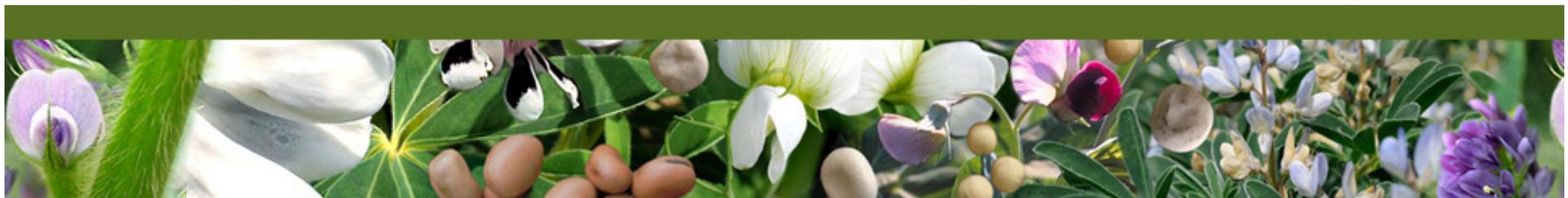


Contrat de Branche 2009-2011 - SAMPOIS

Sélection assistée par marqueurs pour la validation et le cumul de QTL de résistance aux principaux stress biotiques et abiotiques chez le pois

M-L. Pilet-Nayel, A. Lesné , A. Moussart , C. Devaux ,
A-S. Niquet-Bulant , A. Pruvost , B. Carrouée ,
I. Lejeune-Hénaut , A. Baranger , E. Hanocq

UMR IGEPP – Rennes UMR SADV - Mons



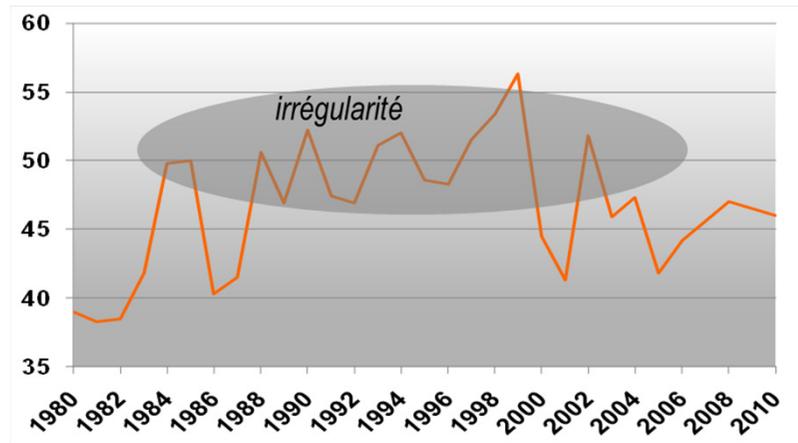
Enjeux socio-économiques

Pois protéagineux : culture d'importance économique en France (→ protéines végétales, avantages environnementaux, rotations)

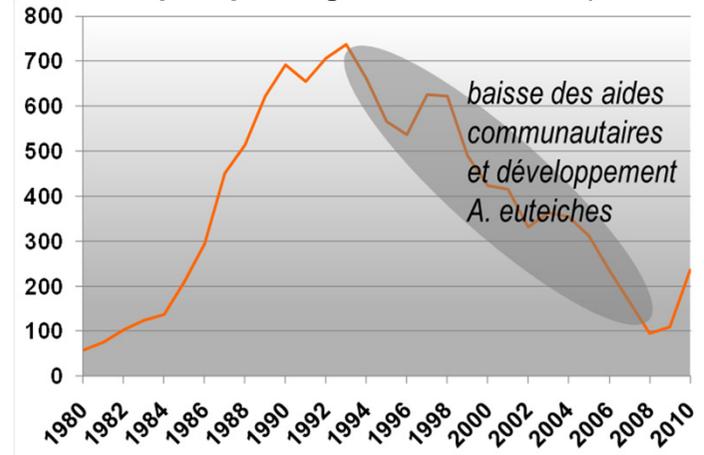


Enjeux et objectifs d'amélioration :

Rendement moyen du pois protéagineux en France (q/ha)



Surfaces de pois protéagineux en France (x 1000 ha)



→ Améliorer le rendement et sa stabilité, tout en maintenant des teneurs en protéines élevées dans les graines

→ Développer une stratégie "pois d'hiver" → améliorer la tolérance au gel et la résistance aux maladies (Ascochyte, *Aphanomyces euteiches*)

→ Améliorer la résistance à la pourriture racinaire due à *Aphanomyces euteiches*

Enjeux socio-économiques

Principaux facteurs limitant la production du pois protéagineux

La pourriture racinaire du pois due à
Aphanomyces euteiches

Nécroses racinaires entraînant des symptômes aériens surtout sur pois de printemps. Pas de fongicide possible!



Le gel

Dégâts sur pois d'hiver en lien avec le niveau de froid et le risque de désendurcissement : perte de plantes et de rendement



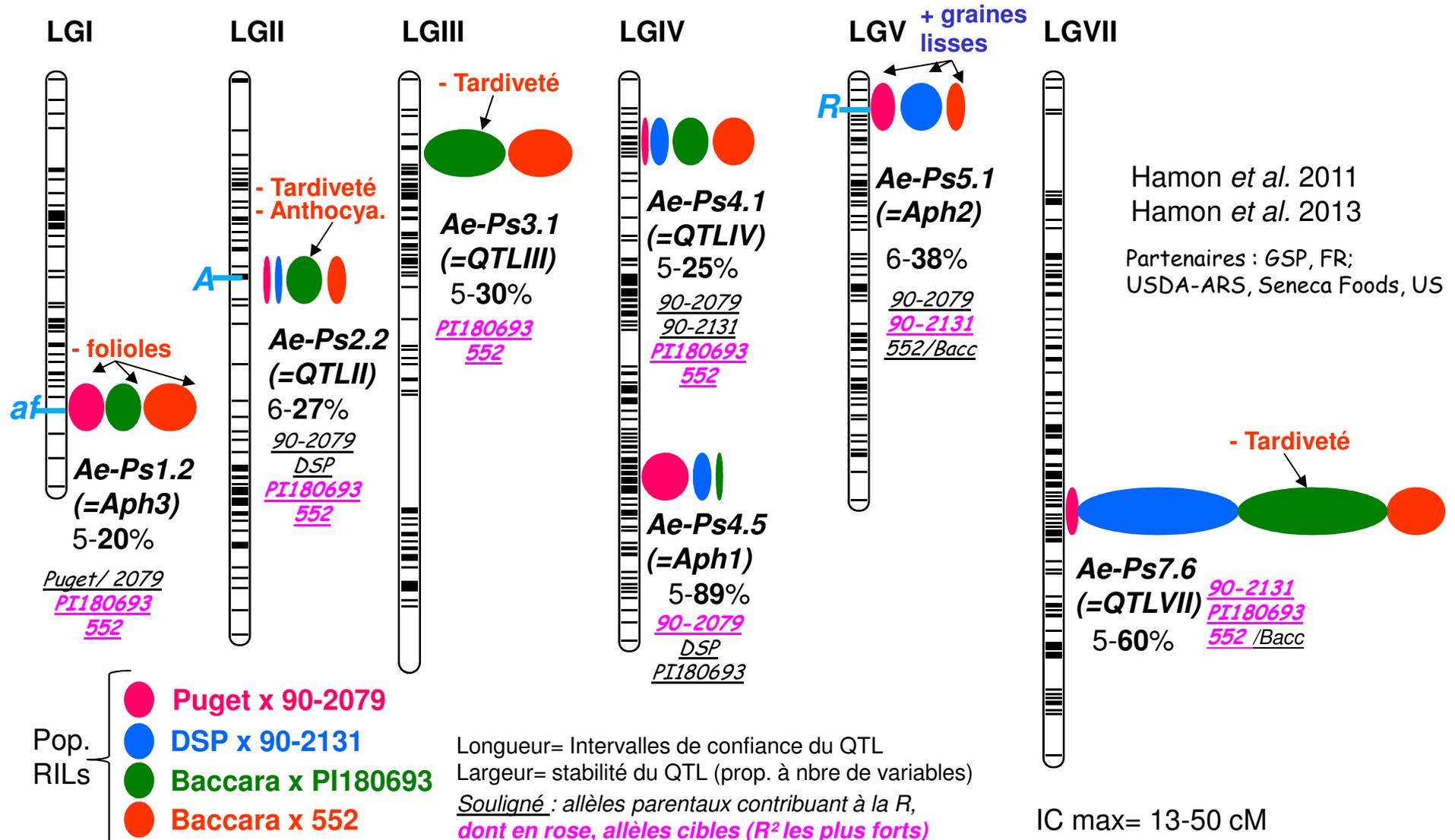
L'ascochytose du pois due à
Mycosphaerella pinodes

Symptômes sur feuilles, tiges, gousses et graines surtout sur pois d'hiver



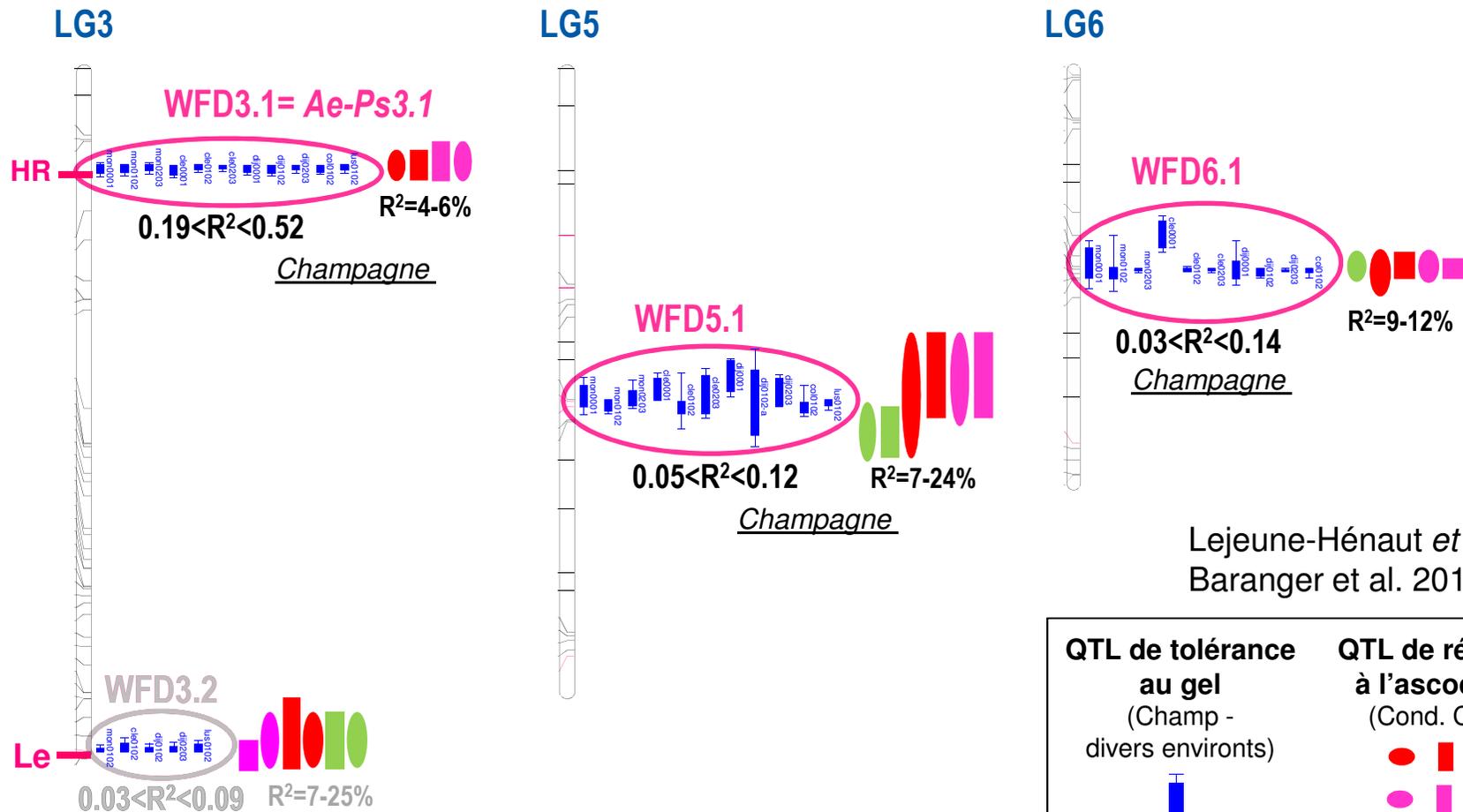
Connaissances acquises en génétique

7 régions génomiques stables (/23 détectées) pour la résistance à *A. euteiches*
Peu de spécificité des QTL/ sources de R, environnements, souches



Connaissances acquises en génétique

3 régions génomiques stables détectées pour la tolérance au gel et la résistance à l'ascochytose (Population RILs Champagne x Tèreze)



Lejeune-Hénaut *et al.* 2008
 Baranger *et al.* 2010

Souligné : allèle parental contribuant à la tolérance /résistance

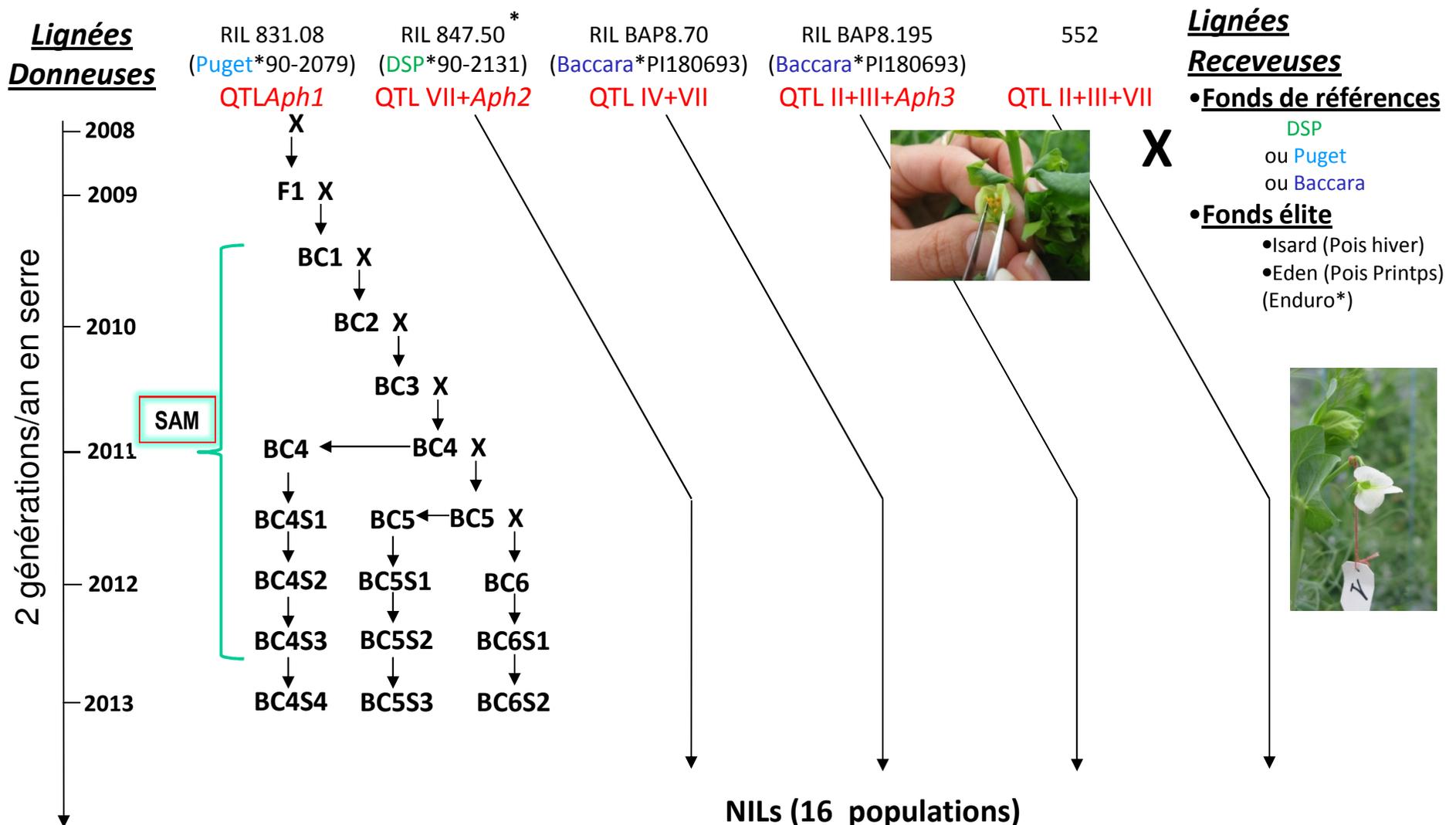
QTL de tolérance au gel (Champ - divers environnts)	QTL de résistance à l'ascochytose (Cond. Control.)
	91-31-12
	94-01-3
	Wvf421
	Stipule Tige Souche

Objectifs du programme

- Construire, par Back-cross Assisté par Marqueurs (BAM), des lignées quasi-isogéniques (NILs) ayant introgressé des allèles de tolérance/résistance au gel/*M. pinodes* et à *A. euteiches* à un à plusieurs QTL
 - ✧ Validation de l'effet des QTL dans différents fonds génétiques
 - ✧ Effet de combinaisons de QTL sur le niveau de R
 - ✧ Production de matériel végétal d'intérêt pour :
 - la recherche en vue de caractérisation plus fine des QTL (cartographie fine, mécanismes, mode d'action sur Ae...)
 - la sélection (lignées agronomiques comportant des allèles de résistance)
- Acquérir des connaissances et transférer des outils (marqueurs aux QTL, géniteurs) pour la SAM chez le pois chez les sélectionneurs

1- BAM pour la résistance à *A. euteiches*

Cinq schémas parallèles d'introgression simultanée d'allèles de résistance à 1 à 3 QTL dans 3 fonds génétiques



1- BAM pour la résistance à *A. euteiches*

Stratégie de SAM

- Marqueurs SSR

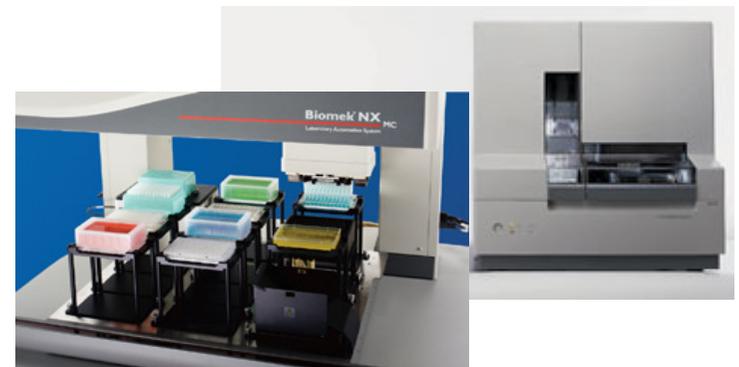
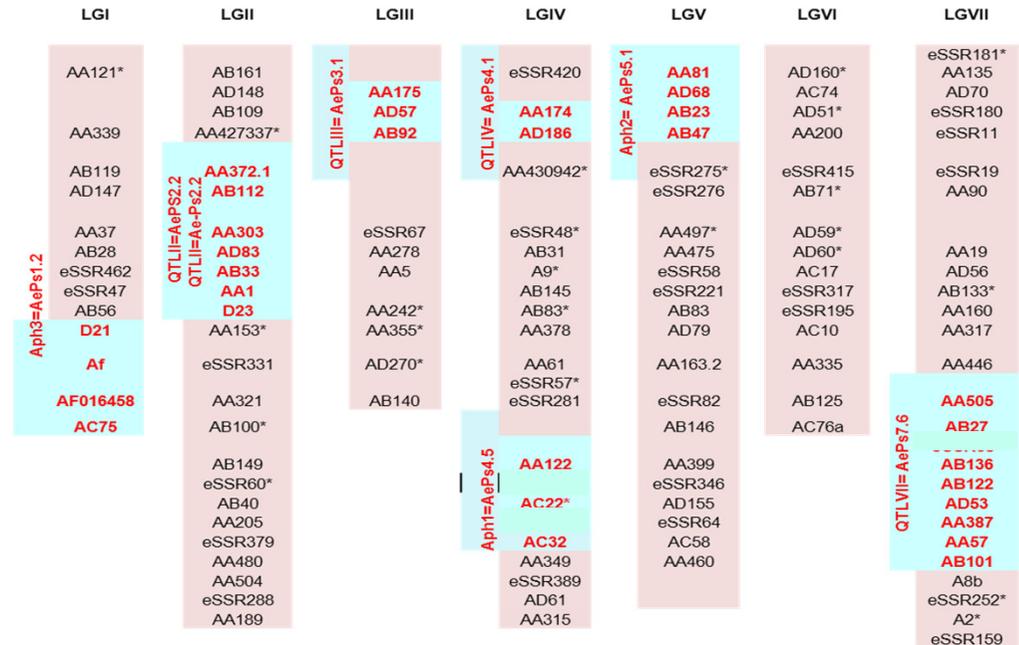
(Loridon et al. 2005,
Mohamadi et al., in prep)

- Choix des marqueurs /position :

1. Mqs aux QTL (BCx, BCxS1)
2. Mqs au FG – LG porteurs QTL (BCx)
3. Mqs au FG – LG non porteurs (BCx)

- Taille des populations

- 48 à 95 individus / population BCx
- 95 à 285 individus / population BCxS1
- dans chaque pop., sélection combinaisons
0, 1, 2, 3 QTL fixés + mono-QTL hétéroz.



1- BAM pour la résistance à *A. euteiches*

Résultat : Bilan du matériel NILs produit

Nombre de lignées BC5 et BC6 sélectionnées à l'issue du programme de BAM Aphanomyces

Donneur	831.08			847.50				BAP8.195			BAP8.70			552			
Receveur	Puget	Eden	Isard	DSP	Eden	Isard	Enduro	Bacc-ara	Eden	Isard	Bacc-ara	Eden	Isard	Bacc-ara	Eden	Isard	
QTL	Aph1			QTLVII + Aph2				QTL II + III + Aph3			QTL IV + VII			QTL II + III + VII			TOTAL
Nb NILs fixées à :																	
0 QTL	12	7	12	7	7	4	7	11	5	23	4	2	3	25	2	5	136
1 QTL	11	15	11	9	7	12	9	20	14	97	19	4	11	58	27	7	331
2 QTL				6	3	8	3	7	4	74	4	2	6	30	7	8	162
3 QTL									8	12				19	4	1	44
Nb NILs hétérozygotes à :																	
1 QTL	19	18	18	23	28	11	27	23	1	4	25	8	26	4	0	6	241
TOTAL																	914

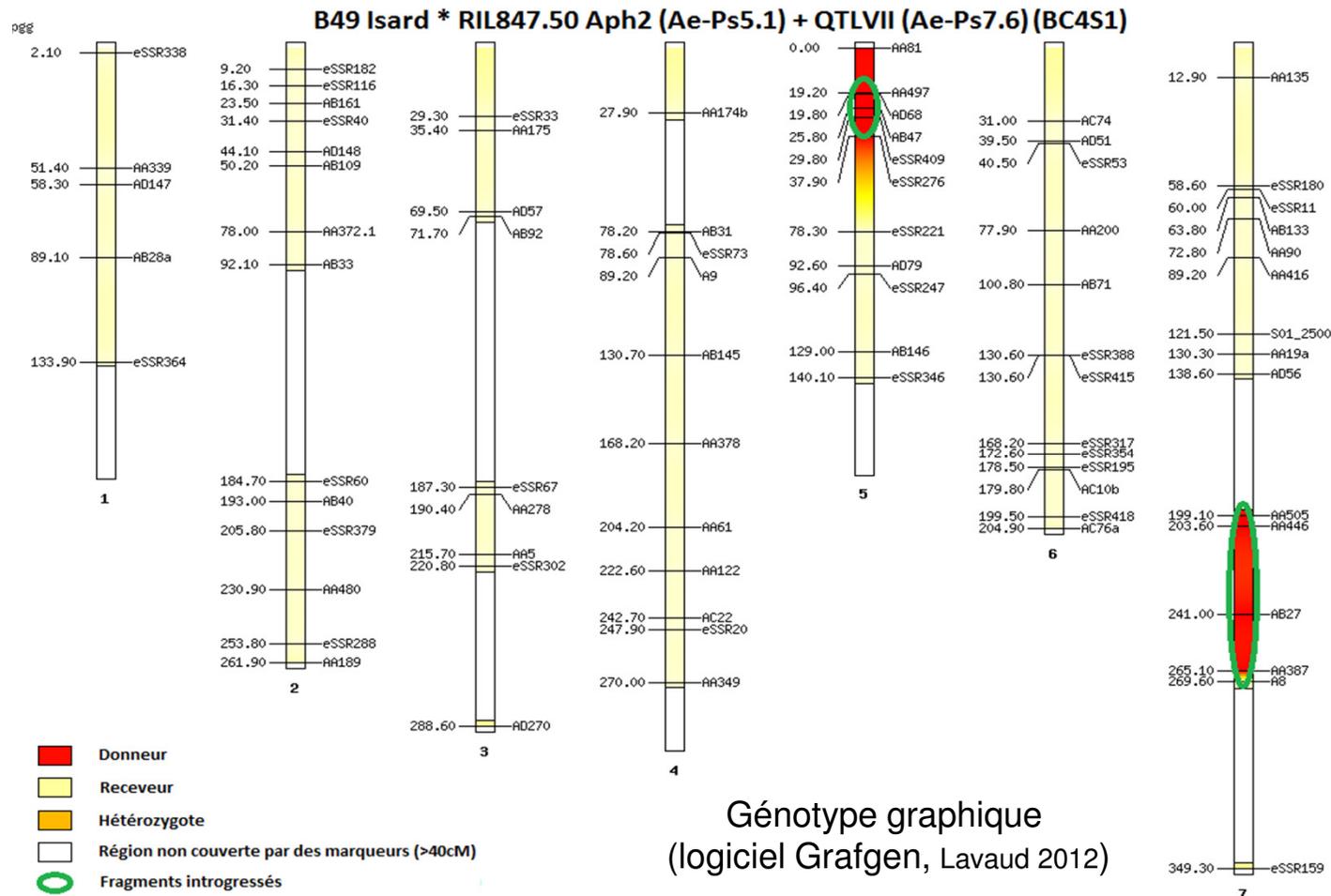
* Quelques combinaisons de QTL non représentées

⇒ Deux représentants/type de NIL fixée sélectionnés pour phénotypage

1- BAM pour la résistance à *A. euteiches*

Résultat : Niveau de retour au parent receveur

En BC5/6S1: $\geq 95\%$ des mqs du FG testés dans chaque pop de type « Receveur »
(en BC4S1: $\geq 85\%$)

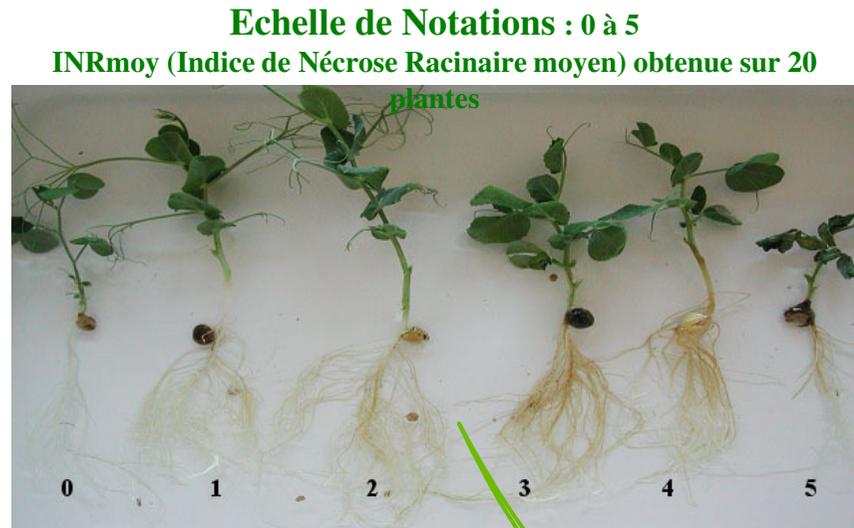


⇒ Fragments donneurs résiduels le plus souvent dans les zones flanquant les QTL

Génotype graphique
(logiciel Grafgen, Lavaud 2012)

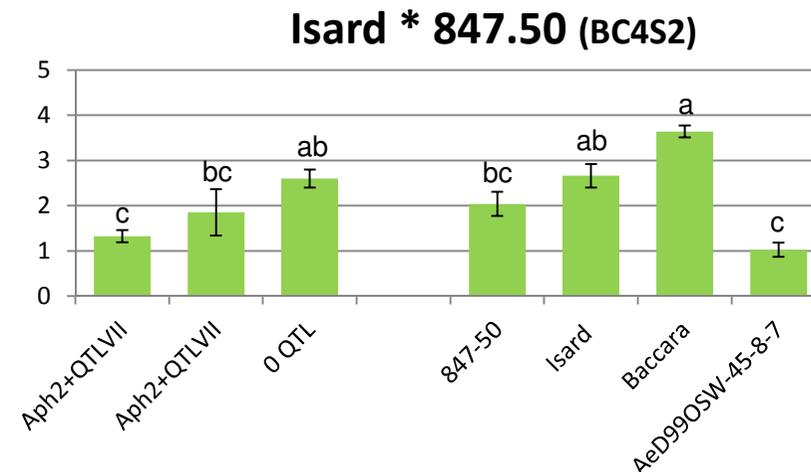
1- BAM pour la résistance à *A. euteiches*

Résultat : 1ère évaluation phénotypique des NILs pour la résistance



INR
moy

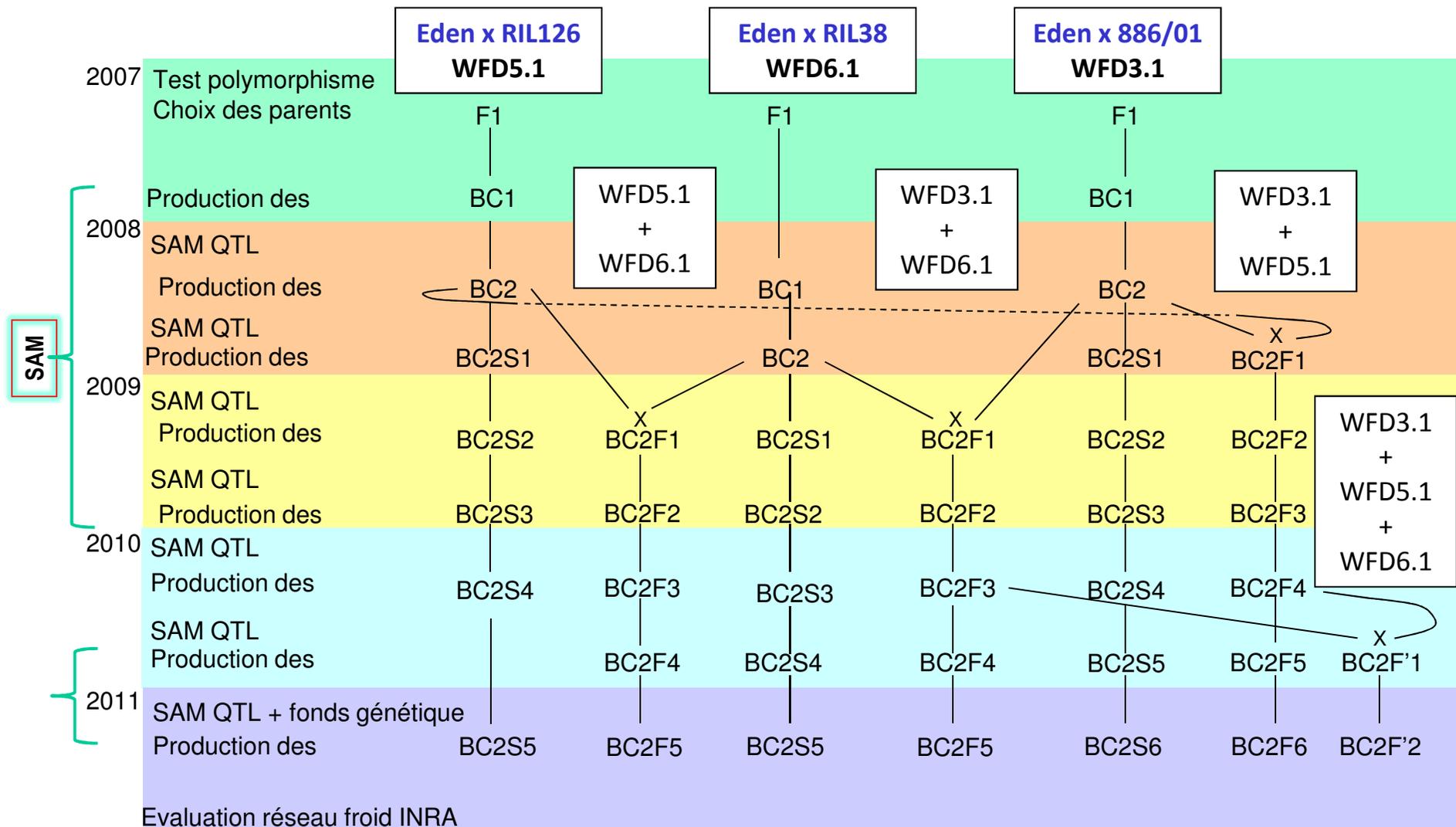
Test Aphanomyces en conditions contrôlées



⇒ Effet des introgressions QTLVII + Aph2 sur le niveau de résistance à *A. euteiches* dans le fonds génétique Isard

2- BAM pour la tolérance au gel / résistance à *M. pinodes*

Trois schémas parallèles d'introgression d'allèle de résistance à 1 QTL et de pyramidage de 2 ou 3 QTL dans le fonds génétique Eden



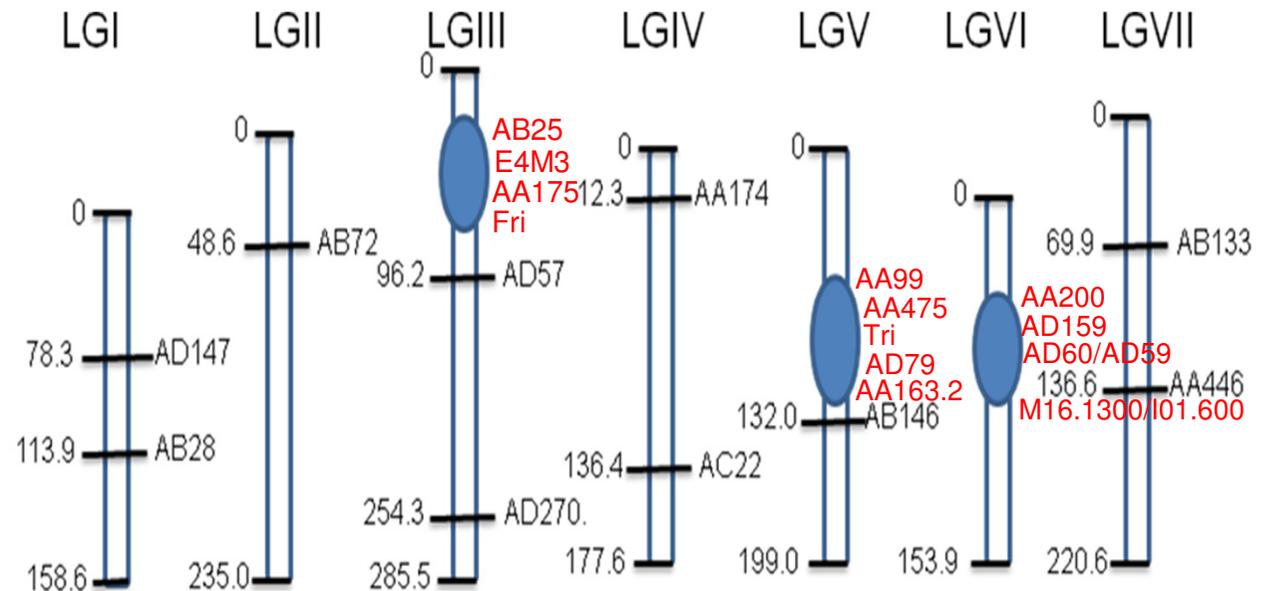
2- BAM pour la tolérance au gel / résistance à *M. pinodes*

Stratégie de SAM

- Marqueurs SSR et PCR-spécifique

(Loridon et al. 2005)

- SAM aux marqueurs aux QTL (BC1, BC2, BC2S1, BC2F2)



- Taille des populations
 - 10 à 28 individus / population BCx/BC2S1
- Contrôle du fonds génétique *a posteriori* (17 mqs; BC2Sx, BC2Fx) → souvent bon niveau de retour au fonds receveurs sauf sur les LG Porteurs de QTL
- Deux générations par an en serre et/ou au champ en pépinière

2- BAM pour la tolérance au gel / résistance à *M. pinodes*

Résultat : Bilan du matériel NILs produit

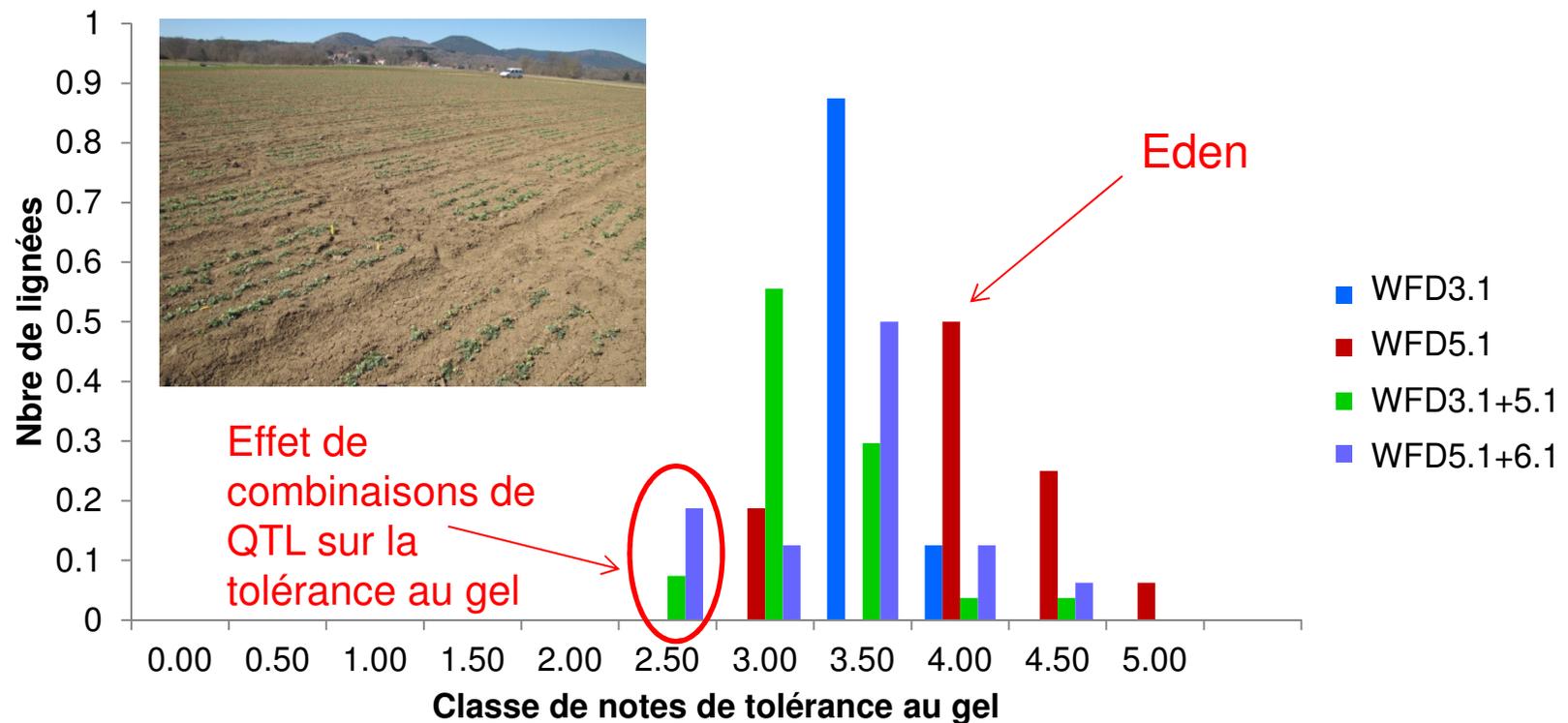
Nombre de lignées BC2 fixées sélectionnées à l'issue du programme de BAM Gel et testées au cours de l'hiver 2011-2012

QTL	1 QTL	2 QTL	3 QTL
WFD3.1	9		
WFD5.1	15		
WFD6.1	32		
WFD3.1+5.1		34	
WFD3.1+6.1		12	
WFD5.1+6.1		24	
TOTAL			126

2- BAM pour la tolérance au gel / résistance à *M. pinodes*

Résultat : 1ère évaluation phénotypique des NILs pour la résistance au gel

Champ (pépinière), automne 2011, réseau Froid INRA (Mons, Dijon, Theix)



3- Transfert d'outils pour la SAM chez le pois

Transfert de marqueurs moléculaires

- 29 SSR aux 7 QTL de résistance à *A. euteiches*
13 SSR/PCR spécifique aux 3 QTL de tolérance au gel
 - ✧ Tests inter-laboratoires
 - ✧ Polymorphisme des marqueurs sur lignées sélectionneurs et géniteurs Pois hiver
- 43 SSR en dehors des zones à QTL



Transfert de géniteurs

- Meilleures lignées recombinantes → évaluations multi-locales champ
 - ✧ RILs (Champagne x Térése) tolérantes au gel
 - ✧ 20 RILs (DSP x 90-2131, Baccara x 552/PI180693) résistantes à *Aphanomyces*
- Premières NILs
 - ✧ BC2 fixées (/Eden) porteuses d'1 ou 2 QTL « Gel »
 - ✧ BC4 fixées (/Eden, Isard) porteuses de 2 ou 3 QTL « *Aphanomyces* » (en cours)

Conclusion

- ⇒ Acquisition de **savoir-faire** en SAM chez le pois; Validation de **marqueurs** (SSR) pour tracer les QTL
- ⇒ Création de **matériel génétique (séries de NILs) d'intérêt en recherche et sélection** → prometteur pour valider l'effet individuel et cumulé de QTL de tolérance au gel/*M. pinodes* et de résistance à *A. euteiches* ;
- ⇒ **Transfert** de marqueurs et géniteurs aux sélectionneurs, pour soutenir la création variétale

Perspectives

2013-2019

Identification-
introgression QTL /
nouvelles sources

Pyramidage de QTL
(> 3QTL, Gel+ Ae)

PeaMLIST -WP2



Création de nouvelles
séries de NILs
(nouveaux allèles/QTL)

NILs
(1-3 QTL)

Validation effets des QTL:
- Evaluation phénotypique
- Fingerprint

Mode d'action des
QTL sur:

- Etapes du cycle
- Évolution des populations d'*A. euteiches*

Mécanismes sous-jacents QTL
- Réduction intervalles QTL
- Cartographie fine/clonage



Combinaisons d'allèles/gènes à intégrer dans les stratégies de gestion durable des résistances/tolérances aux stress multiples chez le pois



**Merci de votre
attention !!**

