



Introduction

Le Poirier (*Pyrus* spp.) est une espèce fruitière importante commercialement : *P. communis* (poirier Européen) est communément cultivé en Europe et dans les régions tempérées, alors que *P. pyrifolia* est principalement cultivé en Asie. L'inscription et la protection de nouvelles variétés requiert la validation des études DHS (Distinction, Homogénéité et Stabilité). Afin de comparer les variétés candidates avec les variétés déjà inscrites les plus proches, le développement de

nouveaux outils d'aide à la gestion des collections de référence, est un enjeu important. Les objectifs de cette étude sont donc de caractériser la collection de référence de poiriers en utilisant des marqueurs SSR, de mieux appréhender les relations entre les cultivars de la collection et de définir un jeu de marqueurs réduit hautement discriminants.

Matériels et méthodes

Matériel végétal : des feuilles de 136 accessions de la collection de référence ont été collectées représentant les 3 espèces de poiriers (*P. communis*, *P. pyrifolia* et *P. calleryana*). 8 échantillons sont recommandés en tant que témoins par l'ECPGR (Evans et al. 2009).

Sélection des marqueurs : 34 SSRs développés au cours de précédentes études sur le poirier ou le pommier, dont 15 préconisés par l'ECPGR pour le criblage de collection ont été testés.

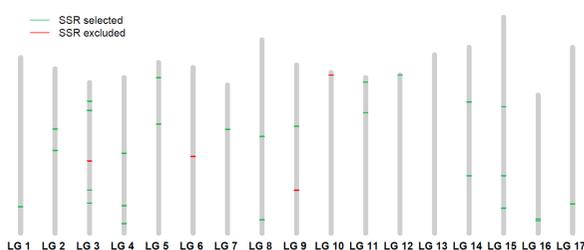
Analyses des résultats : Toutes les analyses ont été réalisées à l'aide du logiciel R (R Core Team). Afin d'inclure dans les analyses les variétés polyploïdes et les marqueurs multilocus, une matrice de présence/absence des allèles a été utilisée pour calculer la distance génétique de Jaccard. Cette distance a permis de construire un arbre phylogénétique (UPGMA) et de réaliser une Analyse en Coordonnées Principales (PCoA). Le script AMaCAID (Caroli et al. 2011) a permis à la détermination du jeu de marqueurs discriminants.

Résultats

Polymorphisme élevé des marqueurs

Les marqueurs SSR sont répartis sur les 17 groupes de liaison du poirier (Figure 1). 5 marqueurs, qui ont montré une faible amplification, ont été exclus pour la suite des analyses. Pour un des marqueurs, plus de 2 allèles ont été fréquemment observés suggérant l'amplification de plusieurs loci.

Figure 1: Distribution des SSR sur les 17 groupes de liaisons (LG). (Position non disponible pour 3 SSR)



L'estimation des paramètres dans le tableau 1, a nécessité le retrait des individus polyploïdes ainsi que des marqueurs multilocus. Un grand nombre d'allèles par locus a été observé ainsi que des valeurs élevées de PIC, H_e et H_o (Tableau 1). Ces résultats sont similaires à ceux obtenus dans de précédentes études (Miranda et al., 2010; Brini et al., 2008; Sehic et al. 2012).

Tableau 1: Diversité génétique des 28 marqueurs SSR.

Marqueur	n	H_e	H_o	PIC
Moyenne	11.5	0.77	0.70	0.74
Min	8	0.40	0.21	0.39
Max	16	0.87	1.0	0.86

n : nombre d'allèles par marqueur, H_e attendu, H_o : taux d'hétérozygotes observés, PIC : Polymorphism Information Content

Pouvoir discriminant et identification

Les 29 SSR utilisés ont permis de distinguer efficacement les accessions asiatiques des européennes (Figures 2 et 3). Les résultats de l'analyse en coordonnées principales et de l'arbre phylogénétique sont similaires et mettent en évidence deux groupes distincts entre les différentes espèces de poiriers. 104 variétés sont identifiées de façon unique. Parmi les non différenciées, 29 concernent des variétés et leurs mutants. De plus, différents problèmes d'erreur d'étiquetage et d'échantillonnage ont pu être mis en évidence.

Figure 2: Dendrogramme des 136 accessions analysés avec 29 SSR, basé sur une classification UPGMA (Distance de Jaccard).

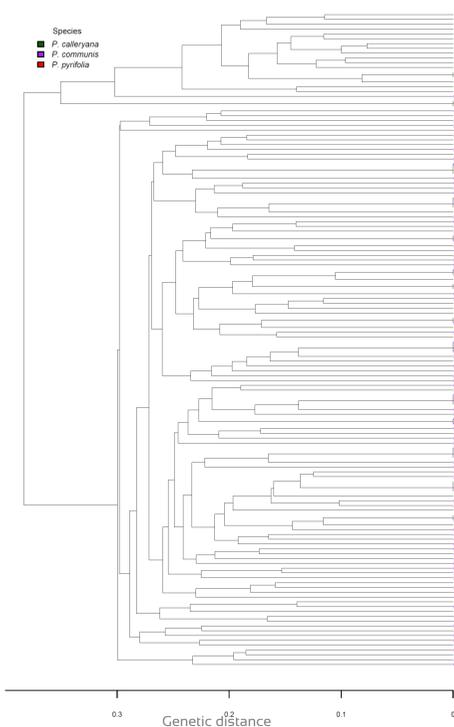
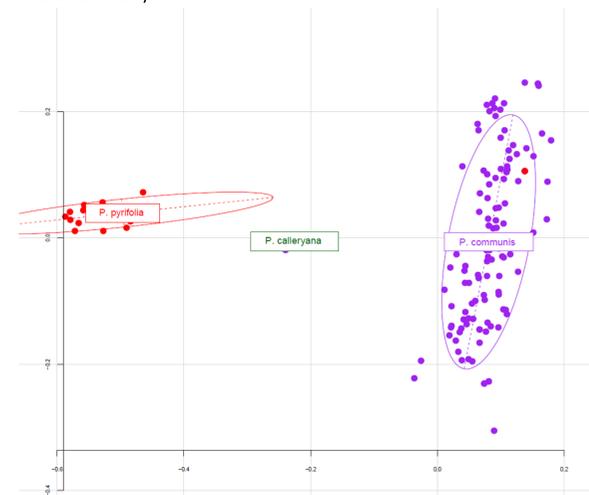


Figure 3: Analyse en Coordonnées Principales des 136 accessions analysées avec 29 SSR (représentation des deux premières coordonnées).

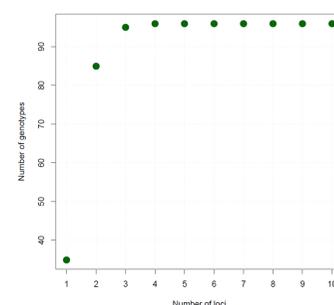


Sélection du jeu réduit de marqueurs SSR

Après élimination des polyploïdes et des mutants, la sélection du jeu de marqueurs a été menée sur 99 génotypes uniques (modèle 1 du programme AMaCAID).

4 marqueurs SSR sont suffisants pour différencier les 99 génotypes (Figure 4).

Figure 4: nombre maximum de génotypes discriminés en fonction du nombre de loci utilisés.



Conclusions

- L'utilisation des 29 SSR permet de décrire les relations entre les variétés au sein de la collection de référence.
- Les données SSR pourraient permettre d'élaborer des stratégies de gestion de la collection de référence. En conséquence, toute nouvelle variété est dorénavant décrite à l'aide de ce jeu de SSR.

Remerciements



Nous remercions l'Institut National de Recherche en Agronomie pour la collecte et la mise à disposition du matériel végétal, ainsi que pour les échanges scientifiques et techniques.



Groupe d'Étude et de contrôle des Variétés Et des Semences

WWW.GEVES.FR

Références:

- Brini W, et al. (2008) Genetic diversity in local Tunisian pears (*Pyrus communis* L.) studied with SSR markers. *SCI HORTIC*, 115, 337–341.
 Caroli S, et al. (2011) AMaCAID: a useful tool for Accurate Marker Choice for Accession Identification and Discrimination. *MOL ECOL RESOUR*, 11, 733–738. Evans KM, et al. (2009) Harmonising fingerprinting protocols to allow comparisons between germplasm collections – *Pyrus*. In: *Proceedings of the Twelfth Eucarpia Symposium on Fruit Breeding and Genetics*, pp. 103–106. Zaragoza, Spain.
 Miranda C, et al. (2010) Genetic Diversity and Structure in a Collection of Ancient Spanish Pear Cultivars Assessed by Microsatellite Markers. *J AM SOC HORTIC SCI*, 135, 428–437.
 Sehic J, G et al. (2012) Genetic diversity in a collection of European pear (*Pyrus communis*) cultivars determined with SSR markers chosen by ECPGR. *SCI HORTIC*, 145, 39–45.