

Identification et marquage des facteurs génétiques de résistance à la Sharka chez l'abricotier et le Prunus davidiana

David Tricon, Patrick Lambert, Jean Marc Audergon, Thierry Pascal, Guillaume Roch, Veronique Decroocq

► **To cite this version:**

David Tricon, Patrick Lambert, Jean Marc Audergon, Thierry Pascal, Guillaume Roch, et al.. Identification et marquage des facteurs génétiques de résistance à la Sharka chez l'abricotier et le Prunus davidiana. Innovations Agronomiques, INRAE, 2013, 27, pp.31-35. hal-02650514

HAL Id: hal-02650514

<https://hal.inrae.fr/hal-02650514>

Submitted on 29 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.



Identification et marquage des facteurs génétiques de résistance à la Sharka chez l'abricotier et le *Prunus davidiana*.

Tricon D.¹, Lambert P.², Audergon J.M.², Pascal T.², Roch G.², Decroocq V.¹

¹INRA, Université de Bordeaux, UMR 1332 BFP, BP81, 33883 Villenave d'Ornon cedex, France. ² INRA, UR1052 UGAFL, Domaine Saint Maurice, BP94, 84143 Montfavet Cedex

dtricon@bordeaux.inra.fr

Résumé

La sharka, maladie provoquée par le *Plum Pox Virus* (PPV), affecte gravement les arbres fruitiers à noyaux du genre *Prunus*. Le PPV est largement répandu en Europe de l'Est et dans les régions méditerranéennes. Il affecte, entre autre, fortement la qualité des fruits, les rendant impropres à la commercialisation. A ce jour, aucun cultivar de pêchers n'est résistant et la majorité des variétés cultivées d'abricotiers sont également sensibles. Cependant, des sources de résistance ont été identifiées chez *Prunus davidiana*, espèce apparentée au pêcher et chez quelques cultivars d'abricotiers. L'étude de la ségrégation de ce caractère dans des populations F1 et F2 a permis d'identifier plusieurs QTL chez chacune de ces espèces et de développer des marqueurs moléculaires utilisables en Sélection Assistée par Marqueurs. De plus, nous avons pu vérifier la robustesse de ces QTL dans différents fonds génétiques et la stabilité de la résistance selon l'inoculum et le type d'inoculations utilisés.

Mots-clés : Sharka, arbres fruitiers, résistance, QTL, sélection assistée par marqueurs

Abstract: Identification and tagging of genetic resistance factors to Sharka disease in apricot trees and *Prunus davidiana*

The *Plum pox virus* (PPV), the causal agent of the sharka disease, is the most detrimental virus on stone-fruit trees, worldwide. Infected fruits are not marketable. To date, no stone fruit cultivar (peach, apricot, plum) is resistant. However, sources of resistance have been identified and mapped in apricot and *Prunus davidiana*, a wild peach-related species. Several of the mapped QTL co-localize with candidate genes previously identified. In the present study, resistance in *P. davidiana* was confirmed in an F2 population and two new QTL were identified. Quantitative analysis of the apricot cultivars 'Goldrich' and 'SEO' resistance was also performed. Molecular markers targeting these genes were developed as a tool for marker-assisted selection. This study made it also possible to refine boundaries of the genomic region controlling PPV resistance as well as confirming the robustness and stability of the resistance trait in both species: *P. davidiana* and *P. armeniaca*.

Keywords: Sharka disease, fruit trees, resistance, QTL, marker-assisted selection

Introduction

Le *Plum pox virus* (PPV), pathogène de quarantaine responsable de la maladie de la Sharka, infecte les arbres fruitiers à noyaux (abricotiers, pêchers et pruniers). Il provoque des déformations importantes des fruits, les rendant non commercialisables. Il est transmis naturellement par de nombreux pucerons très communs au verger ou par greffage. Du fait de ce mode de transmission et d'échanges de matériel infecté, la maladie s'est étendue à toute l'Europe. Ce virus de quarantaine entraîne de lourdes pertes en pépinières et en vergers mais a surtout un impact socio-économique important dans les pays d'Europe de l'Est, du pourtour méditerranéen et en France, notamment dans la vallée du Rhône et la

Drôme. On estime que le coût global de la maladie durant les 30 dernières années s'élève à 10 milliards d'euros dans le monde. (Cambra *et al.*, 2006). Les seuls moyens de lutte dont disposent les arboriculteurs sont la plantation de matériel sain et l'éradication de tout matériel contaminé. Par conséquence, la création de variétés résistantes à cette maladie est un objectif important de l'amélioration des *Prunus*.

Des travaux entrepris à l'INRA il y a plus de 20 ans ont permis d'identifier quelques sources de résistance au PPV chez les *Prunus*. Plusieurs difficultés sont apparues dans l'exploitation de ces sources à des fins de création variétale : 1) l'évaluation phénotypique en milieu confinée pour obtenir des résultats fiables est particulièrement lourde, du fait d'une part de l'encombrement des plants, du caractère partiellement aléatoire de l'expression de symptômes, ainsi que de la répartition du virus dans la plante qui impose de tester plusieurs fois chaque génotype et le plus souvent sur plusieurs cycles de végétation ; 2) les premiers résultats sur l'analyse de ces résistances indiquent qu'elles sont contrôlées par plus d'un gène; 3) les sources de résistance ont été trouvées chez des espèces sauvages apparentées ou chez des cultivars mal adaptés aux conditions de culture françaises.

Chez l'abricotier, plusieurs géniteurs de résistance ('Goldrich', 'Harcot', 'SEO', 'Lito', 'Harlayne', 'Stella', 'Orangered ® Bhart', 'NJA2') ont été décrits (Martinez-Gomez *et al.*, 2000) et la plupart sont utilisés dans des programmes d'amélioration en France (INRA UGAFL) et en Europe (voir projet FP7 européen SharCo, www.sharco.eu). Chez le pêcher, la situation est plus complexe. Aucune résistance au PPV n'a pu être démontrée chez le pêcher (espèce taxonomique *Prunus persica* L. Batsch) d'où l'utilisation, dans des croisements interspécifiques, de sources de résistance identifiées chez des espèces apparentées, différentes accessions de *Prunus davidiana* (Pascal *et al.*, 1998) et d'amandier (*Prunus dulcis*) (Pascal *et al.*, 2002).

L'objectif de ce projet était donc de confirmer et préciser les déterminants génétiques de la résistance au virus de la sharka chez les espèces fruitières abricotier et pêcher afin d'initier des programmes de Sélection Assistée par Marqueurs de variétés résistantes à la maladie de la sharka.

Résultats majeurs

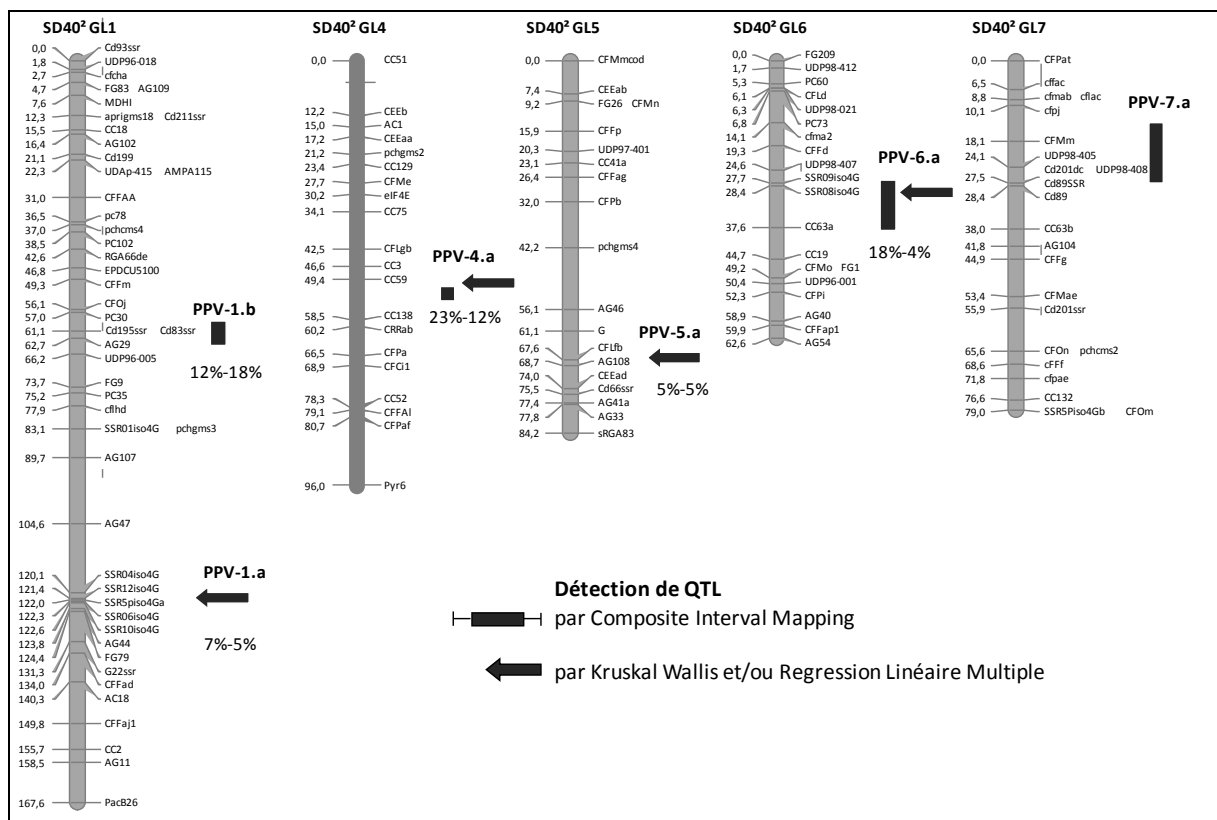
Le travail fut réalisé sur pêcher et abricotier en différentes étapes:

1) la vérification de la stabilité et de la durabilité de la résistance des géniteurs (démarche croisée serre / verger). Deux démarches complémentaires ont été mises en place, en partenariat avec CEP Innovation, pour examiner la robustesse des méthodes de caractérisation de la sensibilité du matériel végétal :

- la comparaison de méthodes d'inoculation où ont été comparées une inoculation sévère (greffage du clone sur porte-greffe infecté), avec une inoculation 'douce' (inoculation de la variété par greffage d'un chip inoculum sur la variété). Au terme de l'évaluation, un avantage est apparu clairement en faveur de l'inoculation sévère, qui permet l'obtention d'une réponse robuste plus rapide,
- la comparaison des résultats de sensibilité observés en serre et en verger dans une démarche d'évaluation croisée. Ces travaux ont été conduits en partenariat avec l'IAF de Naoussa en Grèce et le CSIC-CEBAS de Murcia en Espagne. Ils ont porté d'une part sur l'étude d'une descendance hybride en ségrégation et de variétés références sur les deux sites et d'autre part sur la mise en place en France en zone infectée de 3 variétés hybrides issues des tests à des fins de validation pré-commerciale de matériels présentant une résistance. Ces travaux sont toujours en cours d'évaluation ; le comportement agronomique a permis de privilégier un clone dont le développement commercial et l'inscription au catalogue ont été engagés : « Aramis® Shamade(cov) ».

2) l'achèvement de l'étude du déterminisme génétique de la résistance (en particulier celle portée par le clone 1908 de *P. davidiana* d'une part et les cultivars d'abricotier 'SEO' et 'Goldrich' d'autre part) et l'identification de régions génomiques impliquées dans la résistance (QTL ou Quantitative trait loci). Une première analyse réalisée sur une population F₁ issue du croisement de *P. davidiana* avec le cultivar de pêcher 'Summergrand' avait permis d'identifier 6 régions génomiques liées à la résistance au PPV (Decroocq *et al.*, 2005). Cette fois, la carte génétique de *P. davidiana* issue de la population F₁ a été densifiée avec 41 marqueurs microsatellites supplémentaires afin de préciser le positionnement des QTLs détectés sur certains groupes de liaison, en particulier le groupe 7 incomplet dans la première étude et le groupe 2. Une partie de ces QTL a été confirmée dans une population F₂, issue de l'autofécondation de l'individu 40 de la population F₁ testée précédemment (Figure 1).

Figure 1 : Organisation génomique des déterminants génétiques contrôlant la résistance au virus de la sharka dans la population F₂ *P. davidiana* P1908 x *P. persica* 'Summergrand'. Les QTLs nommés PPV1a, PPV4a, PPV6a et PPV7a ont été identifiés à la fois dans les populations F₁ et F₂ (Decroocq *et al.*, 2005; Marandel *et al.*, 2009a).



Chez l'abricotier, un QTL majeur représentant jusqu'à 70% de la variance phénotypique observée a été cartographié sur le chromosome 1 du cultivar 'SEO'. Deux QTL mineurs ont également été identifiés ; ils ont ensuite été validés dans une autre population issue des parents 'Harlayne' et 'Marlen' (Marandel *et al.*, 2009b). Pour ce qui concerne la résistance portée par 'Goldrich', les tests sur la descendance issue de ce cultivar ont été finalisés, en serre de confinement, sur une descendance comportant 172 hybrides (pour un total de 850 plantes testées). Un premier jeu de données de phénotypage (évaluation de la résistance/sensibilité) a été traité avec les mêmes méthodes d'analyse que pour 'SEO'. Un seul QTL a été détecté, sur le groupe de liaison 1 dans une région synténique à celle détectée chez 'SEO' et 'Harlayne' (Figure 2).

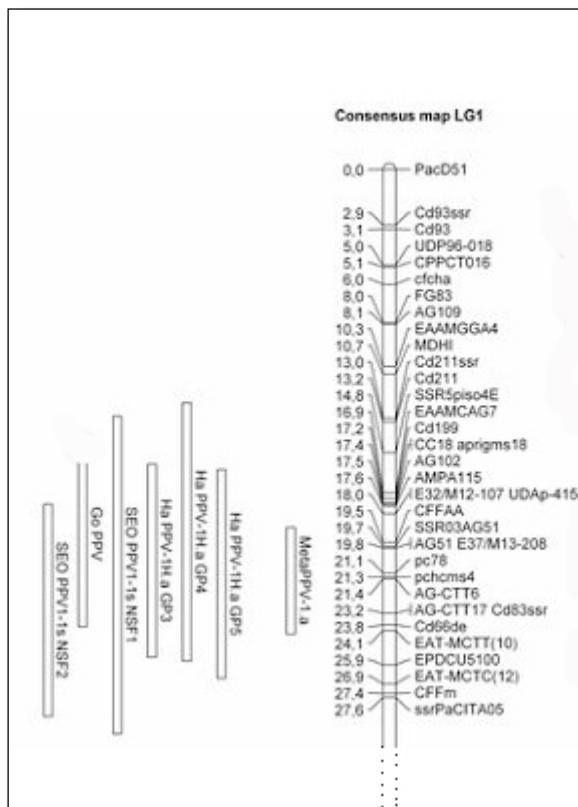


Figure 2 : Organisation génomique du QTL PPVRes contrôlant en majorité la résistance à la sharka chez 'Goldrich' (GoPPV), 'SEO' (SEOPP1), 'Harlayne' (HaPPV-1a).

Cependant le niveau de résistance de 'Goldrich' apparaît nettement plus faible que celui de 'SEO'. Dans des conditions d'inoculations équivalentes, il peut être décelé une multiplication virale en ELISA sur la variété 'Goldrich' ce qui n'a pas été observée sur la variété 'SEO'. Des marqueurs microsatellites ont été développés par les équipes de Bordeaux et Avignon (Lambert *et al.*, 2007; Marandel *et al.*, 2009b); ils co-localisent avec les QTL de résistance. Ils ont été complétés, dans le cadre du projet européen « SharCo », par un jeu de marqueurs microsatellites fortement liés à la région génomique du chromosome 1 contrôlant majoritairement la résistance au virus de la sharka (Soriano *et al.*, 2012). Tous ces marqueurs moléculaires sont actuellement en

test pour la Sélection Assistée par Marqueurs –SAM- de variétés et obtentions fruitières résistantes à l'infection par le virus. Les premiers résultats sont encourageants : l'élimination des génotypes sensibles apparaît possible dès maintenant, mais l'identification des génotypes résistants n'est pas encore accessible par marquage même en maîtrisant les profils alléliques des parents résistants. L'estimation fine du niveau de confiance de la sélection est en cours de réalisation à partir des résultats du phénotypage effectué en serre de confinement sur un ensemble d'individus issus de cultivars résistants et porteurs des allèles favorables (501 clones en cours d'étude). Cependant, la prévision du niveau de résistance de génotypes dont l'origine parentale est inconnue n'apparaît pas envisageable avec ces marqueurs, même si les allèles favorables sont présents. En effet, la fréquence de ces allèles est beaucoup plus importante que la fréquence de la résistance dans les individus constituant la collection de ressources génétiques abricotier.

3) différents mécanismes de résistance, notamment récessifs, mis en jeu chez plusieurs variétés d'abricotier ont été étudiés afin de les cumuler dans un même individu à des fins de création variétale. Deux variétés d'abricotier ont été plus particulièrement étudiées : 'Colomer' où 76 individus issus d'autofécondation ont été phénotypés sur 3 cycles d'observation, 'Polonais' où un premier sous-ensemble de 18 individus issus d'autofécondation a été phénotypé et un second sous-ensemble de 120 hybrides a été inoculé. Les résultats n'ont pas confirmé l'existence de ségrégations dans les populations où un QTL de résistance récessive était attendu.

En parallèle, la biologie du pathogène et notamment son comportement sur plantes hôtes résistantes et tolérantes ont été étudiés afin de fournir un certain nombre d'informations indispensables pour la mise en place d'une résistance stable et durable au PPV. Ces travaux nous ont permis de confirmer trois points essentiels à une démarche de sélection de cultivars durablement résistants : i) la résistance portée par les différents géniteurs abricotiers n'est pas totale, ii) certains facteurs de résistance sont présents dans des individus sensibles au PPV, iii) le comportement similaire du virus chez les différents géniteurs abricotiers testés confirme une origine commune de la résistance chez tous ces individus issus de programmes de sélection Nord-Américains. En conséquence, pour une résistance durable au PPV, il faudra 1) cumuler plusieurs mécanismes/sources de résistance, voire raisonner le choix de

l'individu sensible utilisé dans les plans de croisement, 2) élargir la base génétique de la résistance disponible. Ceci constitue, avec l'approche SAM, une des perspectives majeures du programme d'amélioration de la résistance au virus de la sharka chez les arbres fruitiers mené conjointement dans les centres de recherches de l'INRA de Bordeaux et d'Avignon.

Références bibliographiques

- Cambra M., Capote N., Myrta A., Liácer G., 2006. Plum pox virus and the estimated costs associated with sharka disease. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 36, 202-204.
- Decroocq V., Foulongne M., Lambert P., Le Gall O., Mantin C., Pascal T., Schurdi-Levraud V., Kervella J.; 2005. Analogues of virus resistance genes map to QTLs for resistance to sharka disease in *Prunus davidiana*. *Mol. Genet. Genomics* 272(6), 680-689.
- Gao Z., Johansen E., Eyers S., Thomas C.L., Noel Ellis T.H., Maule A.J., 2004. The potyvirus recessive resistance gene, *sbm1*, identifies a novel role for translation initiation factor eIF4E in cell-to-cell trafficking. *The Plant Journal* 40(3), 376-385.
- Lambert P., Dicenta F., Rubio M., Audergon J.-M., 2007. QTL analysis of resistance to sharka disease in the apricot (*Prunus armeniaca* L.) 'Polonais' × 'Stark Early Orange' F1 progeny. *Tree Genetics & Genomes* 6, 291-304.
- Marandel G., Pascal T., Candresse T., Decroocq V., 2009a. The quantitative resistance to *Plum pox virus* in *Prunus davidiana* P1908 is tightly linked to different components of the eukaryotic translation initiation complex. *Plant Pathology* 58, 425-435.
- Marandel G., Salava J., Abbott A., Candresse T., Decroocq V., 2009b. Quantitative trait loci meta-analysis of *Plum pox virus* resistance in apricot (*Prunus armeniaca* L.): new insights on the organization and the identification of genomic resistance factors. *Molecular Plant Pathology* 10(3), 347-360.
- Martinez-Gomez P., Dicenta F., Audergon J.-M., 2000. Behavior of apricot cultivars in the presence of sharka (*Plum pox potyvirus*) : a review. *Agronomie* 20, 407-422.
- Pascal T., Kervella J., Pfeiffer F., Sauge M.H., Esmenjaud D., 1998. Evaluation of the interspecific progeny *Prunus.persica* cv. Summergrand x *Prunus.davidiana* for disease resistance and some agronomic features. *Acta Hort.* 465(1), 185-192.
- Pascal T., Pfeiffer F., Kervella J., 2002. Preliminary observations on the resistance to sharka in peach and related species. *Acta Hort.* 592: 699-706.
- Soriano J., Domingo M., Zuriaga E., Romero C., Zhebentyayeva T., Abbott A., Badenes M., 2012. Identification of simple sequence repeat markers tightly linked to plum pox virus resistance in apricot. *Molecular Breeding* 30(2), 1017-1026.