373 et F02803. Dans chaque groupe, les deux testeurs sont choisis pour être contrastés. Au total « 360 hybrides testeurs » ont été produits (Figure 2) structurés en 4 groupes de 90 hybrides correspondant chacun à une combinaison du groupe

hétérotique d'origine des lignées testées (corne ou denté) et du testeur considéré (deux par groupe hétérotique).

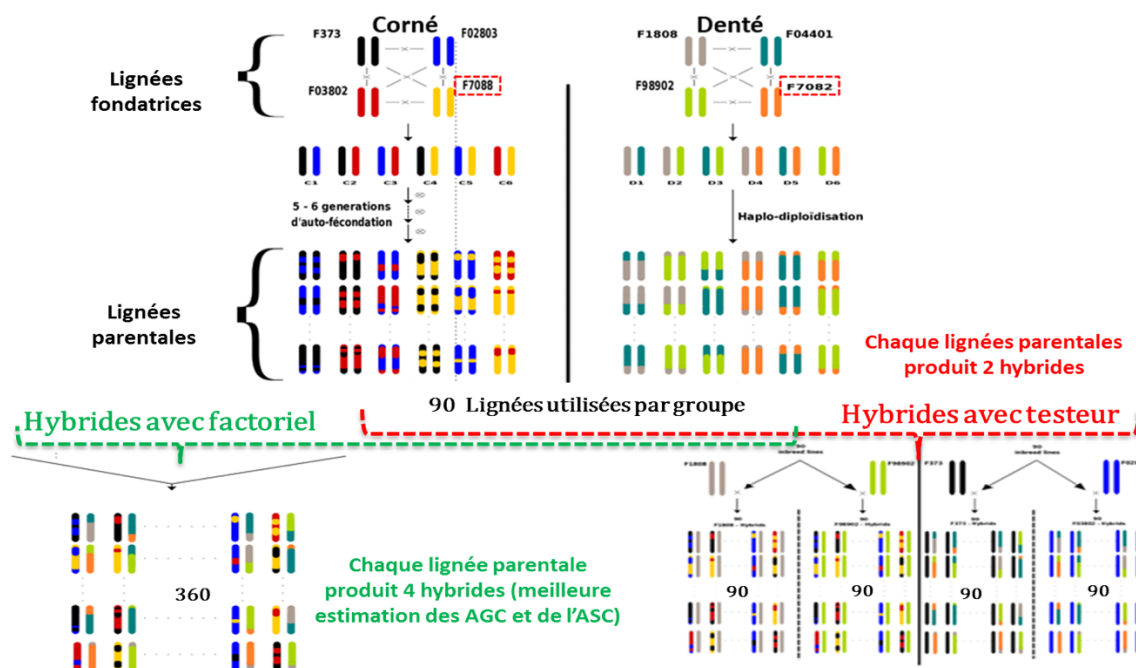


Figure 2: Dispositif expérimental SAMMCR2 contenant 3 parties (factorielle, testeurs cornés, testeurs dentés)

Expérimentation au champ et phénotypage

Les hybrides ont été évalués dans 8 lieux : 3 en 2016 et 5 en 2017. Les essais ont été réalisés par les partenaires du projet dans la même zone géographique que les essais du chapitre I. Un des quatre essais initialement prévus en 2016 a été abandonné pour cause de dégâts importants due à la *Géomyze* (diptère ravageur du maïs). Cet essai a été reconduit en 2017 engendrant un déséquilibre pour l'effet année.

Chaque essai comprenait 800 parcelles de 2 rangs réparties en 50 blocs de 16 parcelles. Chaque parcelle est repérée par ses coordonnées (ligne / colonne et bloc). Chaque essai était divisé en une partie de 26 blocs pour les « hybrides factoriels » et une autre de 24 blocs pour les « hybrides testeurs », organisés en 6 blocs consécutifs par testeur. Les différents types d'hybrides ont été séparés afin d'éviter les effets de compétition entre hybrides et pour s'approcher, pour la partie « testeur », de dispositifs classiques en sélection où les hybrides produits avec un même testeur sont généralement regroupés dans les essais pour faciliter la comparaison entre lignées. Chaque essai comprenait en plus, les 16 hybrides témoins (hybrides entre lignées fondatrices) et deux hybrides commerciaux de référence (LG_30.275 et RONALDINIO). Comme pour le chapitre I, 17 % des parcelles de chaque essai (« factoriel » comme « testeur ») ont été réservées aux répétitions. Les hybrides répétés ont été répartis dans les blocs de façon à former un dispositif en blocs incomplets efficace. Chaque bloc comprenait au moins 2 parcelles réservées à des hybrides répétés. Les autres hybrides ont été répartis aléatoirement dans les blocs.

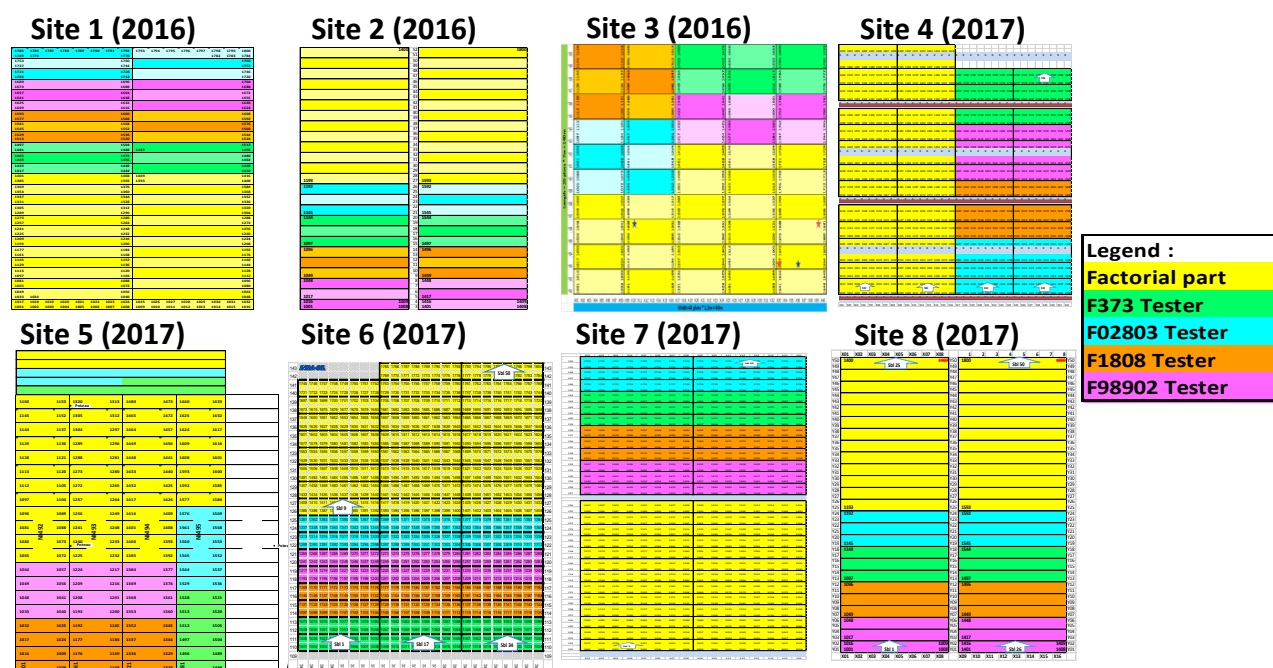


Figure 3 : Répartition des dispositifs selon les différents essais

Les hybrides ont été phénotypés pour les mêmes caractères agronomiques et de qualité que ceux de la première phase (chapitre I). Trois caractères supplémentaires ont été considérés (floraison mâle, hauteur de l'épi, teneur en amidon et l'index RPU utilisé pour l'inscription des variétés ensilage en France). Pour la performance agronomique, le phénotypage a porté sur le rendement ensilage plante entière (DMY) en $t\ ha^{-1}$, la teneur en matière sèche (DMC) en % du poids frais récolté, les dates de floraison mâle (DtANT) et femelle (DtSILK) en jours après le 1er janvier, la hauteur de plante (PH) et celle de l'insertion de l'épi (EH) en cm. Pour les caractères de qualité, obtenus à partir de prédictions NIRS, les hybrides ont été phénotypés pour l'UFL (MFU), le NDF, le DINAG, le DINAGZ, les teneurs en cellulose (CELL), hémicellulose (HCELL), lignine (LIGNIN) et en amidon (STARCH). L'index RPU (pour rendement pondéré UFL) pour un hybride donné est calculé à partir de la combinaison linéaire suivante : $RPU_h = [DMY_h + 0.2 \times (DMC_h - \overline{DMC_f})] \times UFL_h$; où DMY_h , DMC_h et UFL_h sont respectivement, le rendement ensilage, la teneur en matière sèche et la valeur énergétique de l'ensilage de l'hybride h et $\overline{DMC_f}$ est la teneur en matière sèche moyenne des hybrides entre les lignées fondatrices considérée comme valeur de référence.

Les prédictions NIRS ont été faites de manière indépendante par les expérimentateurs. Le nombre d'essais validés par caractère variait entre 4 pour la lignine et 8 pour le rendement, la floraison femelle et la teneur en matière sèche (Tableau 1). Les caractères mesurés ont été validés en étudiant les corrélations entre lieux. Un essai (site 6) s'est avéré très peu corrélé avec les autres essais pour les caractères de qualité de l'ensilage prédits par NIRS. Les données de cet essai n'ont pas été prises en compte pour la suite des analyses pour ces caractères.

Tableau 1: Disponibilité des données selon les essais par caractère. La valeur « 1 » indique des données valides, « 0 » des données non valides et « NA » signifie l'absence de données pour un couple caractère-lieu.

Traits	Site 1	Site 2	Site 3	Site 4	Site 5	Site 6	Site 7	Site 8	Total
DMY (t/ha)	1	1	1	1	1	1	1	1	8
PH (cm)	1	1	1	1	NA	1	1	1	7
EH (cm)	1	NA	1	1	NA	NA	1	1	5
RPU	1	1	1	1	1	0	1	1	7
DMC (%)	1	1	1	1	1	1	1	1	8
DtSILK (j)	1	1	1	1	1	1	1	1	8
DtANT (j)	1	NA	1	1	NA	1	NA	1	5
DINAG (%)	1	1	NA	1	1	0	1	1	6
DINAGZ (%)	1	1	NA	1	1	0	1	1	6
MFU (UFL/kg)	1	1	1	1	1	0	1	1	7
NDF (%)	NA	1	1	1	1	0	1	1	6
CELL (%)	NA	1	1	1	1	0	1	1	6
HCELL (%)	NA	1	1	1	1	0	1	1	6
LIGNIN (%)	NA	1	NA	1	1	0	1	0	4
STARCH (%)	1	1	1	1	1	0	1	1	7

Correction spatiale et décomposition de la variance

Une analyse exploratoire a été menée au niveau de chaque essai afin d'éliminer les données aberrantes du fichier des observations. Plusieurs modèles ont été utilisés pour décomposer les performances hybrides et corriger d'éventuelles hétérogénéités spatiales.

Deux modèles de décomposition de la variance hybride ont été testés sur la base des données parcellaires avec une correction simultanée des effets terrains pour chaque dispositif : un pour le dispositif factoriel et un pour le dispositif testeur. Les données « testeur » ont été analysées séparément pour les deux groupes génétiques (lignées cornées x testeurs denté et lignées dentées x testeurs cornés). Ainsi, trois analyses séparées ont été faites pour trois sous-ensembles d'hybrides suivants: « factoriel », « testeurs cornés » et « testeurs dentés » appelés « dispositifs » par la suite. Les modèles d'analyses considèrent ou non la structuration en familles et décomposent la valeur génétique des hybrides en AGC et ASC.

Dans un premier temps, les hybrides « élites » et « aléatoires » ont été considérés de façon similaire. Dans un deuxième temps, cette information a été prise en compte pour estimer l'effet de la sélection sur les performances des hybrides (évaluation du progrès génétique) et sur les variances génétiques.

Analyse du dispositif factoriel

Modèle MF.1 : décomposition de la variance hybride sans prise en compte des effets familles et de l'effet des lignées sélectionnées dans le dispositif factoriel.

$$Y_{hxyzl} = \mu + \lambda_l + \tau_h \times t_h + \left(P_k + P'_{k'} + (PP')_{(kk')} \right) \times (1 - t_h) + B_{z(l)} \times d_l + (R_{x(l)} + C_{y(l)}) \times (1 - d_l) + E_{hxyzl}$$

$$\begin{array}{cccccc} P_k \hookrightarrow N(0, \sigma_p^2) & P'_{k'} \hookrightarrow N(0, \sigma_{p'}^2) & (PP')_{(kk')} \hookrightarrow N(0, \sigma_{(pp')}^2) & B_{z(l)} \hookrightarrow N(0, \sigma_{B_l}^2) & R_{x(l)} \hookrightarrow N(0, \sigma_{R_l}^2) & \\ C_{y(l)} \hookrightarrow N(0, \sigma_{c_l}^2) & E_{hxyzl} \hookrightarrow N(0, \sigma_{E_l}^2) & B_{z(l)} \perp R_{x(l)} \perp C_{y(l)} \perp E_{hxyzl} & & & \end{array}$$

Où Y_{hxyzl} est la performance de l'hybride h évalué sur la ligne x, la colonne y et le bloc z dans le lieu l, μ la moyenne générale de tous les hybrides, λ_l est l'effet fixe du lieu l, t_h est un scalaire permettant de distinguer les hybrides expérimentaux des hybrides témoins. Il est égal à 1 si la performance correspond à celle d'un hybride témoin (hybride entre lignées fondatrice ou témoin commercial). Il est fixé à 0 si la performance correspond à celle d'un hybride expérimental issu du croisement entre la lignée parentale k et la lignée parentale k'. τ_h est l'effet génétique de l'hybride témoin h considéré comme fixe. P_k (respectivement $P'_{k'}$) est l'effet aléatoire de la lignée parentale cornée k (respectivement dentée k'). Cet effet correspond à l'AGC de la lignée k (respectivement k'). $(PP')_{(kk')}$: est l'effet aléatoire de l'interaction (ASC) entre la lignée parentale cornée k et la lignée parentale dentée k'. d_l est un scalaire fixé à 1 si la correction spatiale correspond à un effet bloc ou 0 si elle correspond à des effets lignes et colonnes. $B_{z(l)}$ est l'effet aléatoire associé au bloc z dans l'environnement l (une variance par lieu). $R_{x(l)}$ (respectivement $C_{y(l)}$) est l'effet aléatoire associé à la ligne x (respectivement à la colonne y) dans l'environnement l (une variance par lieu). E_{hxyzl} est l'effet résiduel (une variance par lieu). Le choix du modèle de correction spatial a été réalisé par une analyse préliminaire lieu par lieu pour chaque caractère en comparant 3 modèles mixtes. Le premier n'inclut aucune correction spatiale et sert de référence. Le deuxième prend en compte les effets terrains sous la forme d'effets lignes/colonnes aléatoires correspondant aux coordonnées parcellaires des hybrides dans l'essai, et le troisième considère en aléatoire les effets blocs. Le choix du modèle de correction s'est appuyé sur une comparaison de la vraisemblance des différents modèles au travers du critère d'AIC ou Akaike Information Criterion (Akaike, 1974).

Modèle MF.2 : décomposition de la variance avec prise en compte des effets familles mais sans l'effet des lignées sélectionnées dans le dispositif factoriel.

$$Y_{hxyzl} = \mu + \lambda_l + \tau_h \times t_h + \left(\alpha_{ij} + \beta_{i'j'} + (\alpha\beta)_{iji'j'} + P^*_k + P^{*'}_{k'} + (P^*P^{*'})_{(kk')} \right) \times (1 - t_h) + B_{z(l)} \times d_l + (R_{x(l)} + C_{y(l)}) \times (1 - d_l) + E_{hxyzl}$$

$$\begin{array}{cccccc} P^*_k \hookrightarrow N(0, \sigma_{p^*}^2) & P^{*'}_{k'} \hookrightarrow N(0, \sigma_{p^{*'}}^2) & (P^*P^{*'})_{(kk')} \hookrightarrow N(0, \sigma_{(p^*p^{*'})}^2) & B_{z(l)} \hookrightarrow N(0, \sigma_{B_l}^2) & R_{x(l)} \hookrightarrow N(0, \sigma_{R_l}^2) & \\ C_{y(l)} \hookrightarrow N(0, \sigma_{c_l}^2) & E_{hxyzl} \hookrightarrow N(0, \sigma_{E_l}^2) & B_{z(l)} \perp R_{x(l)} \perp C_{y(l)} \perp E_{hxyzl} & & & \end{array}$$

Où Y_{hxyzl} , μ , λ_l , τ_h , t_h , $B_{z(l)}$, $R_{x(l)}$, $C_{y(l)}$ et d_l sont définis comme dans le modèle MF.1. α_{ij} (respectivement $\beta_{i'j'}$) est l'effet génétique de la famille d'origine cornée (respectivement dentée) de la lignée parentale k (respectivement k') issu du croisement entre les lignées fondatrices cornées i et j (respectivement dentées i' et j'). $(\alpha\beta)_{iji'j'}$ est l'effet de l'interaction entre les familles cornée et dentée d'origine des lignées parentales. P^*_k (respectivement $P^{*'}_{k'}$) est l'effet aléatoire intra-famille de la lignée parentale k (respectivement k') correspondant à l'AGC intra-famille de la lignée k (respectivement k'). $(P^*P^{*'})_{(kk')}$ est l'effet aléatoire intra-famille de l'interaction entre la lignée

parentale cornée k et la lignée parentale dentée k' . Cet effet correspond à l'ASC intra-famille entre les deux lignées. E_{hxyzl} est l'effet résiduel du modèle dans chaque lieu (une variance par lieu).

Analyse du dispositif testeur

L'analyse du dispositif testeur a été réalisée de façon séparée pour chacun des groupes hétérotiques (denté et corné) en analysant conjointement les hybrides obtenus avec les deux testeurs du groupe complémentaire.

Modèle MTc.1 : Décomposition de la variance sans la prise en compte des effets familles et de l'effet des lignées sélectionnées dans le dispositif testeurs cornés.

$$Y_{hxyzl} = \mu + \lambda_l + \tau_k \times t_k + M_m + (P_k + (PM)_{(km)}) \times (1 - t_k) + B_{zm(l)} \times d_l + (R_{xm(l)} + C_{ym(l)}) \times (1 - d_l) + E_{hxyzl}$$

$$\begin{array}{cccc} P_k \hookrightarrow N(0, \sigma_p^2) & (PM)_{(km)} \hookrightarrow N(0, \sigma_{(PM)}^2) & B_{zm(l)} \hookrightarrow N(0, \sigma_{Bm_l}^2) & R_{xm(l)} \hookrightarrow N(0, \sigma_{Rm_l}^2) \\ C_{ym(l)} \hookrightarrow N(0, \sigma_{Cm_l}^2) & E_{hxyzl} \hookrightarrow N(0, \sigma_{E_l}^2) & B_{zm(l)} \perp R_{xm(l)} \perp C_{ym(l)} \perp E_{hxyzl} & \end{array}$$

Où Y_{hxyzl} est la performance de l'hybride h issu du croisement entre la lignée parentale dentée k et le testeur corné m évalué dans le lieu l à la ligne x , à la colonne y et au bloc z , μ la moyenne générale de tous les hybrides expérimentaux. λ_l : est l'effet du lieu l , M_m est l'effet fixe de la lignée cornée m utilisée comme testeur dans le bloc considéré (cet effet correspond à la fois à l'effet génétique testeur et à l'effet « terrain » de la zone où les hybrides obtenus avec le testeur m ont été implantés). t_k est un scalaire permettant de distinguer les hybrides témoins des autres hybrides. Il est égal à 1 si la performance correspond à celle d'un hybride témoin. Il est fixé à 0 si la performance correspond à celle d'un autre hybride. τ_k est l'effet génétique de l'hybride témoin considéré comme fixe. P_k est l'effet aléatoire de la lignée parentale k issue du croisement entre les lignées fondatrices dentées i et j , correspondant à l'AGC de la lignée, $(PM)_{(km)}$ est l'effet aléatoire de l'interaction entre la lignée parentale dentée k et le testeur corné m , correspondant à l'ASC. d_l est un scalaire fixé à 1 si la correction spatiale correspond à un effet bloc ou 0 elle correspond à des effets lignes et colonnes, $B_{zm(l)}$ est l'effet aléatoire associé au bloc z du testeur m dans l'environnement l (une variance par lieu et par testeur), $R_{xm(l)}$ (respectivement $C_{my(l)}$) est l'effet aléatoire associé à la ligne x (respectivement à la colonne y) du testeur m dans l'environnement l (une variance par lieu et par testeur pour chaque effet), E_{hxyzl} est l'effet résiduel associé au modèle dans le dispositif avec les testeurs cornés. Le choix du modèle spatial a été réalisé de façon similaire à celui fait pour le dispositif factoriel.

Modèle MTc.2 : décomposition de la variance dans le dispositif avec les testeurs cornés, avec la prise en compte des effets familles et sans prise en compte de l'effet des lignées sélectionnées.

$$Y_{hxyzl} = \mu + \lambda_l + M_m + \tau_k \times t_k + (\alpha_{ij} + (\alpha M)_{ijm} + P^*_k + (P^*M)_{(km)}) \times (1 - t_k) + B_{zm(l)} \times d_l + (R_{xm(l)} + C_{ym(l)}) \times (1 - d_l) + E_{hxyzl}$$

$$\begin{array}{cccc} P^*_k \hookrightarrow N(0, \sigma_{P^*}^2) & (P^*M)_{(km)} \hookrightarrow N(0, \sigma_{(P^*M)}^2) & B_{zm(l)} \hookrightarrow N(0, \sigma_{Bm_l}^2) & R_{xm(l)} \hookrightarrow N(0, \sigma_{Rm_l}^2) \\ C_{ym(l)} \hookrightarrow N(0, \sigma_{Cm_l}^2) & E_{hxyzl} \hookrightarrow N(0, \sigma_{E_l}^2) & B_{zm(l)} \perp R_{xm(l)} \perp C_{ym(l)} \perp E_{hxyzl} & \end{array}$$

Où Y_{hxyzl} , μ , λ_l , M_m , $\tau_{k(ii')m}$, t_k , $B_{zm(l)}$, $R_{xm(l)}$, $C_{ym(l)}$ et d_l sont définis comme dans le modèle MTc.1. α_{ij} est l'effet génétique de la famille d'origine cornée des lignées parentales issues du croisement entre les lignées fondatrices dentées i et j , $(\alpha M)_{ijm}$ est l'effet de l'interaction entre la famille d'origine de la lignée parentale dentée et le testeur corné. P^*_k est l'effet aléatoire intra-famille de la lignée parentale k issue du croisement entre les lignées fondatrices dentées i et j , $(P^*M)_{(km)}$ est l'effet aléatoire intra-famille de l'interaction entre la lignée parentale dentée k et le testeur corné m . E_{hxyzl} est l'effet résiduel associé au modèle dans le dispositif testeurs avec les cornés.

Pour le dispositif avec les testeurs dentés, des modèles similaires ont été appliqués pour définir les modèles MTd.1 et MTd.2 (non présentés).

Impact de la sélection sur les performances et sur les composantes de la variance.

Par ailleurs, pour chacun de ces 6 modèles, un autre modèle a été dérivé, en incluant en plus un effet « élite » en fixe et en hiérarchisant les variances hybrides par type d'hybrides (élites ou non). Par analogie aux précédents modèles, ceux-ci sont par la suite appelés : MF^s.1 et MF^s.2 pour le factoriel, MTc^s.1 et MTc^s.2 pour les testeurs cornés et MTd^s.1 et MTd^s.2 pour les testeurs dentés. Ces modèles permettent de tester l'écart de performance entre les hybrides issus de lignées sélectionnées et les autres et donc d'estimer des progrès génétiques au niveau global et intra-famille. De même, ces modèles permettront la comparaison des composantes de la variance des hybrides élites par rapport à celles des autres hybrides afin d'évaluer l'impact de la sélection sur les variances d'AGC et d'ASC.

Calcul des Héritabilités au sens large

Les héritabilités au sens large H^2 pour chaque dispositif (factoriel, hybrides avec testeur corné, hybrides avec testeur denté) ont été calculées suivant la formule $H^2 = \frac{\sigma_H^2}{\sigma_H^2 + (\frac{\sigma_E^2}{nrepH})}$ avec σ_H^2 étant la variance génétique (intra-famille ou non) des hybrides calculée en faisant la somme des composantes AGC et ASC, σ_E^2 la variance résiduelle moyenne avec $\sigma_E^2 = \frac{\sum_{l=1}^{nrepH_1} (nrepH_1 \times \sigma_{E_l}^2)}{\sum_{l=1}^{nrepH_1} nrepH_1}$ où $nrepH_1$ est le nombre moyen de répétitions d'un hybride pour l'essai l , $nrepH$ est le nombre moyen de répétitions d'un hybride expérimental dans l'ensemble des essais. La part de variance génétique intra-famille dans la variance globale a été calculée selon la formule $\%H^* = \frac{\sigma_{H^*}^2}{\sigma_H^2}$ avec σ_H^2 étant la variance génétique des hybrides et $\sigma_{H^*}^2$ la variance génétique intra-famille des hybrides. Dans le cas du dispositif factoriel, σ_H^2 et $\sigma_{H^*}^2$ sont égales à la somme des composantes d'AGC et ASC globales ou intra-famille. Dans le cas du dispositif testeur, $\sigma_{H^*}^2 = (\sigma_{P^*}^2 + \sigma_{(P^*M)}^2)$ et $\sigma_H^2 = (\sigma_P^2 + \sigma_{(PM)}^2)$; cf modèles MT.1 et MT.2. De même, pour le dispositif factoriel, la part de l'ASC dans la variance génétique a été calculée selon la formule $\%ASC = \frac{\sigma_{(PP')}^2}{\sigma_P^2 + \sigma_{P'}^2 + \sigma_{(PP')}^2}$ avec σ_P^2 , $\sigma_{P'}^2$ et $\sigma_{(PP')}^2$ respectivement la variance de l'AGC des lignées cornées, celle des lignées dentées et celle de l'ASC. Dans le cas du dispositif testeur, $\%ASC = \frac{\sigma_{(PM)}^2}{\sigma_P^2 + \sigma_{(PM)}^2}$. Pour le

modèle décomposant la variance hybride et prenant en considération les effets familles, la part d'ASC intra-famille a été calculée selon une formule similaire mais en considérant les variances d'AGC et d'ASC intra-familles.

BLUP des AGC et calcul des moyennes ajustées

Les différents essais ont été analysés conjointement en considérant, si besoin, pour chacun la correction spatiale adéquate selon le critère d'AIC. Cela a permis d'estimer les BLUP des effets terrains (lignes-colonnes ou bloc) et celles des effets génétiques (hybride) pour chaque dispositif dans chaque essai. Les BLUP des effets génétiques (hybride) ont été utilisés pour comparer les estimations faites par le dispositif factoriel avec celles issues des dispositifs testeurs et pour la validation des modèles de prédictions génomiques calibrés sur les données de la première phase du projet. Les BLUP des effets des effets terrain (ligne/colonne ou bloc) ont été soustraits aux données phénotypiques initiales afin d'obtenir les données phénotypiques corrigées des effets terrain. Enfin, les données corrigées des effets terrain ont été utilisées dans un modèle linéaire simple pour calculer une performance moyenne corrigée des effets terrains et ajustée pour les effets lieux de chacun des hybrides par dispositif.

Modèle M4 : modèle linéaire simple calculant les moyennes ajustées des hybrides de chaque dispositif

$$Y_{hrl}^* = \mu + \lambda_l + \gamma_h + \varepsilon_{hrl}$$

Où, pour le dispositif considéré, Y_{hrl}^* est la performance corrigée des effets terrains de la répétition r de l'hybride h dans le lieu l , μ est l'intercept, λ_l est l'effet du lieu l , γ_h est l'effet génétique de l'hybride h et ε_{hrl} la résiduelle dont la variance dépend du lieu. Dans ce modèle, l'effet hybride est considéré comme fixe. Les moyennes ajustées ont été utilisés pour calculer les corrélations entre caractères pour une comparaison entre dispositifs mais aussi avec celles présentées dans le chapitre I.

Résultats et discussion

Corrélations entre caractères de productivité et de digestibilité

Les performances ont été corrigées des effets terrain et les moyennes ajustées ont été calculées sur les 8 lieux pour chaque dispositif (« factoriel », « testeurs cornés » et « testeurs dentés ») et pour chacun des caractères. Les moyennes ajustées ont été utilisées pour calculer les corrélations phénotypiques (figure 4) entre les différents caractères analysés dans chaque dispositif.

Les trois dispositifs considérés estiment des corrélations entre caractères similaires et confirment les résultats obtenus sur les données analysées dans le chapitre I. Les corrélations entre caractères de productivité (DMY) et caractères de qualité (MFU et DINAG) restent négatives dans les trois dispositifs.

La corrélation négative entre le rendement ensilage (DMY) et la valeur énergétique (MFU) est plus faible chez les hybrides entre lignées dentées croisées aux testeurs cornés (-0.41) en comparaison avec la valeur trouvée dans le dispositif SAMMCR1 (-0.53). En revanche, cette corrélation est plus élevée sur les performances des hybrides du factoriel (-0.63) et sur les hybrides entre lignées cornées et testeurs dentés (-0.68).

Le RPU qui est une combinaison linéaire des caractères DMC, DMY, et MFU est très corrélé au DMY (0.74 à 0.88 suivant le dispositif). Ceci est dû au fait que le poids du DMY dans l'index est plus élevé que celui du MFU. La faible corrélation entre RPU et DMC est attendue car DMC est utilisé comme pénalité pour éviter de sélectionner des hybrides productifs mais ayant une DMC trop faible. Le rendement pondéré UFL (RPU) est nettement plus corrélé aux autres caractères dans le dispositif factoriel que dans les dispositifs testeurs.

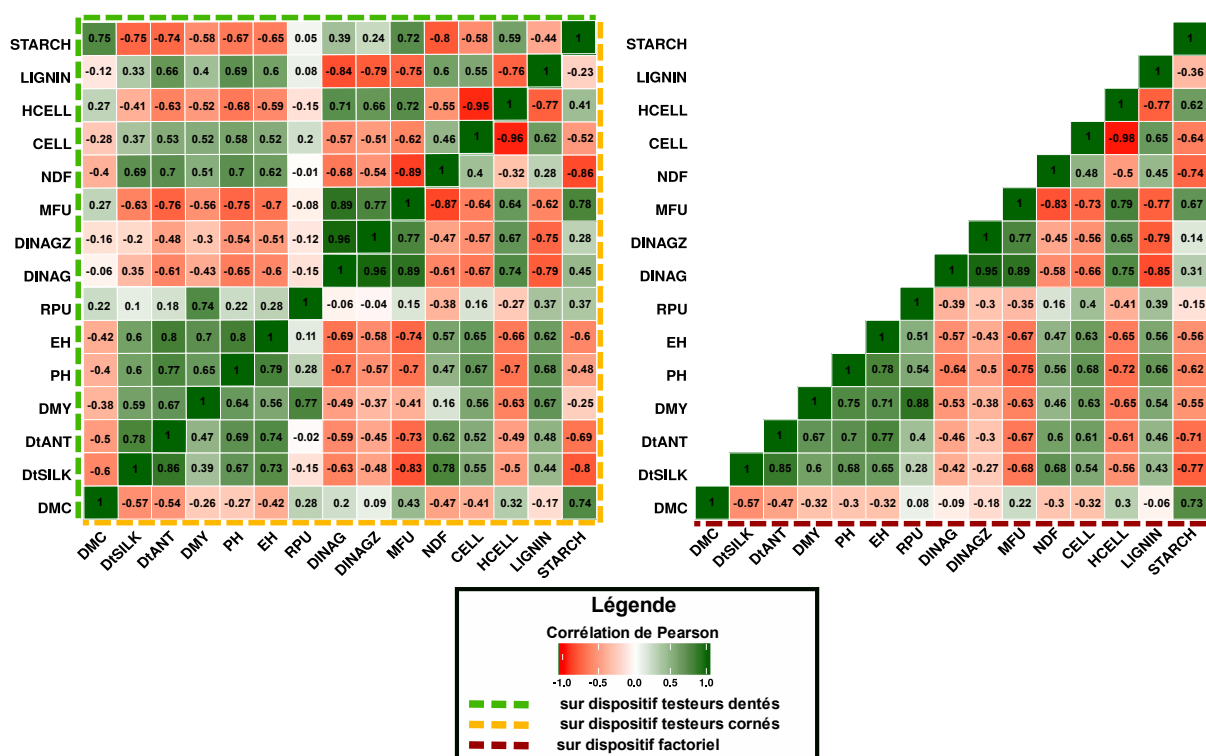


Figure 4: Corrélations entre caractères de productivité et de digestibilité par dispositif

Décomposition de la variance génétique

Les résultats montrent des variances d'AGC relativement similaires entre le dispositif factoriel et les dispositifs testeurs (Tableau 2). La variance des lignées dentées (AGC dentée) est généralement plus élevée que celle des lignées cornées pour les caractères de productivité (DMY, PH, EH) et pour les caractères de qualité (sauf le NDF) quel que soit le type de dispositif (factoriel ou testeurs). Elle représente entre 53% (DMY) et 79% (LIGNIN) de la variance génétique totale du dispositif factoriel (Figure 4) alors qu'elle est plus faible pour les caractères de précocité (DMC, DtSILK et DtANT), les teneurs en paroi (NDF) et en amidon (STARCH) et l'index RPU. Les variances d'ASC sont légèrement plus faibles dans le dispositif factoriel que dans les deux dispositifs testeurs (Tableau 2). Cela peut être expliqué par la disposition non aléatoire des hybrides sur testeurs sur le terrain pouvant induire une confusion des effets testeurs avec les effets terrains et le fait que les testeurs ont été choisis pour être contrastés.

Tableau 2: Décomposition de la variance pour les caractères agronomiques et de qualité de l'ensilage avec les modèles ne prenant pas en compte les effets familles ni l'effet de la sélection (M1.1, M2.1 et M3.1 respectivement pour les dispositifs factoriel, testeurs cornés et testeurs dentés).

Caractère	Dispositif	AGC dentée		AGC cornée		Variance AGC totale	ASC *	
		Var	Se	Var	se		Var	se
DMY	factoriel ^a	0.741	0.137	0.579	0.112	1.32	0.088	0.028
	dentées/ cornés ^b	T 0.716	0.132			1.257 ^d	0.147	0.044
	cornées/ dentés ^c	T		0.541	0.099		0.096	0.033
PH	factoriel ^a	124.35	20.67	58.277	10.311	182.62	0.732	1.906
	dentées/ cornés ^b	T 117.92	19.048			177.56 ^d	2.355	2.466
	cornées/ dentés ^c	T		59.623	11.849		21.654	5.204
EH	factoriel ^a	71.26	12.845	46.92	9.086	118.18	4.121	3.07
	dentées/ cornés ^b	T 72.433	12.732			112.12 ^d	2.008	3.267
	cornées/ dentés ^c	T		39.682	8.954		11.88	5.311
RPU	factoriel ^a	0.299	0.064	0.413	0.082	0.712	0.062	0.033
	dentées/ cornés ^b	T 0.257	0.068			0.54 ^d	0.11	0.048
	cornées/ dentés ^c	T		0.283	0.06		0.026	0.031
DMC	factoriel ^a	1.265	0.223	2.637	0.427	3.902	0.212	0.058
	dentées/ cornés ^b	T 1.864	0.325			4.912 ^d	0.227	0.084
	cornées/ dentés ^c	T		3.048	0.504		0.358	0.09
DtSILK	factoriel ^a	0.757	0.132	1.478	0.242	2.235	0.103	0.029
	dentées/ cornés ^b	T 0.652	0.113			1.753 ^d	0.061	0.027
	cornées/ dentés ^c	T		1.101	0.192		0.174	0.051
DtANT	factoriel ^a	0.889	0.168	1.602	0.279	2.491	0.167	0.049
	dentées/ cornés ^b	T 0.954	0.177			2.384 ^d	0.169	0.061
	cornées/ dentés ^c	T		1.43	0.268		0.377	0.099
DINAG	factoriel ^a	2.155	0.36	1.235	0.22	3.39	0	

Chapitre III : Validation expérimentale de la prédiction de la valeur hybride

	dentées/ cornés ^b	T	2.792	0.458			4.183 ^d	0.034	0.074
	cornées/ dentés ^c	T			1.391	0.252		0.091	0.083
DINAGZ	factoriel ^a		1.886	0.328	1.043	0.202	2.929	0	NA
	dentées/ cornés ^b	T	2.649	0.451			3.855 ^d	0	NA
	cornées/ dentés ^c	T			1.206	0.246		0.115	0.119
MFU (x10 ⁴)	factoriel ^a		1.706	0.299	1.666	0.296	3.372	0.003	0.059
	dentées/ cornés ^b	T	2.197	0.384			3.754 ^d	0.185	0.099
	cornées/ dentés ^c	T			1.557	0.282		0.119	0.091
STARCH	factoriel ^a		2.142	0.422	5.475	0.931	7.617	0.623	0.183
	dentées/ cornés ^b	T	2.38	0.464			6.977 ^d	0.325	0.187
	cornées/ dentés ^c	T			4.597	0.867		1.142	0.326
NDF	factoriel ^a		0.767	0.152	1.381	0.247	2.148	0.063	0.069
	dentées/ cornés ^b	T	0.942	0.204			2.491 ^d	0.169	0.107
	cornées/ dentés ^c	T			1.549	0.299		0.226	0.123
CELL	factoriel ^a		0.385	0.071	0.267	0.053	0.652	0	NA
	dentées/ cornés ^b	T	0.452	0.086			0.685 ^d	0.035	0.034
	cornées/ dentés ^c	T			0.233	0.053		0.019	0.03
HCELL	factoriel ^a		0.927	0.159	0.415	0.08	1.342	0	NA
	dentées/ cornés ^b	T	0.951	0.165			1.332 ^d	0.036	0.043
	cornées/ dentés ^c	T			0.381	0.076		0	NA
LIGNIN	factoriel ^a		0.136	0.022	0.037	0.007	0.173	0	NA
	dentées/ cornés ^b	T	0.121	0.02			0.171 ^d	0	NA
	cornées/ dentés ^c	T			0.05	0.009		0.001	0.003

^a MF.1 sur dispositif factoriel ; ^b MTc.1 sur dispositif avec les lignées dentées croisées aux testeurs cornés ; ^c MTd.1 sur dispositif avec les lignées cornées croisées aux testeurs dentés ; ^d somme des AGCs des deux dispositifs testeurs ; * pour MTc.1 et MTd.1, l'ASC correspond à l'interaction testeur x lignée

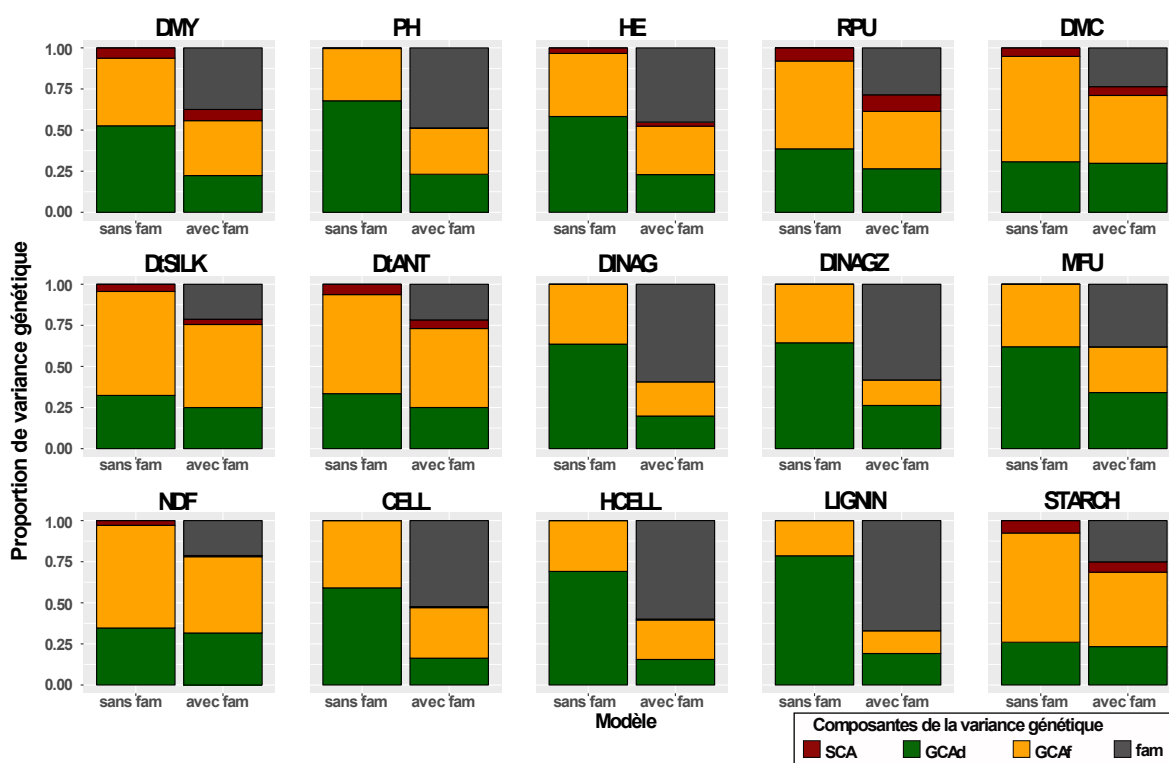


Figure 5: Décomposition de la variance génétique pour les caractères agronomiques et de qualité dans le dispositif factoriel.

Les tests statistiques des effets fixes pour les modèles incluant les effets familles ont mis en évidence des effets familles cornés et dentés significatifs (résultat non présenté).

La variance génétique intra-famille des lignées dentées varie entre 19% pour la teneur en lignine (LIGNIN) et 99% pour la teneur en matière sèche (DMC) dans le dispositif testeurs cornés (Tableau 3). Elle représente plus de la moitié de la variance génétique pour tous les caractères dans le dispositif testeurs dentés. Dans les dispositifs factoriel et testeurs cornés, la variance intra-famille représente plus de la moitié de la variance génétique pour les caractères de précocités (DMC, DtSILK et DtANT), l'index RPU, les teneurs en paroi (NDF) et en amidon (STARCH). La part relative de la variance intra-famille est en moyenne plus faible pour les caractères de qualité de l'ensilage que pour les caractères agronomiques.

Tableau 3: Part de variance génétique intra-famille et héritabilités au sens large pour les caractères agronomiques et de digestibilité sur les modèles prenant en compte ou non les effets familles et décomposant la variance hybride.

Caractère	Factoriel			Lignées dentées sur testeurs cornés			Lignées cornées sur testeurs dentés		
	% var	H2	H2	% var	H2	H2	% var	H2	H2
	intra-fam	(MF.1)	intra-fam (MF.2)	intra-fam	(MTc.1)	intra-fam (MTc.2)	intra-fam	(MTd.1)	intra-fam (MTd.2)
DMY (t /ha)	52	0.89	0.8	43	0.86	0.72	80	0.85	0.82
PH (cm)	44	0.91	0.82	30	0.9	0.73	90	0.87	0.86
EH (cm)	48	0.82	0.68	41	0.78	0.6	88	0.65	0.62
RPU (t /ha)	64	0.75	0.66	58	0.62	0.49	65	0.64	0.54
DMC (% MF ^a)	75	0.91	0.88	99	0.86	0.86	56	0.93	0.88
DtSILK (jour ^b)	73	0.92	0.89	57	0.84	0.75	83	0.87	0.85
DtANT (jour)	71	0.9	0.86	60	0.84	0.76	87	0.88	0.86
DINAG (% MS ^c)	37	0.86	0.69	33	0.87	0.68	65	0.77	0.69
DINAGZ (% MS)	42	0.75	0.55	37	0.79	0.58	61	0.67	0.55
MFU (UFL /kg)	47	0.84	0.72	37	0.81	0.62	66	0.75	0.66
NDF (% MS)	76	0.78	0.73	66	0.68	0.58	74	0.76	0.7
CELL (% NDF)	41	0.53	0.32	37	0.55	0.31	61	0.36	0.26
HCELL (% NDF)	35	0.71	0.46	29	0.72	0.43	68	0.44	0.34
LIGNIN (% NDF)	31	0.85	0.63	19	0.82	0.48	70	0.69	0.61
STARCH (% MS)	70	0.87	0.83	81	0.74	0.7	74	0.85	0.81

^a: matière fraîche ; ^bnombre de jours après le 1^{er} janvier ; ^cpourcentage de matière sèche

Les héritabilités sont relativement élevées pour tous les caractères dans les 3 dispositifs sauf pour la teneur en cellulose (CELL). Elles varient entre 0.36 (CELL, dispositif testeurs dentés) et 0.93 (DMC, dispositif testeurs dentés) (Tableau 3). L'héritabilité est plus élevée pour les caractères de précocité (entre 0.84 pour les deux floraisons et 0.93 pour la teneur en matière sèche) et plus faible pour les caractères de qualité (entre 0.36 pour la teneur en cellulose et 0.87 pour la teneur en amidon). Les héritabilités intra-famille sont plus faibles pour tous les caractères et varient entre 0.26 (CELL, dispositif testeurs dentés) et 0.88 (DMC, dispositifs factoriel et testeurs dentés). De façon générale, les héritabilités sont plus élevées dans le dispositif factoriel pour tous les caractères sauf pour DMC (dispositif testeurs dentés), DINAG, DINAGZ, CELL et HCELL (dispositif testeurs cornés).

Effet de la sélection sur les performances des individus sélectionnés : progrès génétique

Le progrès génétique sur les hybrides sélectionnés a été estimé à partir des modèles prenant en compte l'effet « élite / non élite », décomposant l'effet génétique hybride en AGCs + ASC et considérant ou non les effets de la structuration en famille. Ainsi, quatre modèles ont été analysés par caractère et par dispositif.

Tableau 4: Effet de la sélection des individus élites et le niveau de significativité pour tous les caractères. Les modèles considèrent un effet élite fixe et décomposent l'effet hybride en AGCs et ASC (aléatoires) avec une variance par composante et par type d'hybride (élites, aléatoires). Niveaux de significativité : '***' : 0.001 ; '**' : 0.01 ; '*' : 0.05 ; 'ns' : > 0.05.

Caractères	Composante	Factoriel		Lignées dentées sur testeurs cornés		Lignées cornées sur testeurs dentés	
		<i>effet</i>	<i>p</i> <i>valeur</i>	<i>effet</i>	<i>p</i> <i>valeur</i>	<i>effet</i>	<i>p</i> <i>valeur</i>
DMY	Élite	1,841	0 (***)	1,08	0 (***)	0,666	0 (***)
	élite intra-famille	1,136	0 (***)	0,45	0 (***)	0,378	0 (***)
PH	Élite	18,113	0 (***)	11,227	0 (***)	4,401	0,015 (*)
	élite intra-famille	9,973	0 (***)	2,942	0 (***)	3,75	0,016 (*)
EH	Élite	14,469	0 (***)	7,785	0 (***)	4,65	0,004 (**)
	élite intra-famille	5,366	0 (***)	1,882	0 (***)	1,991	0,004 (**)
RPU	Élite	1,154	0 (***)	0,664	0 (***)	0,44	0 (***)
	élite intra-famille	0,844	0 (***)	0,338	0 (***)	0,281	0 (***)
DMC	Élite	-0,448	0,273 (ns)	-0,409	0,206 (ns)	0,148	0,708 (ns)
	élite intra-famille	-0,088	0,227 (ns)	-0,291	0,207 (ns)	0,279	0,639 (ns)
DtSILK	Élite	1,342	0 (***)	0,815	0 (***)	0,407	0,086 (ns)
	élite intra-famille	0,596	0 (***)	0,438	0 (***)	0,183	0,08 (ns)
DtANT	Élite	2,074	0 (***)	1,095	0 (***)	0,87	0,003 (**)
	élite intra-famille	1,199	0 (***)	0,518	0 (***)	0,465	0,003 (**)
DINAG	Élite	-1,886	0 (***)	-1,405	0 (***)	-0,571	0,032 (*)
	élite intra-famille	-0,326	0 (***)	-0,158	0 (***)	-0,252	0,012 (*)
DINAGZ	Élite	-1,31	0 (***)	-1,016	0,004 (**)	-0,276	0,306 (ns)
	élite intra-famille	0,003	0 (***)	0,075	0 (***)	-0,112	0,219 (ns)
MFU	Élite	-0,022	0 (***)	-0,013	0 (***)	-0,008	0,004 (**)
	élite intra-famille	-0,008	0 (***)	-0,003	0 (***)	-0,003	0,001 (***)
NDF	Élite	1,27	0 (***)	0,574	0,039 (*)	0,69	0,013 (*)
	élite intra-famille	0,89	0 (***)	0,369	0,023 (*)	0,224	0,008 (**)
CELL	Élite	1,094	0 (***)	0,637	0 (***)	0,508	0 (***)
	élite intra-famille	0,442	0 (***)	0,194	0 (***)	0,252	0 (***)
HCELL	Élite	-1,498	0 (***)	-0,902	0 (***)	-0,453	0,002 (**)

	élite famille	intra-	-0,529	0 (***)	-0,18	0 (***)	-0,232	0,001 (***)
LIGNIN	Élite		0,404	0 (***)	0,339	0 (***)	-0,01	0,882 (ns)
	élite famille	intra-	0,076	0 (***)	0,037	0 (***)	-0,016	0,798 (ns)
STARCH	Élite		-2,666	0 (***)	-0,93	0,036 (*)	-1,125	0,02 (*)
	élite famille	intra-	-1,452	0 (***)	-0,464	0,028 (*)	-0,522	0,019 (*)

Quel que soit le modèle et le dispositif considéré, l'effet élite (réponse à la sélection) est hautement significatif pour tous les caractères sauf pour DMC (ensemble des dispositifs), DtSILK, DINAGZ et LIGNIN pour lesquels, l'effet élite est non significatif chez les hybrides issus du croisement entre les lignées cornées et les testeurs dentés (Tableau 4). L'absence d'effet élite significatif pour DMC est conforme à nos objectifs de sélection. En effet, l'index RPU utilisé n'a pas vocation à sélectionner ce caractère mais vise à pénaliser les individus très tardifs qui sont souvent moins secs et présentent une trop faible DMC.

De façon générale, les effets « élites » estimés par les deux dispositifs « testeur » vont dans le même sens pour tous les caractères à l'exception des teneurs en matière sèche (DMC) et en lignine (LIGNIN) pour lesquels, ils sont non significatifs.

Conformément aux objectifs de sélection, les effets « élites » sont positifs pour tous les caractères de productivité DMY et RPU (progrès génétique). Selon le type d'hybride considéré, le progrès génétique varie de +0.38 à +1.84 tMS/ha (DMY), et entre +0.28 et +1.15 tMS/ha (RPU). La sélection sur le DMY et le RPU s'est accompagnée d'une augmentation de la taille des plantes de +2.94 à +18.11 cm (PH) ainsi que de la hauteur de l'épi +1.88 à +14.47 cm (EH). Le progrès génétique pour le rendement ensilage dans le factoriel est considérable sachant que le progrès annuel réalisé pour ce caractère est presque dix fois moins important (0.17t/ha/an).

Parallèlement, le progrès sur les caractères de productivité a engendré une évolution défavorable à la fois sur les dates de floraison mâle et femelle (plus tardives) ainsi que sur la valeur énergétique (moins énergétique) et ses composantes principales (parois moins digestibles et plantes avec moins d'amidon). L'évolution sur la date de floraison mâle (entre 0.47 et 2.07 j) est plus forte que celle sur la floraison femelle (entre 0.18 et 1.34 j). La nette différence entre ces 2 caractères suggère que la sélection a réduit l'intervalle entre floraisons mâle et femelle (ASI). Cette diminution est potentiellement favorable.

L'impact de la sélection sur la valeur énergétique (MFU) est préoccupant et varie de -0.003 à -0.022 UFL/kgMS selon le dispositif. C'est une diminution importante car 0.05 point d'UFL correspond à 2L de lait/vache/jour et équivaut à la diminution observée sur les hybrides enregistrés dans le catalogue officiel français entre 1985 et 2000 (Barrière et Emile, 2000). Cette évolution défavorable de la valeur énergétique peut s'expliquer par la corrélation négative (figure 4 et chapitre I) avec le rendement et par le fait que les pondérations économiques attribuées aux caractères dans le RPU n'ont pas pénalisé suffisamment la dégradation de qualité.

La réponse à la sélection observée est plus forte, en valeur absolue, dans le dispositif factoriel que dans les dispositifs testeurs pour tous les caractères. La valeur absolue de la réponse sur le

dispositif factoriel est supérieure à celle de la somme des réponses estimées sur les dispositifs testeurs pour tous les caractères agronomiques. Cette différence peut atteindre +0.31 (DMY), +3.28 (PH), +2.03 (EH), +0.23 (RPU), +0.19 (DtSILK), +0.12 (DtSILK) et +0.22 (DtANT). Elle est plus mitigée pour les caractères de qualité pouvant atteindre -0.09 (DINAG), -0.03 (DINAGZ), +0.002 (MFU), +0.3 (NDF), -0.05 (CELL), +0.14 (HCELL), +0.08 (LIGNIN) et +0.61 (STARCH). Cela est dû, d'une part, au fait que le factoriel révèle le progrès réalisé à la fois sur les deux groupes alors que les testeurs ne révèlent que la réponse dans un groupe. D'autre part, le progrès observé au niveau du factoriel bénéficie aussi des effets d'ASC et/ou s'affranchit du biais de l'effet des testeurs qui peuvent masquer une partie de la variabilité génétique. De manière intéressante, seuls les caractères avec une très faible variance d'ASC ont une réponse cumulée des dispositifs testeurs plus élevée que celle obtenue sur le factoriel.

En ne considérant que les modèles sans prise en compte de la structuration en famille, l'effet élite est supérieur sur les lignées dentées pour les caractères de productivité (DMY, PH, EH, RPU) que sur les lignées cornées. Il en est de même pour les caractères de qualité sauf pour les teneurs en paroi (NDF) et en amidon (STARCH). Pour ces derniers, l'effet élite est supérieur pour les lignées cornées. Ces résultats sont cohérents avec ceux observés sur les variances de ces caractères pour les deux groupes corné et denté.

L'effet élite intra-famille (modèle avec effets familles) est inférieur à l'effet élite global (modèle sans effets familles) pour tous les caractères. Cela est en accord avec le fait que les effets familles sont significatifs et signifie qu'une partie de l'effet élites est due aux effets familles. Ceci est cohérent avec le fait que les lignées « élites » proviennent d'un nombre réduit de familles.

Malgré la baisse sur la valeur énergétique moyenne des hybrides sélectionnés, certains hybrides de la phase 2 ont un profil intéressant en comparaison avec les deux témoins commerciaux ce qui souligne l'intérêt de ce matériel en sélection (Figure 6).

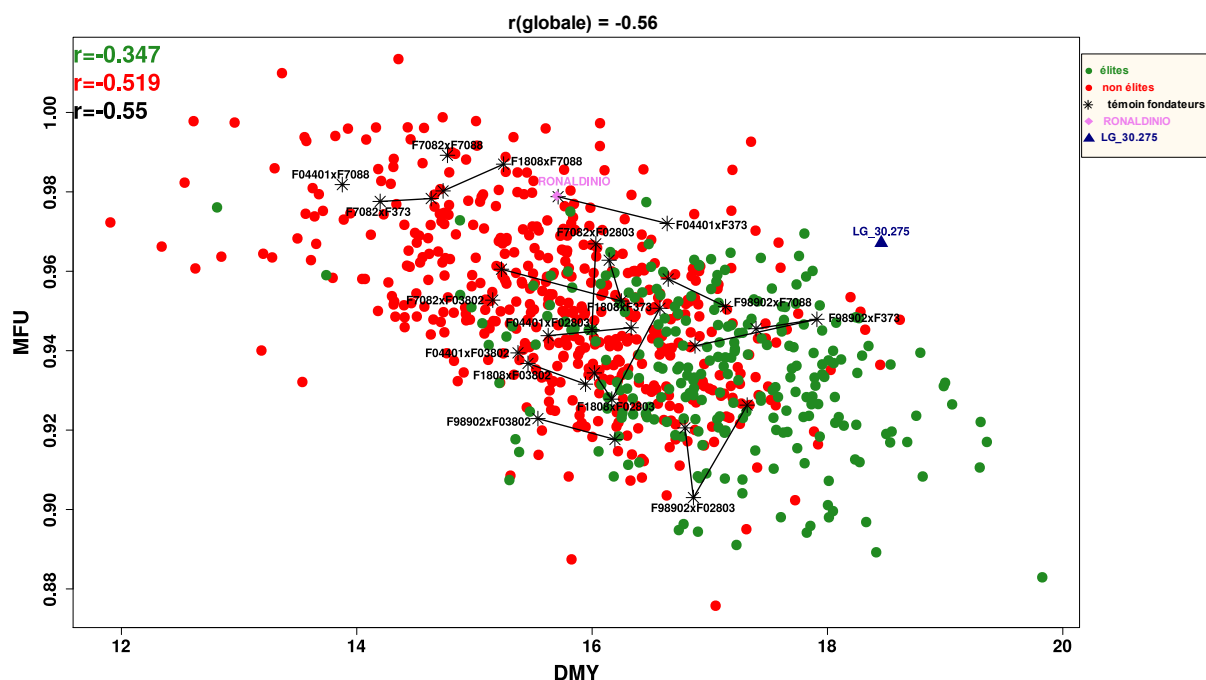


Figure 6: Nuage de points des performances ajustées (calculées par dispositif) pour le rendement et la valeur énergétique de l'ensemble des hybrides évalués dans les 3 différents dispositifs. Les points verts représentent la performance des hybrides dont les parents sont sélectionnés et les points rouges les

hybrides descendants des lignées choisies aléatoirement. Les traits relient les performances des hybrides fondateurs évalués dans les différents dispositifs.

Impact de la sélection sur la variance génétique

Étant donné que la sélection des meilleures lignées ne s'est faite que sur la base des AGC, il est attendu que la variance d'AGC des lignées sélectionnées soit plus faible que celle des lignées choisies au hasard du fait que ces dernières sont censées représenter la variabilité génétique globale, intra et inter familles de lignées, tandis que les lignées élites ne représentent qu'une partie de la variabilité à cause de la sélection.

Tableau 5: Décomposition de la variance pour les caractères agronomiques et de qualité sélectionnés sur les trois dispositifs. Les modèles considérés prennent en compte l'effet élite en fixe et décomposant la variance hybride en composantes AGCs et ASC élites en considérant une variance différente pour chaque composante élite et aléatoire.

Trait	Dispositif	Composante	AGC denté		AGC corné		ASC	
			Var	sd	Var	sd	Var	sd
DMY	Factoriel	élites	0.316	0.105	0.544	0.169	0.087	0.046
		aléatoires	0.554	0.119	0.334	0.079	0.093	0.035
	dentées/ T cornés	élites	0.237	0.099			0.081	0.062
		aléatoires	0.565	0.137			0.176	0.059
	cornées/ T dentés	élites			0.464	0.150	0.066	0.053
		aléatoires			0.440	0.105	0.112	0.045
RPU	Factoriel	élites	0.173	0.070	0.389	0.127	0.043	0.052
		aléatoires	0.256	0.067	0.241	0.065	0.083	0.043
	dentées/ T cornés	élites	0.061	0.061			0.037	0.067
		aléatoires	0.210	0.078			0.138	0.063
	cornées/ T dentés	élites			0.142	0.082	0.089	0.073
		aléatoires			0.292	0.071	0.000	NA
DMC	Factoriel	élites	0.886	0.276	1.619	0.472	0.150	0.086
		aléatoires	1.456	0.312	3.133	0.616	0.245	0.076
	dentées/ T cornés	élites	1.231	0.439			0.411	0.200
		aléatoires	2.148	0.442			0.149	0.086
	cornées/ T dentés	élites			2.576	0.753	0.312	0.145
		aléatoires			3.329	0.673	0.380	0.114
MFU	Factoriel	élites	1.075	0.331	0.985	0.311	0.000	0.000
		aléatoires	1.566	0.329	1.544	0.328	0.073	0.082
	dentées/ T cornés	élites	1.268	0.417			0.066	0.142

	aléatoires	2.095	0.456		0.235	0.128
cornées/ T dentés	élites		0.748	0.329	0.356	0.221
	aléatoires		1.772	0.369	0.001	0.000

La décomposition de la variance en AGC des lignées élites et AGC des lignées aléatoires sur les caractères sélectionnés montre des résultats similaires entre les trois dispositifs (Tableau 5). La différence entre la variance AGC des lignées élites et celle des aléatoires va toujours dans le sens attendu (aléatoire > élite) pour l'AGC dentée, par exemple +0.33 (DMY, testeur corné), +0.08 (RPU, factoriel) +0.92 (DMC, testeur corné). Pour l'AGC cornée, cette différence est cohérente avec l'attendu pour la teneur en matière sèche (DMC, respectivement +0.75 à +1.52 dans les dispositifs testeurs dentés et factoriel), la valeur énergétique (MFU, respectivement +0.56 à +1.86, dans les dispositifs testeurs dentés et factoriel) et l'index (RPU, +0.15 dans le dispositif testeurs dentés). Pour tous les autres cas, cette différence est à l'inverse de ce qui est attendu (-0.02 et -0.21 pour l'AGC cornée de DMY dans les dispositifs testeurs dentés et factoriel) et (-0.02, dans le factoriel pour le RPU). Cependant, il est important de noter que les précisions d'estimation des variances sont assez faibles notamment pour la population des « élites ». La plus faible variance des élites dentés par rapport aux non élites observée pour DMY est cohérente avec le progrès génétique observé plus important au niveau des dentés que des cornés.

Comparaison des variances estimées dans les dispositifs factoriels SAMMCR1 et SAMMCR2 (considérant que les hybrides aléatoires)

Les variances des AGC cornées et dentées sont globalement du même ordre de grandeur entre les dispositifs factoriels SAMMCR1 et SAMMCR2 mais elles sont souvent plus forte pour SAMMCR2 que SAMMCR1. Il en est de même pour la variance hybride totale. Cependant, pour les ASC, les variances sont toujours plus faibles dans SAMMCR2 que dans SAMMCR1 et présentent de meilleures précisions des estimations (Table 6). Cela suggère que l'ASC était surestimée dans SAMMCR1 et/ou l'existence d'interactions ASC x conditions environnementales.

Comparaison des AGCs estimées par le dispositif factoriel et les dispositifs testeurs

Les corrélations entre les BLUP des AGC des lignées estimés par les différents dispositifs sont globalement élevées aussi bien pour les lignées élites que les aléatoires (Tableau 7). Elles varient entre 0.56 (RPU, F98902) et 0.89 (DtSILK, F1808) pour les AGCs cornées et entre 0.32 (NDF, F373) et 0.90 (PH, LIGNIN, F02803) pour les AGCs dentées. La corrélation entre les AGCs cornées estimées par les deux testeurs dentés varie entre 0.49 (CELL) et 0.84 (DMC) et celle des AGCs dentées estimées par les deux testeurs cornés varie entre 0.22 (RPU) et 0.89 (PH).

Les corrélations entre les AGCs estimées avec le factoriel et celles estimées avec les dispositifs testeurs sont plus élevées lorsque les deux testeurs d'un groupe sont analysés conjointement pour tous les caractères. Elles varient entre 0.68 (RPU) et 0.93 (DtSILK) pour les AGCs cornées et entre 0.50 (NDF) et 0.93 (LIGNIN) pour les AGCs dentées. Cela peut être expliqué par une plus grande précision de l'estimation des AGCs sur la moyenne de deux testeurs et par la réduction de la confusion entre l'AGC estimée sur testeur et l'ASC avec le testeur.

Table 6: Comparaison des variances génétiques des hybrides du dispositif factoriel de la 1^{ère} phase (sammcr1) avec celles des hybrides aléatoires du factoriel de la 2^{nde} phase (sammcr2)

Trait	AGC dentée		AGC cornée		ASC		%ASC		Hybride	
	SAMMCR2	SAMMCR1	SAMMCR2	SAMMCR1	SAMMCR2	SAMMCR1	SAMMCR2	SAMMCR1	SAMMCR2	SAMMCR1
DMY	0.55 (0.12) ^a	0.74 (0.10)	0.33 (0.08)	0.28 (0.10)	0.09 (0.04)	0.22 (0.11)	9	17	0.96 (0.01)	1.24 (0.07)
PH	109.8 (21)	92.8 (11)	60.08 (12)	42.9 (12)	1.39 (2.4)	19.3 (12)	1	12	163.2 (17)	154.7 (8)
DMC	1.46 (0.31)	0.92 (0.27)	3.13 (0.62)	2.31 (0.26)	0.25 (0.08)	0.43 (0.28)	14	12	4.91 (0.48)	3.68 (0.19)
DtSILK	0.73 (0.16)	1.26 (0.18)	1.46 (0.29)	0.74 (0.19)	0.13 (0.04)	0.39 (0.19)	6	16	2.19 (0.22)	2.38 (0.12)
DINAG	2.16 (0.43)	1.55 (0.17)	1.33 (0.28)	0.9 (0.14)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)	0	0	3.27 (0.35)	2.49 (0.14)
DINAGZ	1.95 (0.41)	1.47 (0.18)	1.21 (0.27)	0.86 (0.16)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)	0	0	2.99 (0.35)	2.37 (0.14)
MFU (x10 ⁴)	1.57 (0.33)	2.03 (0.30)	1.54 (0.33)	1.14 (0.33)	0.07 (0.08)	0.23 (0.33)	2	8	3.04 (0.33)	3.42 (0.20)
NDF	0.69 (0.17)	0.85 (0.21)	1.36 (0.30)	0.92 (0.23)	0.12 (0.09)	0.22 (0.25)	5	11	2.13 (0.25)	1.97 (0.13)
CELL	0.29 (0.06)	0.22 (0.00)	0.20 (0.05)	0.11 (0.00)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)	0	1	0.47 (0.06)	0.33 (0.00)
HCELL	0.74 (0.15)	0.56 (0.00)	0.33 (0.08)	0.2 (0.00)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)	0	0	1.03 (0.12)	0.75 (0.00)
LIGNIN	0.14 (0.03)	0.09 (0.00)	0.04 (0.01)	0.03 (0.00)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)	0	2	0.17 (0.02)	0.11 (0.00)

^a précisions des estimations des variances (écarts types d'erreur d'estimation)

Table 7: Corrélation entre les effets génétiques (blups) des lignées cornées et dentées estimées avec les différents dispositifs et les différents testeurs

Dispositif	Composante	DMY (t/ha)	PH (cm)	EH (cm)	RPU (t/ha)	DMC (% MF)	DtSILK _j ap 1er Jan	DtANT (j ap 1er Jan)	DINAG (% MS)	DINAGZ (% MS)	MFU (UFL/kg)	NDF (% MS)	CELL (% NDF)	HCELL (% NDF)	LIGNIN (% NDF)	STARCH (% MS)
Lignées cornées (testeurs dentés) vs factoriel																
<i>F98902</i>	élite	0.78	0.78	0.68	0.56	0.79	0.86	0.87	0.75	0.71	0.71	0.69	0.68	0.72	0.72	0.77
	aléatoire	0.75	0.79	0.69	0.60	0.88	0.87	0.86	0.82	0.79	0.78	0.76	0.68	0.71	0.76	0.80
<i>F1808</i>	élite	0.75	0.77	0.77	0.61	0.79	0.87	0.81	0.81	0.68	0.85	0.77	0.70	0.73	0.66	0.83
	aléatoire	0.76	0.78	0.79	0.69	0.88	0.89	0.82	0.86	0.80	0.88	0.82	0.70	0.73	0.74	0.88
<i>F98902_F1808</i>	élite	0.82	0.83	0.83	0.68	0.84	0.91	0.92	0.86	0.80	0.86	0.81	0.80	0.82	0.77	0.88
	aléatoire	0.83	0.85	0.85	0.74	0.91	0.93	0.92	0.91	0.88	0.89	0.85	0.78	0.80	0.81	0.92
Lignées cornées (testeurs dentés)																
<i>F98902 vs F1808</i>	élite	0.75	0.72	0.50	0.57	0.73	0.79	0.71	0.63	0.50	0.66	0.59	0.49	0.54	0.61	0.68
	aléatoire	0.67	0.70	0.50	0.60	0.84	0.79	0.68	0.75	0.64	0.76	0.70	0.53	0.61	0.70	0.70
Lignées dentées (testeurs cornés) vs factoriel																
<i>F373</i>	élite	0.68	0.68	0.61	0.47	0.80	0.77	0.60	0.68	0.65	0.52	0.32	0.44	0.55	0.58	0.53
	aléatoire	0.82	0.88	0.82	0.58	0.81	0.86	0.71	0.87	0.80	0.77	0.41	0.74	0.84	0.87	0.61
<i>F02803</i>	élite	0.56	0.74	0.57	0.49	0.80	0.54	0.64	0.66	0.62	0.55	0.50	0.62	0.66	0.72	0.68
	aléatoire	0.75	0.90	0.75	0.59	0.80	0.73	0.74	0.86	0.82	0.80	0.59	0.80	0.85	0.90	0.71
<i>F373_F02803</i>	élite	0.77	0.77	0.67	0.63	0.84	0.73	0.72	0.75	0.71	0.63	0.50	0.57	0.66	0.76	0.68
	aléatoire	0.87	0.92	0.84	0.71	0.85	0.85	0.81	0.91	0.86	0.85	0.60	0.82	0.89	0.93	0.73
lignées dentées (testeurs cornés)																
<i>F373 vs F02803</i>	élite	0.38	0.73	0.60	0.22	0.83	0.57	0.58	0.61	0.65	0.48	0.37	0.47	0.57	0.45	0.60
	aléatoire	0.66	0.89	0.77	0.38	0.82	0.73	0.64	0.82	0.81	0.72	0.49	0.70	0.81	0.81	0.65

Validation expérimentale des prédictions génomiques calibrées sur les données de SAMMCR1 sur les performances des lignées de SAMMCR2

Les corrélations entre les AGCs obtenues sur la base des prédictions génomiques de SAMMCR1 et celles estimées à partir des performances des nouveaux hybrides sont relativement élevées dans tous les dispositifs et pour tous les caractères sauf le NDF (Tableau 8).

Dans le dispositif factoriel, la qualité des prédictions génomiques de l'AGC cornée est meilleure pour DtSILK (0.78 à 0.82), DMC (0.64 à 0.81), DMY (0.61 à 0.66) et MFU (0.52 à 0.81) ; alors que celle de l'AGC dentée est plus élevée pour RPU (0.78 à 0.92), PH (0.73 à 0.89), DINAG (0.66 à 0.86) et DINAGZ (0.65 à 0.85).

Les corrélations entre les AGCs prédites et celles estimées avec l'un ou l'autre des testeurs d'un groupe sont globalement similaires. Elles varient entre 0.12 (NDF, F1808) et 0.83 (DtSILK, F1808) pour les AGCs cornées et entre -0.04 (NDF, F373) et 0.82 (RPU, F373) pour les AGCs dentées. La qualité des prédictions génomiques des AGCs estimées conjointement sur la base des hybrides des deux testeurs de chaque groupe est supérieure à celle basée sur les hybrides d'un seul testeur. Elle varie entre 0.18 (NDF) et 0.85 (DMC, DtSILK) pour l'AGC cornée et entre -0.01 (NDF) et 0.86 (RPU) pour l'AGC dentée. Les qualités de prédiction des AGCs sont globalement similaires quel que soit le testeur et le groupe considéré.

Les qualités de prédiction des AGCs des lignées élites et des aléatoires sont relativement similaires quel que soit le dispositif. Cependant, elles sont légèrement supérieures chez les aléatoires notamment pour les caractères sélectionnés (DMY, MFU et RPU). De même, les qualités de prédiction sont globalement équivalentes entre les AGCs globales ou intra-famille familles. Ces résultats sont encourageants et confirment l'efficacité de prédictions génomiques réalisées dans un factoriel pour prédire la valeur génétique de nouveaux hybrides y compris après une étape de sélection. Le fait que les qualités de prédiction restent bonnes intra-famille montrent que même si la sélection génomique prédit efficacement les effets familles, elle est aussi capable de différencier des lignées ayant le même pédigrée, ce qui est particulièrement intéressant en sélection.

Table 8: Corrélations entre les AGCs (globales et intra-famille) des lignées élites et aléatoires prédites par le modèle de sélection génomique calibré sur les données de SAMMCR1 et celles estimées sur les performances des hybrides des différents dispositifs de SAMMCR2 pour les caractères agronomiques et les principaux caractères de qualité.

Dispositif	Modèle	Composante	DMY (t/ha)	PH (cm)	RPU (t/ha)	DMC (% MF)	DtSILK (j ap 1er Jan)	DINAG (% MS)	DINAGZ (% MS)	MFU (UFL/kg.MS)	NDF (% MS)
Factoriel											
AGC dentée	global	élite	0.57	0.74	0.78	0.77	0.78	0.72	0.63	0.52	0.37
		aléatoire	0.61	0.73	0.81	0.81	0.82	0.78	0.82	0.81	0.32
	intra famille	élite	0.55	0.74	0.65	0.77	0.79	0.43	0.61	0.52	0.27
		aléatoire	0.66	0.70	0.73	0.64	0.79	0.63	0.75	0.75	0.35
AGC cornée	global	élite	0.48	0.82	0.86	0.76	0.54	0.77	0.84	0.70	-0.05
		aléatoire	0.78	0.89	0.92	0.74	0.75	0.86	0.85	0.63	0.56
	intra famille	élite	0.43	0.81	0.79	0.77	0.68	0.66	0.81	0.70	0.03
		aléatoire	0.62	0.73	0.78	0.73	0.55	0.72	0.65	0.58	0.41
Lignées cornées sur testeurs dentés (AGC cornées)											
F98902	global	élite	0.64	0.42	0.72	0.82	0.71	0.65	0.54	0.41	0.31
		aléatoire	0.51	0.70	0.72	0.82	0.78	0.69	0.71	0.69	0.20
	intra famille	élite	0.54	0.47	0.70	0.81	0.72	0.58	0.59	0.58	0.24
		aléatoire	0.57	0.67	0.58	0.61	0.79	0.51	0.59	0.56	0.16
F1808	global	élite	0.60	0.69	0.65	0.81	0.74	0.54	0.60	0.54	0.12
		aléatoire	0.62	0.73	0.82	0.81	0.83	0.73	0.81	0.75	0.27
	intra famille	élite	0.63	0.66	0.54	0.72	0.76	0.38	0.56	0.53	0.14
		aléatoire	0.62	0.69	0.70	0.63	0.78	0.53	0.72	0.64	0.17
F98902_F1808	global	élite	0.67	0.65	0.78	0.85	0.79	0.71	0.68	0.57	0.32
		aléatoire	0.62	0.77	0.82	0.85	0.85	0.79	0.81	0.77	0.26
	intra famille	élite	0.63	0.67	0.71	0.81	0.80	0.59	0.68	0.65	0.26
		aléatoire	0.64	0.73	0.70	0.67	0.83	0.61	0.71	0.66	0.18
Lignées dentées sur testeurs cornés (AGC dentées)											
F373	global	élite	0.63	0.76	0.73	0.77	0.47	0.62	0.65	0.47	-0.04
		aléatoire	0.62	0.81	0.82	0.72	0.62	0.78	0.64	0.29	0.45
	intra famille	élite	0.70	0.78	0.66	0.75	0.65	0.52	0.60	0.47	0.25
		aléatoire	0.25	0.54	0.57	0.73	0.37	0.57	0.26	0.21	0.11
F02803	global	élite	0.57	0.63	0.65	0.67	0.61	0.57	0.67	0.61	0.09
		aléatoire	0.65	0.81	0.81	0.68	0.65	0.77	0.78	0.59	0.51
	intra famille	élite	0.47	0.47	0.43	0.68	0.67	0.36	0.50	0.51	-0.07
		aléatoire	0.31	0.57	0.50	0.68	0.47	0.43	0.43	0.44	0.23
F373_F02803	global	élite	0.65	0.77	0.73	0.77	0.56	0.66	0.70	0.61	-0.01
		aléatoire	0.70	0.84	0.86	0.74	0.69	0.82	0.77	0.51	0.59
	intra famille	élite	0.66	0.72	0.61	0.77	0.69	0.54	0.61	0.57	0.15
		aléatoire	0.35	0.60	0.61	0.74	0.48	0.57	0.39	0.37	0.23

Conclusion

Les résultats de ce chapitre portant sur la validation expérimentale complètent ceux des chapitres précédents. Les AGCs estimées par les dispositifs factoriel et testeurs de SAMMCR2 restent équivalentes comme en témoigne la bonne corrélation entre ces dispositifs. De plus les variances des AGCs estimées sur les données de SAMMCR2 sont légèrement plus élevées et plus précises que celles obtenues sur les données de SAMMCR1 (cf chapitre 1). Toutefois, la variance d'ASC est plus faible dans SAMMCR2 que dans SAMMCR1 et les estimations sont plus précises dans SAMMCR2 du fait du plus grand nombre d'hybrides produits par lignée parentale. Cela renforce le résultat d'une contribution très limitée de l'ASC au sein de ce dispositif. L'absence d'ASC pour la plupart des caractères de qualité est cohérente avec l'absence de QTL détecté montrant des effets d'ASC significatifs (cf chapitre I).

La sélection réalisée a permis d'atteindre un gain génétique très significatif atteignant 1.84 tMS/ha pour le rendement. Parallèlement, une diminution conséquente de 0.022 UFL/kgMS a été induite sur la valeur énergétique des élites. Ceci suggère que la stabilisation de ce caractère en sélection, voire son amélioration, nécessite de lui attribuer un poids nettement plus important que celui que nous avons considéré avec le RPU. De manière intéressante, la réponse à la sélection la plus importante a été observée dans le pool des lignées dentées qui semble présenter plus de variabilité génétique pour les caractères sélectionnés.

Les modèles de prédiction génomique calibrés sur les données des hybrides de SAMMCR1 sont relativement stables sur les différents dispositifs de SAMMCR2 impliquant de nouveaux hybrides évalués sur d'autres années, dans d'autres environnements et pour certains, après une étape de sélection.

Références

- Akaike, Hirotugu. 1974. A new look at the statistical model identification. *Automatic Control, IEEE Transactions on* 19 (6): 716–723.
- Barrière, Yves, et J. C. Emile. 2000. Le maïs ensilage: évaluation et perspectives de progrès génétiques sur les caractères de valeurs alimentaire. *Fourrages* 163: 221-38.

Revisiting hybrid breeding designs using genomic predictions calibrated on factorials between segregating families: a simulation study

A. I. Seye¹; C. Bauland¹; A. Charcosset¹; L. Moreau^{1*}

¹Génétique Quantitative et Evolution - Le Moulon, Institut National de la Recherche Agronomique, Université Paris-Sud, Centre National de la Recherche Scientifique, AgroParisTech, Université Paris-Saclay, F-91190 Gif-sur-Yvette, France

*Corresponding author: laurence.moreau@inra.fr

Conflict of interest: the authors declare that they have no conflict of interest.

Ethical standards: the authors declare that the experiments comply with the current laws of the countries in which the experiments were performed.

Author contribution statement:

C.B., A.C. and L.M. initiated this project. L.M. and C.B coordinated it. A.C. and L.M. supervised this work. A.I.S. wrote the simulation programs, analysed the results and prepared the manuscript. All authors discussed the results and contributed to the final manuscript. All authors revised and approved the manuscript.

Acknowledgements:

A. I. Seye's PhD was funded by the Senegalese Institute of Agricultural Research (ISRA) through a Scholarship from the West Africa Agricultural Productivity Program (WAAPP) given by the National Institute of Higher Education in Agricultural Sciences - Montpellier SupAgro. We are grateful to Caussade Semences, Euralis Semences, Limagrain Europe, Maisadour Semences, Pioneer Genetics, R2n, Syngenta Seeds and KWS grouped in the frame of the ProMais "SAMMCR" program for the funding. We also thank scientists from these companies for helpful discussions on the results. We thank D. Madur for sharing the CornFed genotyping data.

Key message

We showed by simulations that for hybrid designs, calibrating genomic predictions using an incomplete factorial design between segregating families outperforms tester-based designs.

Abstract

Genomic selection offers new opportunities to revisit hybrid breeding schemes, more specifically by replacing extensive phenotyping of hybrid combinations by genomic predictions. A key question remains to identify the best calibration design. We proposed to use hybrids issued from a factorial design between segregating populations and compared this strategy with a more conventional approach based on test-crossed values. Two multiparental segregating populations of DH lines, each specific of one heterotic group were simulated. Hybrid performances considered as training sets were generated using either (i) a parental line from the opposite group as tester or (ii) following an incomplete factorial design. Different SCA proportions were simulated by considering different levels of group divergence and dominance effects for the simulated QTL. For each genetic model and design, we investigated the effect of the training set size on the prediction accuracies of new hybrids and on the genetic gains along three generations. For the factorial design, for a same number of hybrids, we considered different numbers of parental lines and different contributions of DH lines (between one and four). At a given training set size, factorial design was as efficient as tester design in additive scenarios but significantly outperformed tester design in case of dominance. We found a limited impact of the number of contributions of each parental line for the factorial design. Our simulations confirmed experimental results and showed that the use of hybrids between two multiparental populations appears highly cost efficient to perform genomic predictions in both groups, opening prospects for revisiting reciprocal recurrent selection schemes.

Key words: genomic prediction, simulations, hybrid breeding, factorial design

Introduction

Maize breeding programs aim to develop F1 hybrids (single-crosses between fully inbred lines) to take advantage of heterosis phenomenon. This method was first conceptualized by Shull (1908). It first implies developing inbred lines, and then look for the best hybrid combinations between them. To facilitate this process, breeders are used to split maize germplasm into complementary heterotic groups, and to select lines within each group for their ability to produce good hybrids when crossed to lines from a complementarity group. The fullest assessment of single-cross performance would be a complete factorial mating design achieved by making all possible single-crosses. However, the high number of lines to be evaluated per heterotic group makes this approach prohibitive. For instance, considering two heterotic groups and 100 candidate lines per group (a number much lower than the number of DH lines produced each year in maize breeding programs) would lead to the production and the evaluation of 10 thousand hybrids, which is impossible. In practice, pairwise crossing is only possible for a limited number of lines leading maize breeders to perform preliminary screening within each heterotic group.

Several approaches have been used to evaluate the genetic merit of lines for single-cross performance. Jenkins and Brunson (1932) found that the average value of the hybrids derived from an inbred line was better correlated to the value of the progeny of this inbred line in combination with another line, a hybrid or a population than to its per se value. They suggested the use of topcross or testcross (i.e crosses between lines and a population, a hybrid or another line) to assess the genetic merit of lines in hybrid combination. The efficiency of this approach was illustrated by Sprague and Tatum (1942) who introduced the partitioning of hybrid values in terms of general and specific combining ability (GCA and SCA, respectively). They defined the GCA of line *i* as the average performance of this line in hybrid combinations, and the SCA of the cross between line *i* and line *j* as the deviation from the performance expected based on the GCA of the lines. Results illustrated that topcross enabled effective screening of lines for GCA reducing the number of potential parents of hybrid in early stage of the breeding process. Then in the last stage, selection for SCA could be achieved by testing single-cross combinations between selected lines (Lonnquist et Rumbaugh 1958).

In modern maize breeding, testcross is the conventional approach for a first evaluation of the genetic merit of candidate lines in hybrid combinations. However, evaluation of many lines on tester(s) requires the phenotyping of a relatively large number of hybrids (at minimum, as many hybrids as lines in each group if only one tester by group is considered). Also, when only one tester per group is used, either an inbred line or a hybrid, (i) the GCA of candidate lines and their SCA with the tester are confounded and (ii) the dominance effects mask part of the GCA variance among candidates (Hallauer et al. 2010). Therefore, the use of tester does not guarantee the identification of the inbred lines that will lead to the best hybrid combination in the last stage of the selection process. Also, the use of this two-stage breeding process increases time required for marketable hybrid development and does not allow evaluation of all possible hybrid combinations among available lines.

The prediction of single-cross performances has been a major issue in maize breeding program (T. A. Schrag et al. 2009). Hybrid performance prediction was first proposed by Jenkins in 1934 to predict the value of three-way or double-hybrid from equations considering the value of non-parent single-crosses. More recent strategies based on the use of best linear unbiased prediction (BLUP) using pedigrees, and molecular marker-assisted prediction have shown the possibility of predicting the performances of single-cross combinations prior to field testing. Using pedigree-based covariance

matrices among phenotyped and unphenotyped single-crosses from an advanced maize breeding program, Bernardo (1996a) showed the effectiveness of pedigree-based BLUP for predicting performances of unphenotyped single-crosses for which both parents were tested in other combinations. Based on results from a complementary study, Bernardo (1996b) pointed out a severe decrease in correlations when one or both of parents were untested in phenotyped single-crosses.

The use of molecular markers has opened new prospects to hybrid prediction. Markers permit the estimation of either genetic distance between parental lines or BLUP of hybrids based on genomic information (GBLUP). Although heterosis is correlated with the genetic distance of parental lines (Lee et al. 1989), the first inter-heterotic hybrid performance predictions based on distances measured using molecular markers were low (Melchinger 1999, Lee et al. 2007). This may be due to a weak association between QTLs and markers used to estimate genetic distance and / or divergence of QTL between heterotic groups (Bernardo 1992; Charcosset et Essioux 1994). Based on BLUP approach, Bernardo (1994), used marker data on parental lines to estimate covariances between hybrid performances and predicted the performance of an unphenotyped hybrids from the performance of related, phenotyped hybrids. Charcosset et al. (1998) integrated SCA component based on the principle that two hybrids with parents similar at the marker level, should display similar specific combining ability (SCA) values. Markers were used to generate covariates for SCA by means of principal components analysis. Vuylsteke et al. (2000) suggested to predict the performance of single-cross and SCA based on the contribution effects of markers significantly linked to QTL. However, this approach yielded low to moderate accuracy. Also, extending the GCA predictions with SCA estimates from markers linked to QTL did not improve the prediction accuracy (Schrag et al. 2006, 2007).

Genomic selection (GS or genomic prediction) is a marker-assisted selection (MAS) approach that uses markers to predict the genetic value of candidates for complex traits (Meuwissen et al. 2001). The main difference between GS and classical SAM approaches is the simultaneous use of many markers distributed along the genome, without being limited to a small set of markers associated with QTL. The objective is to use markers as predictors of the genetic value of candidate without explicitly looking for localizing QTL or estimating their effects. Different models of GS depending on their statistical methods and their assuming had been developed. Meuwissen et al. (2001) proposed the GBLUP model which consists in using markers to estimate genomic relationships (kinship) between individuals and use this matrix in a BLUP model to predict performances of unphenotyped individuals using performances of phenotyped ones. In maize, a similar model was first proposed by Bernardo (1994) who used marker-based distances between parental lines of hybrids for predicting performances of unphenotyped hybrids using performances of a related set of single-crosses.

Several results based on simulations and experimental studies have indicated the usefulness of genomic selection models to predict hybrids in maize (Meuhout et al. 2007, 2010; Albrecht et al. 2011; Riedelsheimer et al. 2012; Windhausen et al. 2012; Technow et al. 2012, 2014; Massman et al. 2013; Jacobson et al. 2014; Kadam et al. 2016; Lyra 2017; Fristche-Neto et al. 2018; Giraud et al. in prep.). However, most experimental studies focused on predicting hybrid testcross performances, mostly with a single tester. Models have been proposed to predict hybrid performance on larger datasets using GBLUP models adapted to hybrid with estimates of GCA and SCA (Maenhout et al. 2010; Massman et al. 2013; Technow et al. 2014; Kadam et al. 2016; Fritsche-Neto et al. 2018; Giraud et al. in prep.). These studies used covariances between tested (reference) and untested hybrids estimated from genomic relationship matrices designed to predict the performance of untested hybrids.

Predictive accuracies were high, often exceeding 0.75 for grain yield, even when both parents of the single hybrid were not tested.

To our knowledge, only one published paper (Fritsche-Neto et al. 2018) has investigated empirically the influence of the mating design to build the training population in maize breeding. The aims of the present work were to (i) evaluate the influence of the training set size, the validation type, the SCA/GCA ratio, and the training design in the prediction accuracy, (ii) compare the efficiency of genomic selection along three generations between incomplete factorial and testcross training designs (iii) optimize the number of training hybrid per parental line for the factorial training design.

Materials and Methods

We are interested in comparing factorial and testcross mating designs on their ability to efficiently estimate hybrid variance components and to predict performances of un-phenotyped hybrids derived from segregating populations. We performed simulations of genomic selection schemes considering two types of hybrid training sets: an incomplete factorial design (hybrids obtained by crossing dent DH lines and flint DH lines) or a testcross design (hybrids obtained by crossing segregating lines from one group to a tester line from the other one).

Founder lines

To simulate realistic LD patterns and allelic frequencies, the founder lines of the segregating populations were randomly selected from existing genotypic data of Dent and Flint inbred lines. Our simulations were based on the single-nucleotide polymorphism (SNP) marker genotypes of 15 dent and 15 flint inbred lines corresponding to the 11 founder lines of the dent and flint NAM designs of the European CornFed project (Bauer et al. 2013a; Giraud et al. 2014) and the four founder lines of the French SAMMCR project (Giraud et al. 2017a, 2017b; Seye et al. 2019). These lines were further considered as potential founders of our simulated design.

We used marker genotypes obtained with the Illumina SNP genotyping chip MaizeSNP50 (Ganal et al. 2011). Marker quality control was done considering data from the founder lines as well as data of the two diversity panels (one dent and one flint) assembled in the CornFed project (leading to a total of 308 dent and 397 flint lines). Within each group, markers with missing data rate superior of 20% or with more than 15% heterozygotes were discarded as in (Rincent et al. 2012). Heterozygote genotypes of the founder lines were transformed into missing data and missing genotypes were thereafter imputed based on marker information of each panel using Beagle v3.0 (Browning and Browning 2007). After imputation, to avoid the ascertainment bias noticed by Ganal et al. (2011), we considered only PANZEA markers developed by comparing the sequences of founder lines from the American NAM design (Gore et al. 2009). We also removed markers that were monomorphic among the 30 founder lines, as well as the markers that were not part of the CornFed NAM consensus genetic map (Bauer et al. 2013b; Giraud et al. 2014). This led to a total of 20785 SNPs that were used in our simulations. Among them, 8% were monomorphic in the flint founder group and 6% were monomorphic in the dent founder group.

Simulation of QTL effects

We considered different scenarios to generate different proportions of SCA/GCA genetic variance. Assuming no epistasis, SCA is due to dominance effects at QTL. Its magnitude depends on the divergence in allele frequencies between the two populations (Technow et al. 2012). Only QTL that show dominance effects and are polymorphic in both groups can indeed contribute to SCA. In each simulation a total number of 300 markers were sampled to simulate biallelic QTL. To modulate SCA proportion, we considered (i) different levels of dominance/additive effects for the QTL and (ii) different patterns of allelic frequencies in each group, mimicking different levels of group divergence.

Three divergence scenarios were considered. In the first one, 86% of the QTL were sampled among the markers polymorphic in both groups, 7% were sampled among the markers that were fixed in the Dent group and 7% among the markers fixed in the other one. This level of divergence corresponds to the values observed between the Dent and Flint groups ("Dent-Flint" scenario $\tau_0 = 0.86$). In a second scenario only 43% of the QTL were chosen among polymorphic markers in the two groups (scenario with high divergence $\tau_{0.5} = 0.43$). Finally, to explore situations with a low group divergence, leading potentially to high SCA, we only chose QTL among polymorphic markers (scenario with strong convergence $\tau_1 = 1$) with balanced allele frequencies (f) within each group (i.e $0.4 < f < 0.6$). In each scenario, a minimum interval between consecutive QTL of 0.5 Mbp was considered to avoid linkage between too close QTL.

For each group divergence level, three scenarios of QTL effects were considered. In the "pure additive" scenario the QTL additive effects were drawn from a Gamma distribution with parameter scale = 1.66 and shape = 0.4, (as used by Meuwissen et al. (2001) and Technow et al. (2012)). For each locus, the favorable allele was randomly chosen (with probability $P = 0.5$). In the "complete dominance" scenario, dominance effects were added and set equal to the absolute additive effects. We assumed that favorable alleles were dominant. In the third scenario, the dominance effects were obtained as the product between the absolute additive effect and the degree of dominance at each QTL. The degrees of dominance were drawn from a Normal distribution of mean 1.0 and variance 0.75 corresponding to experimental estimates for grain yield in maize (Technow et al. 2012). This scenario generated QTL with partial to over-dominant effects. It will be referred to as the "overdominant scenario".

Initial generation G0

Four lines, randomly chosen among the 15 lines within each group were considered as founder lines. They were crossed following a half diallel and 6 DH families were generated from these single-crosses. 1260 DH lines (or more) were generated per group with equal contribution of all families. The gametes that led to DH were obtained by simulating the number of crossing-over events (CO) from a Poisson distribution considering at least one CO per chromosome and by attributing them to random positions along the chromosome.

From the simulated dent and flint DH lines, we derived hybrids using either an incomplete factorial mating design or a testcross mating design. In the testcross mating design, the tester was randomly chosen among the founder lines of the opposite group, used or not as one of the founder lines that generated the DH lines simulated in the opposite group. QTL effects and marker genotypes of the DH lines (and tester) were used to compute the genetic values of each simulated hybrid. For the

hybrids used as training set (see below), a normally distributed error term was added to their genetic value to simulate phenotypes. The error variance was determined to achieve a broad sense heritability of $H^2 = 0.75$ (which corresponds to an observed value for grain yield in maize breeding programs on an entry mean basis)

$$y_{ij} = g_{ij} + e_{ij}; \quad e \sim N(0, \sigma^2) \quad (M1)$$

Where g_{ij} is the genetic value of the hybrid between line i and j , y_{ij} and g_{ij} are the phenotypic and genotypic values of the hybrid between the dent line i and the flint line j , and e_{ij} is the error term.

Calibration hybrids

Genomic predictions were calibrated either on factorial hybrids or on test-crossed hybrids. In each group, a random subset of DH lines among the 1260 DH lines simulated were sampled, with equal contribution of each families. These sampled DH were used to generate hybrids that were used to calibrate genomic prediction models. These DH lines and corresponding hybrids were further referred to as reference DH lines and hybrids. To explore the effect of the training set (TS) size on the prediction accuracy, we evaluated 26 different calibration sizes (from 72 to 1728) For the calibrations based on factorial design, in the basic scenario and unless specified, we considered that each DH line of the training set of each group contributed to only one hybrid. For the tester design, the same set of DH lines were crossed to only one tester from the opposite group. So, considering the same DH training set, the tester design led to evaluate twice the number of hybrids compared to a factorial design in the basic scenario. We also compared the two calibration designs at a fixed number of hybrids and thus divided by two the number of DH lines in the training set of the tester design compared to the factorial.

Furthermore, we increased the number of hybrids in the training set per DH line from 2 to 4 for the factorial design to evaluate the influence of the contribution of DH lines. The objective was to determine whether, for a fixed number of training hybrids, it was more interesting to increase the number of training hybrids per DH line or the number of DH lines contributing to the training set.

Genomic Best Linear Unbiased Prediction (GBLUP) models

Different GBLUP models were used according to the calibration design considered.

In the factorial design, we fitted the following linear mixed model:

$$Y = 1\mu + Z_d GCA_d + Z_f GCA_f + Z_{df} SCA_{df} + E \quad (M2-a)$$

$$GCA_d \hookrightarrow N(0, K_{GCA_d} \sigma_{GCA_d}^2); \quad GCA_f \hookrightarrow N(0, K_{GCA_f} \sigma_{GCA_f}^2); \quad SCA \hookrightarrow N(0, K_{SCA} \sigma_{SCA}^2); \quad E \hookrightarrow N(0, I\sigma^2);$$

$$[K_{SCA}]_{hh'} = [K_{GCA_f}]_{ii'} \cdot [K_{GCA_d}]_{jj'}$$

Where Y is a $1 \times N$ vector of phenotypic values of reference (training) hybrids of the factorial, μ is the intercept, Z_d is the $N \times n_d$ incidence matrix of dent DH lines, GCA_d is the vector of the $1 \times n_d$ dent DH lines effects, Z_f is the $N \times n_f$ incidence matrix of flint DH lines, GCA_f is the $1 \times n_f$ vector of the flint DH lines effects, Z_{df} is the $N \times (n_f \times n_d)$ incidence matrix of dent and flint DH lines interactions, SCA_{df} is the $1 \times (n_f \times n_d)$ vector of interaction effects between dent and flint DH lines, K_{GCA_d} is the $(n_d \times n_d)$ genomic relatedness matrix between dent DH lines, K_{GCA_f} is the $(n_f \times n_f)$ genomic

relatedness matrix between flint DH lines, K_{SCA} is the $(n_d \times n_f) \times (n_d \times n_f)$ matrix of double relatedness between hybrids, obtained from the product of aforementioned simple relatedness coefficients of DH parental lines from each group. E is the $1 \times N$ vector of residuals. For this design, a variant of M2-a model that did not include SCA component (called M2-b) was also performed.

Genomic relatedness between DH lines within each group was computed considering only non-QTL markers. The genomic relatedness coefficients of the matrix K_{GCA_g} between the parental lines i and j of each group (Dent and Flint) was computed according to method 1 of Van Raden (2008) as:

$$K_{GCA_{i,j}^g} = \frac{\sum_{l=1}^L (x_{il} - p_l)(x_{jl} - p_l)}{\sum_{l=1}^L p_l(1 - p_l)}$$

Where x_{il} (respectively x_{jl}) is the genotype of the DH line i (respectively j) at the marker l coded in 0 and 1. L is the total number of markers. p_l is the frequency of the reference allele coded 1 at marker l , in the dent DH lines (respectively flint DH lines).

For the testcross design, we fitted a linear mixed model for each tested group g (dent or flint) as following:

$$Y_t = 1\mu + Z_g GCA_g + E \quad (M3)$$

$$GCA_g \hookrightarrow N(0, K_{GCA_g} \sigma_{GCA_g}^2); E \hookrightarrow N(0, I\sigma^2)$$

where μ is the intercept, Y_t is a $1 \times N$ vector of phenotypic values of testcross hybrids, Z_g is the $N \times n_g$ incidence matrix of the DH lines pertaining to the tested group g , GCA_g is the $1 \times n_g$ vector of the tested DH lines effects, E is the $1 \times N$ vector of residuals. For this design, SCA effects could not be separated from GCA effects because of the use of a single tester.

The performance of untested DH lines and hybrids was predicted using the formulas derived from Henderson (1973). These predictions relied on the genomic covariance matrices (K_{GCA_f} , K_{GCA_d} and $K_{SCA_{df}}$) between validation and calibration hybrids, the phenotypic covariances between calibration hybrids, their performances and the variance components estimated in the training set. When the training set was based on testcrossed performances, values of untested hybrids were predicted by the sum of the GCA predictions of their parental lines in the two tester designs.

$$\widehat{GCA}_g = K_{GCA_g}^* \sigma_{GCA_g}^2 Z_g [\text{Var}(Y)]^{-1} (Y - \mu)$$

$$\widehat{SCA} = K_{SCA}^* \sigma_{SCA}^2 Z_{df} [\text{Var}(Y)]^{-1} (Y - \mu)$$

Where $\sigma_{GCA_g}^2$, σ_{SCA}^2 , Y and μ were defined in model M2-a and M3. Z_g , Z_{df} are extended to relate parent lines and hybrids of the validation set to those involved in the training set. $\text{Var}(Y)$ is the phenotypic variance in the training set. \widehat{GCA}_g is the vector of predicted dent or flint GCA of the parents of the validation hybrids and \widehat{SCA} the vector of predicted SCA of the validation hybrids. $K_{GCA_g}^*$ and K_{SCA}^* are respectively the kinship matrices for the GCA and SCA components between calibration hybrids and validation hybrids.

Next generations

For each situation (combination of scenarios), three cycles selection were conducted. To move on to the next generation, the 36 best DH lines in each group among the 1260 DH lines simulated

(contributing or not to the hybrids in TS) were selected based on their GCA values estimated either with model M2-a (factorial design) or with model M3 (testcross designs). In each group, all the selected DH lines were inter-crossed following a half-diallel, then two DH progenies were derived from each of the 630 crosses to compose the 1260 DH lines at generation G_1 . The same procedure was applied to obtain generations G_2 and G_3 , maintaining the same intensity of selection. Selection was performed without any constraint on the family origin of the selected lines.

Validation of predictions and genetic gains

At each generation, we built genotypic matrices of all hybrids derivable from the complete factorial crossing design between all DH lines. This enabled us to derive their true hybrid genotypic values from which we derived their true GCA and SCA values and the corresponding variance components. Then, using models calibrated in G_0 (M2-a, b and M3), we predicted GCA values of all DH lines and the values of a random sample of 2520 hybrids obtained by crossing the simulated DH lines and used as validation set. These hybrids were randomly chosen among all possible hybrids from the complete factorial crossing between dent and flint DH lines so that each DH line contributed to two hybrids. In G_0 , hybrids used as validation set were classified into four categories according to their relatedness with the hybrids of the training set. Hybrids for which both the dent and the flint parent contributed to a reference hybrid were assigned to the “T2” category. Hybrids for which the dent (respectively, flint) parent contributed in the training set were assigned to the “T1” set. Finally, hybrids between DH lines that did not contribute to the training set were assigned to the “T0” category.

Then, based on the information of the 2520 random hybrids, we calculated prediction accuracies as the Pearson correlation between predicted and true genetic values, and evaluated genetic gain along generations.

For each combination of group divergence level x calibration design x training set size, we generated 50 data sets by repeating the whole simulation process (sampling of founder lines, sampling of QTL and QTL effects, simulation of DH lines and hybrids...).

All simulations and computations were performed in the R statistical environment (R Core Team 2013). Statistical models (M2-a, M2-b, and M3) were fitted using the “MM4LMM” R package (Laporte et Mary-Huard 2018).

Results

Percentage of SCA according to the QTL effects and group divergence level

The percentage of SCA ranged from 0 to 23% depending on the scenario used to simulate QTL effects (Table 1). As expected, the SCA proportion increased with dominance level and decreased with group divergence level. Results observed with scenarios including dominance were consistent with experimental results reported for the SCA proportion of maize for yield traits in Dent-Flint factorial design (Giraud et al. 2017b), which corresponds to the “Dent-Flint” divergence scenario in our study. Based on this, we decided to mostly focus the presentation of our simulation results on three contrasted scenarios (1) high group divergence and purely additive QTL effect, that showed no SCA (0% of SCA), (2) intermediate group divergence and QTL with complete dominant effects (16% of SCA) and (3) small group divergence and dominant QTL effect allowing for overdominance (23% of SCA).

Table 1: Average percentages of SCA as a function of the amount of dominance through the three biological scenarios of QTL effects (pure additivity, additivity + complete dominance, and additivity + (over)dominance) and the level of group divergence (low, medium, and high). The “medium” group divergence corresponds to the one observed between the “dent” and “flint” founder line groups.

Level of group divergence	Biological scenario		
	Pure additivity	Complete dominance	(Over)dominance
Low	0	17	23
Medium (Dent-Flint)	0	16	19
High	0	10	13

Influence of genetic parameters, statistical models and training set sizes on the prediction accuracy

For the factorial design, the prediction accuracies were moderate to high depending on the scenario (Figure 1). Prediction accuracies were higher in the purely additive scenario and in this situation the level of group divergence did not affect prediction accuracies. When dominance effects were included at simulated QTL, accuracies decreased, and this decrease depends on the level of SCA: accuracies were lower in the scenario corresponding to a small group divergence and QTL showing potentially over-dominant effects (%SCA=23%) than for scenario with a higher group divergence and only dominant effects (%SCA=16%). The same tendency was observed for the tester scenario. For all training designs, as expected, the prediction accuracy increases with the relatedness between training and validation sets (T0, T1, T2 cf. Figure 1). For instance, in the factorial design, accuracies were higher (between 0.68 and 0.95 depending on the scenario) for T2 hybrids than for T1 hybrids, which themselves had a higher accuracy (from 0.62 to 0.94) than T0 hybrids. However, the gain in accuracy from T0 to T2 was small on average and decreased when the TS size increased. The same tendencies were observed in the two tester-based scenarios (“tester not founder” and “tester founder”). In both cases, the differences between T0 and T1 accuracies were only significant in scenarios without dominance at low and medium TS sizes (Figure 1a). Unless specified, we focused our comparisons between factorial and tester design on the T0 hybrids that are the most challenging hybrids to predict.

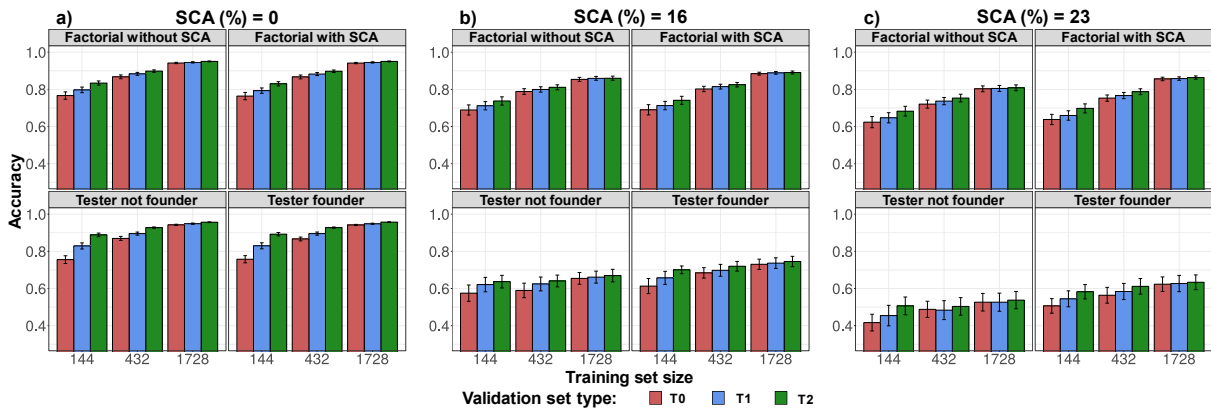


Figure 1: Accuracy as a function of the training set size, the validation set type for the different SCA levels (a: 0%, b:16% c:23%) and the different training designs and prediction models (factorial without and with SCA consideration in GBLUP model, Tester founder, Tester not founder) for low (144), medium (432) and high (1728) TS sizes. The different bars correspond to validation sets composed of T0 (red), T1 (blue) and T2 (green) hybrids. For all cases, vertical bars correspond to 95% CI of the average accuracies over replicates.

Comparison of tester and factorial based scenarios

For T0 hybrids, considering the same total number of hybrids in the TS, the factorial design showed significantly higher prediction accuracies than the testcross design in any scenario including dominance effects (Figure 2b, c) and identical accuracies in purely additive scenarios (Figure 2a). In situation with dominance, the “founder tester” scenario gave superior accuracies than the “not founder” scenario for predicting factorial hybrids, whereas tester choice had no impact in purely additive scenarios. The superiority of factorial design over testcross design increased with the proportion of SCA and the TS size. Including SCA effects in the GBLUP model for factorial TS significantly improved the prediction accuracy particularly for high TS size and SCA proportion. Interestingly, including SCA effects in the GBLUP model did not decrease accuracies in pure additivity scenarios. In addition to leading to higher accuracies, factorial designs also provided more stable accuracies over replicates than tester designs.

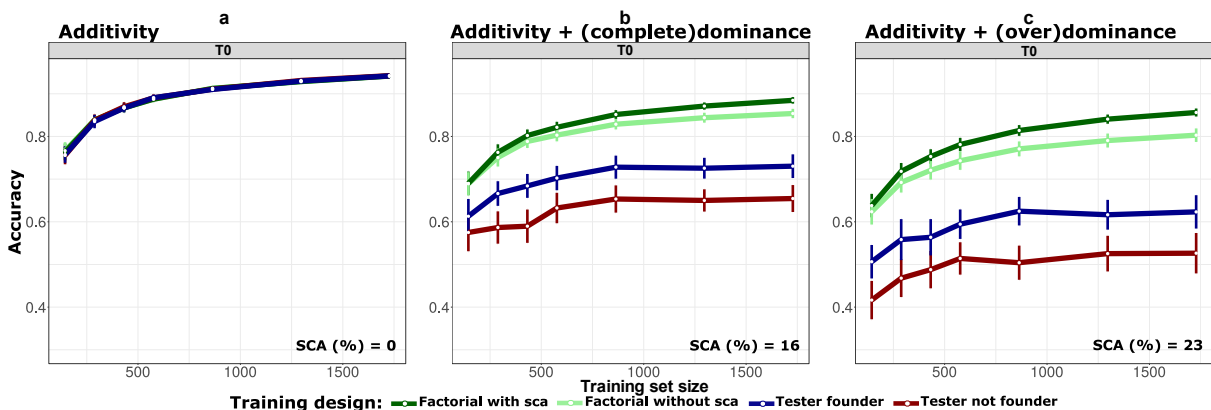


Figure 2: Accuracy as a function of the total training set size and the SCA level (a: 0%, b:16% c:23%) for the different training designs on the T0 validation set (untested hybrids and none evaluated lines). For all cases, vertical bars correspond to 95% CI of the average accuracies over replicates. Nb: in “a”, curves are superimposed.

When considering the same number of evaluated DH lines in the TS for each group (resulting in twice more tested hybrids in testcross than in factorial TS), testcross designs led to better accuracies than factorial in pure additivity scenarios, especially when a small number of DH lines were included in the TS (Figure 3a). In case of dominance, testcross TS were less efficient than factorial designs except when a small number of DH lines were evaluated in the scenario with moderate SCA. Figures 2 and 3 both showed that accuracies in tester designs reached a plateau when the number of DH lines included in the TS was higher than 576 per group (i.e, when (576/6) 96 lines per segregating families per group were included in the TS). On the contrary, accuracies continued to increase with population size for the factorial TS.

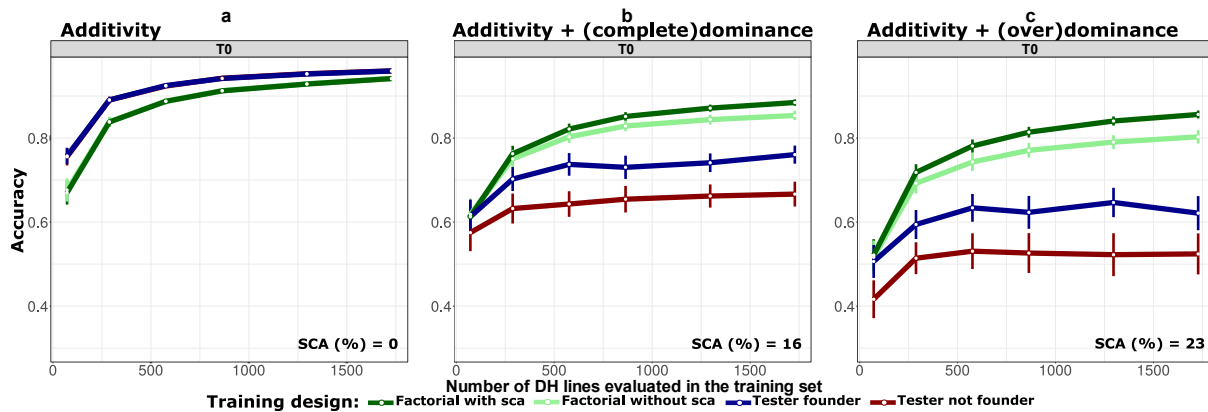


Figure 3: Accuracy as a function of the number of DH lines per group evaluated in the training set (i.e. Twice more hybrids tested in total for testcross than for factorial) and the SCA level (a: 0%, b:16% c:23%) for the different training designs and T0 validation set. For all cases, vertical bars correspond to 95% CI of the average accuracies over replicates. Nb: in “a”, curves of factorial designs are superimposed as well as those of testcross designs.

To better understand differences between accuracies obtained with the two calibration designs, we looked at the accuracies of the GCA and SCA components in the different designs and scenarios. In the scenario with the higher proportion of SCA (23%), the prediction accuracies of the GCA components were higher in the factorial design (ranging from 0.67 to 0.92) than in the tester design (ranging 0.53 to 0.73 when the tester was a founder line; 0.47 to 0.62 when the tester was not a founder line). The difference in GCA accuracies of the two designs increased when TS size increased (Figure 4). The same tendency was observed with the scenario leading to 16% of SCA (see Figure S1b). In the purely additive scenario, GCA accuracies were similar between the two designs (Figure S1a). The prediction accuracy of the SCA in the factorial design was low to moderate and gradually increased with the TS size, and the proportion of SCA. It remained however always lower than the prediction accuracies of the GCA components for the same design. In the higher SCA proportion scenario (23%), the prediction accuracy of the SCA in the factorial design ranged, on average, from 0.28 in the lower TS size (144) to 0.58 in the higher TS size (1728) (Figure 4). The same tendencies were observed with the scenario leading to 16% of SCA but the accuracies of the SCA were lower and even null in this case for a calibration size of 144 (Figure S1).

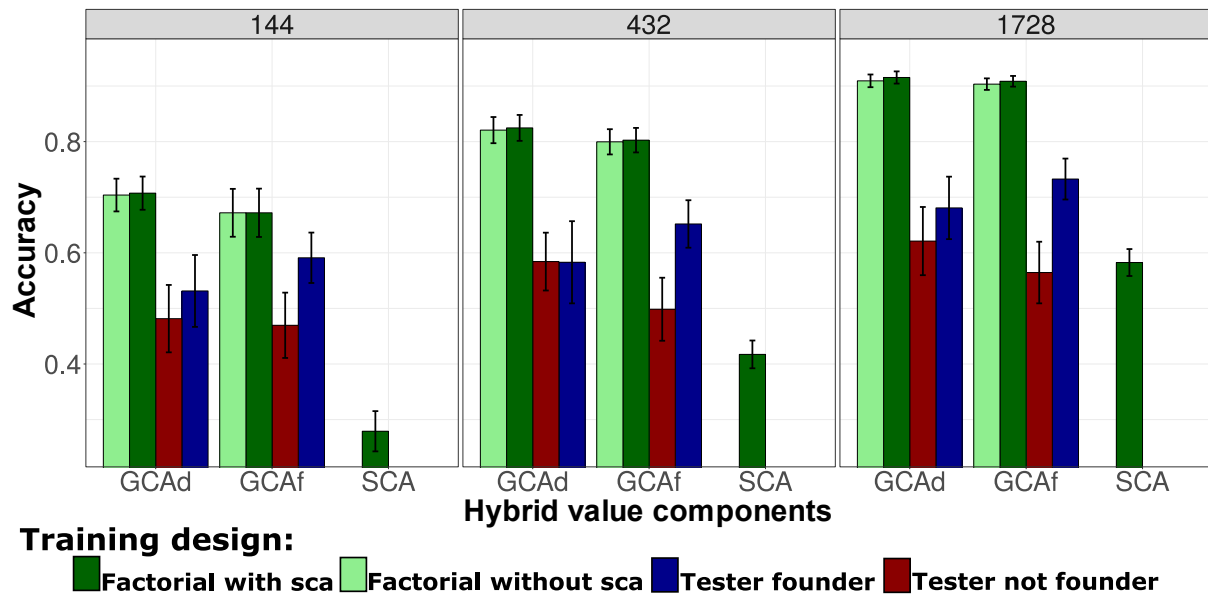


Figure 4: Prediction accuracies of the GCA and SCA components of hybrid value for the different training designs in the scenario with 23% of SCA for low (144), medium (432) and high (1728) TS sizes (same number of hybrids for all designs) on the T0 validation set. For all cases, 95% CI of the average accuracies are displayed.

Genetic gain and accuracies over generations

The cumulated genetic gain after three generations of selection were very high, varying between 2.2 and 4.4 sd unit, depending on the size of the TS, the proportion of SCA and the calibration design (Figure S2). Consistent with the accuracies in the initial generation, the cumulated genetic gain was higher in the absence of dominance effects and was similar in the factorial and the testcross calibration designs, although a slight reduction in genetic gain was observed for the factorial design in some cases (maximum -3%). For the different testcross designs, considering a founder line as tester led to higher genetic gain in the presence of dominance. In the presence of SCA, the genetic gain was higher in the factorial design than in the different testcross designs (Table 2). The factorial design outperformed testcross design by 3% (tester founder, 16% SCA, TS size of 144) to 47% (tester not founder, 23% SCA, TS size of 432).

For all the cases, the genetic gains decreased along generations of selection (Figure S2) but factorial design remained more efficient than tester design in the presence of SCA, especially in the cases when a large population size was used as TS. These results are consistent with the decrease of accuracies along generations (Figure S3).

Table 2: Relative difference between genetic gains obtained with factorial and those from testcross designs for low, medium and high training set size and different SCA proportions. For a given testcross design, this difference was calculated as: $\Delta G_{F-T} = 100 \times \frac{G_F - G_T}{G_T}$; where G_F is the genetic gain obtained in the factorial design and G_T the genetic gain obtained in the considered testcross design.

TS size	Tester design	Generations	SCA proportion		
			0%	16%	23%
144	Tester founder	G1 ^a	-2	8	19
		G1 + G2 ^b	-3	4	16
		G1 + G2 + G3 ^c	-3	3	13
	Tester not founder	G1 ^a	0	17	37
		G1 + G2 ^b	-2	19	29
		G1 + G2 + G3 ^c	-3	18	28
432	Tester founder	G1 ^a	0	14	24
		G1 + G2 ^b	-1	11	22
		G1 + G2 + G3 ^c	-1	9	23
	Tester not founder	G1 ^a	-1	28	45
		G1 + G2 ^b	-1	25	46
		G1 + G2 + G3 ^c	0	25	47
1728	Tester founder	G1 ^a	0	15	25
		G1 + G2 ^b	0	11	22
		G1 + G2 + G3 ^c	0	10	20
	Tester not founder	G1 ^a	0	31	46
		G1 + G2 ^b	0	28	46
		G1 + G2 + G3 ^c	1	27	44

^a difference in genetic gain in the first generation of selection; ^b difference in cumulated genetic gain from the first generation of selection to the second generation; ^c difference in cumulated genetic gain from the first generation of selection to the third generation

Optimization of DH line contributions to the factorial training set

In the factorial designs simulated in the above cases, genomic predictions of GCA and SCA relied on a TS where each line contributed to a single hybrid, which may not be enough to accurately distinguish between the GCA of each parental line and the SCA of the pair. To study this, we increased the number of hybrids per line and consequently reduced the number of lines with hybrid performances in the TS. The influence of the contribution of DH lines in the TS depended on the type of hybrids targeted in the validation set (T2, T1 or T0), the percentage of SCA and the TS size (results not shown). In the scenario with 0% of SCA, the prediction accuracy increased with the number of contributions of DH lines in the TS when predicting T2 hybrids from 0.83 for one hybrid per DH line to 0.90 for 4 hybrids per DH line with the TS size of 144 (Figure 5). For the same situation, the prediction accuracy decreased with the contribution of DH lines in the TS when predicting T0 hybrids from 0.76 for one hybrid per DH line to 0.65 for 4 hybrids per DH line. The impact of DH line contributions on the prediction accuracy of T2 and T0 hybrids decreased when larger TS size were considered (Figure 5). The same trends were observed when the percentage of SCA was higher (Figure S4).

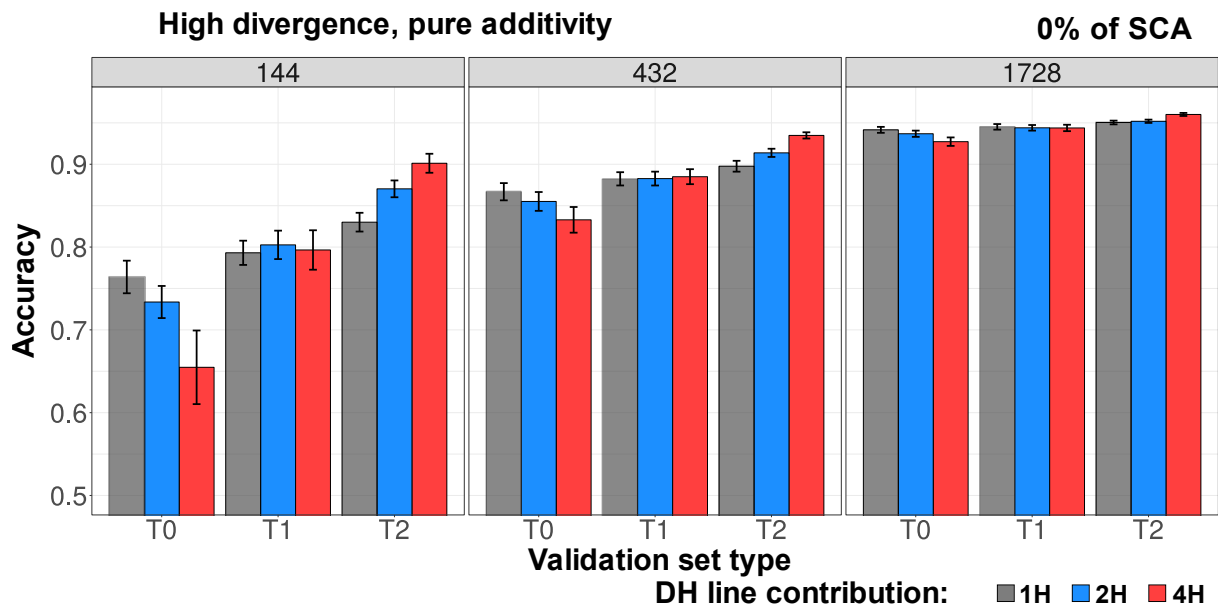


Figure 5: The prediction accuracy of the hybrid value as a function of the contribution of DH lines in the calibration set at the 0% SCA level scenario on the factorial training designs in the T0, T1 and T2 validation sets for low (144), medium (432) and high (1728) TS sizes. The black bars correspond to a contribution of 1 hybrid per DH in the TS (1H), the blue bars correspond to a contribution of 2 hybrids per DH in the TS (2H) and the red bars correspond to a contribution of 4 hybrids per DH in the TS (4H). For all cases, 95% CI of the average accuracies are displayed.

To better understand these results, we evaluated the impact of the number of contributions per line on the accuracies of the GCA and SCA components. The results showed that for the GCA component, whatever the SCA level considered, increasing the contributions of each line in TS and reducing the number of lines is only interesting for T2 hybrids but this advantage decreases if the TS size is large (Figure S4). For the SCA component, increasing the contribution of each line to two or four led to similar accuracies than one contribution even for the prediction of T0 hybrids.

Beyond the first generation, we did not observe much differences between accuracies obtained by the different contribution numbers but except for the case with the highest percentage of SCA, one contribution led to slightly more sustainable accuracies over time (see figure S5).

Discussion

SCA proportion

In our simulation study, we considered different scenarios regarding the biological effects simulated for the QTL: from purely additive scenarios to scenarios allowing for overdominance effects. As clearly shown in the literature, in the absence of epistasis, as assumed in our study, the SCA variance in a factorial depends on the biological dominance effects but also on the QTL allele frequencies in each parental population (Reif et al. 2007; Vitezica et al. 2016). When one allele is fixed in at least one parental population, the SCA variance for the corresponding locus is null; whereas it is maximal when allelic frequencies are equilibrated ($f=0.5$) in both parent populations (Reif et al. 2007). As done in Technow et al. (2012), we modified the level of SCA in our simulated scenarios by sampling QTL among markers showing different levels of group divergence. The highest percentage of SCA simulated (23%) was obtained in the scenario where QTL were sampled among the markers showing a low group divergence and with dominance QTL effects sampled in a distribution generating partial dominance to over dominance effects. This value is consistent with the ratio of SCA variance on GCA variance found in a simulation study (Technow et al. 2012) and in empirical experimental studies (Schrag et al. 2006). Interestingly, for the divergence level corresponding to the one observed between the Dent and Flint group, we obtained an SCA proportion ranging from 16% (for complete dominance) to 19% (for partial to overdominance). These values are consistent with the proportion of SCA observed for Flowering time (16%) and Dry matter Yied (17.5%) by Giraud et al. (2017b) in a factorial design issued from founder lines included in our set of potential founder lines. So, we believe that our simulation scenarios reasonably mimic true situations where two heterotic groups are selected reciprocally in view of producing superior hybrids.

Efficiency of factorial over testcross design

Finding the best training design for genomic selection in hybrid designs is of key interest. Previous studies have addressed mostly a second step of hybrids breeding programs that aim at finding superior hybrids between lines that have already passed a screen for their GCA. We address here the first step, that aims to select among new inbred lines based on a first hybrid evaluation. This step has been commonly practiced so far using a single tester of the opposite group. We used this strategy as a benchmark. We compared an incomplete factorial design between segregating families and a testcross training design for their ability to efficiently predict GCA of new inbred lines and their SCA along three generations of genomic selection. Based on our results, for equivalent total experimental means, factorial clearly outperformed testcross design in terms of prediction accuracy and genetic gain for traits showing dominance and was equivalent to the tester design for purely additive traits. This confirms empirical results (Fritsche-Neto et al. 2018). The gain in accuracy of factorial compared to testcross design was lower than those reported by Fritsche-Neto et al. (2018). However, authors recognized that the very low accuracies they obtained on testcross might be due to the low number of observations. Moreover, they compared testcross design with a full diallel and a factorial but using different training sizes (only 32 hybrids for testcross). In addition to the gain in terms of the average accuracies, we also observed lower variations around the means for the factorial design than for the tester-based design. Indeed, for tester-based calibration set, GCA predictions depend on the tester used. Each tester is expected to mask one part of the genetic variation for trait showing dominance depending on the alleles carried by the tester.

The comparisons of factorial and test-cross designs in our simulations were mainly done considering the same number of hybrids in both designs which led us to evaluate hybrid values for two times more inbred lines in the factorial design than in the testcross design. We also compared the two designs considering the same number of inbred lines evaluated for hybrid values (i.e. with two times more hybrids for the test-cross design than for the factorial). Even in this case, we found an advantage of the factorial design for traits showing dominance and only a small decrease of efficiency in the additive case. This lower efficiency was expected since when traits are purely additive there is no SCA to predict. GCA estimates are identical whatever the design considered but it is more difficult to separate the two parental lines GCA effects in a factorial design than in a testcross design where lines from a given group are all evaluated through hybrids with a same tester line.

Prediction of T2, T1, and T0 hybrids

Compared to other studies based on factorial designs, we considered in the basic scenario of our simulations, factorials in which one parental line was crossed to only one single line from the opposite group, which is the most challenging for estimating GCA but maximizes the number of lines that can be evaluated for given experimental means. Even in this situation we obtained good accuracies for GCA predictions. This is consistent with experimental evaluation found by cross validation by Giraud et al. 2017 in a similar design. In our simulations, we evaluated the accuracies of prediction for different sets of hybrids depending on their degree of relatedness with hybrids of the training set. The T2 hybrids had both of their parents evaluated in the training set, the T1 hybrids had one of their parents evaluated in the TS, and the T0 had none parent tested in the TS. The highest prediction accuracy was observed as expected for T2 hybrids followed by T1 and T0 hybrids. These results are consistent with simulations (Technow et al. 2012), as well as experimental studies in maize (Massman et al. 2013; Technow et al. 2014; Kadam et al. 2016) and wheat (Zhao et al. 2015). However, in our basic scenario where each parental line contributed to only one hybrid we found lower differences between accuracies obtained on T2, T1 and T0 hybrids, compared to results found in above-mentioned studies. One explanation could be that in our study, many hybrids in the validation set, even T0 ones, were indirectly related to those in the training set due to the family structure of our design (hybrids can share the same founder lines). It has to be noted that in our study, when the parental lines contributed to more than 1 hybrid in the TS, the differences between T2, T1 and T0 hybrids increased. Increasing the contribution of each parental line to the calibration set strongly reduced the total number of lines tested per family. This made it more difficult to predict GCA of untested lines of the same family and thus T0 hybrids, explaining the observed results. Increasing the contribution of each line in the calibration set at the expense of the number of lines tested did not really improve prediction accuracies of new hybrids. It slightly improved the prediction accuracy of T2 hybrids but did not improve prediction accuracies of T0 hybrids and hybrids of the next generations (table S4 and S5). Increasing the contribution of each line to the calibration set hybrids slightly increased the prediction accuracy of the SCA component of T0 hybrids but this did not compensate for the decreased accuracy of the GCA component.

To further improve the prediction accuracy of factorial training designs for given experimental means, one may consider, other approaches to select training hybrids that would lead to better accuracy. Some algorithms using prior criteria based on the coefficient of determination (CD) or the predictive error variance (PEV) have been developed to assist in choosing individuals for optimizing

training sets in plant and animal breeding (Rincent et al. 2012; Akdemir et al. 2015). In maize hybrid, Fritsche-Neto et al. (2018) reported an increase of prediction accuracy and the possibility to reduce the number of crosses to be made using optimized training set based on PEV.

Also, we considered in this study calibration sets based on a factorial design between two multiparental populations each derived from four founder lines. This fixed number was chosen to fit with the empirical observation that such designs are an efficient compromise in terms of stringent selection of founders and diversity, allowing a sustained genetic gain over generations (Blanc et al. 2008). Further studies are needed to test different number of founder lines, different multiparental populations (NAM, partial diallel...) potentially resulting in lower relatedness between families.

Revisiting maize hybrid breeding programs

Clear evidences of the advantage of using factorial instead of testcross as training design for genomic selection of new lines in hybrid breeding have been shown in our study. This opens new prospects for reconsidering maize breeding programs. Therefore, classical testcross evaluation conducted up to now for new lines could be replaced by single-cross evaluation based on an incomplete factorial design between the two heterotic groups, like in Giraud et al. (2017a, b) and in this study. As mentioned above, testcross evaluation requires evaluating lines of each heterotic group leading to at least twice more phenotyping efforts than the incomplete factorial design. Meanwhile, using an incomplete factorial has a certain cost because creating single-cross hybrids is more challenging. Indeed hand-made pollination is necessary for producing single-cross hybrids. This results in increasing the cost of hybrid seed production for a single hybrid in the factorial design compared to testcross design. Further studies are needed to evaluate if this increase in production cost is compensated by the diminution of field plots needed for phenotypic evaluation. But one can make a brief cost comparison of the two approaches based on empirical data.

Let us consider a breeding program with 1000 inbred lines to evaluate in each heterotic group (dent and flint lines), each evaluated in one single-cross and single-crosses phenotyped in eight environments without replicates or checks.

When using the testcross evaluation, seed production cost is estimated to be around 22€ per line (including catch-up costs when considering 10% failure rate of the pollinations). Considering that the dent and flint lines are evaluated in combination with only one tester, the seed production will cost 44 000€ ($1000 \times 22 + 1000 \times 22$). With the consideration that all lines are observed only once in all environments, 8 trials are needed for testcross evaluation of the 2000 inbred lines. Considering that the field evaluation of one hybrid in one environment costs 20€, the total field experimentations will be 320 000€ ($8 \times 20 \times 1000 + 8 \times 20 \times 1000$). Thus, the global cost of line testcross evaluation will be 364 000€.

Now let us consider direct evaluation of the hybrids between the 1000 dent and 1000 flint lines, considering also that each line is parent of only one hybrid. Then the total number of hybrids to be produced and evaluated is 1000 hybrids (twice lower). However, hand-made pollination will be needed for seed production and will cost 50€ per cross (including catch-up costs when considering a 40% failure rate of the pollinations). Thus, the total cost for seed production is equal to 50 000€ (1000×50). However, only 8 trials will be needed for evaluating all hybrids. Considering the same cost of

field evaluation per hybrid and per environment, 160 000€ (8 x 20 x 1000) will be needed for phenotypic fees. Thus, evaluation of the lines based on a reciprocal incomplete factorial design will cost 210 000€.

Consequently, evaluation of 1000 lines in each heterotic group considering eight environments, the incomplete factorial is 40% more cost-effective than the testcross design. This advantage is strengthened with the use of genomic selection knowing that the predictions are more accurate and genetic gain is higher in the factorial design, especially since the degree of dominance of the considered trait increases. Even though further investigations are certainly needed, preliminary cost analysis presented above and the high gain in efficiency observed with the factorial design clearly advocate in favour of its use since the first steps of lines selection. This is made possible by the synergistic application of genomic selection in the two breeding pools; the ability to predict GCA within one pool enhances the estimation of GCA in the opposite pool. It can be noted that in a synthesis by Coors (1997) reciprocal recurrent selection clearly appeared as the most efficient breeding method. Applying genomic selection in factorials in which each inbred contributes only once can be viewed as a modern implementation of this method. Implementing such designs will request to reorganize the logistics of breeding schemes but is apparently worth the effort.

References

- Akdemir, Deniz, Julio I Sanchez, et Jean-Luc Jannink. 2015. « Optimization of genomic selection training populations with a genetic algorithm ». *Genetics, Selection, Evolution: GSE* 47 (1).
- Albrecht, Theresa, Valentin Wimmer, Hans-Jürgen Auinger, Malena Erbe, Carsten Knaak, Milena Ouzunova, Henner Simianer, et Chris-Carolin Schön. 2011. « Genome-Based Prediction of Testcross Values in Maize ». *Theoretical and Applied Genetics* 123 (2): 339.
- Bauer, Eva, Matthieu Falque, Hildrun Walter, et al. 2013a. « Intraspecific Variation of Recombination Rate in Maize ». *Genome Biology* 14 (9): R103.
- Bauer, Eva, Matthieu Falque, Hildrun Walter, et al. 2013b. « Intraspecific variation of recombination rate in maize ». *Genome Biology* 14 (9): R103.
- Bernardo, R. 1992. « Relationship between Single-Cross Performance and Molecular Marker Heterozygosity ». *Theoretical and Applied Genetics* 83 (5): 628-34.
- Bernardo, Rex. 1994. « Prediction of Maize Single-Cross Performance Using RFLPs and Information from Related Hybrids ». *Crop Science* 34 (1): 20-25.
- Bernardo, Rex. 1996a. « Best linear unbiased prediction of maize single-cross performance ». *Crop Science* 36 (1): 50-56.
- Bernardo, Rex. 1996b. « Best Linear Unbiased Prediction of the Performance of Crosses between Untested Maize Inbreds ». *Crop Science* 36 (4): 872-76.
- Blanc, Guylaine, Alain Charcosset, Jean-Baptiste Veyrieras, André Gallais, et Laurence Moreau. 2008. « Marker-Assisted Selection Efficiency in Multiple Connected Populations: A Simulation Study Based on the Results of a QTL Detection Experiment in Maize ». *Euphytica* 161 (1): 71-84.
- Browning, Sharon R., et Brian L. Browning. 2007. « Rapid and Accurate Haplotype Phasing and Missing-Data Inference for Whole-Genome Association Studies By Use of Localized Haplotype Clustering ». *The American Journal of Human Genetics* 81 (5): 1084-97.
- Charcosset, A., B. Bonnisseau, O. Touchebeuf, J. Burstin, Y. Barrière, A. Gallais, et J.-B. Denis. 1998. « Prediction of Maize Hybrid Silage Performance Using Marker Data: Comparison of Several Models for Specific Combining Ability ». *Crop Science* 38 (1): 38-44.
- Charcosset, A., et L. Essioux. 1994. « The Effect of Population Structure on the Relationship between Heterosis and Heterozygosity at Marker Loci ». *Theoretical and Applied Genetics* 89 (2): 336-43.
- Coor J. G., Selection Methodologies and Heterosis. CIMMYT. 1997. Book of Abstracts p170. *The Genetics and Exploitation of Heterosis in Crops; An International Symposium*. Mexico, D.F., Mexico.
- Fristche-Neto, Roberto, Deniz Akdemir, et Jean-Luc Jannink. 2018. « Accuracy of Genomic Selection to Predict Maize Single-Crosses Obtained through Different Mating Designs ». *Theoretical and Applied Genetics* 131 (5): 1153-62.
- Ganal, Martin W., Gregor Durstewitz, Andreas Polley, Aurélie Bérard, Edward S. Buckler, Alain Charcosset, Joseph D. Clarke, et al. 2011. « A Large Maize (*Zea mays* L.) SNP Genotyping Array: Development and Germplasm Genotyping, and Genetic Mapping to Compare with the B73 Reference Genome ». *PLoS ONE* 6 (12): e28334.
- Giraud, Héloïse, Cyril Bauland, Matthieu Falque, et al. 2017a. « Linkage Analysis and Association Mapping QTL Detection Models for Hybrids Between Multiparental Populations from Two Heterotic Groups: Application to Biomass Production in Maize (*Zea mays* L.) ». *G3: Genes|Genomes|Genetics* 7 (11): 3649-57.

- Giraud, Héloïse, Cyril Bauland, Matthieu Falque, et al. 2017b. « Reciprocal Genetics: Identifying QTL for General and Specific Combining Abilities in Hybrids Between Multiparental Populations from Two Maize (*Zea Mays* L.) Heterotic Groups ». *Genetics* 207 (3): 1167-80.
- Giraud, Héloïse, Christina Lehermeier, Eva Bauer, Matthieu Falque, Vincent Segura, Cyril Bauland, Christian Camisan, et al. 2014. « Linkage Disequilibrium with Linkage Analysis of Multiline Crosses Reveals Different Multiallelic QTL for Hybrid Performance in the Flint and Dent Heterotic Groups of Maize ». *Genetics* 198 (4): 1717-34.
- Gore, Michael A., Jer-Ming Chia, Robert J. Elshire, Qi Sun, Elhan S. Ersoz, Bonnie L. Hurwitz, Jason A. Peiffer, et al. 2009. « A First-Generation Haplotype Map of Maize ». *Science (New York, N.Y.)* 326 (5956): 1115-17.
- Hallauer, AR, Miranda Filho, et MJ Carena. 2010. *Quantitative Genetics in Maize Breeding*. 3e éd. New York: Springer.
- Jacobson, Amy, Lian Lian, Shengqiang Zhong, et Rex Bernardo. 2014. « General Combining Ability Model for Genomewide Selection in a Biparental Cross ». *Crop Science* 54 (3): 895-905.
- Jenkins, M. T. 1934. « Methods of Estimating the Performance of Double Crosses in Corn ». *Journal of the American Society of Agronomy*.
- Jenkins, M. T., et A. M. Brunson. 1932. « Methods of Testing Inbred Lines of Maize in Crossbred Combinations ». *Journal of the American Society of Agronomy*.
- Kadam, Dnyaneshwar C., Sarah M. Potts, Martin O. Bohn, Alexander E. Lipka, et Aaron J. Lorenz. 2016. « Genomic Prediction of Single Crosses in the Early Stages of a Maize Hybrid Breeding Pipeline ». *G3: Genes, Genomes, Genetics* 6 (11): 3443-53.
- Laporte, Fabien, et Tristan Mary-Huard. 2018. *MM4LMM: Inference of Linear Mixed Models Through MM Algorithm (version 1.0.5)*. <https://CRAN.R-project.org/package=MM4LMM>.
- Lee, E. A., M. J. Ash, et B. Good. 2007. « Re-Examining the Relationship between Degree of Relatedness, Genetic Effects, and Heterosis in Maize ». *Crop Science* 47 (2): 629-35.
- Lee, M., E. B. Godshalk, K. R. Lamkey, et W. W. Woodman. 1989. « Association of Restriction Fragment Length Polymorphisms among Maize Inbreds with Agronomic Performance of Their Crosses ». *Crop Science* 29 (4): 1067-71.
- Lonnquist, J. H., et M. D. Rumbaugh. 1958. « Relative Importance of Test Sequence for General and Specific Combining Ability in Corn Breeding 1 ». *Agronomy Journal* 50 (9): 541-44.
- Lyra, Danilo Hottis. 2017. « Multi-Trait Genomic Prediction for Nitrogen Response Indices in Tropical Maize Hybrids ». *Mol Breeding*, 14.
- Maenhout, Steven, Bernard De Baets, et Geert Haesaert. 2010. « Prediction of Maize Single-Cross Hybrid Performance: Support Vector Machine Regression versus Best Linear Prediction ». *TAG. Theoretical and Applied Genetics. Theoretische Und Angewandte Genetik* 120 (2): 415-27.
- Massman, Jon M., Andres Gordillo, Robenzon E. Lorenzana, et Rex Bernardo. 2013. « Genomewide Predictions from Maize Single-Cross Data ». *Theoretical and Applied Genetics* 126 (1): 13-22.
- Massman, Jon M., Hans-Joachim G. Jung, et Rex Bernardo. 2013. « Genomewide Selection versus Marker-Assisted Recurrent Selection to Improve Grain Yield and Stover-Quality Traits for Cellulosic Ethanol in Maize ». *Crop Science* 53 (1): 58-66.
- Maenhout, S. 2007. « Support vector machine regression for the prediction of maize hybrid performance - Springer ». 2007.

- Melchinger, A.E. (1999) Genetic Diversity and Heterosis. In: Coors, J.G. and Stuber, J.E., Eds., *The Genetics and Exploitation of Heterosis and Crop Plants*, Crop Science Society of America, Madison, 99-118.
- Meuwissen, T. H. E., B. J. Hayes, et M. E. Goddard. 2001. « Prediction of Total Genetic Value Using Genome-Wide Dense Marker Maps ». *Genetics* 157 (4): 1819-29.
- Reif, J. C., F.-M. Gumpert, S. Fischer, et A. E. Melchinger. 2007. « Impact of Interpopulation Divergence on Additive and Dominance Variance in Hybrid Populations ». *Genetics* 176 (3): 1931-34.
- Riedelsheimer, Christian, Angelika Czedik-Eysenberg, Christoph Grieder, Jan Lisec, Frank Technow, Ronan Sulpice, Thomas Altmann, Mark Stitt, Lothar Willmitzer, et Albrecht E. Melchinger. 2012. « Genomic and Metabolic Prediction of Complex Heterotic Traits in Hybrid Maize ». *Nature Genetics* 44 (2): 217-20.
- Rincent, R., D. Laloë, S. Nicolas, T. Altmann, D. Brunel, P. Revilla, V.M. Rodríguez, et al. 2012. « Maximizing the Reliability of Genomic Selection by Optimizing the Calibration Set of Reference Individuals: Comparison of Methods in Two Diverse Groups of Maize Inbreds (*Zea mays* L.) ». *Genetics* 192 (2): 715-28.
- Schrag, T. A., M. Frisch, B. S. Dhillon, et A. E. Melchinger. 2009. « Marker-Based Prediction of Hybrid Performance in Maize Single-Crosses Involving Doubled Haploids. » *Maydica* 54 (2/3): 353-62.
- Schrag, T. A., A. E. Melchinger, A. P. Sørensen, et M. Frisch. 2006. « Prediction of Single-Cross Hybrid Performance for Grain Yield and Grain Dry Matter Content in Maize Using AFLP Markers Associated with QTL ». *Theoretical and Applied Genetics* 113 (6): 1037-47.
- Schrag, Tobias A., Hans Peter Maurer, Albrecht E. Melchinger, Hans-Peter Piepho, Johan Peleman, et Matthias Frisch. 2007. « Prediction of Single-Cross Hybrid Performance in Maize Using Haplotype Blocks Associated with QTL for Grain Yield ». *Theoretical and Applied Genetics* 114 (8): 1345-55.
- Seye, Adama I., Cyril Bauland, Héloïse Giraud, Valérie Mechin, Matthieu Reymond, Alain Charcosset, et Laurence Moreau. 2019. « Quantitative Trait Loci Mapping in Hybrids between Dent and Flint Maize Multiparental Populations Reveals Group-Specific QTL for Silage Quality Traits with Variable Pleiotropic Effects on Yield ». *Theoretical and Applied Genetics*, février.
- Shull, George H. 1908. « The Composition of a Field of Maize ». *Journal of Heredity* 4 (1): 296-301.
- Sprague, G. F., et Loyd A. Tatum. 1942. « General vs. Specific Combining Ability in Single Crosses of Corn ». *Agronomy Journal* 34 (10): 923-32.
- Team, R. Core. 2013. « R: A language and environment for statistical computing ».
- Technow, Frank, Christian Riedelsheimer, Tobias A. Schrag, et Albrecht E. Melchinger. 2012. « Genomic Prediction of Hybrid Performance in Maize with Models Incorporating Dominance and Population Specific Marker Effects ». *Theoretical and Applied Genetics* 125 (6): 1181-94.
- Technow, Frank, Tobias A. Schrag, Wolfgang Schipprack, Eva Bauer, Henner Simianer, et Albrecht E. Melchinger. 2014. « Genome Properties and Prospects of Genomic Prediction of Hybrid Performance in a Breeding Program of Maize ». *Genetics* 197 (4): 1343-55.
- VanRaden, P. M. 2008. « Efficient Methods to Compute Genomic Predictions ». *Journal of Dairy Science* 91 (11): 4414-23.
- Vitezica, Zulma G., Luis Varona, Jean-Michel Elsen, Ignacy Misztal, William Herring, et Andrés Legarra. 2016. « Genomic BLUP including additive and dominant variation in purebreds and F1 crossbreds, with an application in pigs ». *Genetics Selection Evolution* 48: 6.

- Vuylsteke, M., M. Kuiper, et P. Stam. 2000. « Chromosomal Regions Involved in Hybrid Performance and Heterosis: Their AFLP®-Based Identification and Practical Use in Prediction Models ». *Heredity* 85 (3): 208-18.
- Windhausen, Vanessa S., Gary N. Atlin, John M. Hickey, Jose Crossa, Jean-Luc Jannink, Mark E. Sorrells, Babu Raman, et al. 2012. « Effectiveness of Genomic Prediction of Maize Hybrid Performance in Different Breeding Populations and Environments ». *G3: Genes|Genomes|Genetics* 2 (11): 1427-36.
- Zhao, Yusheng, Michael F. Mette, et Jochen C. Reif. 2015. « Genomic Selection in Hybrid Breeding ». Édité par F. Ordon. *Plant Breeding* 134 (1): 1-10.

Discussion générale et perspectives

Le travail conduit dans cette thèse avait une double finalité : (1) acquérir des connaissances sur le déterminisme génétique de caractères d'intérêt au niveau hybride pour le maïs ensilage, notamment pour les caractères liés à la digestibilité et (2) une finalité plus méthodologique sur l'utilisation de la sélection assistée par marqueurs, notamment la sélection génomique, pour améliorer l'efficacité des programmes de sélection hybride. Ce travail s'est appuyé sur une approche expérimentale, qui a consisté à analyser les données obtenues dans le cadre du projet SAMMCR (chapitres I à III) et une approche complémentaire par simulation (chapitre IV). La suite de cette section abordera successivement les principales conclusions et perspectives relatives (I) à la compréhension des bases génétiques des caractères d'intérêt pour le maïs ensilage et (II) à la prédiction génomique de la performance hybride et de ses composantes.

I Compréhension des bases génétiques des caractères d'intérêt pour le maïs ensilage

Importance relative de l'AGC et de l'ASC pour les caractères étudiés :

La part relative des composantes d'AGC et d'ASC est un facteur important à prendre en compte pour l'organisation des schémas de sélection hybride. L'estimation des composantes de la variance génétique hybride nécessite des dispositifs expérimentaux capables de distinguer ces composantes et une modélisation statistique appropriée. Plusieurs dispositifs ont été analysés au cours de la thèse. Dans un premier temps (chapitre I) nous avons étudié un factoriel incomplet entre deux populations de lignées, chacune issue de croisements multiparentaux entre 4 lignées fondatrices provenant d'un des 2 groupes génétiques (corné et denté). Un tel dispositif permet notamment de considérer la composante d'ASC (ou de dominance) de la valeur hybride et, par rapport à un dispositif où les lignées sont croisées à plusieurs « testeurs » (chapitre III), de s'affranchir d'un biais potentiel dû à l'utilisation d'un nombre restreint de testeurs du groupe complémentaire. L'analyse du dispositif présentée au chapitre I est originale car à notre connaissance, il s'agit d'une des premières études ayant estimé les composantes d'AGC et d'ASC de la variance génétique hybride à partir d'un croisement factoriel entre des populations en ségrégation de lignées cornées et dentées pour les caractères de qualité de l'ensilage en intégrant les interactions génétique x environnement des composantes de la variance hybride. Les résultats obtenus montrent une prépondérance de l'AGC sur l'ASC pour l'ensemble des caractères étudiés.

Ils ont confirmé les premières estimations effectuées par Giraud et al. (2017a) pour les caractères agronomiques en utilisant un modèle qui ne tenait pas compte des interactions $G \times E$. Nos estimations montrent que l'ASC explique environ 20% de la variance hybride pour le rendement (DMY), tandis que la proportion la plus élevée d'ASC obtenue pour les caractères de qualité de l'ensilage est de 10% (pour le NDF). Du fait du faible nombre de contributions de chaque lignée aux hybrides, les estimations de ces parts de variances sont relativement imprécises. Pour valider ces estimations, un second dispositif factoriel a été créé (chapitre III) à partir de moins de lignées (90 au lieu de 800 par groupe) mais en augmentant le nombre d'hybrides par lignée. Ce nouveau dispositif confirme l'importance de l'AGC et a conduit à des estimations un peu plus faibles de la part de l'ASC. La prépondérance de l'AGC sur l'ASC concorde avec la contribution limitée des effets d'ASC observée par Argillier et al. (2000) pour les caractères liés à la digestibilité dans un factoriel. Nos résultats sont aussi cohérents avec le fait que nous n'ayons trouvé que très peu de QTL d'ASC pour les caractères de qualité

de l'ensilage. Un résultat similaire a été observé par Giraud et al. (2017a) pour les caractères agronomiques. La faible variance d'ASC et le petit nombre de QTL présentant des effets d'ASC peuvent être dus (i) au fait que ces caractères présentent une architecture génétique additive et/ou (ii) à la divergence entre les groupes hétérotiques corné et denté pour les QTL présentant de la dominance. Dans ce deuxième cas, les effets additifs et de dominance sont confondus et contribuent tous aux effets d'AGC (Reif et al. 2007). Ce phénomène est illustré dans nos simulations (chapitre IV) ou même dans un scénario avec de forts effets de dominance (scénario avec dominance partielle voire avec superdominance) le pourcentage d'ASC est de l'ordre de 16% pour le niveau de divergence correspondant à celui observé dans nos données expérimentales.

Les résultats publiés sur ces aspects pour les caractères de qualité de l'ensilage sont variables. En effet, Argillier et al. (2000) ainsi que Torres et al. (2015) ont rapporté de fortes corrélations entre les performances propres de lignées et leurs performances en croisement avec un testeur pour les caractères de qualité de l'ensilage, ce qui conforte la première hypothèse d'une prépondérance des effets additifs. En revanche, Leng et al. (2018) n'ont trouvé que des corrélations modérées entre testeurs dans des populations de lignées cornées et dentées en ségrégation. Nos résultats obtenus sur testeurs (chapitre III) montrent également une assez faible corrélation entre les performances des lignées entre testeurs pour certains caractères. Ce résultat, et le fait que nous ayons détecté des QTL spécifiques des groupes hétérotiques corné et denté, suggèrent que l'absence d'ASC dans notre dispositif pour les caractères de qualité de l'ensilage pourrait également être due, au moins en partie, à la divergence, entre groupes, de QTL montrant des effets de dominance.

Relations entre les caractères agronomiques et de qualité pour l'ensilage de maïs

Nous avons analysé plusieurs jeux de données composés d'hybrides obtenus par croisement factoriel et par croisement avec un testeur du groupe complémentaire. Quel que soit le jeu de données considéré, les corrélations obtenues étaient fortes entre les caractères de productivité et de qualité et allaient dans le même sens. Nous avons trouvé une corrélation négative entre les deux principaux caractères d'intérêt pour la sélection à savoir la valeur énergétique (MFU) et le rendement (DMY) de l'ensilage. Les corrélations phénotypiques pour ces deux caractères varient entre -0,5 et -0,6 selon le jeu de données et la corrélation génétique estimée à partir du premier jeu de données est de -0,7. Les corrélations phénotypiques sont en accord avec celles (-0,5) rapportées par Barrière et Emile (2000) et Surrault et al. (2005). En revanche, Baldy et al. (2017) ont signalé une relation positive entre DMY et MFU lors de l'analyse des hybrides récemment enregistrés du catalogue français (les hybrides les plus récents montrant une augmentation du DMY et une meilleure digestibilité par rapport aux anciens). Argillier et al. (2000) n'ont trouvé aucune corrélation entre les caractères DMY et les caractères de digestibilité dans un factoriel entre des lignées d'origines différentes (issues de groupes corné et denté) alors que nous avons obtenus une corrélation de l'ordre de -0,8 pour ces caractères. Cela confirme que ces corrélations dépendent de la population de génotypes et d'environnements évalués.

Dans notre matériel végétal, trois des lignées fondatrices dentées appartiennent au groupe Iodent, connu pour avoir une bonne aptitude à la combinaison avec les lignées cornées pour le DMY, mais aussi une digestibilité médiocre (Barrière et al. 2003) alors que la 4^{ème} lignée est issue d'un croisement avec une d'origine Stiff Stalk et la lignée Minesota#13 connue pour avoir une bonne digestibilité. Cette variabilité parmi les lignes fondatrices dentées est cohérente avec l'importance de la variance d'AGC dentée par rapport à l'AGC cornée pour les caractères de qualité de l'ensilage et le

pour DMY. Les groupes hétérotiques que nous avons utilisés et le choix dans chaque groupe d'une lignée fondatrice basée sur sa bonne digestibilité ont peut-être renforcé la corrélation négative entre les caractères de DMY et de qualité de l'ensilage.

Cependant, les colocalisations entre les QTL de caractères de digestibilité et le DMY suggèrent au moins partiellement des QTL avec des effets de pléiotropie. Une meilleure compréhension des bases génétiques de cette corrélation est nécessaire notamment en analysant d'autres jeux de données pour une perspective de sélection, l'objectif étant d'améliorer simultanément le DMY et le MFU. Nos résultats préliminaires obtenus sur les lignées sélectionnées (chapitre III) illustrent la difficulté d'améliorer simultanément les deux caractères.

Une des pistes actuellement envisagée pour aller plus loin dans la compréhension de la qualité de l'ensilage est de s'intéresser à des caractères plus fins impliqués dans la digestibilité comme la composition des sous unités de la lignine ou des composés féruliques (cf chapitre I). Ces caractères plus fins pourraient avoir un déterminisme génétique plus simple, permettant potentiellement de faciliter l'identification de facteurs causaux. Une autre piste intéressante est, au-delà de la composition des parois, d'étudier la répartition des tissus dans les tiges (Méchin et al., 2005 ; El Hage et al., 2018). Des travaux très prometteurs sont en cours sur ces sujets à l'IJPB dans l'équipe de M. Reymond. Ces travaux, en partie financés par Promaïs dans le cadre du projet « Déclic » intègrent du matériel végétal (lignées fondatrices et hybrides) issu du projet SAMMCR. Les résultats de ces travaux devraient permettre de mieux comprendre le lien entre qualité et productivité et fournir des pistes intéressantes pour la sélection.

Étude des bases génétiques des caractères complexes

Le dispositif multiparental analysé dans cette thèse a montré son efficacité pour étudier les bases génétiques de caractères complexes. En effet, il a permis de détecter la quasi-totalité des QTLs de caractères de qualité (digestibilité et composition de la paroi) préalablement identifiés dans plusieurs études séparées de familles biparentales (pour une synthèse, voir Truntzler et al. 2010 ; Barrière et al. 2015, 2016).

Les résultats de validation croisée montrent que la part de variabilité génétique expliquée par l'ensemble des QTL est relativement faible en comparaison avec celle expliquée par un modèle de sélection génomique, notamment pour les caractères de qualité de l'ensilage. Cela souligne la complexité des caractères étudiés qui sont déterminés par des QTL d'effet faible, difficilement détectables même avec un dispositif expérimental de grande taille comme celui que nous avons étudié (951 hybrides).

Les modèles de détection que nous avons mis en œuvre sont les mêmes que ceux utilisés dans le cadre de la thèse d'H. Giraud. Plusieurs améliorations pourraient être envisagées. Nous avons observé de nombreuses colocalisations entre QTL pour des caractères corrélés. Il est difficile de faire la part entre une hypothèse de linkage et de pléiotropie entre les QTL et de plus, nous n'avons pas d'estimation de l'intervalle de confiance de la position des QTL détectés. Les approches classiques basées sur la décroissance de la courbe de test autour des pics de détection (Lander and Boststein, 1989) ne sont pas directement transposables aux populations multiparentales. Un travail de simulation serait nécessaire pour mieux étudier les propriétés des tests de détection de nos modèles pour étudier

cette question. Le programme de simulation de dispositifs similaires au dispositif expérimental développé pour évaluer l'intérêt de la sélection génomique (chapitre IV) pourrait être utilisé pour approfondir cet aspect des modèles de détection de QTL.

Ces modèles pourraient être également améliorés pour intégrer les aspects multi-caractères et/ou multi-environnements. La prise en compte des interactions G x E semble être une perspective d'autant plus pertinente que nos résultats montrent qu'elles sont significatives pour certaines composantes. La prise en compte des interactions G x E peut se faire de deux manières : soit en effectuant une détection sur les données de chaque environnement ou (de préférence) en faisant une détection de QTL multi-environnement. Dans une étude d'association, Rincet et al. (2014) ont détecté très peu de QTL pour le rendement ensilage en considérant des moyennes ajustées sur l'ensemble des environnements, mais beaucoup plus d'associations lorsque les données des différents environnements étaient analysées séparément, suggérant des interactions génotype x environnement (G x E) importantes à considérer. Une option pour effectuer la détection de QTL multi-environnement serait d'ajouter des variables environnementales dans les modèles de détection QTL comme proposé dans Boer et al. (2007). Dans cette approche, les variances génétiques pour chaque environnement et les covariances génétiques entre environnements sont d'abord modélisées. Ensuite, la détection est effectuée en décomposant l'effet du QTL en un effet principal et un effet d'interaction QTL x E. Dans la dernière étape, des variables environnementales (températures, pluviométrie) peuvent être incluses afin de modéliser la réponse des QTL aux facteurs environnementaux. Cette approche peut être étendue aux modèles de détection de QTL multi-traits multi-environnements (Malosetti et al. 2008), avec ou sans inclusion de variables environnementales. Il serait intéressant d'évaluer si cette approche peut être étendue aux modèles décomposant l'effet génétique en AGC cornée, AGC dentée, et ASC. La prise en compte de ces interactions dans les modèles permettrait de détecter des QTL impliqués dans les interactions AGC x E et ASC x E notamment pour les caractères comme la valeur énergétique (MFU), la teneur en paroi (NDF), le rendement ensilage (DMY) et la teneur en matière sèche (DMC) pour lesquels ces composantes semblent importantes. De tels modèles devraient permettre d'évaluer la stabilité des effets dans les différents environnements et de guider le choix des allèles aux QTL à sélectionner selon les environnements ciblés.

Des analyses préliminaires ont été faites dans le cadre du stage M2 d'Alban Besnard que j'ai co-encadré en 2016 pour évaluer les interactions QTL x E. Les premiers résultats sur les caractères de productivité ont mis en évidence des QTL spécifiques de certains essais. Des premiers modèles de détection multi-lieux ont été testés. Ce travail mériterait d'être poursuivi. Une des limites identifiées provenait des temps de calculs nécessaires avec AsReML qui ne permettaient pas la mise en œuvre d'une approche de détection multiQTL. L'utilisation du package MM4LMM (Laporte et al. 2018) développé récemment et utilisé dans la partie simulation du travail devrait permettre de lever cette limite.

Tous nos modèles de détection font l'hypothèse d'une absence d'interaction épistatique entre locus. Or l'épistasie est un paramètre qui contribue à l'AGC et à l'ASC. En utilisant 6 familles biparentales de lignées cornées connectées et évaluées sur un testeur denté, Blanc et al. (2006) ont mis en évidence des interactions épistatiques pour le rendement grain et pour la floraison femelle entre QTL. Ils ont aussi montré que les connections entre familles permettaient de tester plus globalement l'existence d'interaction QTL x fond génétique. Le dispositif que nous avons étudié est une extension de celui de Blanc et al., (2006) au niveau hybride. Les connections entre familles

devraient permettre de tester la présence d'épistasie avec le fond génétique au niveau des effets des QTL (pour l'AGC et l'ASC). Néanmoins, ces analyses nécessitent d'introduire des paramètres supplémentaires dans nos modèles de détection ce qui risquent d'allonger les temps de calculs.

II Prédiction génomique de la performance hybride et de ses composantes

Intérêt de la sélection génomique dans un dispositif factoriel

Après l'étape de détection de QTL, une approche de prédiction génomique a été mise en œuvre. Dans la littérature, la sélection génomique au niveau des dispositifs factoriels a souvent été appliquée lors de la dernière phase des programmes de sélection hybrides où les lignées de chaque groupe ont été sélectionnées sur la base de leur valeur en combinaison avec un testeur de l'autre groupe et sont ensuite croisées suivant un plan factoriel incomplet (Technow et al. 2014). Nous avons montré que la sélection génomique sur les hybrides obtenues à partir de croisements selon un factoriel très incomplet entre deux populations multiparentales de lignées non sélectionnées donnait de bonnes capacités prédictives pour les caractères de qualité, même si en majorité les lignées n'ont contribué qu'à un seul hybride du jeu de calibration. Les très bonnes précisions des prédictions génomiques d'AGC cornée et d'AGC dentée (0,83 et 0,85 pour le MFU, respectivement) montrent qu'il est possible grâce aux marqueurs de prédire distinctement les deux AGCs d'un hybride alors que cela est impossible sur la base des performances seules. Nous avons aussi montré que les prédictions génomiques étaient plus précises que les prédictions réalisées à partir des QTL détectés. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Giraud et al. (in prep.) pour les caractères agronomiques. La bonne qualité des prédictions génomiques est aussi très cohérente avec les résultats de nos simulations ou nous avons considéré le cas extrême où toutes les lignées du jeu de calibration ne contribuaient qu'à un seul hybride. Dans ces simulations, le modèle génomique a permis de décomposer précisément les variances d'AGC et d'ASC et d'obtenir de bons niveaux de prédictions hybrides, similaires à ceux observés dans les données expérimentales pour des effectifs comparables. Ceci ouvre des perspectives intéressantes pour la sélection des lignées dès la première phase des programmes de sélection hybride.

Par ailleurs, les prédictions génomiques des AGC calibrées sur les données de la première phase ont été validées empiriquement sur les données de la seconde phase aussi bien pour le dispositif factoriel que pour celui basé sur l'utilisation de testeurs. Les résultats montrent que les prédictions génomiques sont stables même après une étape de sélection sur de nouveaux hybrides évalués dans d'autres environnements. Faut de temps, la validation expérimentale n'a été faite pour le moment que sur les composantes d'AGC et non sur la valeur hybride. Il serait intéressant d'ajouter la composante d'ASC dans les prédictions même si les résultats obtenus par cross-validation semblent indiquer que cela n'augmente pas la précision des prédictions. Le nouveau jeu de données (deuxième phase du projet) n'a été que partiellement exploité. Au-delà de la validation des prédictions réalisées sur le factoriel de 951 hybrides, il est aussi envisagé de se servir de ces nouveaux hybrides (issus du factoriel ou du dispositif testeur) pour calibrer de nouvelles équations de prédiction et comparer leurs capacités prédictives. Ceci devrait faire l'objet d'un stage de M2 qui débutera au mois de mars.

Par une approche de simulation, nous avons montré que, pour un caractère présentant des effets de dominance, la capacité prédictive des modèles de sélection génomique calibrés sur un dispositif factoriel était meilleure que celle de modèles calibrés sur un dispositif testeur. Les deux

approches apparaissent équivalentes pour un caractère purement additif. En plus du gain d'efficacité moyen nous avons également pu montrer que les résultats sont moins variables d'une répétition à l'autre lorsque la calibration est faite sur un factoriel. Ceci peut s'expliquer par la présence d'allèles dominants portés par le testeur qui peuvent masquer une partie de la variabilité génétique, de façon différente suivant le testeur utilisé dans le jeu de calibration.

Perspectives d'amélioration des modèles de prédictions génomiques hybrides

Si notre étude met en évidence une bonne capacité à prédire l'AGC, de manière empirique comme par simulation, elle montre aussi des limites concernant la prédiction de l'ASC. La variance d'ASC obtenue en utilisant le modèle GBLUP sur nos données expérimentales était plus faible que celle obtenue sur la base de l'analyse des seules données phénotypiques. Ceci suggère que les marqueurs n'ont permis de prendre en compte qu'une partie de l'ASC. Ceci pourrait être lié à la présence d'épistasie que nous n'avons pas prise en compte dans les modèles de prédiction et qui pourrait être une composante importante de l'ASC. L'incapacité à prédire précisément l'ASC peut être due en partie au fait que le dispositif factoriel a été conçu pour évaluer un nombre élevé de lignées parentales dans un nombre limité de combinaisons hybrides (généralement une), ce qui peut limiter la possibilité de calibrer l'ASC dans le modèle. Néanmoins, à taille du jeu de calibration donnée, nos simulations ont montré que l'augmentation du nombre de contributions par lignée augmentait peu la qualité de prédiction des ASC.

Afin d'améliorer la prédiction de l'ASC, d'autres modèles que ceux que nous avons testés pourraient être envisagés. Pour les modèles de sélection génomique considérés dans nos analyses, la prise en compte de la composante d'ASC (dominance) a été faite en utilisant le produit d'Hadamard (multiplication terme à terme) entre les deux matrices de relation génomique des lignées de chaque groupe. Cette approche définit la dominance au niveau du génome entier et non au niveau de chaque locus. Il serait sans doute intéressant de calculer la matrice de double apparentement génomique selon la méthode proposée par Vitezica et al. (2013, 2016). Récemment, la même équipe a également proposé d'inclure également l'épistasie dans les modèles de prédiction GBLUP (Vitezica et al., 2017)

D'autres types de modèles de sélection génomique sont connus pour capturer plus efficacement les effets de dominance que le GBLUP. À l'aide de simulations, Technow et al. (2012) ont montré que les modèles BayesB donnaient de meilleures capacités prédictives que les modèles GBLUP lorsque la dominance était considérée. Cependant cet avantage n'a pas été retrouvé expérimentalement (Technow et al. 2014). Wellmann et Bennewitz (2012) ont proposé un modèle de régression linéaire bayésien appelé BayesD (D pour dominance) qui a permis une amélioration des précisions de prédiction par rapport au GBLUP à partir de simulations. Il serait intéressant d'implémenter ces modèles dans notre dispositif afin de voir l'impact sur la capacité prédictive de l'ASC.

Il serait aussi intéressant de modéliser les interactions épistatiques afin de voir à quel point ces dernières affectent la capacité prédictive notamment celle de la composante d'ASC. La régression basée sur l'espace de Hilbert à noyau reproduisant (RKHS) peut être une option pour inclure des effets non additifs tels que la dominance ou l'épistasie (Gianola et al. 2006; Gianola et van Kaam 2008).

Par ailleurs, dans l'étude de Acosta-Pech et al. (2017), la prise en compte des interactions G x E dans les modèles de prédiction génomique a permis d'améliorer de 12 à 22% les capacités prédictives de la performance d'hybrides non testés pour les caractères comme le rendement de l'ensilage, la teneur en matière sèche et en amidon. Il serait donc intéressant d'évaluer l'apport de ces interactions pour la prédiction génomique dans notre dispositif expérimental.

De même, nos résultats ont révélé de fortes corrélations génétiques entre les caractères de l'ensilage à l'image de celle obtenue entre le rendement et la valeur énergétique. Ces corrélations indiquent que les mesures d'un caractère apportent des informations sur d'autres caractères. Dans une étude comparant plusieurs types de modèles de sélection génomique multi-caractères, Jia et Jannink (2012) ont montré que la capacité prédictive pour un trait à faible héritabilité pouvait être considérablement améliorée lorsqu'un caractère corrélé d'héritabilité élevée est disponible. Au vu des fortes corrélations génétiques observées entre caractères de l'ensilage, il serait également prometteur d'explorer les capacités des modèles multi-caractères qui pourraient notamment améliorer la prédiction des caractères de qualité, moins héritables.

Perspectives pour la sélection hybride chez le maïs ensilage

Par rapport à l'évaluation basée sur un dispositif testeur dans chaque groupe hétérotique, l'utilisation d'un factoriel incomplet peut réduire d'un facteur 2 l'effort de phénotypage pour un même nombre de lignées évaluées. De plus, comparée aux panels d'hybrides utilisés pour réaliser les GWAS, la structure familiale de notre population permet de tracer les allèles des lignées fondatrices dans les hybrides et de contrôler facilement les fausses associations dues au déséquilibre de liaison à longue distance au niveau des lignées fondatrices. La détection QTL a permis d'estimer les effets alléliques des différentes lignées fondatrices et a montré que les lignées fondatrices choisies pour leur digestibilité au sein de chaque groupe ont plus d'allèles favorables et donnent les meilleurs hybrides pour la digestibilité. De plus, l'analyse des effets aux QTL des lignées fondatrices de chaque groupe a montré leur complémentarité et donc la possibilité de les améliorer par inter-croisements.

Par une approche de SAM, les informations QTL peuvent être utilisées au sein de chaque groupe pour définir des idéotypes génotypiques, sélectionner les meilleures lignées, puis guider les inter-croisements dans le but de produire de futures lignées parentales combinant les meilleurs allèles favorables. Cela peut compléter les prédictions génomiques en permettant une meilleure gestion de la variabilité au niveau des régions génomiques ayant des effets principaux.

Les résultats obtenus sur la base des données de la première phase de SAMMCR (thèses de H. Giraud et A. Seye) ont permis de réaliser un nouveau cycle de sélection. A partir des 30 meilleures lignées de chaque groupe, sélectionnées sur la base des prédictions génomiques dans chaque groupe, 40 inter-croisements ont été réalisés (sur un total de 900 possibles) pour produire 40 F1. Le choix des croisements a été réalisé avec le logiciel OptiMAS (Valente et al., 2013) en se basant sur un index intégrant caractères de productivité et de digestibilité et la complémentarité des lignées aux QTL détectés. Une nouvelle génération de lignées parentales améliorées a été produite dans chaque groupe par la technique d'haplo-diploïdisation (HD) avec l'objectif de produire au total 400 HD par groupe soit 10 HD par F1. Les nouvelles lignées ont été génotypées et une nouvelle génération

d'hybrides va être évaluée au champ pendant l'été 2019. Cela permettra (i) d'évaluer le progrès génétique sur la valeur hybride et sur ses composantes (ii) et de vérifier la stabilité des prédictions de la valeur hybride avec les modèles calibrés sur la génération précédente.

Les résultats obtenus sur les données de la seconde phase (chapitre III) ont montré des progrès génétiques opposés entre DMY et l'UFL malgré la sélection sur l'index RPU. Cela est principalement dû au fait que DMY est plus héritable et mieux prédit que l'UFL et que l'index économique utilisé en sélection n'en tient pas compte. Lors de l'étape de sélection des 30 meilleurs individus un seuil avait été mis sur l'UFL prédit pour éviter une baisse des performances. Néanmoins les prédictions génomiques des candidats étaient proches sur ce caractère, gommant vraisemblablement des différences plus importantes au niveau génétique. L'implémentation de modèles de prédiction génomique multi-caractères permettrait de mieux prendre en compte les corrélations entre caractères lors de l'étape de prédiction.

Perspectives sur les travaux de simulation

Au cours de cette thèse, nous avons simulé des populations multiparentales en utilisant les vraies données génotypiques de lignées cornées et dentées. Ces populations ont été évaluées à la fois avec un dispositif factoriel incomplet et avec un dispositif classique utilisant un testeur du groupe complémentaire. L'analyse a permis de montrer l'efficacité des prédictions génomiques calibrées sur un dispositif factoriel par rapport à l'utilisation de testeur, tant sur la capacité prédictive des modèles que sur le gain génétique cumulé. Par ailleurs, nous avons montré l'intérêt mitigé d'augmenter le nombre d'hybrides par lignées parentale (au dépend du nombre de lignées évaluées) dans le jeu d'hybrides de calibration. En effet, lorsqu'il s'agit de prédire des hybrides dont les deux parents sont déjà évalués dans le jeu de calibration, il existe un intérêt à augmenter la contribution des parents pour des petites à moyennes tailles de calibration. A l'inverse, lorsqu'il s'agit de prédire des hybrides pour lesquels aucun des deux parents n'a été évalué dans le jeu de calibration, il est préférable de ne pas augmenter la contribution des lignées mais plutôt d'augmenter le nombre de lignées.

De plus, nous avons considéré dans cette étude des jeux de calibration basés sur un plan factoriel entre deux populations multiparentales dérivées chacune de quatre lignées fondatrices. Des études complémentaires sont nécessaires pour tester l'impact de différents nombres de lignées fondatrices, différentes populations multiparentales (NAM, diallèles partiels, etc.), pouvant potentiellement réduire l'apparementement entre les familles.

Les simulations pourraient également permettre de tester la possibilité d'optimiser le set de calibration au-delà du choix du dispositif en utilisant par exemple l'information moléculaire des lignées pour identifier les hybrides à phénotyper afin de prédire au mieux l'ensemble des hybrides possibles. Cela reviendrait à étendre au niveau hybride des approches de type « CDmean » proposées au niveau lignée par Rincent et al. 2012. Une première approche basée sur le « PEV » a été proposée par Fritsche-Neto et al. 2018.

Enfin, comme déjà signalé, les données simulées peuvent également permettre d'apporter des éléments sur les modèles de détection de QTL évaluer la puissance de détection, la résolution des QTL ainsi que la capacité prédictive des QTL en comparaison avec celle obtenue avec la sélection

génomique. De même, nous pourrions explorer l'impact des interactions G x E et épistatiques sur les modèles de SG comme ceux des QTL.

D'un point de vue plus pratique, le programme de simulation développé dans cette thèse pourrait être utilisé dans les entreprises de sélection comme un outil d'aide à la décision pour l'implémentation de la sélection génomique dans des dispositifs multiparentaux connectés réciproques. Toutefois, il est nécessaire d'optimiser l'algorithme pour la consommation de ressources informatiques (mémoire vive) et pour le temps de calcul, les deux facteurs pouvant être étroitement liés. Ces éléments ont limité le nombre de scénarios que nous avons pu tester au cours de la thèse.

Conclusion

L'ensemble des résultats obtenus dans le cadre de la thèse ont permis d'apporter des éléments nouveaux sur les bases génétiques des caractères d'intérêt pour l'ensilage. Ils ont également montré que, grâce aux marqueurs et à la technique d'haplo-diploïdisation qui permet de produire en une seule génération un grand nombre de lignées fixées, il est envisageable de remplacer efficacement la sélection phénotypique conduite dans des dispositifs sur « testeurs » utilisés en routine par les sélectionneurs allogames par l'implémentation de la sélection génomique calibrée dans un dispositif factoriel. Ce type de dispositif permet de réhabiliter le concept de sélection récurrente réciproque proposé dans les années 50 mais difficilement applicable en pratique. Les approches expérimentales et par simulations se sont révélées très complémentaires. Les résultats de simulation ont permis de mettre en perspectives nos résultats expérimentaux tout en apportant des éléments complémentaires sur l'intérêt de l'approche proposée.

Références

- Acosta-Pech, Rocío, José Crossa, Gustavo de los Campos, Simon Teyssède, Bruno Claustres, Sergio Pérez-Elizalde, and Paulino Pérez-Rodríguez. 2017. "Genomic Models with Genotype × Environment Interaction for Predicting Hybrid Performance: An Application in Maize Hybrids." *Theoretical and Applied Genetics* 130 (7): 1431–40.
- Argillier, O., V. Mechin, and Y. Barriere. 2000. "Inbred Line Evaluation and Breeding for Digestibility-Related Traits in Forage Maize." *Crop Science* 40 (6): 1596–1600.
- Baldy, Aurélie, Marie Pierre Jacquemot, Yves Griveau, Cyril Bauland, Matthieu Reymond, and Valerie Mechin. 2017. "Energy Values of Registered Corn Forage Hybrids in France over the Last 20 Years Rose in a Context of Maintained Yield Increase." *American Journal of Plant Sciences* 08 (06): 1449–61.
- Barriere, Yves, Audrey Courtial, Anne-Laure Chateigner-Boutin, Dominique Denoue, and Jacqueline Grima-Pettenati. 2016. "Breeding Maize for Silage and Biofuel Production, an Illustration of a Step Forward with the Genome Sequence." *Plant Science* 242 (January): 310–29.
- Barrière, Yves, Audrey Courtial, Marçal Soler, and Jacqueline Grima-Pettenati. 2015. "Toward the Identification of Genes Underlying Maize QTLs for Lignin Content, Focusing on Colocalizations with Lignin Biosynthetic Genes and Their Regulatory MYB and NAC Transcription Factors." *Molecular Breeding* 35 (3): 1–23.
- Barrière, Yves, and J. C. Emile. 2000. "Le Maïs Ensilage: Évaluation et Perspectives de Progrès Génétiques Sur Les Caractères de Valeurs Alimentaire - Recherche Google." *Fourrages* 163: 221–38.
- Barrière, Yves, Carine Guillet, Deborah Goffner, and Magalie Pichon. 2003. "Genetic Variation and Breeding Strategies for Improved Cell Wall Digestibility in Annual Forage Crops. A Review." *Animal Research* 52 (3): 193–228.
- Blanc, G., A. Charcosset, B. Mangin, A. Gallais, and L. Moreau. 2006. "Connected Populations for Detecting Quantitative Trait Loci and Testing for Epistasis: An Application in Maize." *Theoretical and Applied Genetics* 113 (2): 206–24.
- Boer, M. P., D. Wright, L. Z. Feng, D. W. Podlich, L. Luo et al., 2007. A mixed-model quantitative trait loci (QTL) analysis for multiple-environment trial data using environmental covariables for QTL-by-environment interactions, with an example in maize. *Genetics* 177: 1801-1813.
- El Hage, F., D. Legland, N. Borrega, M.-P. Jacquemot, Y. Griveau, S. Coursol, V. Méchin, and M. Reymond. 2018. "Tissue Lignification, Cell Wall p-Coumaroylation and Degradability of Maize Stems Depend on Water Status." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 66 (19): 4800–4808.
- Fritsche-Neto, Roberto, Deniz Akdemir, and Jean-Luc Jannink. 2018. "Correction to: Accuracy of Genomic Selection to Predict Maize Single-Crosses Obtained through Different Mating Designs." *Theoretical and Applied Genetics* 131 (7): 1603–1603.
- Gianola, D., R. L. Fernando, and A. Stella, 2006. Genomic-assisted prediction of genetic value with semiparametric procedures. *Genetics* 173: 1761–1776.
- Gianola, D., and J. B. C. H. M. van Kaam, 2008 Reproducing Kernel Hilbert spaces regression methods for genomic assisted prediction of quantitative traits. *Genetics* 178: 2289–2303.
- Giraud, Héloïse, Cyril Bauland, Matthieu Falque, Delphine Madur, Valérie Combes, Philippe Jamin, Cécile Monteil, et al. 2017. "Reciprocal Genetics: Identifying QTL for General and Specific Combining Abilities in Hybrids Between Multiparental Populations from Two Maize (*Zea Mays* L.) Heterotic Groups." *Genetics* 207 (3): 1167–80.
- Jia, Yi, and Jean-Luc Jannink. 2012. "Multiple-Trait Genomic Selection Methods Increase Genetic Value Prediction Accuracy." *Genetics* 192 (4): 1513–22. <https://doi.org/10.1534/genetics.112.144246>.

- Lander, E. S., and D. Botstein. 1989. "Mapping Mendelian Factors Underlying Quantitative Traits Using RFLP Linkage Maps." *Genetics* 121 (1): 185–99.
- Laporte, Fabien, and Tristan Mary-Huard. 2018. MM4LMM: Inference of Linear Mixed Models Through MM Algorithm (version 1.0.5). <https://CRAN.R-project.org/package=MM4LMM>.
- Leng, Pengfei, Milena Ouzunova, Matthias Landbeck, Gerhard Wenzel, Joachim Eder, Birte Darnhofer, and Thomas Lübberstedt. 2018. "Quantitative Trait Loci Mapping of Forage Stover Quality Traits in Six Mapping Populations Derived from European Elite Maize Germplasm." *Plant Breeding* 137 (2): 139–47.
- Malosetti, M., J. M. Ribaut, M. Vargas, J. Crossa, and F. A. van Eeuwijk, 2008. A multi-trait multi-environment QTL mixed model with an application to drought and nitrogen stress trials in maize (*Zea mays* L.). *Euphytica* 161: 241-257.
- Méchin, Valérie, Odile Argillier, Françoise Rocher, Yannick Hébert, Isabelle Mila, Brigitte Pollet, Yves Barrière, and Catherine Lapierre. 2005. "In Search of a Maize Ideotype for Cell Wall Enzymatic Degradability Using Histological and Biochemical Lignin Characterization." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53 (15): 5872–81.
- Reif, J. C., F.-M. Gumpert, S. Fischer, and A. E. Melchinger. 2007. "Impact of Interpopulation Divergence on Additive and Dominance Variance in Hybrid Populations." *Genetics* 176 (3): 1931–34.
- Rincint, R., S. Nicolas, S. Bouchet, T. Altmann, D. Brunel, P. Revilla, R. A. Malvar, et al. 2014. "Dent and Flint Maize Diversity Panels Reveal Important Genetic Potential for Increasing Biomass Production." *Theoretical and Applied Genetics* 127 (11): 2313–31.
- Surault, Fabien, Jean Claude Emile, Martial Briand, Yves Barriere, and Rémi Traineau. 2005. "Variabilité génétique de la digestibilité in vivo d'hybrides de maïs. Bilan de 34 années de mesures." *Fourrages* (183), 459-474. (2005).
- Technow, Frank, Christian Riedelsheimer, Tobias A. Schrag, and Albrecht E. Melchinger. 2012. "Genomic Prediction of Hybrid Performance in Maize with Models Incorporating Dominance and Population Specific Marker Effects." *Theoretical and Applied Genetics* 125 (6): 1181–94.
- Technow, Frank, Tobias A. Schrag, Wolfgang Schipprack, Eva Bauer, Henner Simianer, and Albrecht E. Melchinger. 2014. "Genome Properties and Prospects of Genomic Prediction of Hybrid Performance in a Breeding Program of Maize." *Genetics* 197 (4): 1343–55.
- Torres, Andres F., Cornelie M. M. Noordam-Boot, Oene Dolstra, Louis Vlaswinkel, Richard G. F. Visser, and Luisa M. Trindade. 2015. "Extent of Genotypic Variation for Maize Cell Wall Bioconversion Traits across Environments and among Hybrid Combinations." *Euphytica* 206 (2): 501–11.
- Truntzler, M., Y. Barrière, M. C. Sawkins, D. Lespinasse, J. Betran, A. Charcosset, and L. Moreau. 2010. "Meta-Analysis of QTL Involved in Silage Quality of Maize and Comparison with the Position of Candidate Genes." *Theoretical and Applied Genetics* 121 (8): 1465–82.
- Valente, Fabio, Franck Gauthier, Nicolas Bardol, Guylaine Blanc, Johann Joets, Alain Charcosset, and Laurence Moreau. 2013. "OptiMAS: A Decision Support Tool for Marker-Assisted Assembly of Diverse Alleles." *Journal of Heredity* 104 (4): 586–90.
- Vitezica, Zulma G., Luis Varona, Jean-Michel Elsen, Ignacy Misztal, William Herring, and Andrés Legarra. 2016. "Genomic BLUP Including Additive and Dominant Variation in Purebreds and F1 Crossbreds, with an Application in Pigs." *Genetics Selection Evolution* 48: 6.
- Vitezica ZG, Legarra A, Toro M.A, Varona L. (2017) Orthogonal Estimates of Variances for Additive, Dominance, and Epistatic Effects in populations. *Genetics* 206: 1297–1307
- Wellmann, Robin, and Jörn Bennewitz. 2012. "Bayesian Models with Dominance Effects for Genomic Evaluation of Quantitative Traits." *Genetics Research* 94 (1): 21–37.

Table S1: Pedigree and the heterotic group origin of the inbred lines used as founders of the experimental population.

Heterotic group	Inbred lines	Pedigree	Origin
Flint	F373	F283 x Co329	Lacaune x Canadian Early
	F03802	F359 x UH002	Synthetic Lacaune, Northen Flint, Pob86 CIMMYT
	F02803	Pop86.HSC ² S1 n°21 x UH002	Synthetic Lacaune, Northen Flint, Pob86 CIMMYT
	F7088*	F4 x Anjou258	Etoile de Normandie x Dent-Flint Commercial hybrid
Dent	F1808	Commercial Hybrid Synthetic	Iodent x Iodent
	F98902	Commercial Hybrid Synthetic	Iodent x Stiff Stalk
	F04401	Commercial Hybrid Synthetic	Iodent x Iodent
	F7082*	F7058 x F7019	Stiff Stalk x Minnesota#13

*founder lines in bold correspond to lines selected for their high digestibility

Table S2: Distribution of the 951 hybrids considered for variance component analysis and QTL detection in the 36 hybrid families, according to the biparental families of their parental lines.

Parental line Family	Nb lines ^b	F1: F373 x F02803 ^a	F2: F373 x F03802	F3: F02803 x F03802	F4: F373 x F7088 ^c	F5: F02803 x F7088	F6: F03802 x F7088
Nb lines ^b		162	139	111	154	118	138
D1: F1808 x F04401 ^a	139	31	27	22	30	25	27
D2: F1808 x F98902	144	34	27	22	30	23	32
D3: F04401 x F98902	140	28	29	23	30	26	27
D4: F1808 x F7082 ^c	138	28	28	25	30	27	27
D5: F04401 x F7082	142	33	29	23	28	24	30
D6: F98902 x F7082	99	24	23	15	25	21	18

^a: D1 to D6: Dent families, F1 to F6: Flint families, followed by the names of the two founder lines.

^b: Total number lines contributing to hybrids in each Dent and Flint family.

^c: Founder lines in bold type are the two founder lines chosen for their high digestibility value

Table S3: Geographical information about the different trials: location, year of experimentation, latitude, longitude and precipitations (in mm of rain from sowing to harvest).

Trial	Location	Years	Latitude	Longitude	Precipitations (sowing - harvest)
1	Réclainville	2013	48° 19' 45.77" N	1° 45' 2.02" E	242 mm
2	Neckarmühlbach	2013	49° 17' 2.65" N	9° 8' 26.48" E	415 mm
3	Quimperlet	2013	48° 1' 59.74" N	3° 51' 25.27" O	448 mm
4	Villampuy	2013	48° 1'58.44"N	1° 30' 34.88" E	312 mm
5	Blois	2014	47° 49' 28" N	1° 17' 44" E	375 mm
6	Villers	2014	46° 40' 33" N	0° 10' 29" E	296 mm
7	Ploudaniel	2014	48° 32' 14" N	8° 18' 41" E	335 mm
8	Pleine-Fougère	2014	48° 32' 01" N	1° 33' 51" E	250 mm

Table S4: Variance components and their standard error of estimate (SE) for different silage quality and agronomical traits.

Traits	Variance Components	GCAf + CGAd + SCA + GCAf×E+ CGAd×E + SCA×E (model 1)		Family structure + GCAf + CGAd + SCA + GCAf×E+ CGAd×E + SCA×E (model 2)	
		Variance	SE	Variance	SE
MFU (x 10 ⁴)	GCAf	1.042 (***) ^a	0.337	1.094 (***)	0.267
	GCAd	2.113 (***)	0.31	0.808 (***)	0.258
	SCA	0.27 (ns)	0.348	0.129 (ns)	0.281
	GCAf×E	0.02 (ns)	0.268	0 (ns)	NA ^b
	GCAd×E	0.175 (*)	0.263	0.017 (ns)	0.257
	SCA×E	0.923 (*)	0.441	0.909 (*)	0.345
	Residual_trial1	11.895	0.705	12.348	0.722
	Residual_trial2	4.708	0.352	4.668	0.342
	Residual_trial3	12.691	0.734	12.147	0.703
	Residual_trial4	12.942	0.735	12.908	0.73
	Residual_trial5	5.87	0.432	6.055	0.434
	Residual_trial6	3.662	0.322	3.618	0.312
	Residual_trial7	4.394	0.367	3.827	0.327
Residual_trial8	6.015	0.413	6.178	0.412	
DINAG	GCAf	0.896 (***)	0.143	0.447 (***)	0.125
	GCAd	1.545 (***)	0.17	0.48 (***)	0.123
	SCA	0 (ns)	NA	0.096 (ns)	0.141
	GCAf×E	0.133 (ns)	0.131	0.069 (ns)	0.128
	GCAd×E	0.135 (ns)	0.129	0.03 (ns)	0.127
	SC×E	0.211 (ns)	0.209	0.251 (ns)	0.207
	Residual_trial1	3.662	0.244	3.79	0.244
	Residual_trial2	2.41	0.178	2.324	0.168
	Residual_trial3	6.052	0.348	5.815	0.332
	Residual_trial4	6.597	0.371	6.607	0.368
	Residual_trial5	3.117	0.222	3.229	0.222
	Residual_trial6	1.591	0.15	1.594	0.145
	Residual_trial7	3.076	0.219	2.67	0.193
Residual_trial8	2.822	0.193	2.942	0.194	
DINAGZ	GCAf	0.854 (***)	0.154	0.403 (***)	0.106
	GCAd	1.478 (***)	0.178	0.553 (***)	0.111
	SCA	0 (ns)	NA	0 (ns)	NA
	GCAf×E	0.278 (ns)	0.14	0.226 (ns)	0.136
	GCAd×E	0.243 (ns)	0.136	0.161 (ns)	0.133
	SCA×E	0 (ns)	NA	0 (ns)	NA
	Residual_trial1	NA	NA	NA	NA
	Residual_trial2	2.226	0.174	2.227	0.167
	Residual_trial3	5.976	0.349	5.747	0.329
	Residual_trial4	5.738	0.337	5.745	0.334

	Residual_trial5	2.975	0.224	3.097	0.222
	Residual_trial6	NA	NA	NA	NA
	Residual_trial7	3.405	0.245	2.942	0.212
	Residual_trial8	2.758	0.196	2.95	0.2
NDF	GCAf	0.89 (***)	0.231	0.622 (***)	0.223
	GCAAd	0.841 (***)	0.215	0.883 (***)	0.199
	SCA	0.204 (ns)	0.253	0.114 (ns)	0.239
	GCAf×E	0.147 (*)	0.216	0.113 (*)	0.211
	GCAAd×E	0.086 (*)	0.21	0.073 (*)	0.205
	SCA×E	0.798 (*)	0.354	0.687 (*)	0.343
	Residual_trial1	NA	NA	NA	NA
	Residual_trial2	3.974	0.291	3.984	0.287
	Residual_trial3	7.648	0.471	7.481	0.461
	Residual_trial4	10.354	0.589	10.266	0.586
	Residual_trial5	4.835	0.353	4.893	0.353
	Residual_trial6	2.714	0.244	2.768	0.243
	Residual_trial7	2.525	0.242	2.271	0.22
	Residual_trial8	5.279	0.353	5.389	0.353
CELL (x 10 ⁵)	GCAf	1.025 (***)	0.309	0.621 (***)	0.232
	GCAAd	2.19 (***)	0.295	0.568 (***)	0.224
	SCA	0 (ns)	0.322	0.234 (ns)	0.275
	GCAf×E	0.302 (ns)	0.24	0.332 (ns)	0.241
	GCAAd×E	0.499 (*)	0.237	0.237 (ns)	0.235
	SCA×E	0.001 (ns)	NA	0.001 (ns)	NA
	Residual_trial1	NA	NA	NA	NA
	Residual_trial2	8.83	0.518	8.738	0.503
	Residual_trial3	10.714	0.623	10.799	0.617
	Residual_trial4	10.526	0.613	10.576	0.605
	Residual_trial5	5.87	0.416	6.027	0.411
	Residual_trial6	3.798	0.313	3.758	0.303
	Residual_trial7	6.462	0.44	6.041	0.41
	Residual_trial8	6.077	0.405	6.188	0.399
HCELL (x 10 ⁵)	GCAf	2.041 (***)	0.398	1.194 (***)	0.394
	GCAAd	5.487 (***)	0.537	1.198 (***)	0.397
	SCA	0.001 (ns)	NA	0.553 (ns)	0.468
	GCAf×E	0.47 (ns)	0.352	0.516 (ns)	0.353
	GCAAd×E	0.87 (*)	0.351	0.416 (ns)	0.347
	SCA:Site×E	0.001 (ns)	NA	0 (ns)	NA
	Residual_trial1	NA	NA	NA	NA
	Residual_trial2	10.017	0.639	9.947	0.617
	Residual_trial3	20.564	1.158	20.707	1.151
	Residual_trial4	14.326	0.857	14.507	0.849
	Residual_trial5	6.888	0.529	7.185	0.528
	Residual_trial6	5.934	0.481	5.808	0.461
	Residual_trial7	9.553	0.665	9.056	0.623

	Residual_trial8	9.122	0.608	9.275	0.599
LIGNIN (x 10 ⁵)	GCAf	0.254 (***)	0.075	0.191 (***)	0.045
	GCAAd	0.851 (***)	0.074	0.177 (***)	0.047
	SCA	0.024 (ns)	0.07	0.056 (ns)	0.052
	GCAf×E	0 (ns)	0.039	0.009 (ns)	0.038
	GCAAd×E	0.074 (**)	0.036	0.027 (ns)	0.036
	SCA×E	0.077 (ns)	0.06	0.075 (ns)	0.06
	Residual_trial1	NA	NA	NA	NA
	Residual_trial2	0.552	0.045	0.544	0.043
	Residual_trial3	2.452	0.135	2.442	0.134
	Residual_trial4	1.209	0.075	1.226	0.075
	Residual_trial5	0.597	0.048	0.619	0.048
	Residual_trial6	0.781	0.059	0.745	0.056
	Residual_trial7	0.555	0.049	0.506	0.045
	Residual_trial8	0.804	0.057	0.842	0.057
DMY	GCAf	0.256 (***)	0.103	0.252 (***)	0.097
	GCAAd	0.731 (***)	0.099	0.434 (***)	0.09
	SCA	0.227 (*)	0.111	0.248 (*)	0.107
	GCAf×E	0.213 (***)	0.066	0.193 (***)	0.064
	GCAAd×E	0.022 (ns)	0.063	0.008 (ns)	0.063
	SCA×E	0.161 (ns)	0.1	0.125 (ns)	0.099
	Residual_trial1	0.788	0.071	0.799	0.071
	Residual_trial2	1.368	0.103	1.328	0.099
	Residual_trial3	3.08	0.183	2.953	0.175
	Residual_trial4	2.6	0.158	2.5	0.152
	Residual_trial5	0.899	0.079	0.852	0.075
	Residual_trial6	1.54	0.115	1.473	0.109
	Residual_trial7	0.677	0.062	0.696	0.063
	Residual_trial8	NA	NA	NA	NA
DMC	GCAf	2.242 (***)	0.26	0.937 (***)	0.225
	GCAAd	0.863 (***)	0.27	0.909 (***)	0.223
	SCA	0.516 (ns)	0.279	0.59 (*)	0.248
	GCAf×E	0.349 (***)	0.115	0.148 (***)	0.114
	GCAAd×E	0.355 (***)	0.111	0.323 (***)	0.108
	SCA×E	0.252 (ns)	0.172	0.342 (ns)	0.173
	Residual_trial1	3.819	0.252	3.439	0.228
	Residual_trial2	1.525	0.131	1.494	0.126
	Residual_trial3	2.7	0.202	2.373	0.18
	Residual_trial4	5.178	0.311	4.884	0.294
	Residual_trial5	1.834	0.161	1.622	0.144
	Residual_trial6	0.736	0.083	0.822	0.091
	Residual_trial7	1.943	0.16	1.907	0.154
	Residual_trial8	2.921	0.203	2.903	0.199
DtSILK	GCAf	0.727 (***)	0.195	0.494 (***)	0.189
	GCAAd	1.272 (***)	0.179	1.119 (***)	0.167

SCA	0.404 (*)	0.187	0.477 (**)	0.189
GCAf×E	0.19 (***)	0.063	0.136 (**)	0.062
GCA _d ×E	0.138 (**)	0.06	0.101 (*)	0.06
SCA×E	0 (ns)	0.094	0.038 (ns)	0.094
Residual_trial1	1.373	0.096	1.356	0.094
Residual_trial2	2.729	0.157	2.766	0.159
Residual_trial3	5.798	0.3	5.719	0.299
Residual_trial4	0.735	0.064	0.781	0.067
Residual_trial5	0.931	0.074	0.943	0.074
Residual_trial6	2.063	0.134	1.916	0.126
Residual_trial7	2.128	0.132	1.97	0.124
Residual_trial8	0.677	0.061	0.642	0.058

^a: significance levels of random genetic effects (based on the likelihood ratio test) ns: not significant, *, **, *** for significant effects at a 5%, 1% and 0.1% risk levels, respectively. ^b: NA, Not estimated

Table S5: Genetic correlations between silage quality and agronomical traits and their standard error of estimates (between brackets)

	DINAG	DINAGZ	NDF	CELL	HCELL	LIGNIN	DMY	DMC	DtSILK
MFU	0.86 (0.01)	0.79 (0.017)	-0.79 (0.015)	-0.86 (0.013)	0.87 (0.011)	-0.76 (0.018)	-0.72 (0.025)	0.16 (0.038)	-0.66 (0.024)
DINAG		0.99 (0.001)	-0.46 (0.032)	-0.86 (0.013)	0.92 (0.007)	-0.91 (0.007)	-0.53 (0.03)	-0.21 (0.036)	-0.33 (0.034)
DINAGZ			-0.36 (0.039)	-0.82 (0.018)	0.9 (0.01)	-0.93 (0.007)	-0.48 (0.037)	-0.38 (0.036)	-0.2 (0.038)
NDF				0.53 (0.032)	-0.46 (0.034)	0.26 (0.038)	0.59 (0.035)	-0.31 (0.037)	0.71 (0.024)
CELL					-0.98 (0.002)	0.82 (0.016)	0.69 (0.028)	-0.03 (0.04)	0.5 (0.032)
HCELL						-0.92 (0.007)	-0.66 (0.027)	-0.02 (0.038)	-0.45 (0.031)
LIGNIN							0.54 (0.03)	0.07 (0.037)	0.32 (0.033)
DMY								-0.37 (0.033)	0.64 (0.024)
DMC									-0.59 (0.024)

Table S6: QTL detected with the “Hybrid Genotype” model for silage quality traits

Trait	Rank	Chr ^a	Marker ^b	Gen pos ^c	Phys pos ^d	Bin ^e	-log ₁₀ (add) ^f	-log ₁₀ (dom) ^f	-log ₁₀ (global) ^f	R ^{2g}
DINAG	1	1	PZE-101018199	22	10541	1.01	6.82	0.39	6.14	1.06
	2	1	PZE-101053184	57.9	37129	1.03	8.34	0.71	7.83	1.31
	3	1	PZE-101152052	117.6	195517	1.06	5.44	2.09	6.18	1.08
	4	2	PZE-102117709	93	158216	2.06	5.95	0.88	5.64	0.96
	5	3	PZE-103088324	60.1	146635	3.05	9.11	0.03	8.22	1.43
	6	3	PZE-103139252	110.1	195676	3.07	0.22	4.73	4.04	0.67
	7	4	PZE-104066292	66.3	131221	4.05	10.66	1.19	10.47	1.77
	8	5	PZE-105021883	24.4	10429	5.02	7.49	0.02	6.64	1.15
	9	6	PZE-106011992	11.9	31420	6.01	5.07	0.24	4.37	0.76
	10	6	PZE-106111667	93	159450	6.06	5.18	0.06	4.42	0.75
	11	8	PZE-108079420	72.5	135126	8.05	5.17	0.38	4.55	0.77
	12	10	PZE-110020913	33.7	27654	10.03	4.64	0.15	3.93	0.68
DINAGZ	1	1	PZE-101018199	22	10541	1.01	7.87	0.29	7.1	1.4
	2	1	PZE-101053184	57.9	37129	1.03	8.24	0.89	7.86	1.54
	3	1	PZE-101156409	121.4	199193	1.07	6.68	0.15	5.89	1.16
	4	3	PZE-103088324	60.1	146635	3.05	7.11	0.26	6.34	1.25
	5	4	PZE-104043330	61.2	62335	4.05	7.63	1.67	7.92	1.57
	6	5	PZE-105021883	24.4	10429	5.02	5.52	0.03	4.74	0.94
	7	6	PZE-106011992	11.9	31420	6.01	6.28	0.51	5.69	1.11
	8	8	PZE-108087112	76.7	144265	8.05	4.84	0.45	4.27	0.82
	9	10	PZE-110016138	28.8	16510	10.03	4.62	0.62	4.18	0.82
MFU	1	1	PZE-101029748	35.2	17831	1.02	5.49	0.4	4.87	1.12
	2	1	PZE-101090371	90.1	82033	1.04	5.28	0.21	4.56	1.04
	3	1	PZE-101152052	117.6	195517	1.06	9.02	0.51	8.35	1.94
	4	2	PZE-102175453	150.6	218510	2.09	5.51	1.58	5.79	1.35
	5	3	PZE-103056292	50.1	68059	3.04	8.76	0.04	7.88	1.83
	6	4	PZE-104066292	66.3	131221	4.05	7.31	0.83	6.92	1.59
	7	4	PZE-104122912	128.4	200211	4.08	6.78	0.25	6.02	1.4
	8	5	PZE-105063898	56.6	63739	5.03	6.5	0.66	6.01	1.38
	9	5	PZE-105146596	121.1	199838	5.06	5.16	0.24	4.46	1.04
	10	8	PZE-108030620	52.1	34585	8.03	15.48	0.06	14.41	3.38
	11	10	PZE-110021179	33.8	28396	10.03	6.03	0.83	5.68	1.3
	12	10	PZE-110048212	43.3	90386	10.04	15.95	0.98	15.65	3.6
NDF	1	1	PZE-101096275	95.4	94828	1.05	6.52	4.26	9.22	2.91
	2	2	PZE-102106083	87.8	134248	2.05	4.84	0.43	4.26	1.39
	3	3	PZE-103054890	50	64917	3.04	9.39	0.5	8.71	2.85
	4	4	PZE-104117192	125.1	193526	4.08	5.51	0.77	5.14	1.7
	5	5	PZE-105160758	137.4	207562	5.07	6.17	0.23	5.42	1.78
	6	7	PZE-107132427	141.6	172767	7.05	6.14	0.61	5.63	1.82
	7	8	PZE-108079256	72.4	134887	8.05	8.42	0.81	7.98	2.58
	8	9	PZE-109101696	100.4	146023	9.06	5.22	1.09	5.1	1.67
	9	10	PZE-110048295	43.3	90494	10.04	11.83	2.02	12.34	3.98
CELL	1	1	PZE-101030022	35.4	17976	1.02	5.25	0.12	4.49	1.01
	2	1	PZE-101062825	65.9	46131	1.03	4.54	0.07	3.81	0.85

	3	1	PZE-101147747	113.9	191562	1.06	7.05	0.53	6.45	1.44
	4	2	PZE-102097040	86	112544	2.05	6.34	0.03	5.52	1.24
	5	4	PZE-104063016	65.9	124684	4.05	5.87	0.45	5.26	1.17
	6	5	PZE-105094920	69.9	139276	5.04	6.13	0.34	5.44	1.22
	7	8	PZE-108041587	52.9	67404	8.03	8.16	0.76	7.69	1.74
	8	10	PZE-110049001	43.7	91801	10.04	10.39	0.36	9.6	2.13
HCELL	1	1	PZE-101041380	48.7	27981	1.02	15.95	0.6	15.35	2.71
	2	1	PZE-101160748	125.9	203371	1.07	6.18	0.13	5.4	0.95
	3	2	PZE-102124171	98.7	173492	2.06	5.68	0.33	5.01	0.88
	4	4	PZE-104066292	66.3	131221	4.05	7.86	1.16	7.71	1.34
	5	5	PZE-105021883	24.4	10429	5.02	6.19	0.56	5.64	0.99
	6	6	PZE-106043252	24.6	93348	6.02	5.65	0.43	5.04	0.89
	7	7	PZE-107068965	59.3	125897	7.02	5.96	0.03	5.16	0.92
	8	8	PZE-108036758	52.6	56736	8.03	7.4	0.8	6.98	1.24
	9	8	PZE-108077879	71.8	133095	8.05	5.95	0.31	5.26	0.92
	10	10	PZE-110048931	43.7	91732	10.04	11.52	0.4	10.72	1.89
LIGNIN	1	1	PZE-101041380	48.7	27981	1.02	21.94	1.55	21.93	3.07
	2	1	PZE-101156409	121.4	199193	1.07	7.53	0.19	6.72	0.95
	3	1	PZE-101162399	128.2	205619	1.07	5.15	0.04	4.38	0.62
	4	2	PZE-102119932	94.5	164078	2.06	8.75	0.31	7.97	1.12
	5	3	PZE-103085796	58.5	142036	3.05	7.18	1.11	7.01	0.99
	6	3	PZE-103122604	91.6	180567	3.06	5.27	0.44	4.68	0.66
	7	4	PZE-104064628	66.1	127731	4.05	5.8	0.88	5.49	0.77
	8	5	PZE-105022751	26.4	11403	5.02	6.48	0.2	5.7	0.81
	9	6	PZE-106006919	5.9	9153	6.01	6.19	0.42	5.54	0.79
	10	7	PZE-107050393	42.3	99728	7.02	8.08	1.21	7.97	1.13
	11	8	PZE-108058212	59.1	103422	8.03	6.15	0.35	5.47	0.77
	12	8	PZE-108092877	80.8	149428	8.06	5.19	0.25	4.49	0.63
	13	10	PZE-110009748	15.2	7924	10.02	5.09	0.32	4.43	0.62
	14	10	PZE-110053819	45.8	101950	10.04	9.05	0.37	8.29	1.17

^a: chromosome (Chr),

^b: associated marker (Marker),

^c: genetic position in cM (Gen pos),

^d: physical position in kbp in the maize reference genome (RefGen_v3) (Phys pos),

^e: bin location (Bin),

^f: $-\log_{10}(\text{pvalue})$ of the tested effects – additive effect (add), dominance effect (dom), and the whole effect (Global)

^g: phenotypic variance explained by each QTL (R^2).

Table S7: QTL detected with the “SNP within group” model for silage quality traits.

Trait	Rank	Chr ^a	Marker ^b	Gen pos ^c	Phys pos ^d	Bin ^e	-log ₁₀ (GCAf) ^f	-log ₁₀ (GCAd) ^f	-log ₁₀ (SCA) ^f	-log ₁₀ (Global) ^f	R ^{2g}
DINAG	1	1	PZE-101032231	38.1	19695	1.02	7.26	3.66	0.19	9.15	1.55
	2	1	PZE-101073248	74	56079	1.04	0.41	15.48	0.22	13.87	2.32
	3	1	PZE-101152364	117.9	195803	1.06	9.53	0.26	0.4	8.1	1.39
	4	2	PZE-102185327	169.7	229791	2.10	3.88	3.35	0.31	5.11	0.9
	5	3	PZE-103078697	54.8	130072	3.05	4.95	4.8	0.8	7.85	1.36
	6	4	PZE-104068814	67.1	136985	4.05	3.58	7.26	0.2	8.67	1.47
	7	4	PZE-104153769	155.9	238843	4.10	4.74	1.57	0.01	4.66	0.83
	8	5	PZE-105065789	58.1	67534	5.03	6.23	0.29	0.06	4.94	0.87
	9	6	PZE-106003908	3.3	4844	6.00	9.34	1.31	0.68	8.83	1.49
	10	6	PZE-106111667	93	159450	6.06	1.38	8.48	0.13	7.67	1.3
	11	7	PZE-107052155	42.7	102207	7.02	0.03	6.85	0.34	5.55	0.98
	12	8	PZE-108073565	70.2	128075	8.05	5.34	2.98	0.35	6.27	1.08
	13	10	PZE-110021179	33.8	28396	10.03	6.15	2.91	0.59	7.13	1.21
DINAGZ	1	1	PZE-101032318	38.2	19791	1.02	4.66	4.95	0.86	7.99	1.59
	2	1	PZE-101041380	48.7	27981	1.02	0.07	4.91	0.59	3.85	0.83
	3	1	PZE-101071373	72.3	53848	1.04	0.73	6.82	0.01	5.76	1.2
	4	1	PZE-101156409	121.4	199193	1.07	8.39	0.98	1.08	8.11	1.59
	5	3	PZE-103078697	54.8	130072	3.05	2.31	5.84	0.7	6.3	1.31
	6	4	PZE-104043330	61.2	62335	4.05	3.05	4.56	2.02	7.31	1.48
	7	5	PZE-105146705	121	199760	5.06	5.41	0.05	0.02	4.06	0.83
	8	6	PZE-106012245	11.9	31649	6.01	5.25	1.86	0.28	5.14	1.03
	9	6	PZE-106105143	84.1	155849	6.06	0.23	6.06	0.01	4.69	0.99
	10	7	PZE-107047279	41.8	96874	7.02	0.23	5.2	0.74	4.28	0.92
	11	8	PZE-108104357	94.4	159041	8.06	3.42	4.33	1.24	6.52	1.3
MFU	1	1	PZE-101071843	72.6	54275	1.04	0.77	9.26	0.19	8.16	1.93
	2	1	PZE-101147248	113.1	190736	1.06	5.66	0.42	0.06	4.51	1.17
	3	2	PZE-102100718	86.5	121035	2.05	5.44	2.67	0.51	6.15	1.54
	4	3	PZE-103084533	57.8	139928	3.05	6.86	4.94	0.1	9.37	2.27
	5	4	PZE-104068814	67.1	136985	4.05	2.83	8.63	0.19	9.35	2.2
	6	4	PZE-104123124	128.5	200364	4.08	2.42	5.78	0.01	6.09	1.48
	7	5	PZE-105009142	10.2	4271	5.01	4.27	2.21	0	4.66	1.19
	8	5	PZE-105065789	58.1	67534	5.03	6.4	0.81	0.43	5.68	1.46
	9	6	PZE-106111667	93	159450	6.06	0.31	4.73	0.12	3.5	0.87
	10	8	PZE-108030632	52.1	34585	8.03	6.33	4.93	0.15	8.64	2.14
	11	10	PZE-110049918	44.3	94015	10.04	15.95	3.17	1.17	17.37	4.15
NDF	1	1	PZE-101096275	95.4	94828	1.05	5.85	0.45	3.93	7.73	2.57
	2	1	PZE-101182889	148.8	227655	1.07	0.06	5.57	0.02	4.2	1.51
	3	2	PZE-102038375	44.3	19136	2.03	0.62	4.64	1.32	4.46	1.58
	4	3	PZE-103008521	9.4	4704	3.02	4.86	0.06	0.08	3.61	1.3
	5	3	PZE-103084533	57.8	139928	3.05	3.62	7.92	0.02	9.11	3.07
	6	4	PZE-104063220	65.9	124980	4.05	0.94	5.06	0.2	4.32	1.54
	7	4	PZE-104122079	128.1	199213	4.08	1.69	5.6	0.09	5.51	1.93
	8	5	PZE-105160758	137.4	207562	5.07	3.02	3.24	0.23	4.73	1.67
	9	8	PZE-108079256	72.4	134887	8.05	2.54	6.04	0.66	6.74	2.3

	10	10	PZE-110043216	39.7	82246	10.03	11.34	2.77	0.8	12.09	4.01
CELL	1	1	PZE-101030561	36.5	18643	1.02	3.28	7.7	0.54	8.84	2
	2	1	PZE-101147747	113.9	191562	1.06	4.83	1.54	0.51	4.86	1.16
	3	2	PZE-102097040	86	112544	2.05	3.42	3.39	0.25	4.9	1.16
	4	4	PZE-104057632	65.6	109154	4.05	0.8	8.43	0.46	7.4	1.68
	5	5	PZE-105123635	96.8	180460	5.05	5.28	1.33	0.58	4.94	1.21
	6	6	PZE-106055870	39.8	106390	6.04	0.6	5.14	0.16	4.11	0.96
	7	7	PZE-107069662	60.2	126482	7.02	2.84	3.36	1.55	5.6	1.31
	8	8	PZE-108038832	52.7	63070	8.03	4.23	4.04	1.41	6.87	1.6
	9	8	PZE-108079531	72.6	135310	8.05	0.37	4.75	0.12	3.56	0.84
	10	10	PZE-110049001	43.7	91801	10.04	4.62	5.54	0.14	7.86	1.79
HCELL	1	1	PZE-101041380	48.7	27981	1.02	5.25	11.2	0.82	15.48	2.87
	2	1	PZE-101160748	125.9	203371	1.07	7.07	1.07	0.31	6.17	1.24
	3	4	PZE-104068814	67.1	136985	4.05	1.57	7.16	0.41	6.93	1.32
	4	5	PZE-105021883	24.4	10429	5.02	3.84	2.21	0.7	4.56	0.92
	5	6	PZE-106055870	39.8	106390	6.04	0.2	5.27	0.12	3.99	0.79
	6	7	PZE-107069707	60.2	126500	7.02	4.16	2.65	1.92	5.84	1.14
	7	8	PZE-108040247	52.8	65266	8.03	4.54	5.05	0.41	7.25	1.42
	8	8	PZE-108079531	72.6	135310	8.05	0.39	4.61	0.29	3.52	0.7
	9	10	PZE-110048931	43.7	91732	10.04	7.53	5.14	0.36	10.53	2.02
LIGNIN	1	1	PZE-101030220	35.8	18197	1.02	6.14	4.04	0.49	8.3	1.15
	2	1	PZE-101041380	48.7	27981	1.02	3.48	9.25	0.6	11.59	1.56
	3	1	PZE-101063113	66.1	46412	1.03	0.48	5.09	0.63	4.29	0.61
	4	1	PZE-101156409	121.4	199193	1.07	5.6	0.06	0.2	4.27	0.62
	5	1	PZE-101165471	131.4	208623	1.07	5.61	0.16	1.08	4.89	0.7
	6	1	PZE-101208130	171.7	257549	1.09	6.89	0.33	0.08	5.55	0.78
	7	2	PZE-102122951	97.1	170566	2.06	3.93	4.27	0.07	6.26	0.87
	8	3	PZE-103076001	53.8	126190	3.04	6	6.99	0.7	11.1	1.51
	9	3	PZE-103123072	92	180829	3.06	0.55	4.7	2.09	5.01	0.7
	10	4	PZE-104066987	66.4	132579	4.05	1.84	5.29	1.2	6.09	0.85
	11	4	PZE-104137353	135.3	224587	4.09	0.27	4.77	0.35	3.68	0.53
	12	6	PZE-106003908	3.3	4844	6.00	7.6	2.98	0.83	8.76	1.19
	13	7	PZE-107060076	48.4	115578	7.02	0.07	9.48	0.08	7.91	1.1
	14	8	PZE-108063241	63.4	112594	8.04	6.98	1.14	1.52	7.19	0.99
	15	9	PZE-109058967	62.9	101517	9.03	3.88	4.2	1.13	6.36	0.89
	16	10	PZE-110049734	44.2	93648	10.04	7.72	3.28	0.87	9.27	1.27

^a: chromosome (Chr),

^b: associated marker (Marker),

^c: genetic position in cM (Gen pos),

^d: physical position in kbp in the the maize reference genome (RefGen_v3) (Phys pos),

^e: bin location (Bin),

^f: $-\log_{10}(\text{pvalue})$ of the tested effects – Flint GCA (GCAf), Dent GCA (GCAd) and SCA (SCA), and the whole effect (Global)

^g: phenotypic variance explained by each QTL (R^2).

Table S8: QTL detected with the “Founder allele” model for silage quality traits.

Trait	Rank	Chr ^a	Marker ^b	Gen pos ^c	Phys pos ^d	Bin ^e	-log ₁₀ (GCAf) ^f	-log ₁₀ (GCAd) ^f	-log ₁₀ (SCA) ^f	-log ₁₀ (Global) ^f	R ^{2g}
DINAG	1	1	PZE-101033622	41	21684	1.02	9.83	7.58	0.46	14.29	2.89
	2	1	PZE-101071373	72.3	53848	1.04	0.49	7.32	1.95	7.01	1.74
	3	1	PZE-101152541	118	195945	1.06	8.28	0.33	0.94	6.22	1.61
	4	2	PZE-102183284	163.8	226523	2.10	4.61	1.28	0.13	2.97	1.06
	5	3	PZE-103074560	53.1	123284	3.04	3.95	4.66	1.76	7.78	1.87
	6	4	PZE-104069080	67.1	137365	4.05	5.86	5.53	0.07	7.23	1.8
	7	4	PZE-104150001	152.5	237102	4.09	4.56	1.6	0.22	3.62	1.18
	8	5	PZE-105065968	58.2	67743	5.03	6.33	0.07	0.53	4.01	1.24
	9	6	PZE-106004598	3.9	5647	6.00	6.21	1.99	2.36	7.75	1.88
	10	6	PZE-106104994	84.1	155842	6.06	0.42	7.05	1	5.39	1.48
	11	7	PZE-107053917	43.6	105383	7.02	0.57	5.28	0.4	3.39	1.14
	12	8	PZE-108053677	56.2	95227	8.03	6.53	0.64	0.35	4.35	1.31
	13	10	PZE-110020295	33.4	25785	10.03	6.96	3.59	0.29	7.3	1.82
DINAGZ	1	1	PZE-101033622	41	21684	1.02	10.49	6.86	0.16	13.1	3.35
	2	1	PZE-101120125	81.1	66322	1.04	0.21	5.78	2.12	5.5	1.81
	3	1	PZE-101152541	118	195945	1.06	8.62	0.02	0.54	5.67	1.85
	4	2	PZE-102184919	169.1	229475	2.10	5.17	1.41	0.82	4.57	1.63
	5	3	PZE-103035319	45.4	28617	3.04	1.42	3.57	3.57	6.36	1.99
	6	4	PZE-104042136	60.7	58057	4.05	3.78	1.99	0.54	3.99	1.51
	7	5	PZE-105069912	60.8	74365	5.03	5.11	0.11	0.08	2.4	1.13
	8	6	PZE-106044976	26	94581	6.02	2.98	2.96	0.71	4.13	1.55
	9	7	PZE-107055097	44.1	106813	7.02	0.7	5.61	0.01	2.82	1.29
	10	8	PZE-108056020	57.9	100446	8.03	5.05	0.26	0.3	2.82	1.24
	11	10	PZE-110021867	34	30199	10.03	3.98	2.69	0.09	3.58	1.44
MFU	1	1	PZE-101070910	72	53420	1.04	0.7	3.93	0.54	2.81	1.6
	2	1	PZE-101152935	118.3	196247	1.06	5.43	1.41	1.16	5.32	2.34
	3	2	PZE-102148515	122.9	196008	2.07	5.7	0.69	0.5	4.18	2.04
	4	3	PZE-103081129	56.2	134800	3.05	6.93	1.83	0.09	4.99	2.27
	5	4	PZE-104069080	67.1	137365	4.05	4.81	7.61	0.55	9.17	3.32
	6	4	PZE-104120535	127.5	197853	4.08	1.13	6.18	0.79	5.1	2.26
	7	5	PZE-105065968	58.2	67743	5.03	6.25	0.14	0.41	3.85	1.94
	8	6	PZE-106104994	84.1	155842	6.06	1.63	5.67	0.07	3.75	1.9
	9	8	PZE-108080497	72.9	136274	8.05	2.09	4.57	0.43	4.18	2.01
	10	10	PZE-110048430	43.4	90832	10.04	14.56	2.46	0.31	12.5	4.17
NDF	1	1	PZE-101094860	94.8	92819	1.05	6.61	1.89	3.7	9.24	4.53
	2	1	PZE-101233231	192.4	281402	1.10	0.19	5.97	1.41	4.84	3.08
	3	2	PZE-102039059	45.6	19822	2.03	4.28	3.17	0.88	5.51	3.28
	4	3	PZE-103069918	51.5	114373	3.04	1.4	7.01	0.7	5.96	3.52
	5	4	PZE-104031512	56	38269	4.05	2.95	3.57	0.4	4.38	2.9
	6	4	PZE-104150213	152.8	237238	4.09	0.74	4.93	2.06	5.43	3.29
	7	5	PZE-105022516	25.6	10983	5.02	3.97	1.2	0.23	2.96	2.28
	8	10	PZE-110044605	41.1	85028	10.03	11.3	1.02	0.12	7.98	4.13
CELL	1	1	PZE-101033184	40.6	21389	1.02	5.64	7.51	1.19	11.16	3.42
	2	1	PZE-101157214	122	199774	1.07	5.03	1.65	1.2	4.95	2

	3	2	PZE-102046584	53.4	24512	2.03	0.66	4.44	0.21	2.39	1.34
	4	4	PZE-104068816	67.1	136987	4.05	1.19	4.99	0.61	3.92	1.74
	5	5	PZE-105077018	64.9	86039	5.04	4.9	1.39	0.19	3.62	1.69
	6	6	PZE-106046407	27.6	96009	6.02	3.59	2.49	0.66	4.19	1.82
	7	7	PZE-107021428	36.3	20905	7.02	0.28	4.06	0.02	1.49	1.06
	8	8	PZE-108040893	52.8	65988	8.03	5.53	6.08	0.03	6.99	2.52
	9	10	PZE-110048720	43.6	91372	10.04	6.02	4.62	0.18	7.08	2.52
	10	10	PZE-110102485	98.3	145096	10.07	4.71	1.65	0.91	4.68	1.95
HCELL	1	1	PZE-101033622	41	21684	1.02	8.25	12.62	0.98	18.15	3.89
	2	1	PZE-101157214	122	199774	1.07	8.07	1.22	1.38	7.3	2.03
	3	2	PZE-102062962	71.2	41930	2.04	0.54	5.42	0.03	2.52	1.09
	4	4	PZE-104068814	67.1	136985	4.05	1.47	6.34	1.05	5.86	1.75
	5	5	PZE-105077018	64.9	86039	5.04	4.08	1.56	0.14	2.98	1.2
	6	6	PZE-106046407	27.6	96009	6.02	4.2	2.34	0.18	3.74	1.36
	7	7	PZE-107060824	49.2	116574	7.02	0.69	4.13	0.35	2.66	1.12
	8	8	PZE-108062506	62.7	111252	8.04	5.25	5.94	0.58	7.96	2.16
	9	10	PZE-110048720	43.6	91372	10.04	8.16	4.02	0.3	8.49	2.26
	10	10	PZE-110102725	99.2	145330	10.07	4.04	3.63	1.08	5.9	1.78
LIGNIN	1	1	PZE-101033622	41	21684	1.02	8.74	3.16	0.24	8.29	1.67
	2	1	PZE-101055749	60.2	39736	1.03	1.4	9.38	1.22	8.66	1.69
	3	1	PZE-101161082	126.3	203759	1.07	10.87	0.24	1.67	9.41	1.82
	4	1	PZE-101208130	171.7	257549	1.09	5.38	0.14	1.38	4.39	1.1
	5	2	PZE-102050753	59.3	29031	2.04	0.64	5.9	0.21	3.38	0.96
	6	3	PZE-103031418	42	23437	3.04	4.15	4.34	0.38	5.25	1.24
	7	4	PZE-104083719	79.1	157641	4.06	1.4	4.95	0.09	3.25	0.94
	8	6	PZE-106003908	3.3	4844	6.00	8.18	0.1	0.26	4.94	1.2
	9	7	PZE-107002161	4.4	1932	7.00	1.02	0.66	3.91	3.94	1.04
	10	7	PZE-107068018	57.8	124789	7.02	1.31	7.26	0.4	5.65	1.31
	11	8	PZE-108062506	62.7	111252	8.04	5.49	2.72	0.19	4.6	1.13
	12	9	PZE-109075353	72.1	122382	9.04	6.63	1.37	0.31	5.02	1.19
	13	10	PZE-110043178	39.7	82220	10.03	8.68	2.59	0.22	7.26	1.52
	14	10	PZE-110104616	102.3	146114	10.07	1.95	6.97	0.37	5.95	1.33

^a: chromosome (Chr),

^b: associated marker (Marker),

^c: genetic position in cM (Gen pos),

^d: physical position in kbp in the maize reference genome (RefGen_v3) (Phys pos),

^e: bin location (Bin),

^f: $-\log_{10}(\text{pvalue})$ of the tested effects – Flint GCA (GCAf), Dent GCA (GCAd) and SCA (SCA), and the whole effect (Global)

^g: phenotypic variance explained by each QTL (R^2).

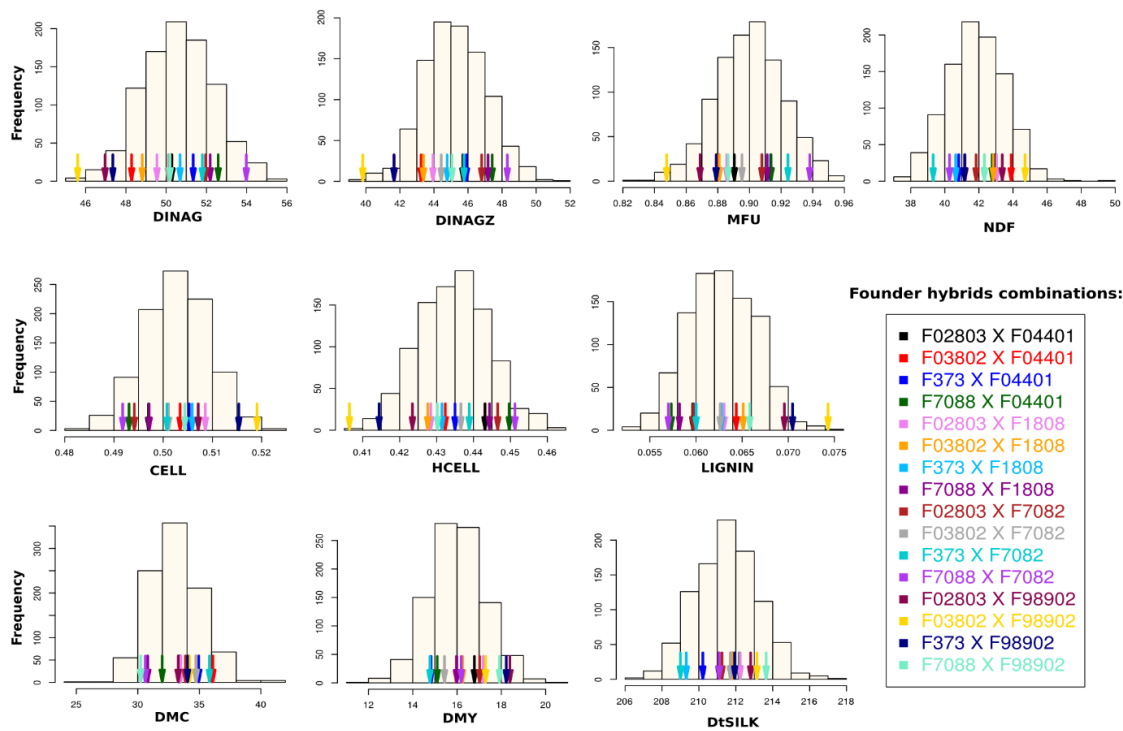


Figure S1: Histograms of hybrid performances (ls-means) according to different silage quality traits. On each histogram, arrows indicate the average performances of founder hybrids.

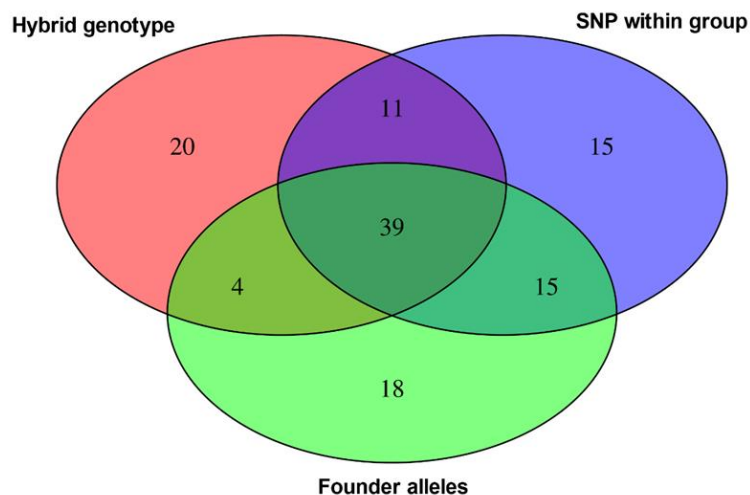


Figure S2: Venn diagram of QTL detected by the three QTL models considering jointly the seven silage quality traits. For each trait, a Venn diagram was made. The number of QTL in each area of the trait-specific Venn diagrams were cumulated across the 7 traits to make the global Venn diagram.

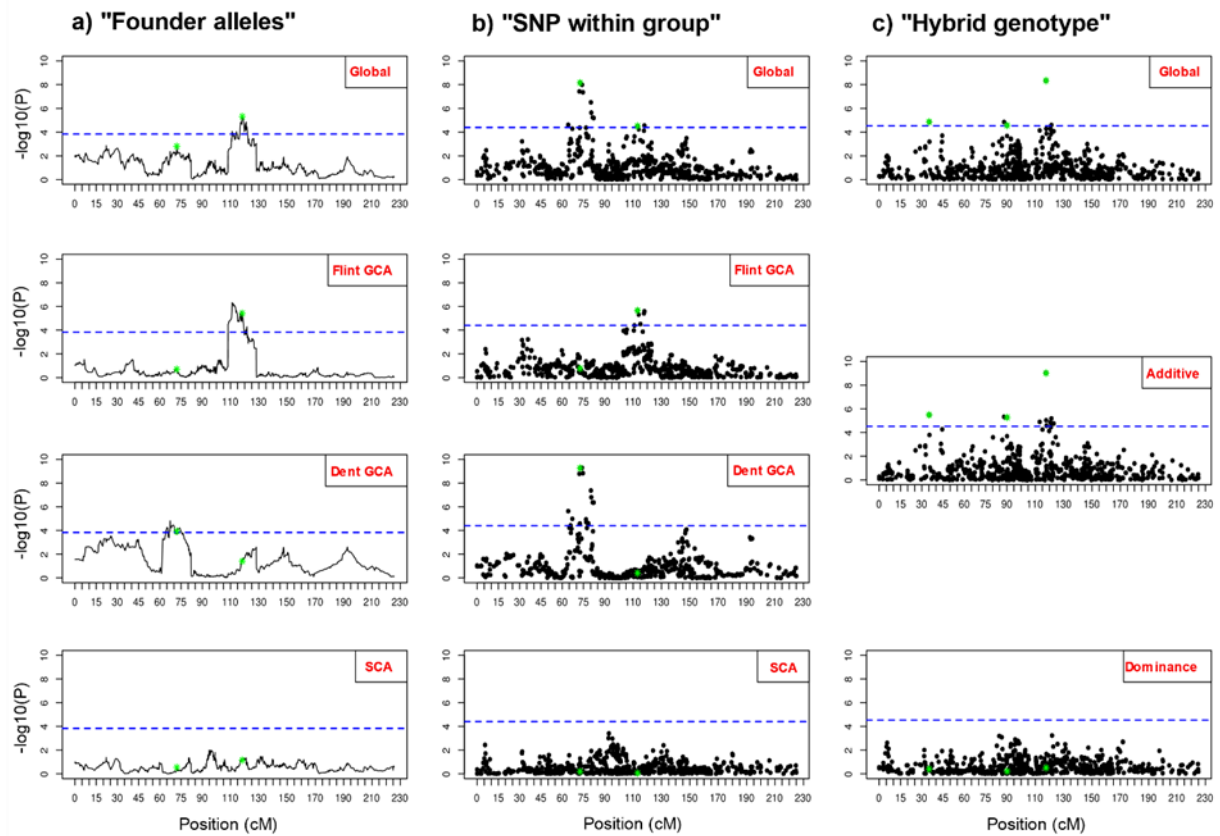


Figure S3: $-\log(p\text{-value})$ curves of QTL detection on the chromosome 1 for feeding value (MFU) with (a) the “Founder alleles”, (b) the “SNP within-group” and (c) the “Hybrid genotype” models. Marker genetic positions (in cM) are indicated on the X-axis. For the “Founder alleles” (a) and the “SNP within-group” (b) models, graphics from the top to the bottom correspond to the test of the global, the Flint GCA, the Dent GCA and the SCA marker effects, respectively. For the “Hybrid genotype” model, graphics from the top to the bottom correspond to the test of the global, the additive and the dominance marker effects, respectively. Blue dashed lines correspond to the genome-wide statistical-significance thresholds at a 5% risk level. Each test is conditioned by the effects of all QTL included in the final multi-locus model (plotted with Green asterisks), located at more than 10 cM from the tested marker.

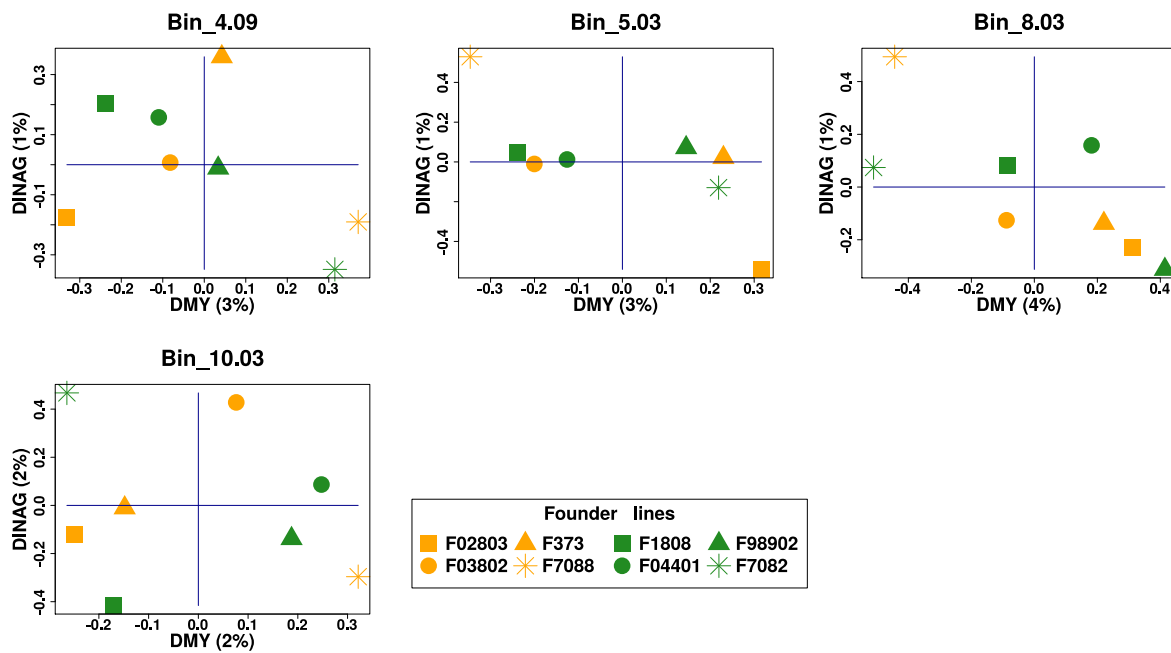


Figure S4: Relationship between QTL allelic effects of the 8 founder lines (in orange for Flint ones and in green for Dent ones) for cell wall digestibility (DINAG) and silage productivity (DMY) for regions carrying QTL for these two traits. For each region, the chromosome bin location, and the phenotypic variation explained for each trait and each region (between brackets) are indicated. Within each genetic group, the founder line that was chosen for its silage quality is plotted with the “*” symbol.

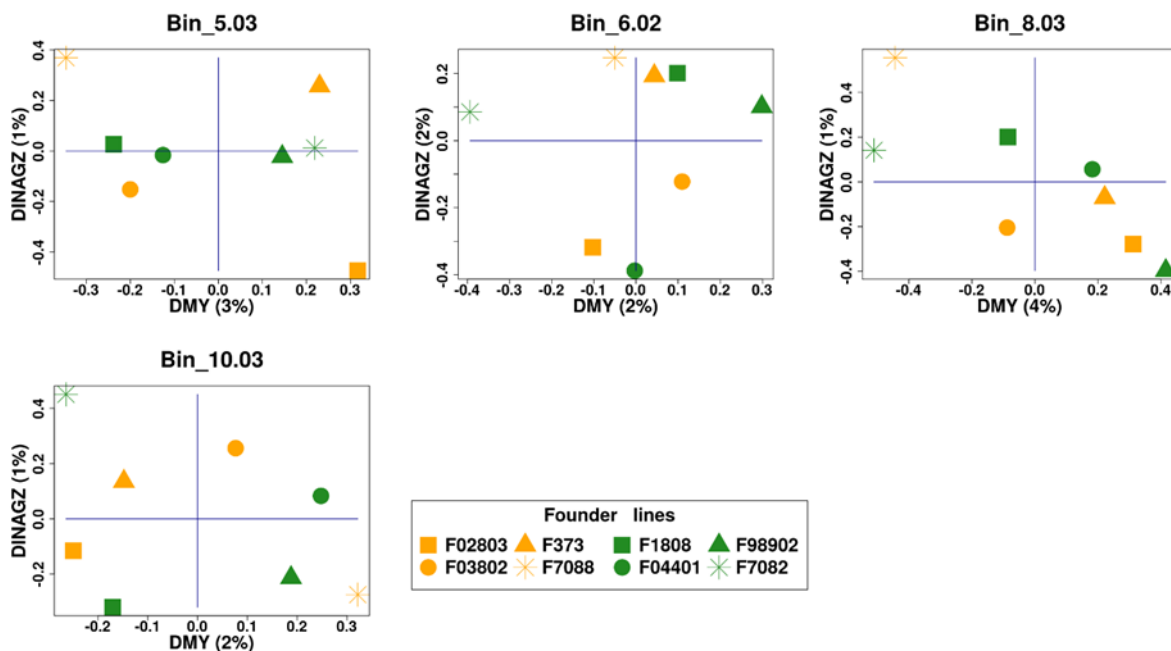


Figure S5: Relationship between QTL allelic effects of the 8 founder lines (in orange for Flint ones and in green for Dent ones) for cell wall digestibility (DINAGZ) and silage productivity (DMY) for regions carrying QTL for these two traits. For each region, the chromosome bin location, and the phenotypic variation explained for each trait and each region (between brackets) are indicated. Within each genetic group, the founder line that was chosen for its silage quality is plotted with the “*” symbol.

Table S1: Predictive abilities obtained by cross-validations for GBLUP model and QTL models (obtained using the “within group” QTL detection model) for silage productivity traits: for DMY (silage yield, in t/ha), DMC (dry matter content in % of fresh weight), DtSILK (female flowering time, in days after 1st January) and PH (plant height, in cm). Predictive abilities are computed as the correlations between hybrid predicted values and ls-means. For GBLUP and QTL models, we included or not SCA. For QTL models, the family effects (“Fam”) were included in the predictions. For the QTL model including SCA, we considered only SCA QTL effects significant at a 5% individual risk level. For GBLUP models, the family effects (“Fam”) were explicitly considered or not.

		DMY		DMC		DtSILK		PH	
Heritability		0.814		0.892		0.89		0.877	
Prediction model	Component	mean	sd	mean	sd	mean	sd	mean	sd
QTL									
	Fam + GCA + SCA	0.604	0.039	0.739	0.027	0.689	0.034	0.742	0.034
	Fam + GCA	0.604	0.039	0.737	0.028	0.689	0.034	0.734	0.034
GBLUP									
	Fam + GCA + SCA	0.637	0.036	0.758	0.025	0.688	0.031	0.755	0.032
	Fam + GCA	0.634	0.036	0.757	0.025	0.69	0.031	0.754	0.032
	GCA + SCA	0.649	0.036	0.768	0.024	0.702	0.028	0.769	0.031
	GCA	0.644	0.035	0.768	0.024	0.701	0.029	0.769	0.031

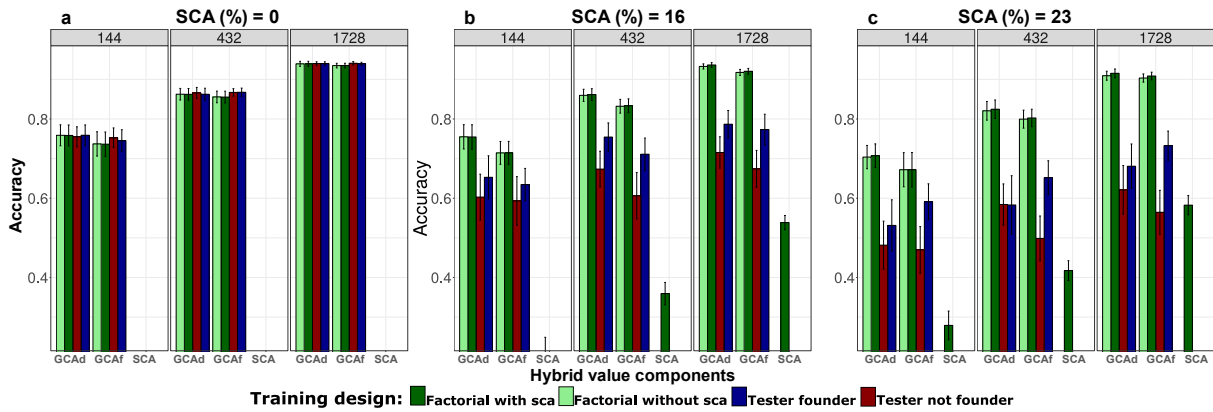


Figure S1: Prediction accuracies of the GCA and SCA components of hybrid value for the different training designs at low (0%), medium (16%) and high (23%) SCA level and low (144), medium (432) and high (1728) TS sizes on the T0 validation set. For all cases, 95% CI of the average accuracies are displayed. Note that Fig S1c is equivalent to Figure 1 and is recalled here to facilitate comparisons.

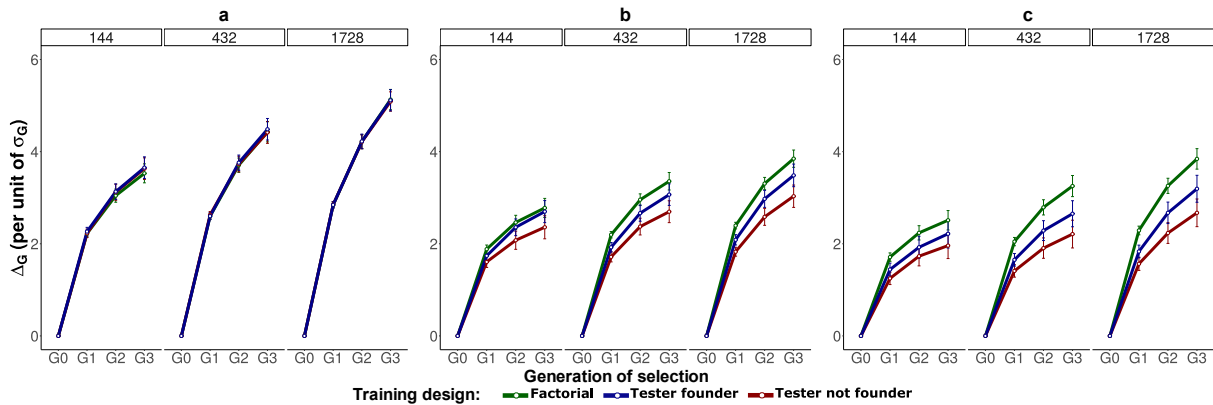


Figure S2: Genetic gain (in genetic standard deviation unit) as a function of the generation of selection and the SCA level (a: 0%, b:16% c:23%) for the different training designs for low (144), medium (432) and high (1728) TS sizes. Vertical bars correspond to 95% CI of the average genetic gain.

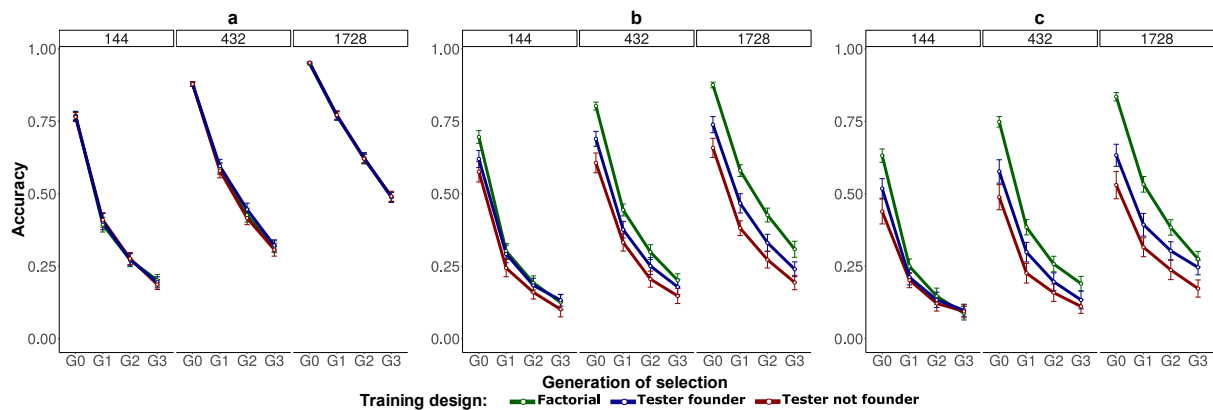


Figure S3: Accuracies as a function of the generation of selection and the SCA level (a: 0%, b:16% c:23%) for the different training designs on the T0 validation set for low (144), medium (432) and high (1728) TS sizes. Vertical bars correspond to 95% CI of the average accuracies over replicates.

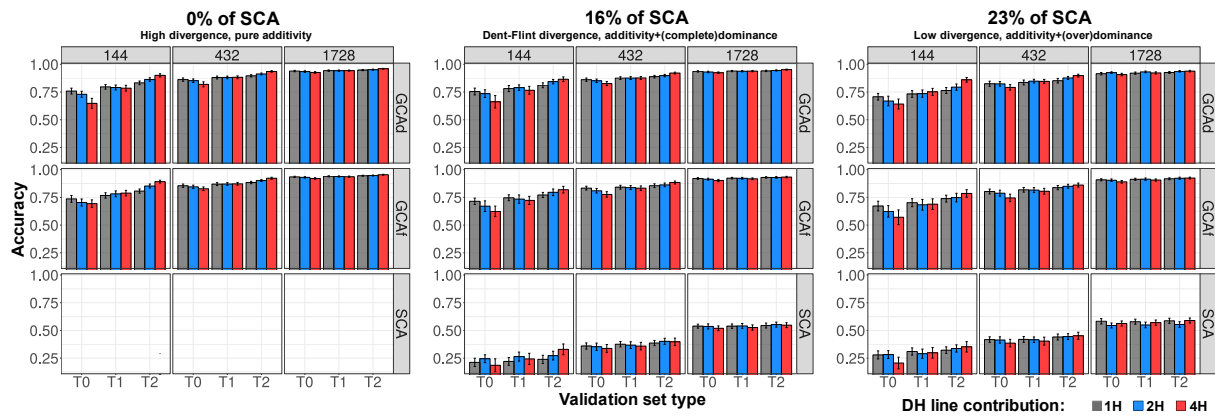


Figure S4: The prediction accuracy of the GCA and SCA components of hybrid value as a function of the contribution of DH lines in the training set at low (0%), medium (16%) and high (23%) SCA level on the factorial training designs in the T0, T1 and T2 validation sets for low (144), medium (432) and high (1728) TS sizes.

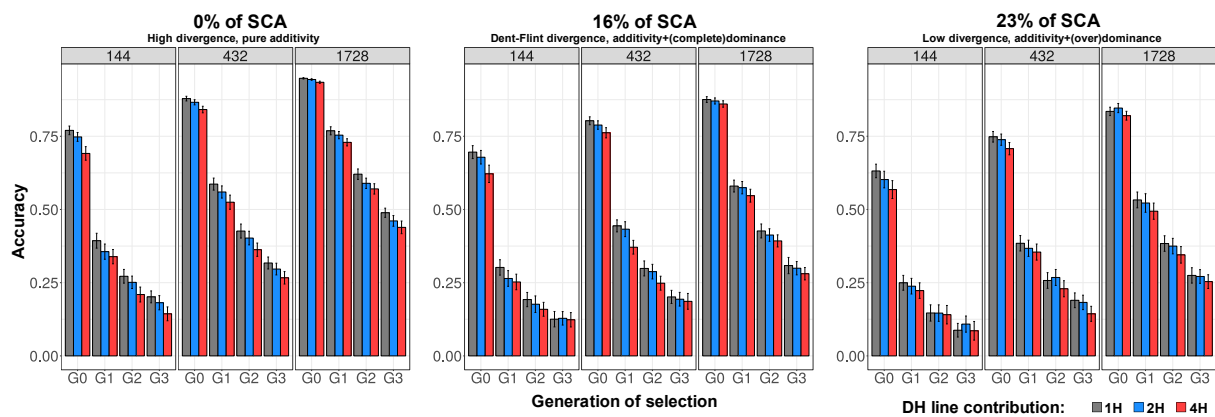


Figure S5: The prediction accuracy of the hybrid value as a function of the contribution of DH lines in the training set and generation of selection at low (0%), medium (16%) and high (23%) SCA level on the factorial training designs in the G0, G1, G2 and G3 generations for low (144), medium (432) and high (1728) TS sizes.

Titre : Prédiction assistée par marqueurs de la performance hybride dans un schéma de sélection réciproque : simulations et évaluation expérimentale pour le maïs ensilage

Mots clés : génétique quantitative, maïs, ensilage, QTL, valeur hybride sélection génomique

Résumé : Le maïs (*Zea mays* L.) est la plante la plus cultivée au monde. Pour valoriser le fort effet d'hétérosis pour les caractères liés à la biomasse, la diversité génétique du maïs est structurée en groupes hétérotiques et les variétés cultivées sont majoritairement des hybrides F1 entre lignées de groupes complémentaires. La valeur hybride se décompose comme la somme de l'Aptitude Générale à la Combinaison (AGC) de chacune des lignées parentales et de l'Aptitude Spécifique à la Combinaison (ASC) du couple. En Europe du Nord, le maïs est souvent utilisé en ensilage destiné à l'alimentation animale. L'objectif de sélection est d'améliorer la productivité et d'assurer une bonne digestibilité du maïs ensilage.

Les objectifs de cette thèse étaient : (i) d'estimer l'importance de l'AGC et de l'ASC dans la variance génétique hybride pour les caractères de qualité de l'ensilage, (ii) d'identifier les locus (QTL) impliqués dans ces caractères et d'étudier leur colocalisation avec des QTL de productivité, (iii) d'évaluer l'intérêt de la sélection génomique pour la prédiction des performances hybrides et (iv) de comparer l'efficacité de deux dispositifs de calibration des prédictions basés sur un factoriel ou l'utilisation classique de testeurs du groupe complémentaire.

Dans le cadre du projet SAMMCR, 6 familles biparentales connectées ont été créées dans les groupes « corné » et « denté » à partir de 4 lignées fondatrices. Dans une première phase, 822 lignées cornées et 802 dentées ont été génotypées pour 20k SNP et croisées selon un factoriel incomplet pour produire 951 hybrides, phénotypés pour des caractères de qualité et de productivité (étudiés par H. Giraud pendant sa thèse).

L'analyse des caractères de qualité a montré une prédominance de l'AGC par rapport à l'ASC ainsi qu'une corrélation négative entre les caractères de qualité et le rendement. De nombreux QTLs multi-alléliques ont été détectés, la plupart spécifiques d'un groupe et dont certains colocalisent avec des QTL de rendement.

Par validation croisée, la qualité de prédictions basées sur les QTL détectés s'est avérée plus faible que celle obtenue par prédiction génomique. La prise en compte de l'ASC n'a pas permis d'améliorer sensiblement la qualité de prédictions des modèles.

Dans une seconde phase, 90 lignées ont été choisies par groupe : 30 sélectionnées sur la base de leurs prédictions génomiques pour la productivité et la valeur énergétique et 60 choisies aléatoirement parmi les 6 familles. Ces lignées ont été croisées selon un factoriel incomplet pour produire 360 nouveaux hybrides : 120 issus des lignées sélectionnées et 240 issus des lignées choisies au hasard. Les 90 lignées de chaque groupe ont aussi été croisées à deux lignées fondatrices du groupe complémentaire (testeurs). Les hybrides issus des lignées sélectionnées se sont avérés plus productifs mais de moins bonne qualité. Nous avons confirmé la bonne qualité des prédictions génomiques obtenus dans le factoriel initial sur les nouveaux hybrides évalués dans d'autres environnements et après sélection et observé une bonne corrélation entre les AGC estimées dans le factoriel et dans le dispositif testeurs.

Des dispositifs factoriels et testeurs ont été simulés en faisant varier la part d'ASC, le nombre d'hybrides et la contribution de chaque lignée dans le jeu de calibration. A moyens expérimentaux égaux, le dispositif factoriel s'est avéré plus efficace en termes de capacité prédictive et de gain génétique cumulé que le dispositif testeur (jusqu'à +50%) pour un caractère présentant de l'ASC et équivalent pour un caractère purement additif.

Les résultats de cette thèse ouvrent de nouvelles perspectives pour revisiter les schémas de sélection hybrides en remplaçant l'évaluation des lignées candidates, classiquement faite sur testeur, par l'évaluation directe d'hybrides issus d'un factoriel incomplet. La mise en œuvre de tels dispositifs nécessitera de réorganiser la logistique des programmes de sélection.

Title : Marker-assisted prediction of hybrid performance in a reciprocal breeding design: simulations and experimental evaluation for silage maize

Keywords : quantitative genetic, maize, silage, QTL, hybrid value, genomic selection

Abstract : Maize (*Zea mays* L.) is the most cultivated crop in the world. To exploit the strong heterosis for traits related to biomass, the genetic diversity of maize is structured into heterotic groups and cultivated varieties are mainly F1 hybrids obtained by crossing lines from complementary groups. The hybrid value can be decomposed as the sum of the General Combining Ability (GCA) of each parental line and the Specific Combining Ability (SCA) of the cross. In northern Europe, maize is often used as silage for animal feed and the breeding objective is to improve productivity while ensuring a good energetic value and digestibility of the silage.

The objectives of this thesis were: (i) to estimate the importance of GCA and SCA in hybrid genetic variance for silage quality traits, (ii) to identify loci (QTL) involved in these traits and to study their colocalization with QTL for productivity traits, (iii) to evaluate the interest of genomic selection for the prediction of hybrid performances and (iv) to compare the prediction accuracies of two calibration designs either based on a factorial or on the conventional use of testers from the complementary group.

As part of the SAMMCR project, 6 biparental connected families were created in the "flint" and "dent" groups from 4 founder lines. In a first phase, 822 flint and 802 dent lines were genotyped for 20k SNPs and crossed according to an incomplete factorial to produce 951 hybrids which were phenotyped for quality traits and for productivity traits (studied by H. Giraud during her PhD). Quality trait analysis showed a predominance of GCA over SCA and a negative correlation between digestibility traits and silage yield. Several multi-allelic QTLs were detected, most of them being specific to one group. Several colocalizations were found with yield QTL. Using cross-validation, we observed that the predictive ability of models based on detected QTLs was

lower than that obtained by genomic predictions. Considering the SCA did not improve model predictive abilities for most of the traits.

In a second phase, 90 lines were chosen per group: 30 were selected based on their genomic predictions for productivity and the energetic value and 60 were randomly sampled from the 6 families. These lines were crossed according to an incomplete factorial to produce 360 new hybrids: 120 from selected lines and 240 from randomly chosen lines. The 90 lines of each group were also crossed to two lines of the complementary group (testers). Hybrids from the selected lines were more productive but had a lower silage quality. We confirmed the good accuracy of the genomic predictions obtained in the initial factorial on the new hybrids evaluated in other environments and after selection. We also observed good correlations between GCA estimated in the factorial and in the testcross design.

Different factorial and testcross designs were simulated by varying the proportion of dominance/SCA, the number of hybrids and the contribution of each line to the calibration set. Considering the same number of hybrids in the calibration set, the factorial was more efficient in terms of predictive ability and cumulative genetic gain (up to + 50%) than the testcross design for traits showing SCA and was similar for purely additive traits.

The results of this thesis open new perspectives to revisit hybrid breeding schemes by replacing the evaluation of candidate lines, classically made on testcross, by the direct evaluation of hybrids resulting from an incomplete factorial. The implementation of such designs will require reorganizing the logistics of selection programs.