



**HAL**  
open science

## La sélection assistée par marqueurs (SAM) chez les arbres fruitiers: une approche prometteuse au service de l'innovation variétale

Patrick Lambert, Elisabeth Dirlwanger, Francois Laurens

### ► To cite this version:

Patrick Lambert, Elisabeth Dirlwanger, Francois Laurens. La sélection assistée par marqueurs (SAM) chez les arbres fruitiers: une approche prometteuse au service de l'innovation variétale. *Innovations Agronomiques*, 2009, 7, pp.139-152. hal-02658321

**HAL Id: hal-02658321**

**<https://hal.inrae.fr/hal-02658321>**

Submitted on 30 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

## **La sélection assistée par marqueurs (SAM) chez les arbres fruitiers: une approche prometteuse au service de l'innovation variétale**

P. Lambert<sup>1</sup>, E. Dirlewanger<sup>2</sup>, F. Laurens<sup>3</sup>

<sup>1</sup>INRA- UR1052 Unité de Génétique et d'Amélioration des Fruits et Légumes (UGAFL), Domaine Saint Maurice, BP 94, F-84 143 France

<sup>2</sup>INRA- UR419 Unité de Recherches sur les Espèces Fruitières (UREF), B.P. 81, F-33 140 Villenave d'Ornon, France

<sup>3</sup>INRA- UMR1259 Génétique et Horticulture (UMR GenHort), BP 60057, 49071 Beaucouzé Cedex, France

Correspondance : [lambert@avignon.inra.fr](mailto:lambert@avignon.inra.fr)

### **Résumé**

Chez les arbres fruitiers, la sélection classique doit faire face à des contraintes nombreuses qui ralentissent fortement le développement et l'édition de nouvelles variétés. Les méthodes de sélection sont souvent empiriques, par suite de la faible connaissance des facteurs génétiques impliqués, à laquelle s'ajoute l'influence de l'environnement. C'est pourquoi une demande forte des sélectionneurs pour de nouveaux outils qui permettraient une sélection plus rapide, est apparue. Depuis une dizaine d'années, le développement important de la biologie moléculaire chez les plantes pérennes et en particulier celui de la cartographie génétique et des techniques d'analyse des caractères quantitatifs, a permis de développer une nouvelle approche: la sélection assistée par marqueurs ou SAM. Celle-ci s'appuie sur les recherches d'amont et sur des techniques permettant le génotypage à haut débit d'un grand nombre d'individus. Elle est déjà exploitée pour des caractères à hérédité simple dans plusieurs programmes de sélection variétale, notamment pour le pêcher. Cependant, bien que son développement et sa mise en œuvre soient plus complexes lorsqu'il s'agit de caractères à effet quantitatif ou lorsque l'on désire cumuler plusieurs caractères d'intérêt, elle permet une réelle amélioration de la sélection classique. La SAM apparaît donc une approche prometteuse pour l'innovation variétale chez les arbres fruitiers.

**Mots-clés :** Sélection assistée par marqueurs ; innovation variétale ; génotypage ; QTL ; qualité du fruit ; sharka ; nématodes ; tavelure ; pêcher ; abricotier ; pommier.

### **Abstract: Molecular assisted breeding (MAB): a promising approach for the fruit tree breeding.**

Fruit tree breeding has to face numerous constraints which strongly slow down development and release of new varieties. The breeding methods are often empirical, as a result of the low genetic knowledge on the main agronomic traits, to which is added the influence of environment. Thus, breeders are looking for new methods to speed up selection process to release new cultivars. In the last ten years, significant development have been made in molecular biology applied to perennial crops in particular in genetic mapping of major genes and QTLs. This technical improvement makes it possible to develop a new approach: the marker assisted breeding or MAB. It is based on the researches from upstream and on the techniques allowing the high throughput genotyping of large numbers of individuals. It is already exploited for traits showing simple heredity in several fruit breeding programs, in particular in peach tree. Even if it is less obvious and more complex to implement on quantitative inherited traits, it is a real improvement compared to traditional breeding methods. MAB thus appears a promising approach to fruit tree breeding.

**Keywords:** Marker assisted breeding, genotyping, fruit breeding, QTL, fruit quality, sharka, root-knot nematodes, scab, peach, apricot, apple.

## Introduction

Chez les espèces fruitières ligneuses, la sélection variétale doit faire face à des contraintes nombreuses qui ralentissent fortement le développement et l'édition de nouvelles variétés. De plus, les méthodes classiques de sélection sont souvent empiriques par suite de la faible connaissance des facteurs génétiques impliqués, à laquelle s'ajoute l'influence de l'environnement. Le déroulement des programmes de sélection est dépendant des contraintes morphologiques, culturales et physiologiques de l'arbre, la longueur de la phase juvénile étant certainement une des plus importantes. Cette période, pendant laquelle l'arbre acquiert progressivement ses caractéristiques, se manifeste par une forte croissance végétative accompagnée d'une absence de floraison. Ce cycle de sélection représente un travail particulièrement long, l'évaluation des fruits et des caractères d'intérêt ne pouvant s'effectuer que sur des individus adultes. Quinze à vingt ans sont généralement nécessaires pour le réaliser. C'est pourquoi une demande forte des sélectionneurs pour de nouveaux outils qui permettraient d'en réduire la durée et d'en améliorer l'efficacité est apparue. Depuis une dizaine d'années, l'utilisation chez les plantes pérennes des outils moléculaires développés chez les plantes annuelles, en particulier des marqueurs facilement transférables et utilisables en routine comme les microsatellites, la cartographie génétique et les techniques d'analyse des caractères quantitatifs, a permis d'envisager une nouvelle approche, la sélection assistée par marqueurs ou SAM. Celle-ci s'appuie sur les recherches d'amont qui permettent d'identifier les régions génomiques contenant les caractères d'intérêt et les marqueurs qui leur sont liés, ainsi que sur le développement de techniques permettant le génotypage à haut débit d'un grand nombre d'individus. Ces techniques sont en développement constant et les coûts de mise en œuvre diminuent régulièrement.

La SAM est déjà applicable à des caractères à hérédité simple. Elle est utilisée dans plusieurs programmes INRA de sélection variétale, notamment pour le caractère fruit plat chez le pêcher ou la résistance aux nématodes chez les porte-greffes *Prunus*. Elle est en cours de développement pour la résistance à la sharka chez l'abricotier et, bien que sa mise en œuvre soit plus complexe lorsqu'il s'agit de caractères à effet quantitatif impliquant plusieurs régions génomiques ou lorsque l'on désire cumuler plusieurs caractères d'intérêt, elle est envisagée chez le pommier pour améliorer la résistance aux bio-agresseurs et la qualité des fruits. Des exemples illustrant les travaux impliquant la SAM, conduits dans plusieurs Unités INRA, seront présentés ici.

### 1- Sélection assistée par marqueurs pour des caractères à hérédité simple, contrôlés par un seul gène

Deux exemples de SAM concernant des critères de qualité du fruit chez le pêcher mis en place à l'UREF de l'INRA de Bordeaux et un exemple concernant la résistance aux nématodes chez les porte-greffes *Prunus*, issu d'une collaboration entre l'UREF et l'UMR Interactions Biotiques en Santé Végétale (IBSV) de Sophia Antipolis seront décrits.

#### 1-1- SAM pour deux caractères de qualité chez le pêcher : forme et acidité du fruit

Le pêcher présente une grande diversité de caractères agronomiques concernant la feuille (verte ou rouge), la fleur (type campanulé ou rosacé, fertilité du pollen) et le fruit (pêche ou nectarine, forme du fruit, acidité du fruit, adhérence du noyau, couleur de la chair) qui sont contrôlés par un seul gène. Des

travaux de cartographie génétique ont été réalisés à partir d'individus F<sub>2</sub> issus de l'autofécondation d'un individu F<sub>1</sub> obtenu après croisement entre Ferjalou Jalousia®, une variété produisant des pêches plates non acides, et Fantasia, une variété produisant des nectarines rondes normalement acides (Figure 1). Cette descendance ségrège pour cinq caractères qui ont pu être placés sur la carte de liaison génétique du pêcher : *F* (adhérence du noyau) localisé sur le groupe de liaison 4, *D* (non acidité du fruit) et *G* (pêche ou nectarine) localisés sur le groupe 5, *S* (fruit plat ou rond) et *Af* (fruit qui avorte) sur le groupe de liaison 6 (Dirlewanger *et al.* 2006).

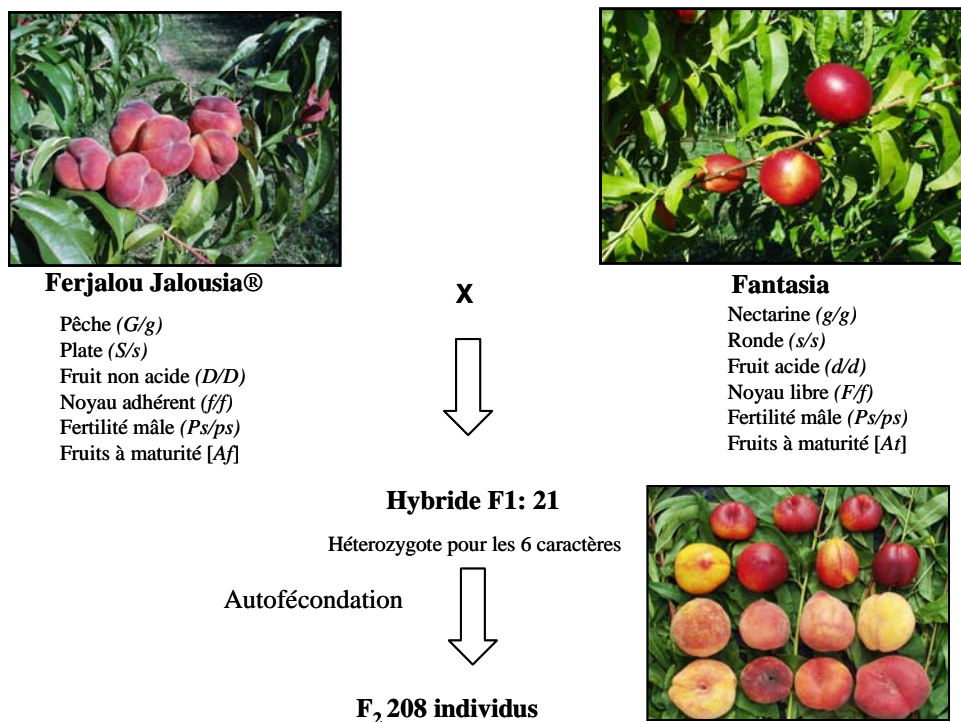


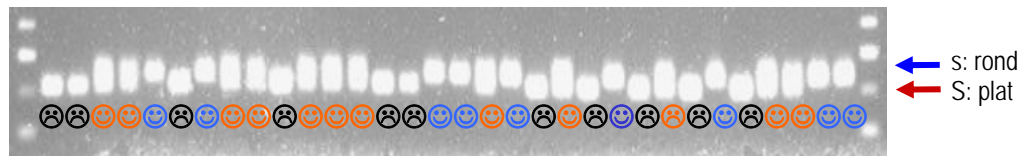
Figure 1 : Descendance utilisée pour la construction de la carte de liaison génétique F<sub>2</sub> J×F (Source : Dirlewanger *et al.* 2006)

### 1-1-1- SAM pour le caractère pêche plate

Les pêches et nectarines plates sont recherchées par le consommateur pour leur qualité gustative, leur attractivité résultant de leur originalité et de leur facilité de consommation. En effet, la majorité des variétés à pêche plate produisent des fruits doux très parfumés et sucrés sans aucune acidité (Ma *et al.*, 2003). Leur forme permet de les consommer sans se salir puisque l'on peut croquer dedans beaucoup plus facilement que dans un gros fruit rond et est particulièrement adaptée au goût des enfants et aux utilisations de type snacking. Ce caractère a donc été intégré dans de nombreux programmes de création variétale en Espagne mais également en France.

Le caractère plat de la pêche est contrôlé par le gène *S*, pour « saucer-shaped » (en forme de soucoupe), l'allèle 'plat' étant dominant (Leysley, 1939). Un marqueur microsatellite, Ma014a, codominant, lié au gène *S* a été identifié. Après électrophorèse sur gel d'agarose, il est possible de distinguer les trois génotypes : individus homozygotes *SS*, individus hétérozygotes *Ss*, individus homozygotes *ss* (Figure 2).

**Figure 2 :** Gel d'agarose obtenu avec le marqueur microsatellite MA014a : 😊 Profil des individus homozygote s/s à fruits ronds 😊 Profil des individus hétérozygotes à fruits plats, 😞 Profil des individus homozygote S/S qui n'ont pas de fruit à maturité.



Grâce à ce marqueur, l'effet du génotype sur le phénotype a été mis en évidence. Les pêchers homozygotes pour l'allèle dominant (SS), présentent des fleurs avec un pistil plus court et plus épais (Figure 3). Les fruits de ces arbres sont fendus et chutent très précocement, deux mois après floraison (Figures 3 et 4) (Dirlewanger *et al.* 2006). Ce marqueur a été validé ensuite sur la descendance JxF élargie à 2000 individus. Il s'est avéré que seulement 25 individus ne présentaient pas le profil attendu démontrant que la SAM, utilisant ce marqueur, était d'une grande efficacité avec un taux d'erreur très faible au sein de cette descendance. Toutefois, en testant ce marqueur sur un ensemble de variétés, il est apparu que l'utilisation de marqueurs additionnels était nécessaire. Ainsi, le marqueur MA014a et cinq marqueurs supplémentaires, tous localisés dans la même région autour du gène *S*, sont actuellement utilisés pour la SAM pour le caractère plat (Figure 5). Grâce à ces marqueurs, il est possible de prédire, dès le stade plantule, si les variétés produiront des fruits plats, ronds ou s'ils n'auront pas de fruit à maturité. Il en résulte donc un gain de temps et une réduction des coûts considérables : tous les individus homozygotes SS seront aussitôt éliminés.



**Figure 3 :** Evaluation du caractère plat, phénotypage. A, C et E : observations faites sur les individus homozygotes ss. B, D et F : observations faites sur les individus homozygotes SS. A et B : photographies de fleurs, l'ovaire est plus allongé chez les homozygotes ss. C et D : photographie du pistil, chez les individus ss et Ss le pistil est plus fin plus allongé. E et F : photographie des fruits deux mois après floraison.

Figure 4 : Evaluation du caractère plat, phénotypage. A, C et E : observations faites sur les individus homozygotes ss. B, D et F : observations faites sur les individus homozygotes SS. A et B : photographies de fleurs, l'ovaire est plus allongé chez les homozygotes ss. C et D : photographie du pistil, chez les individus ss et Ss le pistil est plus fin plus allongé. E et F : photographie des fruits deux mois après floraison. E et F : photographie des fruits deux mois après floraison.

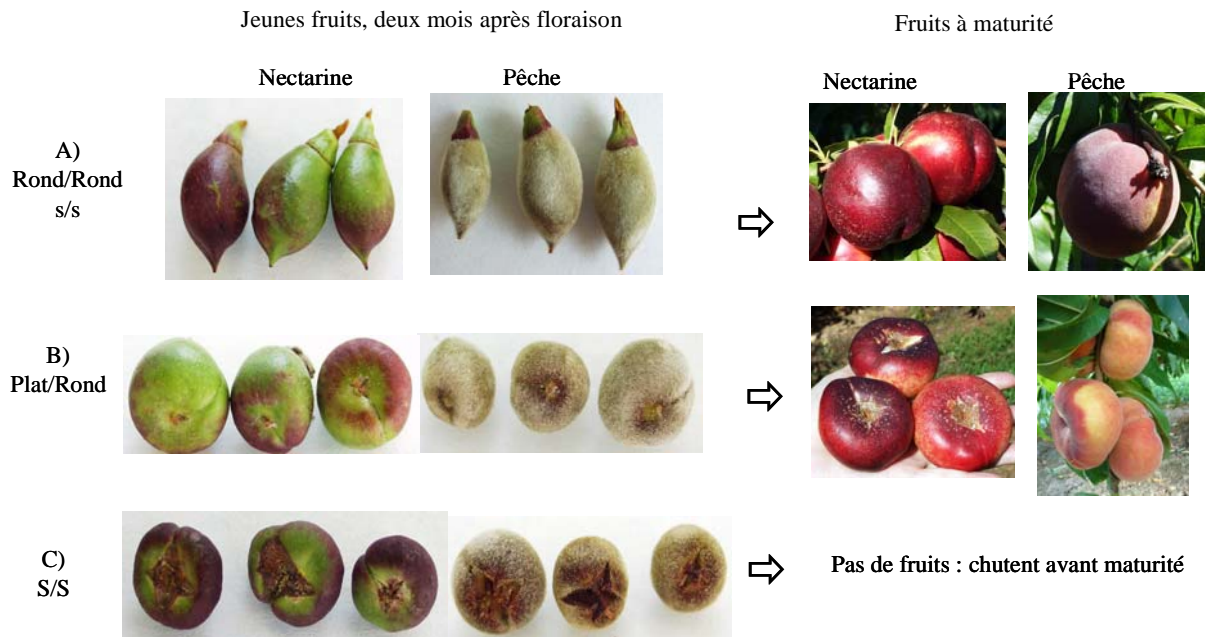
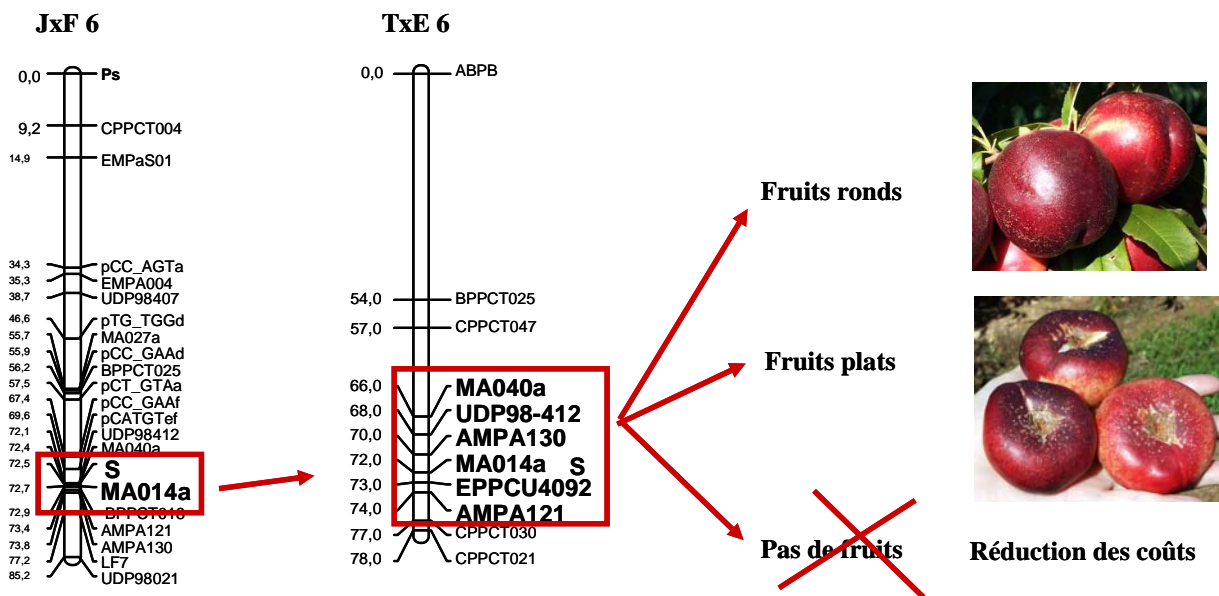


Figure 5 : Stratégie de SAM pour le caractère fruit plat.



### 1-1-2- SAM pour le caractère pêche non acide

Chez le pêcher, le ratio sucre/acide est un critère très important pour la qualité organoleptique. Les demandes des consommateurs sont très variées. Certains aiment les fruits très doux, sans acidité et d'autres apprécient un certain niveau d'acidité. Ainsi, un des objectifs des sélectionneurs est de

proposer une gamme variétale comprenant des teneurs en acidité très variées durant toute la période de production.

Chez le pêcher, le caractère non acide du fruit est contrôlé par le gène *D*, l'allèle 'Doux' étant dominant (Monet, 1979). Ce gène a été localisé tout en haut du groupe de liaison 5 de la carte JxF. Une cartographie fine de la région a ensuite été réalisée dans le but d'identifier des marqueurs étroitement liés au gène. Pour cette cartographie fine la même descendance que celle utilisée pour le gène *S* a été analysée. Un ensemble de nouveaux marqueurs a été défini dans cette région. Le gène *D* a été localisé dans un intervalle de 0.4 cM entre les marqueurs D-Scar0 et le marqueur microsatellite CPPCT040 (Figure 6) (Boudehri *et al*, 2009). Ce dernier marqueur s'est avéré très efficace pour la SAM pour ce caractère et est actuellement utilisé à l'IRTA de Cabrils (Espagne) (P. Arus, communication personnelle).

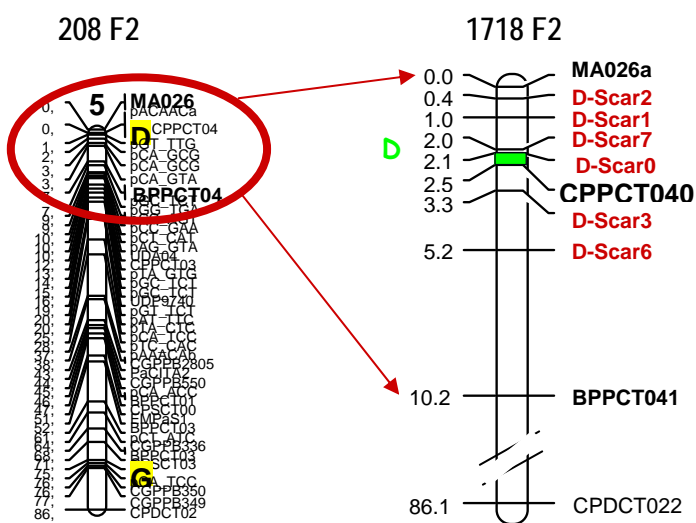


Figure 6 : Cartographie fine de la région contenant le gène *D*. Les marqueurs en rouge sont les marqueurs additionnels qui ont été positionnés grâce à l'utilisation de la descendance JxF élargie. Le gène *D* a été localisé dans l'intervalle, indiqué en vert, de 0.4 cM.

Dans le but de comprendre les mécanismes impliqués dans le caractère non acide et d'augmenter la précision de la SAM pour ce caractère, le clonage du gène contrôlant ce caractère a été entrepris. Deux clones BAC contenant l'un l'allèle dominant et l'autre l'allèle récessif ont été séquencés. Suite à l'analyse des séquences, le gène contrôlant ce caractère coderait pour un transporteur. Le développement de marqueurs définis dans le gène est en cours. Ces marqueurs seraient alors d'une grande précision.

### 1-2- SAM pour la résistance aux nématodes chez les porte-greffes *Prunus*.

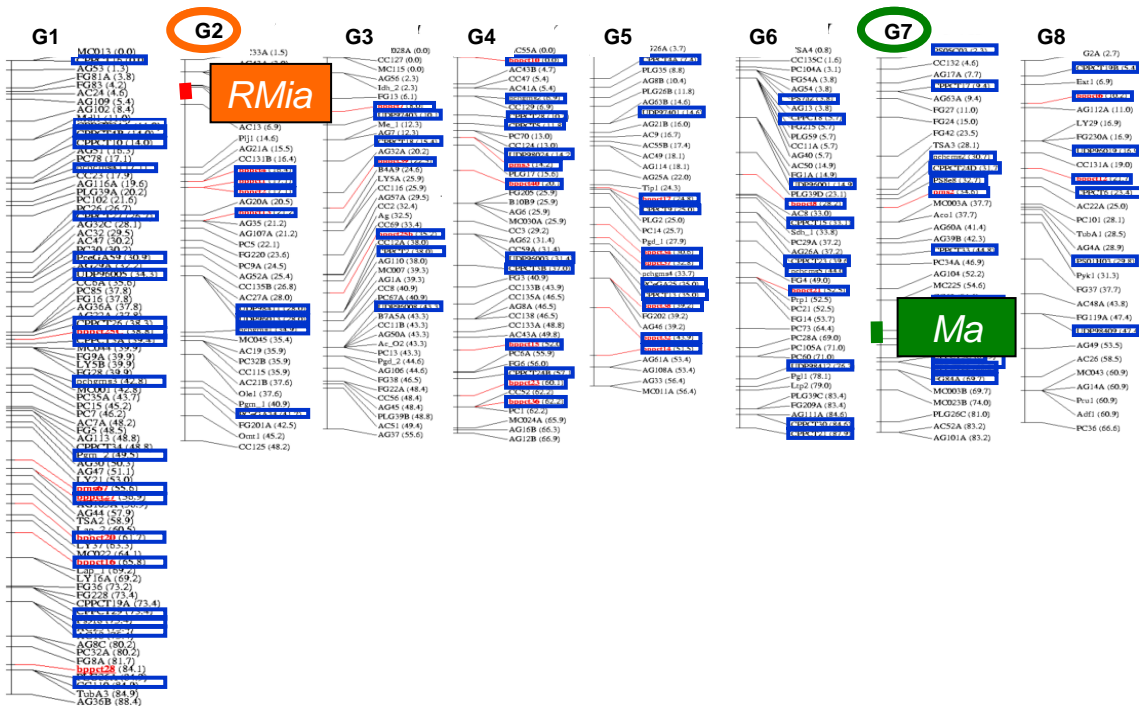
La résistance aux nématodes à galles du genre *Meloidogyne* est un critère important pour la création de porte-greffes chez les *Prunus*. En effet, ces nématodes sont présents dans tout le pourtour du bassin méditerranéen. Ces nématodes sont très polyphages et provoquent des dommages considérables dans ces régions. Ils pénètrent dans les racines et peuvent entraîner la présence de galles dans tout le chevelu racinaire (Figure 7). Il existe quatre espèces prédominantes : *M. arenaria*, *M. incognita*, *M. javanica* et *M. floridensis*. D'une façon générale, les pêchers, les amandiers et les pruniers domestiques sont sensibles à ces *Meloidogyne*. Toutefois, une source de résistance provenant du prunier myrobolan (P.2175, P.1079, P.2980) a été identifiée et confère la résistance aux quatre souches de nématode. Cette résistance est contrôlée par le gène *Ma*. Une autre source de résistance a été mise en évidence chez le pêcher (Nemared, Nemaguard et Shalil). Elle est contrôlée par le gène *RMia* qui confère la résistance à *M. arenaria* et *M. incognita*. Ces deux gènes ont été cartographiés : *RMia* est localisé sur le

groupe de liaison 2 et *Ma* est localisé sur le groupe de liaison 7 (Figure 8) (Dirlewanger et al. 2004, Claverie et al. 2004).



Figure 7: Galles sur racine de *Prunus* provoquées par des nématodes du genre *Meloidogyne*.

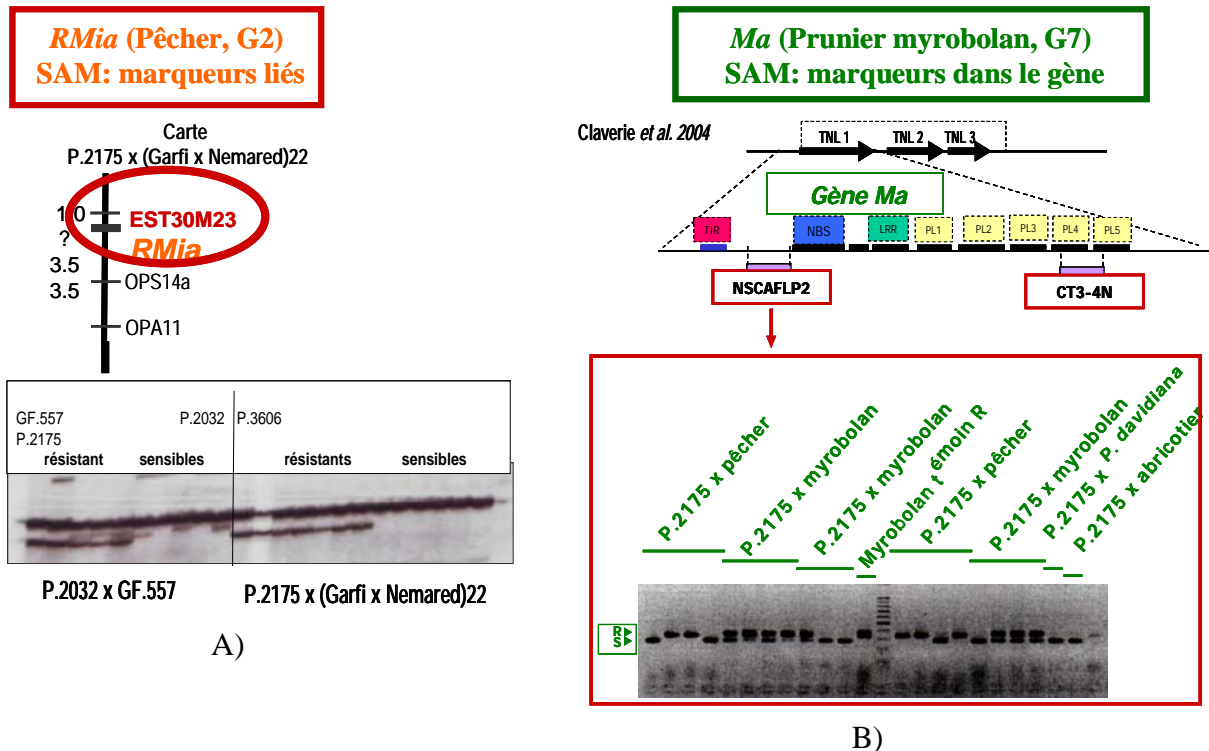
Figure 8 : Cartographie génétique des gènes *Rmia* (groupe de liaison 2) et *Ma* (groupe de liaison 7) sur la carte de référence *Prunus*



Pour le gène *Rmia*, une SAM a été développée en utilisant un marqueur lié au gène. Par contre, pour le gène *Ma*, deux marqueurs localisés dans le gène sont utilisés pour la SAM (Claverie et al 2004). L'objectif est de cumuler les deux sources de résistance en réalisant une SAM simultanément pour les deux gènes (Figure 9).



Figure 9 : SAM pour les gènes *RMia* et *Ma*. A) SAM pour le gène *RMia* : réalisée à l'aide d'un marqueur moléculaire situé à proximité du gène, B) SAM pour le gène *Ma* : utilisation de deux marqueurs moléculaires définis dans la séquence du gène.



## 2- Sélection assistée par marqueurs pour des caractères à hérédité plus complexe ou pour cumuler plusieurs caractères et/ou régions génomiques

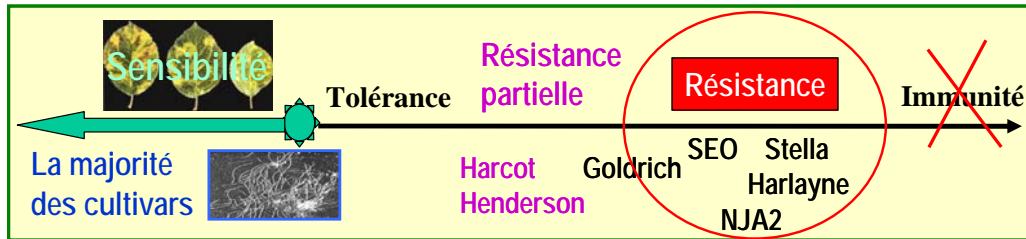
### 2-1- SAM pour la résistance à la sharka chez l'abricotier

La maladie de la sharka a été identifiée pour la première fois sur des pruniers en Bulgarie en 1917. C'est de là que lui vient son nom de sharka, ou variole du prunier. C'est une maladie de quarantaine causée par un virus, le *Plum pox virus* (PPV), transmis naturellement par de nombreuses espèces de pucerons selon un mode non persistant. Cependant, sa diffusion rapide dans toute l'Europe puis plus récemment en Asie, en Amérique du Nord et du Sud est due essentiellement à l'importation de matériel végétal de zones contaminées et/ou à l'utilisation de plants non certifiés, en particulier de porte-greffes. Elle est notamment transmise lors des opérations de multiplication végétative des plants en pépinières (greffage, bouturage...). Deux souches sont actuellement présentes sur le territoire français : les souches D (Dideron) et M (Marcus). Les seuls moyens de lutte à la disposition des arboriculteurs sont la plantation de matériel certifié et l'arrachage des plants infectés. Cependant, le repérage de ces plants demande une surveillance efficace des vergers, ce qui implique des inspections visuelles coûteuses en temps et en main-d'œuvre ; ces coûts, ajoutés à ceux induits par l'arrachage des arbres, sont un des freins principaux à l'éradication de la maladie.

La création de cultivars résistants, en particulier d'abricotiers et de pruniers, est donc devenue un objectif essentiel de la plupart des programmes de sélection chez les *Prunus* et une demande forte des arboriculteurs. Un programme de sélection de variétés d'abricotier résistantes à la sharka est en cours depuis une quinzaine d'années à l'UGAFL d'Avignon. Peu de sources de résistances existent (Figure 10). Ce sont essentiellement des variétés issues de sélections d'origine Nord-Américaine ('Stella', 'Stark

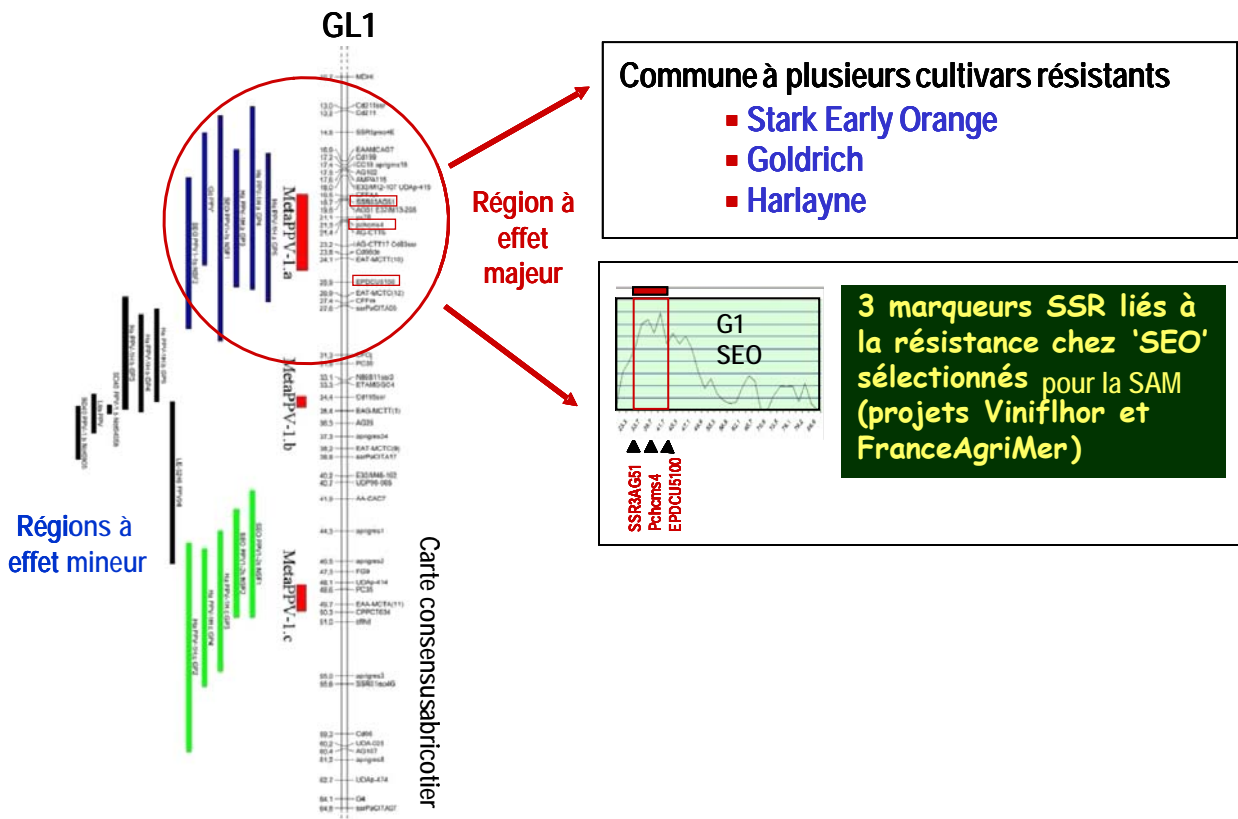
Early Orange', 'Harlayne' et, dans une moindre mesure, 'Goldrich') qui présentent des caractéristiques peu compatibles avec le climat des zones de culture françaises.

Figure 10 : Comportement des variétés d'abricotier vis-à-vis du virus responsable de la sharka.



Des cartes génétiques ont été construites par différentes équipes internationales à partir de croisements issus de ces cultivars. Des régions génomiques ou QTL (Quantitative trait loci) impliquées dans la résistance ont été identifiées (Lambert *et al*, 2007 ; Soriano *et al*, 2008 ; Marandel *et al*, 2009b). Parmi celles-ci, une région contrôlant l'essentiel de la résistance, commune à plusieurs de ces cultivars, a été identifiée sur le groupe de liaison ou chromosome 1 et les recherches se focalisent aujourd'hui sur celle-ci (Figure 11).

Figure 11 : Carte consensus du chromosome 1 (GL1) de l'abricotier montrant la région principale de la résistance au virus de la sharka ainsi que les régions à effet mineur. Cette carte (Marandel *et al*, 2009) a été construite à partir des données issues de plusieurs cartes publiées (Lambert *et al*, 2007 ; Sicard *et al*, 2008 ; Marandel *et al*, 2009a et b; Lalli *et al*, 2008 ; Soriano *et al*, 2008). Les QTLs (Quantitative trait loci) détectés dans chacune des cartes sont figurées à gauche du GL1.

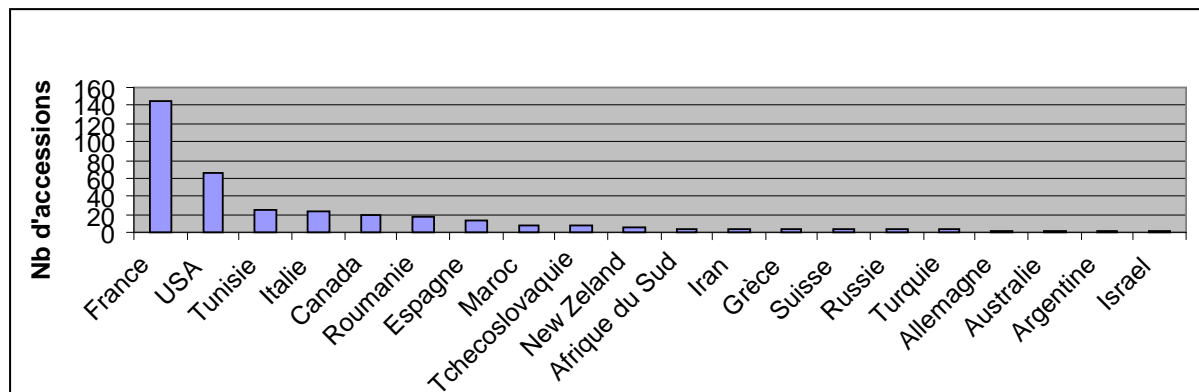


Des marqueurs microsatellites encadrant cette région génomique ont été identifiés (Lambert *et al*, 2007 ; Soriano *et al*, 2008 ; Lalli *et al*, 2008) ou développés (Sicard *et al*, 2007) dans le cadre d'un Projet "Contrat de branche" soutenu par le Ministère de l'Agriculture et d'un projet soutenu par Viniflor (2006-2008) en collaboration avec l'UMR GDPP de Bordeaux et sont de bons candidats pour la mise en œuvre de la SAM. Trois d'entre eux ont été sélectionnés à l'UGAFL d'Avignon pour une première approche ayant pour but de vérifier leur fiabilité et leur capacité à discriminer les individus résistants des individus sensibles, dans un objectif de sélection précoce.

Deux dispositifs, complémentaires, ont été utilisés :

- Un dispositif comportant un ensemble de 390 cultivars (Figure 12) sélectionnés dans la collection avignonnaise (certifiés, en attente de caractérisation, d'origines géographiques différentes). Les résultats montrent que, pour ces marqueurs, les allèles liés à la résistance chez 'Stark Early Orange' sont présents chez certains cultivars résistants ('Stella' et 'Orangered' par exemple) mais également dans un grand nombre de cultivars sensibles, ce qui indique un remaniement du fond génétique au cours du processus de sélection et une perte de liaison entre les marqueurs et le(s) gène(s) impliqué(s). En conséquence, la sélection de cultivars de pedigree inconnu n'est pas envisageable à l'aide de ces marqueurs.

**Figure 12 :** Etude des allèles des marqueurs liés à la résistance chez 'Stark Early Orange' dans d'autres fonds génétiques : répartition des accessions utilisées pour l'étude selon leur origine géographique.



- Une sélection de 3300 hybrides issus de croisements directs ou indirects avec un cultivar résistant ('Stark Early Orange', 'Stella', 'Orangered' et 'Goldrich'). Ces hybrides ont été génotypés et une sélection a été effectuée sur les profils alléliques favorables (allèles liés à la résistance chez 'Stark Early Orange'). La validation par phénotypage en serre d'un sous-groupe d'individus sélectionnés a permis de montrer que la liaison allèle/résistance était conservée dans la plupart des cas et que la SAM était donc possible pour les hybrides issus de 'Stark Early Orange'. Les travaux sont en cours pour les autres sources de résistance (projet FranceAgriMer) et de nouveaux marqueurs, à valider, ont été développés (projet européen SharCo coordonné par l'UMR GDPP de Bordeaux). Le but des travaux de l'INRA dans ces projets est d'identifier à terme des marqueurs inclus dans les gènes impliqués dans la résistance à la sharka pour sélectionner de nouvelles sources de résistance dans la diversité génétique et de mettre en place une sélection assistée par marqueurs efficace et sûre.

## 2-2- SAM pour la résistance aux maladies et la qualité du fruit chez le pommier

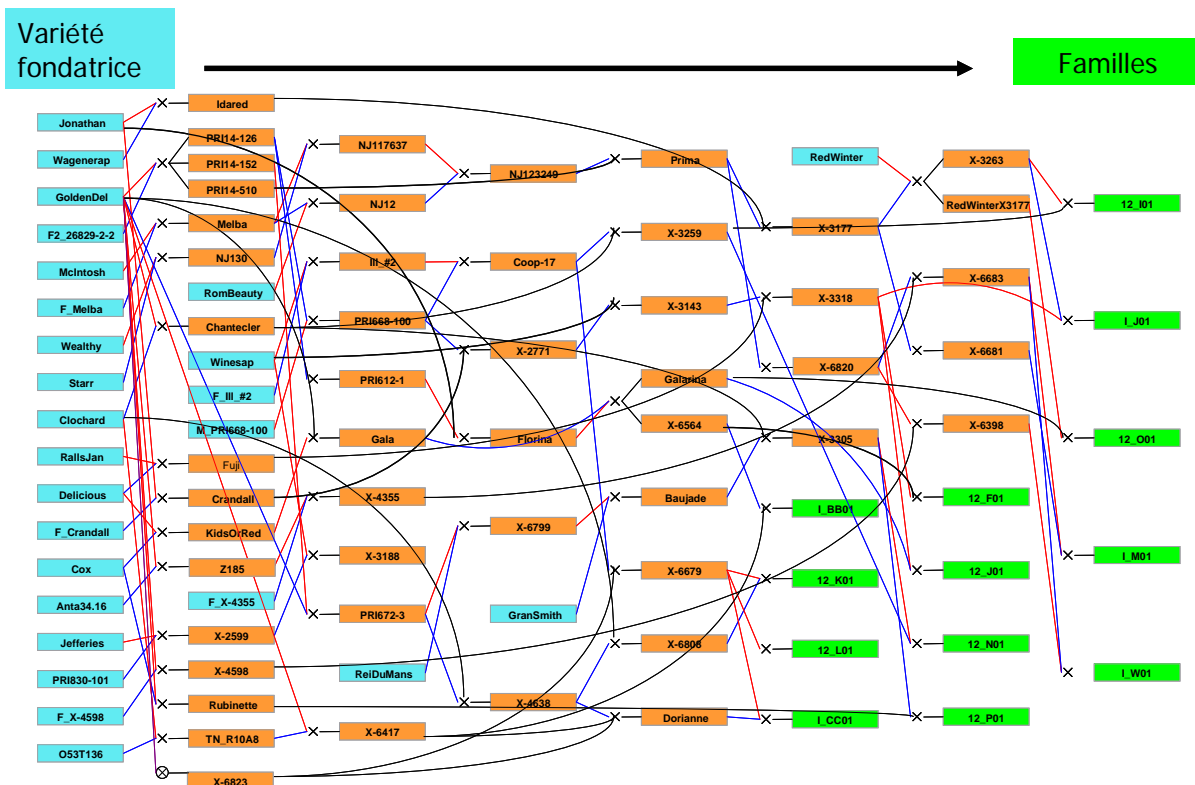
La SAM chez le pommier utilise une démarche plus complexe que les modèles présentés plus haut. Elle s'appuie essentiellement sur la sélection conjointe de plusieurs caractères et/ou de régions à effet quantitatif (QTL) ; cette démarche est très difficile voire impossible à réaliser par les méthodes de la

sélection traditionnelle. A l'UMR GenHort d'Angers, elle est appliquée à la résistance aux maladies et à la qualité des pommes.

### 2-2-1- SAM pour la résistance aux bio-agresseurs

Les deux maladies fongiques, tavelure et oïdium (causées respectivement par les champignons *Venturia inaequalis* et *Podosphaera leucotricha*), sont les deux principaux bioagresseurs du pommier. La création de nouvelles variétés de pommier portant une résistance durable à ces derniers est un objectif majeur dans les programmes d'amélioration génétique engagés par de nombreux Instituts de recherche dans le monde (Laurens, 1999), et en particulier par l'UMR GenHort. Les résistances monogéniques simples étant généralement assez rapidement contournées par les pathogènes, les travaux impliquant la SAM s'appuient sur la combinaison de gènes majeurs issus d'espèces sauvages apparentées au pommier (*Malus floribunda*, *Malus micromalus*, *M. atrosanguinea*, *M. pumila*...) et de QTLs, sur la base de pedigrees connus (Figure 13). Pour la tavelure par exemple, l'efficacité de la SAM a été testée à partir d'un pedigree à 3 générations : les meilleurs individus des descendance (Durel *et al*, 2003) ont été croisés : ils cumulaient, outre *Vf*, le gène étudié depuis le plus longtemps, tous les gènes de résistance (majeure ou partielle) détectés chez leurs parents respectifs. Quelques individus de 3<sup>ème</sup> génération qui cumulaient un maximum de gènes de résistance hérités de leurs différents grands-parents ont été sélectionnés à l'aide des marqueurs encadrant les régions impliquées dans la résistance. La même démarche est engagée sur d'autres croisements du programme d'amélioration impliquant des parents portant d'autres facteurs de résistance.

**Figure 13 :** Vue partielle d'un plan de croisement montrant les connexions entre 8 descendance issues de pollinisation contrôlée et leur pedigree. Les 13 familles (684 génotypes) finales sont représentées par un individu.

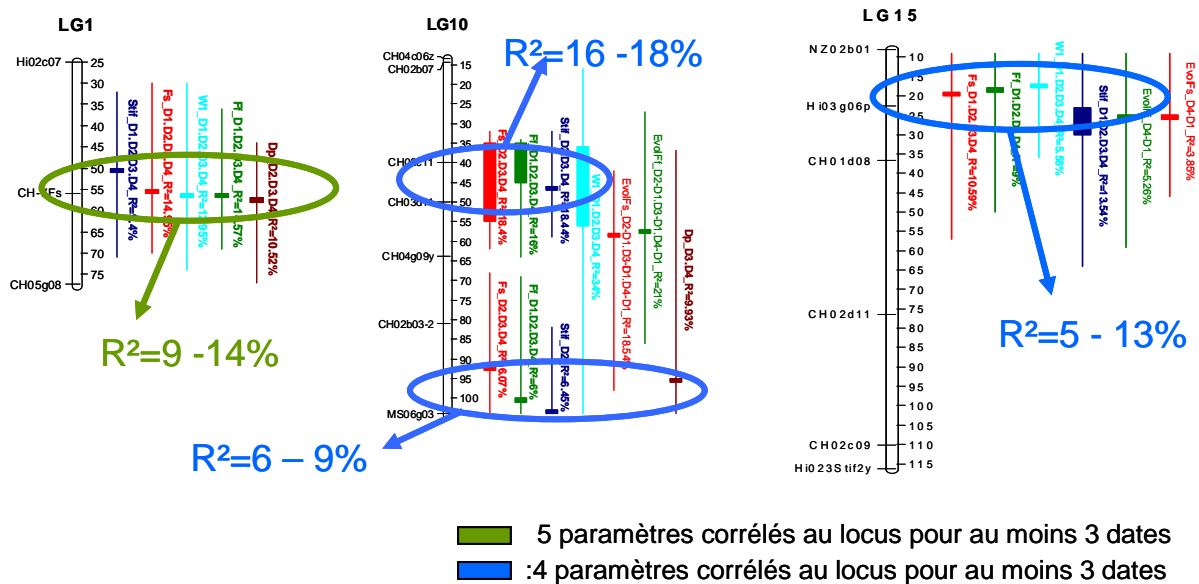


### 2-2-2- SAM pour la qualité de la pomme

Les caractères de qualité de la pomme telle la texture, la fermeté et l'élasticité de la chair sont généralement liés à l'effet cumulé de plusieurs gènes à effets quantitatifs. Ces gènes ne sont souvent

pas identifiés et seules les régions qui les contiennent (les QTLs) sont connues, avec une précision plus ou moins bonne (Figure 14). Pour mettre en œuvre la sélection sur ces caractères, il est donc nécessaire de cumuler le plus grand nombre possible de ces régions, dans un même individu, ou tout au moins celles qui ont l'effet le plus significatif. Pour hiérarchiser le choix de ces régions, un index de pondération est appliqué à chacune d'elle selon son effet sur l'expression finale du caractère d'intérêt. Pour réaliser cet objectif, la SAM constitue une approche innovante car il est pratiquement impossible de l'atteindre par les méthodes classiques, vu le nombre de régions souvent impliquées (une dizaine pour la fermeté par exemple). La principale difficulté réside dans la capacité à développer des marqueurs polymorphes et faciles à utiliser en haut débit, suffisamment proches des régions d'intérêt. Ce type d'approche innovante est conduit à l'UMR GenHort d'Angers depuis plusieurs années dans le cadre notamment de projets impliquant des collaborations internationales (projet EU-HiDRAS-FP5-2003-2007) ; ces travaux sont encore en développement.

Figure 14 : Exemple de trois chromosomes fortement impliqués dans la texture de la pomme : quatre régions sélectionnées (QTLs) pour la SAM. La R<sup>2</sup> est la contribution individuelle du QTL.



### Conclusion

La Sélection Assistée par Marqueurs (SAM) constitue non pas une alternative mais un réel outil d'amélioration de la sélection classique. Elle est effective et déjà exploitée pour des caractères à hérédité mendélienne simple, mais beaucoup plus difficile à mettre en œuvre lorsqu'il s'agit d'en cumuler plusieurs ou pour utiliser des caractères à effets quantitatifs en innovation variétale. En effet, son efficacité est directement liée au nombre de régions à sélectionner et de la proximité des marqueurs avec le caractère (intérêt d'une sélection au niveau du gène). Elle a un coût, qui peut être supérieur au coût de la sélection classique. Cependant, la sélection simultanée sur plusieurs caractères permet de le limiter et, dans tous les cas, permet un réel gain en efficacité.

Le Projet Européen « Fruit Breedomics » KBBE-2010-4 en cours de montage aura pour but d'apporter des outils validés pour la SAM aux professionnels. Il est centré sur deux plantes modèles, le pommier et le pêcher, mais les outils et les résultats seront transposables à d'autres espèces ligneuses.

## Remerciements

Les recherches présentées ont été réalisées par des chercheurs et ingénieurs INRA du DGAP (Département de recherche Génétique et Amélioration des Plantes) et du département SPE (Santé des Plantes et Environnement). Les auteurs remercient D. Esmenjaud (UMR1301 Interactions Biotiques en Santé Végétale (IBSV), 400 Route des Chappes 06903 Sophia Antipolis), C.E. Durel (UMR1259 Génétique et Horticulture (UMR GenHort), BP 60057, 49071 Beaucozéd Cedex, France), H. Duval (UR1052 Unité de Génétique et d'Amélioration des Fruits et Légumes, Domaine Saint Maurice, BP 94, F-84 143 France) et K. Boudehri (UR419 Unité de Recherches sur les Espèces Fruitières, B.P. 81, F-33 140 Villenave d'Ornon, France). Les auteurs remercient également le ministère de l'Agriculture (projet contrat de branche C05/31 ; 2006-2008) et le groupement interprofessionnel Vinifilhor (#24000044 ; 2006-2007).

## Références bibliographiques

- Boudehri K., Bendahmane A., Cardinet G., Troadec C., Moing A., Dirlwanger E., 2009. Phenotypic and fine genetic characterization of the *D* locus controlling fruit acidity in peach. *BMC Plant Biology* 9, 59
- Claverie M., Dirlwanger E., Cosson P., Bosselut N., Lecouls A.C., Voisin R., Kleinhentz M., Lafargue B., Caboche M., Chalhoub B., Esmenjaud D., 2004. High-resolution mapping and chromosome landing at the root-knot nematode resistance locus Ma from Myrobalan plum using a large-insert BAC DNA library. *Theor Appl Genet* 109, 1318-1327.
- Dirlwanger E., Cosson P., Boudehri K., Renaud C., Capdeville G., Tauzin Y., Laigret F., Moing A., 2006. Development of a second generation genetic linkage map for peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] and characterization of morphological traits affecting flower and fruit. *Tree Genetics & Genomes* 3, 1-13.
- Dirlwanger E., Cosson P., Howad W., Capdevill G., Bosselu N., Claverie M., Voisin R., Poizat C., Lafargue B., Baron O., Laigret F., Kleinhentz M., Arús P., Esmenjaud D., 2004. Microsatellite Genetic linkage maps of Myrobalan Plum and an Almond-Peach hybrid - Location of root knot nematode resistance genes. *Theor Appl Genet* 109, 827-838
- Durel C.E., Parisi L., Laurens F., van de Weg W.E., Liebhard R., Jourjon M.F., 2003. Genetic dissection of partial resistance to race 6 of *Venturia inaequalis* in apple. *Genome* 46, 224-234.
- Lalli D.A., Abbott A.G., Zhebentyayeva T.N., Badenes M.L., Damsteegt V., Polak J., Krska B., Salava J. (2008) A genetic linkage map for an apricot (*Prunus armeniaca* L.) BC<sub>1</sub> population mapping *Plum pox virus* resistance. *Tree Genetics & Genomes* 4, 481-493
- Lambert P., Dicenta F., Rubio M., Audergon J.M., 2007. QTL analysis of resistance to sharkadisease in the apricot (*Prunus armeniaca* L.) 'Polonais' x 'Stark Early Orange' F1 progeny. *Tree Genetics & Genomes* 3, 299-309
- Laurens F., 1999. Review of the current apple breeding programmes in the world: objectives for scion cultivar improvement. *Acta Hort.* 484, 163-170
- Lesley J.W., 1939. A genetic study of saucer fruit shape and other characteristics in the peach. *J Am Soc Hortic Sci* 38, 218-222
- Lespinasse Y., Durel C.E., Parisi L., Laurens F., Chevalier M., Pinet C., 2000. A European project: D.A.R.E. - Durable Apple Resistance in Europe. *Acta Hort.* 538, 197-200
- Ma R., Yu M., Du P., Guo H., Song H., 2003. Evaluation of germplasm resources and breeding of flat peach. *Acta Hort* 620, 161-167
- Marandel G., Pascal T., Candresse T., Decroocq V., 2009a. Quantitative resistance to *Plum Pox virus* in *Prunus davidiana* P1908 linked to components of the eukaryotic translation initiation complex. *Plant Pathol* 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. *Mol Plant Pathol* 10, 347-360

Monet R., 1979. Transmission génétique du caractère "fruit doux" chez le pêcher. Incidence sur la sélection pour la qualité. Eucarpia Fruit Section, Tree Fruit Breeding, Angers, France, INRA, Angers. p 273-276

Sicard O., Marandel G., Soriano J.M., Lalli D.A., Lambert P., Salava J., Badenes M., Abbott A., Decroocq V., 2007. Flanking the major Plum pox virus resistance locus in apricot with co dominant markers (SSRs) derived from candidate resistance genes. *Tree Genetics & Genomes* 4, 359–365

Soriano J.M., Vera-Ruiz E.M., Vilanova S., Martínez-Calvo J., Llácer G., Badenes M.L., Romero C., 2008. Identification and mapping of a locus conferring *Plum pox virus* resistance in two apricot improved linkage maps. *Tree Genetics & Genomes* 4, 391–402