



**HAL**  
open science

## Quelles associations de QTL chez la pomme de terre pour une résistance efficace et durable au nématode à kyste *globodera pallida* ?

Marie-Claire Kerlan, Jean-Paul Dantec, Lionel Renault, D. Ruer, Catherine Souchet, Marie Ange Dantec, François Monot, Josiane Quéré, Bernard Caromel, Laura Chauvin, et al.

### ► To cite this version:

Marie-Claire Kerlan, Jean-Paul Dantec, Lionel Renault, D. Ruer, Catherine Souchet, et al.. Quelles associations de QTL chez la pomme de terre pour une résistance efficace et durable au nématode à kyste *globodera pallida*?. Innovations Agronomiques, 2016, 50, pp.87-100. 10.15454/1.472109676217473E12 . hal-02637067

**HAL Id: hal-02637067**

**<https://hal.inrae.fr/hal-02637067>**

Submitted on 27 May 2020

**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.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

## Quelles associations de QTL chez la pomme de terre pour une résistance efficace et durable au nématode à kyste *Globodera pallida* ?

Kerlan M.C.\*, Dantec J.P.\*, Renault L.\*\* , Ruer D.\*\*\*\*, Souchet C.\*, Dantec M.A.\*, Monot F.\*, Quéré J.\*, Caromel B.\*\*\*, Chauvin L.\*, Montarry J.\*\* , Fournet S.\*\*

\* : INRA, UMR1349 IGEPP (Institut de Génétique, Environnement et Protection des Plantes), F-29260 Ploudaniel, France

\*\* : INRA, UMR1349 IGEPP (Institut de Génétique, Environnement et Protection des Plantes), F-35653 Le Rheu, France

\*\*\* : INRA, UR1052 GAFL (Génétique et Amélioration des Fruits et Légumes), Domaine Saint-Maurice, F-84143 Montfavet

\*\*\*\* : Coopérative Agricole des Producteurs de Noirmoutier, BP 85330 Noirmoutier en l'Île

Correspondance : [marie-claire.kerlan@rennes.inra.fr](mailto:marie-claire.kerlan@rennes.inra.fr)

### Résumé :

Actuellement, les variétés de pomme de terre résistantes au nématode à kyste *Globodera pallida* inscrites au catalogue français sont peu nombreuses et proviennent toutes de la source *Solanum vernei*. Il existe deux autres sources, *S. sparsipilum* et *S. spegazzinii* qui ont en commun avec *S. vernei* un QTL à effet fort (*GpaV*) cartographié sur le chromosome V. La source *S. sparsipilum* se distingue des deux autres par la présence d'un QTL à effet faible (*GpaXI<sub>spl</sub>*) qui quand, il est associé à *GpaV<sub>spl</sub>* transforme la réaction de masculinisation en un blocage des larves dans les racines. Cette combinaison procure, aux clones qui la possèdent, une efficacité et une durabilité plus importante. L'INRA, en collaboration avec les sélectionneurs français, et la Coopérative de Noirmoutier a développé et testé des constructions génétiques innovantes, associant le QTL à effet faible *GpaXI<sub>spl</sub>* aux QTL *GpaV* issus des deux autres espèces. Dans la majorité des cas et quelque soient les sources de résistance, l'association du QTL *GpaXI<sub>spl</sub>* et du QTL *GpaV* conduit à un blocage précoce des nématodes. Cette association permet également de contrôler des populations virulentes au QTL *GpaV<sub>vrn</sub>* qu'elles soient obtenues expérimentalement ou d'origine naturelle. Ces résultats donnent des bases pour construire de nouvelles combinaisons génétiques qui permettront d'élargir le spectre d'efficacité des variétés, dans le temps et dans l'espace.

**Mots clés** : *Solanum*, *Globodera*, résistance, efficacité, durabilité, cumul

### Abstract: Which QTL associations for efficient and durable resistances to the potato cyst nematode *Globodera pallida*?

The potato cyst nematode *Globodera pallida* is one of the major problems for potato crop. Few resistant potato varieties are registered in the French varieties catalogue and all of them originate from *Solanum vernei*. Two more resistance sources originating from *S. sparsipilum* and *S. spegazzinii* are also exploited. All these species have in common one major QTL located on a collinear position on the chromosome V, named *GpaV*. *S. sparsipilum* resistance differs from the other two by the presence of a minor QTL *GpaXI<sub>spl</sub>*. When both QTL are present in a same genotype, the resistance results from a rapid necrotic reaction instead of the masculinisation of the nematode, as usually observed when *GpaV* is alone. This combination of QTLs enlarges the efficacy and increases the durability of the resistance. INRA in collaboration with the French potato breeders and the "Cooperative de Noirmoutier" created and tested original materials which combines the minor QTL *GpaXI<sub>spl</sub>* and the QTL *GpaV* originating from *S. vernei* or *S. spegazzinii*. Whatever the origin of the QTL *GpaV*, presence of both QTL *GpaXI<sub>spl</sub>* and *GpaV* induces a blockage of the nematode in most cases. These new materials control the virulent nematode populations that have been obtained through experimental selection or that are naturally

present in South America. The results presented here will be useful to design new genotypes which cumulate different genetic factors in order to obtain a broad spectrum and durable resistance.

**Keywords:** *Solanum*, *Globodera*, resistance, efficacy, durability, combination of QTL

## Introduction

Au niveau international, trois sources de résistance sont essentiellement exploitées pour la résistance au nématode à kyste de la pomme de terre *G. pallida*. Elles ont pour origine les espèces *Solanum vernei*, *S. spegazzinii* et *S. sparsipilum*. Ces trois sources possèdent en commun un QTL à effet fort (nommé *GpaV<sub>spl</sub>* chez *S. sparsipilum*, *GpaV<sub>spg</sub>* chez *S. spegazzinii* et *GpaV<sub>vm</sub>* chez *S. vernei*), localisé en position colinéaire chez les trois espèces (Bryan *et al.*, 2002 ; Caromel *et al.*, 2003 & 2005 ; Rouppe van der Voort *et al.*, 1998 & 2000), responsable de la masculinisation des nématodes ayant pénétré les racines. Plus précisément, la présence de ce QTL se traduit, pour le nématode, par la formation de sites nourriciers de petite taille qui ne permettent pas une évolution du développement vers le sexe femelle. La source *S. sparsipilum* se distingue des deux autres par la présence d'un second QTL, *GpaXI<sub>spl</sub>*, qui, lorsqu'il est associé au QTL *GpaV<sub>spl</sub>*, transforme la réaction de masculinisation en un blocage précoce (i.e. juste après la pénétration) des larves dans la racine. Ce blocage est associé à une nécrose marquée, autour de la larve, traduisant ainsi une relation d'épistasie entre les deux QTL et la mise en place d'un mécanisme de défense différent de celui aboutissant à la masculinisation.

Au laboratoire, les résistances obtenues à partir des sources *S. vernei* peuvent être contournées plus ou moins rapidement, très probablement en fonction du nombre de facteurs de résistance cumulés dans les génotypes. Par exemple, cinq années de sélection récurrente sur la variété lledher suffisent à créer des lignées d'individus virulents à partir de deux populations françaises distinctes de *G. pallida*. Au bout de huit années, ces lignées contournent totalement la résistance et se développent aussi bien sur lledher que sur le témoin de sensibilité Désirée. Par contre, il existe des génotypes, issus de la même source qu'lledher, pour lesquels huit cycles de sélection permettent uniquement d'initier un début de contournement : c'est le cas du clone 96F.376.16, sur lequel ont été obtenus seulement 12 % de femelles au bout de huit générations (Fournet *et al.*, 2013).

Ces mêmes travaux ont aussi démontré l'existence d'un phénomène de virulence croisée : la résistance issue de *S. spegazzinii*, évaluée sur des clones possédant le QTL *GpaV<sub>spg</sub>* et des QTL à effet mineur, est immédiatement contournée par des individus virulents issus de cycles de sélection récurrents sur la variété lledher. Au contraire, la source *S. sparsipilum* contrôle ces individus virulents et aucun contournement n'a pu être démontré, jusqu'à présent, pour les génotypes possédant les deux QTL *GpaV<sub>spl</sub>* et *GpaXI<sub>spl</sub>*. Néanmoins, des niveaux d'efficacité inférieurs ont été observés sur des plantes possédant uniquement le QTL à effet fort *GpaV<sub>spl</sub>*. Le QTL *GpaXI<sub>spl</sub>* semble donc apporter une plus-value importante tant du point de vue de l'efficacité de la résistance que de sa durabilité (Fournet *et al.*, 2013).

Sachant que le matériel végétal issu de la source *S. vernei* est largement privilégié dans les schémas de sélection (plus facile à croiser, moins de caractères négatifs à éliminer, plus de recul), que le QTL lié à cette source de résistance (*GpaV<sub>vm</sub>*) peut être rapidement contourné en fonction du fond génétique de la variété, que le contournement de ce même QTL est associé au contournement du QTL *GpaV<sub>spg</sub>*, l'introgession du QTL mineur *GpaXI<sub>spl</sub>* dans du matériel *S. vernei* ou *S. spegazzinii*, porteurs des QTL *GpaV* correspondant, pourrait leur conférer une efficacité et une durabilité supérieures, comparables à celle mesurée pour les génotypes issus de *S. sparsipilum* naturellement porteurs de cette association. Cette hypothèse repose sur deux prérequis : la mise en place du même phénomène d'épistasie entre les QTL *GpaXI<sub>spl</sub>* et *GpaV* lorsqu'ils n'ont pas la même origine; la modification du mécanisme de résistance lorsque ces deux QTL sont présents, entraînant le blocage de la grande majorité des

nématodes pénétrant dans les racines. **Notre objectif était donc de créer puis de tester l'efficacité de différentes combinaisons génétiques associant le QTL à effet faible *GpaXI<sub>spl</sub>* découvert chez *S. sparsipilum* aux QTL *GpaV* identifiés chez les deux autres espèces apparentées à la pomme de terre, en vue de créer des « idéotypes » variétaux qui soient durablement résistants.**

## Des génotypes originaux portant différentes combinaisons de QTL

La création des génotypes portant des combinaisons originales a dû surmonter deux difficultés : parvenir à croiser avec succès du matériel à différents niveaux de ploïdie (di ou tétraploïdes) ; à différents stades de sélection (variété vs. génotype), puis pour des raisons évidentes de gain de temps et d'efficacité, parvenir à tracer les QTL d'intérêt dans ce nouveau matériel (i.e. nouveau fond génétique).

### *Du matériel qui combine les sources « S.vernei » et « S. sparsipilum »*

Différents clones tétraploïdes portant les sources de résistance « *S.vernei* » et « *S. sparsipilum* » ont été intercroisés afin d'obtenir du matériel original qui combine le QTL *GpaV<sub>vm</sub>* identifié par Rouppe *et al.* (2000) et le QTL à effet faible *GpaXI<sub>spl</sub>* cartographié sur le chromosome XI de *S. sparsipilum* (Caromel *et al.*, 2005).

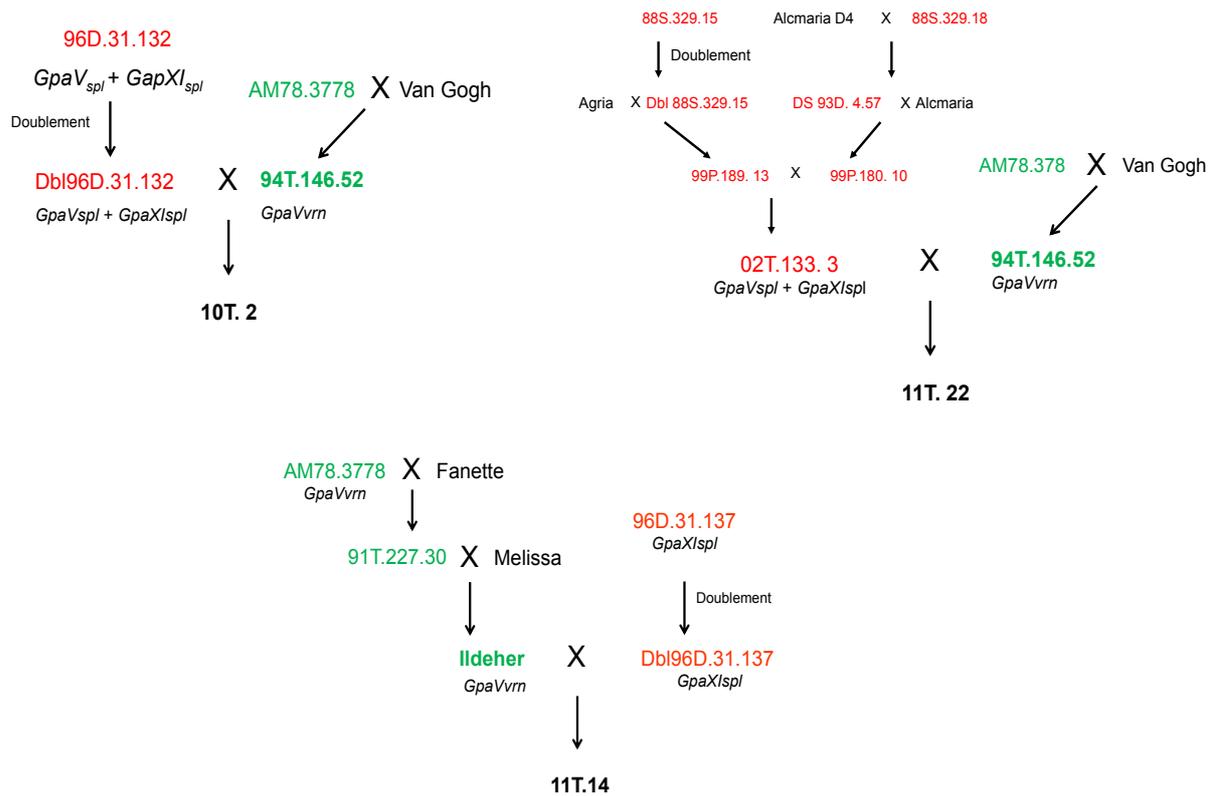
Pour la résistance « *S. vernei* », deux fonds génétiques issus du clone tétraploïde hollandais AM78.3778 ont été utilisés dans ces croisements (Figure 1) :

- le clone 94T.146.52
- la variété Iledher mis à disposition par le Grocep (première variété française résistance à *G. pallida* inscrite au catalogue en 2009).

La source de résistance identifiée chez l'espèce diploïde « *S. sparsipilum* » a été introduite à partir de la banque de Sturgeon Bay (USA). Les déterminants génétiques impliqués dans le contrôle de la résistance ont été identifiés dans une population diploïde en ségrégation (Caromel *et al.*, 2005). Différentes méthodes ont été utilisées afin de tétraploïdiser le matériel d'intérêt, et trois fonds génétiques « *S. sparsipilum* » ont pu être exploités (figure1) :

- Le clone 02T.133.3 issu du croisement entre des variétés tétraploïdes et des clones diploïdes produisant des gamètes non réduits. Ce clone possède les deux QTL *GpaV<sub>spl</sub>* et *GpaXI<sub>spl</sub>*.
- Les clones Db196D31.132 et Db196D.31.137 ont été obtenus par tétraploïdisation des clones diploïdes 96D31.132 et 96D.31.137 après régénération *in vitro* (Souchet, com. pers). Le clone diploïde 96D.31.132 possède les deux QTL *GpaV<sub>spl</sub>* et *GpaXI<sub>spl</sub>* et le clone 96D.31.137 uniquement le QTL à effet faible *GpaXI<sub>spl</sub>*.

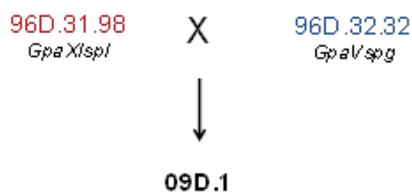
Les familles 10T.2 et 11T.22 ont en commun le parent « *S.vernei* » 94T.146.52, mais différent par le niveau d'introggression de la source de résistance « *S. sparsipilum* » utilisée en croisement. La famille 11T.14 diffère des familles 10T.2 et 11T.22 par le clone « *S. sparsipilum* » utilisé et par le niveau d'introggression de la source de résistance « AM78.3778 » (Figure 1).



**Figure 1** : Généalogie des familles 10T.2, 11T.22 et 11T.14 qui associent les sources de résistance *S. sparsipilum* et *S. vernei*. En rouge, le matériel portant la résistance de *S. sparsipilum* et en vert la résistance issue de *S. vernei*.

### Du matériel qui combine les sources « *S. sparsipilum* » et « *S. spegazzinii* »

Les associations des QTL *GpaXI<sub>spl</sub>* et *GpaV<sub>spg</sub>* ont été obtenues au niveau diploïde (famille 09D.1, Figure 2) ; le clone 96D.31.98 possède le QTL *GpaXI<sub>spl</sub>* (source *S. sparsipilum*) et le clone 96D.32.32 le QTL à effet fort *GpaV<sub>spg</sub>* (source *S. spegazzinii*).



**Figure 2** : Généalogie de la famille 09D.1 qui associe les sources de résistance *S. sparsipilum* et *S. spegazzinii*. En rouge, le matériel portant la résistance de *S. sparsipilum*, en bleu la résistance de *S. spegazzinii*.

### Des marqueurs pour génotyper les combinaisons de QTL

Afin de suivre les différents QTL, différents marqueurs générés lors de différents projets dont le contrat branche « Intérêts et limites de la Sélection Assistée par Marqueurs chez la pomme de terre » (ref 05-03-PdTerre, Kerlan *et al.* 20013), ou issus de la bibliographie (Chauvin *et al.*, 2012; Sattarzadeh *et al.*, 2006) ont été exploités (tableau 1).

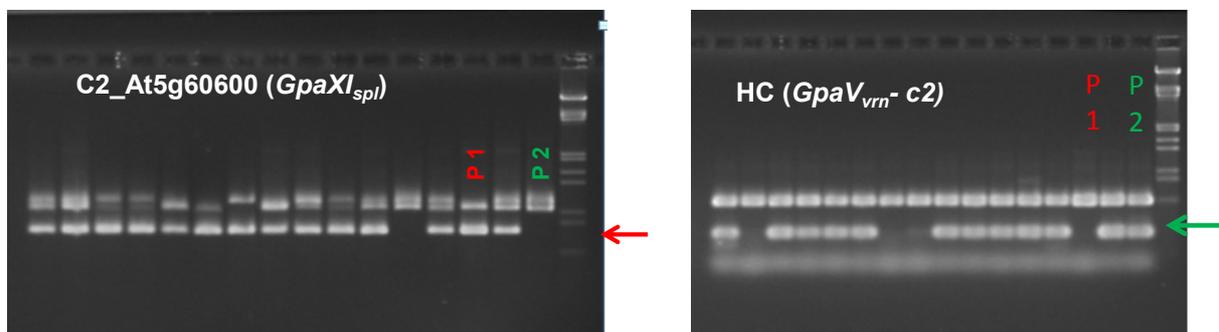
Pour la résistance issue de « *S. vernei* », les marqueurs cartographiés sur le chromosome V du parent tétraploïde 94T.146.52 ont pu être assignés à l'un des quatre groupes d'homologie (c1 à c4) ; les résultats de la cartographie du parent 94T.146.52 ne sont pas détaillés dans le présent article.

**Tableau 1** : Liste des marqueurs utilisés pour suivre les différentes combinaisons de QTL

Source de résistance	QTL	Marqueurs	Références
<i>S. sparsipilum</i>	<i>GpaXI<sub>spl</sub></i>	C2_At5g60600 MS137	Kerlan <i>et al.</i> , 2008 Caromel com. pers
<i>S. sparsipilum</i>	<i>GpaV<sub>spl</sub></i>	Asc151/Dral F30R41-700 TG441/Mspl	Kerlan <i>et al.</i> , 2008 Caromel com. pers Kerlan <i>et al.</i> , 2013
<i>S. vernei</i>	<i>GpaV<sub>vrn</sub></i>	F30R41_900 (c1) HC (c2) GP179/Rsa ou Caro3_1500 (c3)	Caromel com. pers Sattarzadeh <i>et al.</i> , 2006 Caromel com. pers
<i>S. spegazzinii</i>	<i>GpaV<sub>spg</sub></i>	C2-At1g23890 C2Atg24340/BamH1 YR316R	Chauvin <i>et al.</i> , 2012 Chauvin <i>et al.</i> , 2012 Chauvin <i>et al.</i> , 2012

c : préciser le groupe d'homologie sur lequel le marqueur a été cartographié

La Figure 2 illustre les profils obtenus avec d'une part le marqueur C2\_At5g60600 permettant de suivre spécifiquement le QTL *GpaXI<sub>spl</sub>* et, d'autre part, le marqueur HC permettant de suivre le QTL *GpaV<sub>vrn</sub>*.



**Figure 2** : Exemple de marqueurs permettant de suivre spécifiquement les allèles chez les parents Dbl96D31.132 (P1) et 94T.146.52 (P2) dans la descendance 10T.2. En rouge le marqueur du parent Dbl96D31.132 et en vert le marqueur du parent 94T.146.52.

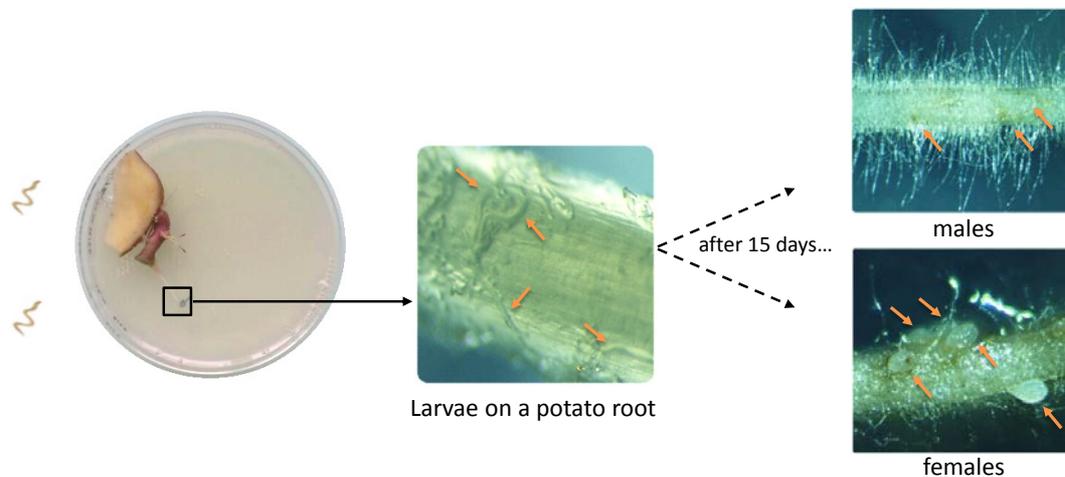
## De l'intérêt de coupler génotypage et phénotypage

Le génotypage permet de s'assurer de la présence des QTL d'intérêt dans le matériel végétal créé. L'objectif est maintenant de valider le profil obtenu par phénotypage en vérifiant que l'efficacité de la résistance et le mécanisme (masculinisation ou blocage) correspondent au profil génétique. La correspondance des deux profils permet de valider les marqueurs utilisés et, dans le cas des génotypes associant les QTL *GpaV* et *GpaXI<sub>spl</sub>*, de démontrer que cette association entraîne, même dans un nouveau fond génétique, une modification du mécanisme de résistance. L'utilisation de populations spécifiques de *G. pallida*, sélectionnées pour leur virulence au QTL *GpaV<sub>vrn</sub>* sur la variété Iledher ou provenant d'Amérique du Sud permet ensuite de valider si cette modification du mécanisme peut être associée à une augmentation d'efficacité dans l'espace et de la durabilité.

### *Un phénotypage en boîte de Pétri*

Une sélection de génotypes associant les QTL *GpaXI<sub>spl</sub>* et *GpaV* a été phénotypée en boîte de Pétri afin d'observer i) les mécanismes de résistances mis en place vis-à-vis de la population de nématode de référence Chavornay (Suisse, Chavornay), ii) d'évaluer un gain d'efficacité en utilisant des populations européennes virulentes après sélection récurrente, ou des populations sud-américaines naturellement virulentes.

Chaque génotype a été inoculé par des larves de stade L2 ; le nombre de larves inoculées a été compté (Tot\_inoc). Quinze jours après inoculation, les larves bloquées au stade L2+L3, les femelles et les mâles ont été dénombrés (Figure3).



**Figure 3** : Tests réalisés en boîte de Pétri

Trois variables ont été définies :

- % Blocage (Blocage) défini par le ratio du nombre de larves bloquées au stade L2+L3 sur le nombre de larves inoculées,
- % Femelle (pfem) défini par le ratio du nombre de femelles sur le nombre de larves inoculées,
- % Male (pmale) défini par le ratio du nombre de mâles sur le nombre de larves inoculées.

Compte tenu de la technicité des tests et des effectifs à tester :

- les inoculations ont été réalisées sur plusieurs années (période 2011-2014),
- les clones n'ont pas été systématiquement reconduits tous les ans,
- le nombre de larves inoculées varie selon le clone et selon les années.

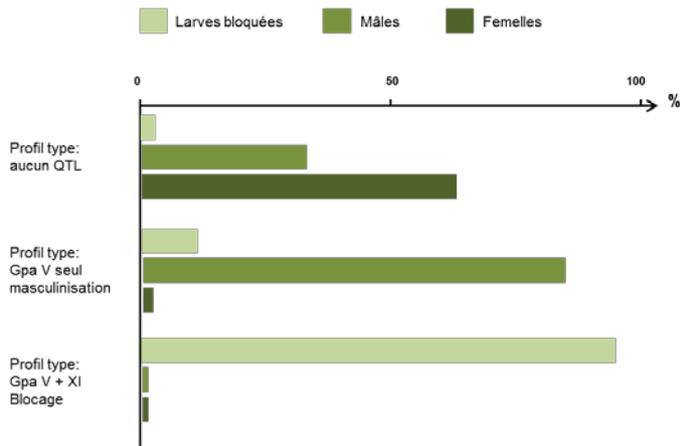
L'existence d'un effet année sur les trois variables préalablement définies a été testée, famille par famille, par une analyse de variance (SAS, V.9.9) en intégrant le nombre de racines inoculées comme co-variable, pour chaque famille. Les données ont été normalisées par transformation Arcsinus. Pour l'ensemble des familles, l'analyse démontre qu'il n'y a pas d'effet année ni d'effet du nombre de racines inoculées ( $p > 0.05$ ).

Nous avons ainsi pris en compte pour la suite des analyses l'ensemble des observations indépendantes (quel que soit l'année d'inoculation) pour les trois variables (Blocage, pfemelle et pmale).

### **Des combinaisons *GpaXI<sub>spl</sub>* et *GpaV* : un mécanisme modifié et une efficacité renforcée !**

Pour chaque génotype, les profils obtenus sont interprétés par comparaison avec les profils théoriques et les profils obtenus pour les témoins et les génotypes parentaux (Figure 4).

L'absence des QTL se traduit par l'obtention d'une majorité des femelles développées. La présence du QTL *GpaV* doit se traduire par un nombre de mâles nettement supérieur à celui des femelles et des larves bloquées. La présence conjointe des deux QTL doit aboutir à l'observation d'une très forte majorité de larves bloquées.



**Figure 4:** Profils attendus en phénotypage « Boîte de Pétri » en fonction de la présence des QTL *GpaV* et *GpaXI<sub>spl</sub>*

### Les associations *GpaXI<sub>spl</sub>* + *GpaV<sub>vrn</sub>*

Les résultats sont présentés de façon détaillée pour la famille 10T2 uniquement.

Les profils phénotypiques des deux génotypes parentaux (Figure 5), à l'origine de cette famille (DbI96D31.132 et 94T146.42), sont cohérents avec les résultats du génotypage :

- blocage pour le clone DbI96D31.132
- masculinisation pour le génotype 94T.146.52, bien que ce dernier présente aussi un taux de blocage important.

Les observations phénotypiques ont été regroupées par catégories de clones ayant la même composition génotypique.

Les données de phénotypage et de génotypage ont été confrontées entre elles dans un premier temps en utilisant le marqueur MS137 (pour suivi du QTL *GpaXI<sub>spl</sub>*) et les trois marqueurs (F3041\_900, HC, et GP179, pour suivi du QTL *GpaV<sub>vrn</sub>*) observés indépendamment.

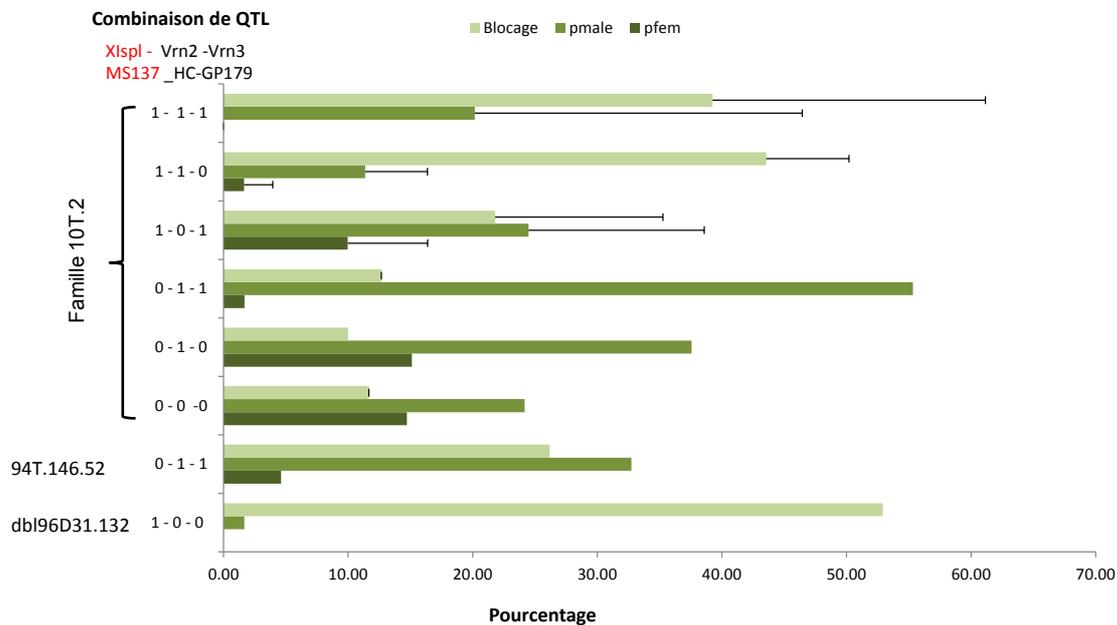
Les premières observations ont montré :

- qu'au moins deux marqueurs (HC et GP179) cartographiés sur deux groupes d'homologie différents (c1 et c2) contrôlent la résistance chez le parent 94T.146.52,
- que la présence du marqueur associé au locus F30R41\_900 ne serait pas associée à la résistance.

Dans un deuxième temps, de nouvelles classes génotypiques ont été définies en tenant compte de la présence du marqueur MS137 et de deux marqueurs HC et GP179 (seul ou en combinaison). Six combinaisons ont été ainsi analysées (Figure 5) :

- Les combinaisons 0/1/0 et 0/1/1, qui correspondent à une absence de *GpaXI<sub>spl</sub>* et à la présence du marqueur HC uniquement d'une part et des deux marqueurs HC et GP179 d'autre part, présentent une résistance masculinisante caractéristique,
- Les combinaisons 1/1/1, 1/1/0 qui correspondent à la présence conjointe de *GpaXI<sub>spl</sub>* et du marqueur HC, le marqueur GP179 étant présent uniquement dans la combinaison 1/1/1 montrent un fort blocage,
- La combinaison 1/0/1 qui correspond là aussi à la présence conjointe des deux QTL présente néanmoins un blocage moins important,
- la combinaison 0/0/0 est la combinaison qui présente le plus grand nombre de femelles mais avec un niveau de masculinisation relativement élevé.

Cette analyse suggère que la présence du marqueur MS137, quand elle est associée à la présence du marqueur HC, induit un blocage plus fort que lorsqu'elle est associée à la présence du marqueur GP179.



**Figure 5:** Concordance entre les pourcentages de Blocage, de mâles et de femelles observés par dissection en fonction des combinaisons « QTL *GpaXI<sub>spl</sub>* et marqueur cartographié sur le chromosome V du parent 94T146.52 ». Le QTL *GpaXI<sub>spl</sub>* (XIspl) a été suivi à l'aide du marqueur MS137, le chromosome V du parent 94T.146.52 à l'aide des deux marqueurs HC (Vrn2) et GP179 (Vrn3). 1 Présence du marqueur, 0 absence du marqueur.

Les confrontations des données de génotypage et de phénotypage peuvent se résumer ainsi:

- Il existe au moins deux loci cartographiés sur le chromosome V du parent 94T146.52 qui contrôlent la résistance,
- l'association de *GpaXI<sub>spl</sub>* avec le marqueur HC cartographié sur le groupe d'homologie c2 du chromosome V du parent 94T.146.52 induit une **modification du mécanisme de résistance** (de la masculinisation au blocage précoce),
- l'association de *GpaXI<sub>spl</sub>* avec le marqueur GP179 cartographié sur le groupe d'homologie c3 du chromosome V ne conduit pas systématiquement à du blocage (2 cas sur 5),
- La présence du marqueur F30R41\_900, cartographié sur le groupe d'homologie c1, ne serait pas liée à la résistance.

Pour analyser plus finement le déterminisme génétique de la résistance porté par le parent 94T.146.52, il faudrait mener une analyse de détection de QTL. Cela nécessitera d'augmenter la taille de la population et de refaire du phénotypage.

Les résultats obtenus pour la famille 10T2 sont **extrapolables à plusieurs fonds génétiques**. En effet, pour la famille 11T22 qui a en commun le parent «*S.vernei*» 94T.146.52, mais qui diffère par le niveau d'introgession de la source de résistance «*S. sparsipilum*» utilisé en croisement, nous avons également pu montrer que:

- deux locus cartographiés sur le chromosome V du parent 94T.146.52 sont impliqués dans le contrôle de la résistance,

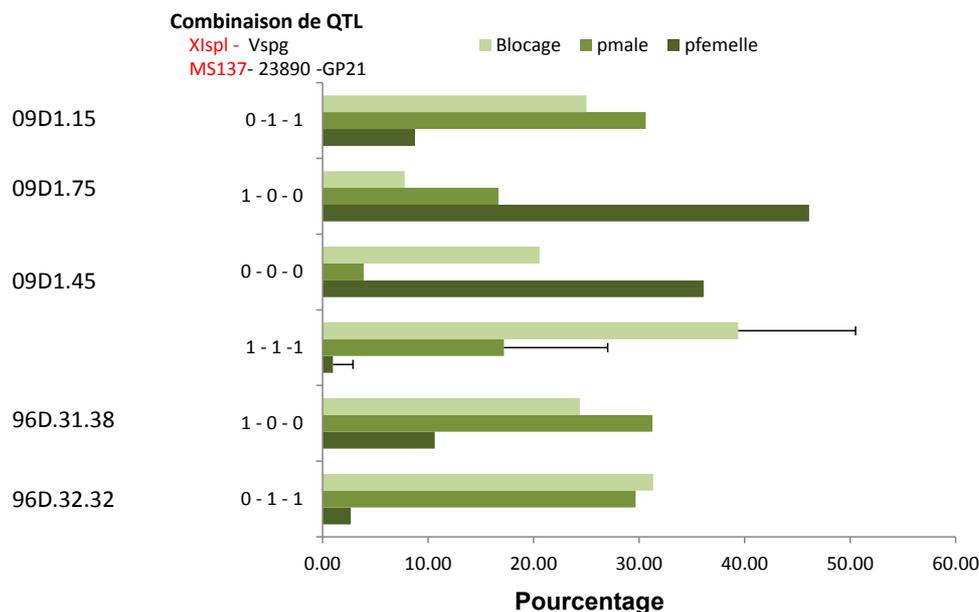
- l'association de *GpaXI<sub>spl</sub>* avec le marqueur HC (groupe d'homologie c2) induit également une modification du mécanisme de résistance pour les quatre clones analysés,
- l'association de *GpaXI<sub>spl</sub>* avec le marqueur Caro3\_1500 (groupe d'homologie c3) induit également une modification du mécanisme de résistance.

Cependant, plus on avance dans l'introggression de la source de résistance « *S. vernei* » dans le fond *Solanum tuberosum* ssp *tuberosum* (pomme de terre cultivée), plus les résultats présentent une grande variabilité de réponse (cas de la famille 11T14).

Pour cette famille, seule l'association *GpaXI<sub>spl</sub>* avec le marqueur HC a été suivie, le marqueur assigné au groupe d'homologie c3 n'ayant pas été transmis au cours de la méiose. L'association « *GpaXI<sub>spl</sub>* + HC » conduit à un blocage dans deux cas sur cinq, les autres cas montrant de la résistance de type masculinisante. Pour expliquer ce résultat, différentes hypothèses peuvent être émises : la perte de la liaison avec le marqueur MS137 permettant de suivre le QTL *GpaXI<sub>spl</sub>* et le QTL, l'influence du dosage allélique pour la mise en place de la réaction d'épistasie entre le QTL *GpaXI<sub>spl</sub>* et le locus HC.

### Des résultats indépendants de la source de résistance : cas de l'association *GpaXI<sub>spl</sub>* et *GpaV<sub>spg</sub>*

Pour le parent « *S. spgazzinii* » 96D.32.32, le profil de phénotypage présente un pourcentage de mâles important, néanmoins associé à un blocage de niveau équivalent (Figure 6) ; ce profil reste cohérent avec la présence, *a priori*, du QTL *GpaV<sub>spg</sub>* seul. Le parent « *S. sparsipilum* » est caractérisé par un pourcentage de mâles et de blocage important ; un pourcentage de femelles modéré (15%), alors qu'on s'attendait à observer plus de femelles.



**Figure 6** : Concordance pour la famille 09D1 entre les % de blocage, de mâles et de femelles observés par dissection en fonction de la présence des QTL *GpaXI<sub>spl</sub>* et *GpaV<sub>spg</sub>* détectés sur la base du marqueur MS137 pour *GpaXI<sub>spl</sub>* et des marqueurs 23890 et GP21 pour *GpaV<sub>spg</sub>*. La combinaison 1- 1- 1 cumule les observations faites pour cinq clones. 1 présence du marqueur, 0 absence du marqueur

Les génotypes témoins de la descendance 09D1 (09D.1.15, 09D.1.45 et 09D1.74) ont des profils phénotypiques en accord avec leurs profils génotypiques.

Quatre des cinq génotypes possédant l'association « *GpaXI<sub>spl</sub>* + *GpaV<sub>spg</sub>* » montrent un pourcentage de blocage élevé. Un seul génotype (09D1.33) présente un pourcentage de mâles élevé et donc une réaction de résistance plutôt caractéristique de la présence du QTL *GpaV* uniquement. Ce cas

particulier peut s'expliquer par la perte du QTL  $GpaXI_{spl}$  due à une recombinaison entre le marqueur MS137 et le QTL  $GpaXI_{spl}$ .

Ces résultats montrent également que l'introgression du QTL à effet faible  $GpaXI_{spl}$  dans un fond génétique *S. spgazzinii* permet également de modifier le mécanisme de la résistance en passant d'un mécanisme de masculinisation à un blocage.

### Des résultats confirmés en situation d'infestation naturelle

Les différentes constructions génétiques ont aussi été évaluées pour leur résistance en conditions d'infestation naturelle en collaboration avec la Coopérative de Noirmoutier. Le dispositif expérimental est le même que celui conduit lors de l'AO CTPS Pomdure (C07-01 Pomme de terre). Les taux d'infestation sont généralement très élevés (31 larves/g de sol en 2013 et 15 larves/g de sol en 2014).

Le niveau de résistance de chaque génotype est évalué par le nombre de femelles présentes sur le chevelu racinaire et une note de 0 à 3 est attribuée à chaque génotype (0 pas de femelle, 1 : moins de 10 femelles, 2 : plus de 10 femelles et moins que chez le témoin de sensibilité, 3 : nombre de femelles équivalent à celui observé chez le témoin sensible, ici Désirée). La Figure 7 illustre des femelles de nématodes sur le chevelu racinaire du clone 11T.14.84 qui a obtenu une note de 2.



**Figure 7** : Femelles de *G. pallida* sur le clone 11T.14.84

### *Le comportement des témoins est conforme à celui attendu*

Les différents témoins se sont comportés comme attendus. La variété Désirée était fortement infestée (avec une note moyenne de 2.3). Aucune femelle ne s'est développée sur le chevelu racinaire des génotypes AM78.3778 et 94T.146.52 (source de résistance *S. vernei*), alors que quelques femelles ont été observées sur lledher. Le résultat pour cette variété est également conforme; lledher présente une résistance de type partiel.

Pour la source *S. sparsipilum*, aucune femelle ne s'est développée sur le clone db196D31.132 qui possède les deux QTL  $GpaV_{spl}$  +  $GpaXI_{spl}$  (résultat conforme à celui attendu) ; par contre, une note de 1 a été donnée au clone db196D31.137. Ce résultat n'est pas complètement cohérent : la présence seule du QTL à effet faible aurait dû permettre le développement d'un nombre important de femelles.

Le phénotypage des familles en conditions naturelles d'infestation a permis de trier le matériel résistant ou partiellement (note 0 ou 1) du matériel sensible (note 2 et 3) (Figure 8). Les distributions des effectifs répartis selon la note de résistance est cohérent et est à relier à la généalogie des familles (Figure 1). Les familles 10T2 et 11T.22 sont issues de croisements entre le clone 94T.146.52 (source «*S. vernei*») et deux clones portant chacun les deux QTL  $GpaXI_{spl}$  et  $GpaV_{spl}$  identifiés chez la source «*S. sparsipilum*». Il est donc normal de trouver une majorité d'individus résistants. Par contre, la descendance 11T.14 présente une plus grande diversité de réponses avec des individus résistants et

sensibles. Là aussi pour cette famille, les résultats sont cohérents puisque le clone dbI96D31.137 (présence du QTL *GpaXI<sub>spI</sub>*) a un phénotype proche de celui d'un individu sensible.

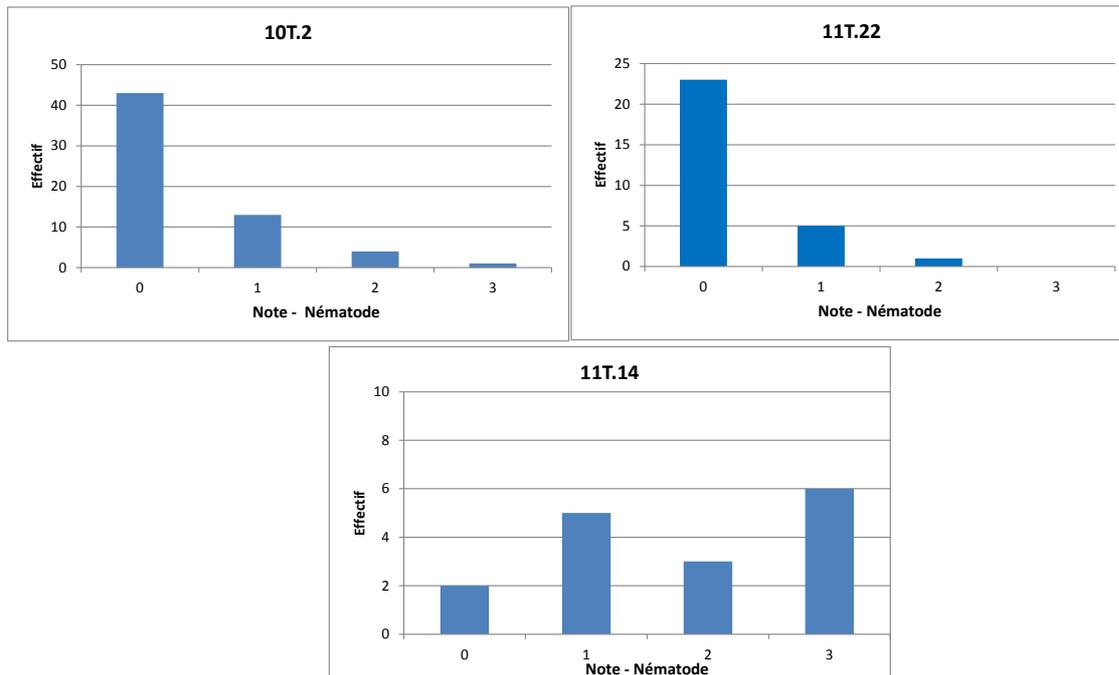


Figure 8 : Répartition des clones en fonction de la note-Nématodes.

Les notes attribuées en observant le chevelu racinaire en situation d'infestation naturelle à Noirmoutier et les pourcentages de femelles obtenus à partir des tests réalisés en boîte de Pétri **sont concordants** dans la majorité des cas (Figure 9). Pour les notes 0 ou 1, on observe moins de 20% de femelles et pour les notes de 2 ou 3 plus de 20 % de femelles.

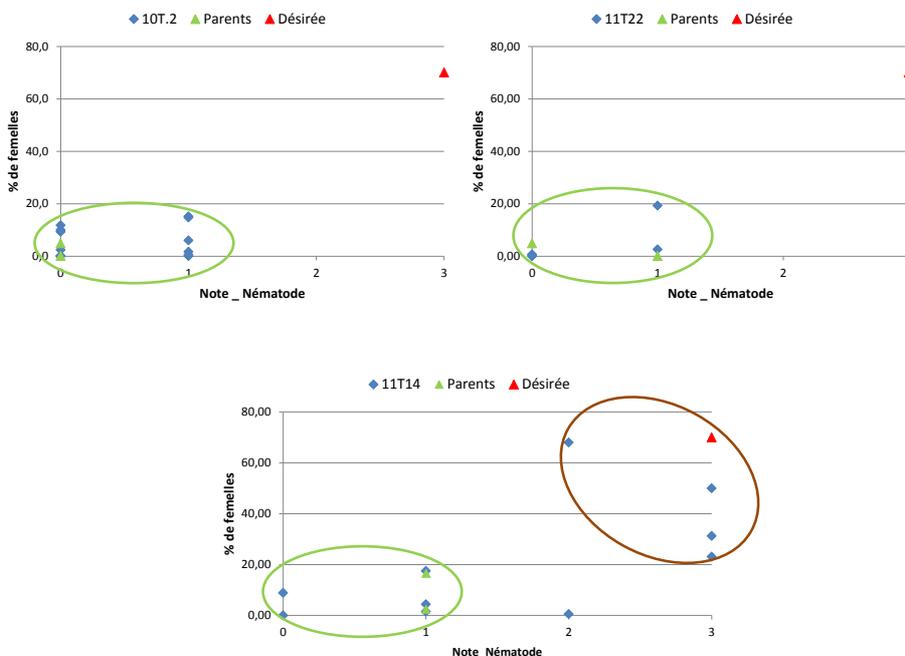


Figure 9 : Relation entre note de résistance évaluée en conditions naturelles d'infestation à Noirmoutier et pourcentage de femelles obtenus après inoculation de larves en boîte Pétri.

Evaluer du matériel à Noirmoutier est donc à envisager pour un criblage de matériel en effectif important. Le matériel sur lequel pas ou peu de nématodes se développent (note 0 ou note 1) pourra

ensuite être analysé plus finement au laboratoire (en test boîte de Pétri ou pot). Cela permet également d'être relativement affirmatif si on ne fait que du laboratoire sur l'efficacité attendue au champ; et dans l'autre sens, de faire du criblage de masse au champ permet de se concentrer uniquement sur le matériel résistant et agronomiquement intéressant.

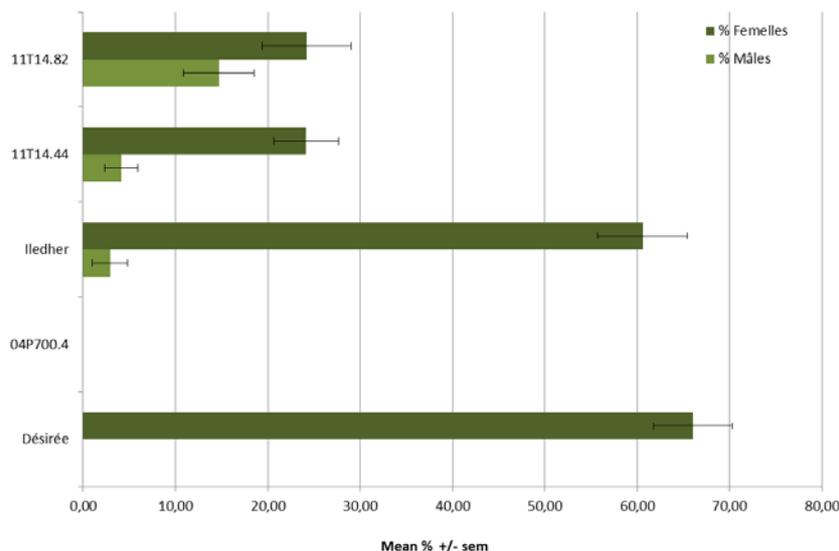
### ***GpaXI<sub>spl</sub>* - *GpaV*: une association prometteuse en termes de durabilité des résistances**

Une évaluation directe de la durabilité nécessite la mise en place d'un long processus expérimental de sélection. A raison d'une génération par an, il faudrait entre cinq et huit ans (le temps nécessaire au contournement de la variété lledher) ou peut-être plus pour connaître la durabilité des constructions génétiques «*GpaXI<sub>spl</sub>* + *GpaV*».

L'utilisation de populations virulentes, naturelles ou issues d'un processus de sélection, permet une estimation indirecte de la durabilité. Cette estimation est basée sur les hypothèses (i) qu'une construction génétique parvenant à contrôler une population sélectionnée sur la variété lledher aura une durabilité supérieure ou égale à celle de cette variété, (ii) qu'une construction génétique parvenant à contrôler une population naturellement virulente sur le QTL *GpaV* aura une efficacité spatiale étendue et une durabilité plus forte.

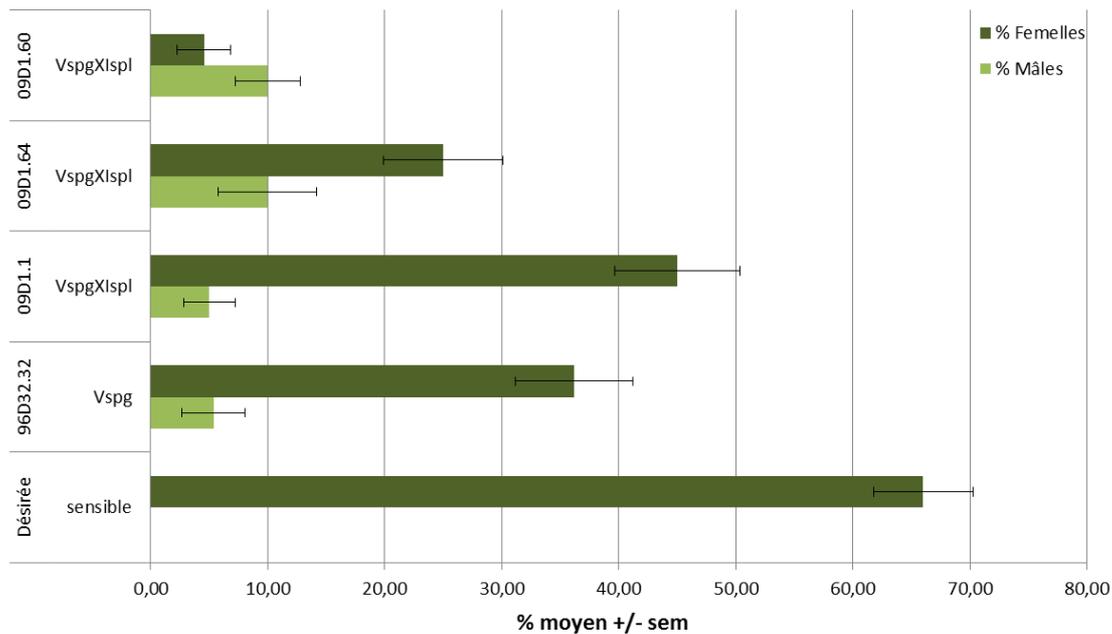
Des résultats préliminaires ont été obtenus sur quelques génotypes issus des familles 11T14 et 09D1 avec une lignée virulente, sélectionnée sur la variété lledher. Les tests ont été réalisés en boîte de Pétri. Seuls les stades mâles et femelles ont été dénombrés, sans disséquer les racines.

Pour la famille 11T14, les deux génotypes qui cumulent les deux QTL *GpaV<sub>vm</sub>* et *GpaXI<sub>spl</sub>* réduisent le pourcentage de femelles de manière substantielle par rapport à la variété résistante lledher dont la résistance est totalement contournée par la lignée de nématodes utilisée (le pourcentage de femelles est identique à celui obtenu sur la variété non résistante Désirée) (Figure 10).



**Figure 10 :** Pourcentage moyen de mâles et de femelles (+/- sem) obtenus avec la lignée virulente 6096.1SM9XD sur le témoin sensible Désirée, les génotypes parentaux 04P700.4 (ou dbID96D.31.137) et lledher et les deux génotypes 11T14.44 et 11T14.82, porteurs de l'association «*GpaV<sub>vm</sub>* + *GpaXI<sub>spl</sub>*»

Pour la famille 09D1, le génotype parental (96D.32.32) possédant le QTL *GpaV<sub>spg</sub>* est contourné par la lignée utilisée à hauteur de 38 % de femelles, contre 66% pour le témoin non résistant Désirée. Les trois génotypes testés, qui cumulent les deux QTL *GpaV<sub>spg</sub>* et *GpaXI<sub>spl</sub>* présentent un pourcentage de femelles plus faible pour deux d'entre eux et du même niveau que le parent 96D.32.32 pour le 09D1.1 (Figure 11).



**Figure 11 :** Pourcentage moyen de mâles et de femelles (+/- sem) obtenus avec la lignée virulente 6096.1SM9XD sur le témoin sensible Désirée, le génotype parental 96D32.32 et les trois génotypes 09D1.1 ; 09D1.64 et 09D1.60, porteurs de l'association « *GpaV<sub>spg</sub>* + *GpaXI<sub>spl</sub>* »

## Conclusion et perspectives

Nos résultats ont permis de mettre en évidence pour la première fois, l'existence d'un deuxième locus cartographié sur le chromosome V du parent tétraploïde « AM37-7878 » (source *S. vernei*). Les deux loci, identifiés sur cette source de résistance, sont cartographiés sur deux groupes d'homologie différents et ont été tracés par les marqueurs HC et GP179.

Nous avons montré que dans la plupart des cas, les constructions génétiques qui combinent le QTL à effet faible *GpaXI<sub>spl</sub>* et un marqueur associé au QTL *GpaV* (*GpaV<sub>vm</sub>* ou *GpaV<sub>spg</sub>*) montrent un fort blocage des nématodes à la pénétration. La réaction d'épistasie observée dans le cas du cumul intra-spécifique « *GpaXI<sub>spl</sub>* + *GpaV<sub>spl</sub>* » est donc possible dans le cas d'une association du QTL à effet faible identifié sur *S. sparsipilum* (*GpaXI<sub>spl</sub>*) et du QTL à effet fort *GpaV* identifié chez deux autres sources de résistance (*S. vernei* et *S. spgazzinii*). Les exceptions à cette réaction d'épistasie peuvent s'expliquer par i) la perte de la liaison entre le marqueur et le QTL, ii) l'influence du dosage allélique au QTL, ou iii) la présence de facteurs génétiques non identifiés.

En faisant l'hypothèse que l'utilisation de lignées virulentes ou de populations naturellement virulentes peut permettre d'estimer la durabilité de ces nouvelles constructions génétiques, les premiers résultats montrent qu'elles peuvent être plus durables que celles des variétés actuellement disponibles. Plus simplement, l'efficacité de ces constructions vis-à-vis de nématodes virulents sur la variété Iledher montre que de futures variétés, basées sur ce type de construction, représenteront une alternative efficace et opérationnelle pour maîtriser ce type de population.

L'utilisation de populations naturellement virulentes permettra également de dire si ces constructions autorisent un contrôle élargi de la diversité génétique de *G. pallida* en étant opérationnelle contre des génotypes de nématodes actuellement absents en Europe.

## Remerciements

Les résultats présentés ici ont reçu le soutien financier du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche (C-2011-03), le soutien technique de la Coopérative Agricole Des Producteurs de Noirmoutier. Le CRB BrACySol et l'UE RGCO sont également remerciés pour la mise à disposition et le maintien du matériel végétal. René Pouliquen, Christophe le Guen sont remerciés pour leur contribution aux notations à Noirmoutier. Nous remercions également les membres de l'ACVNPT pour les échanges fructueux.

## Références bibliographiques

- Bryan G.J., McLean K., Bradshaw J.E., Jong W.S., Phillips M., Castelli L., Waugh R., 2002. Mapping QTLs for resistance to the cyst nematode *Globodera pallida* derived from the wild potato species *Solanum vernei*. *Theoretical and Applied Genetics* 105, 68-77.
- Caromel B., Mugniéry D., Kerlan M.-C., Andrzejewski S., Palloix A., Ellissèche D., Rousselle P., Bourgeois F., Lefebvre V., 2005. Resistance QTLs originating from *Solanum sparsipilum* act independently on the sex-ratio of *Globodera pallida* and together for developing a necrotic reaction. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 18, 1186-1194.
- Caromel B., Mugniery D., Lefebvre V., Andrzejewski S., Ellissèche D., Kerlan M.C., Rousselle P., Rousselle-Bourgeois F., 2003. Mapping QTLs for resistance against *Globodera pallida* (Stone) Pa2/3 in a diploid potato progeny originating from *Solanum spegazzinii*. *Theoretical and Applied Genetics* 106, 1517-1523.
- Chauvin L., Lesage M.L., Fournet S., Caromel B., Quéré J., Dantec J.P., Kerlan M.C., 2012. Molecular marker development for introgression of nematode resistance in potato breeding programs: exploitation of *Solanum spegazzinii* resistance source. 9<sup>th</sup> Solanaceae Conference, August 26-30, 2012, Neuchâtel, Suisse, p44.
- Fournet S., Kerlan M.C., Renault L., Dantec J.P., Rouaux C., Montarry J., 2013. Selection of nematodes by resistant plants has implications for local adaptation and cross-virulence. *Plant Pathology* 62, 184-193.
- Kerlan M.C., Marhadour S., Caromel B., Bonnel E., Danan S., Lefebvre V., Chauvin J.E., 2013. Quelques exemples d'intérêts et de limites de la sélection assistée par marqueurs chez la pomme de terre. *Innovations Agronomiques* 27, 111-122
- Roupe van der Voort J.N.A.M., Lindeman W., Folkertsma R., Hutten R.C., Overmars H., Van der Vossen E., Jacobsen E., Bakker J., 1998. A QTL for broad-spectrum resistance to cyst nematode species (*Globodera* ssp.) maps to a resistance gene cluster in potato. *Theoretical and Applied Genetics* 96, 654-661.
- Roupe van der Voort J.N.A.M., van der Vossen E, Bakker E., Overmars H., van Zandvoort P., Hutten R., Klein Lankhorst R., Bakker J., 2000. Two additive QTLs conferring broad-spectrum resistance in potato to *Globodera pallida* are localized on resistance gene clusters. *Theoretical and Applied Genetics* 101, 1122-1130.
- Sattarzardeh A, Achenbach U., Lübeck J., Strahwald J., Tracke E., Hofferbert H.R, Rothsteyn T., Gebhardt C., 2006. Single nucleotide polymorphism (SNP) genotyping as basis for developing a PCR-based marker highly diagnostic for potato varieties with very high resistance to *Globodera pallida* pathotype Pa2/3. *Molecular Breeding* 18, 301-312

Cet article est publié sous la licence Creative Commons (CC BY-NC-ND 3.0)



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/fr/>

Pour la citation et la reproduction de cet article, mentionner obligatoirement le titre de l'article, le nom de tous les auteurs, la mention de sa publication dans la revue « Innovations Agronomiques », la date de sa publication, et son URL)