

DGER/SDQSPV/BSPIC/CASDAR

N° du projet : AAP SSV 2018 n° C-2018-06

Titre du projet : **Résistance à *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* chez le pêcher RéXapPêch**

COMPTE RENDU FINAL DU PROJET

2018 - 2021

17 mars 2021

Organisme chef de file : **Institut National de Recherche pour l'Agriculture, l'Alimentation et l'Environnement (INRAE)**

Nom: INRAE GAFL UR1052

Adresse: INRAE GAFL - 67 allée des Chênes - CS 60094 - 84143 Montfavet Cedex

Téléphone: 04.32.72.27.02

Nom et organisme du chef de projet : **QUILOT-TURION Bénédicte, INRAE**

Site Internet sur lequel le projet communique à destination des publics cibles :

<https://www6.paca.inrae.fr/gafl/Partenariats-et-projets/Projets-nationaux>

A – Compte rendu technique détaillé

I – Les modalités d'organisation

Conventionnement avec les partenaires

La convention a été signée par INRAE le 4 octobre 2018 et notifiée par le MAA le 6 décembre 2018.

Modalités de pilotage

Compte-tenu que le projet n'impliquait directement qu'un très faible nombre de personnes, 2 côté INRAE (B. Quilot-Turion et N. Dlahah) et 1 côté SEFRA (Y. Montrognon), mis à part le suivi et la maintenance du matériel végétal assuré par les personnes de terrain, le pilotage du projet a été conduit de façon souple. Cela a permis de très nombreuses interactions et discussions entre les 2 partenaires.

Pour compléter ce pilotage très opérationnel, la SEFRA (partenaire P2) a très souvent interagit avec les professionnels de la filière pour ajuster les actions et a provoqué des réunions régulières impliquant INRAE (partenaire P1) pour de nombreuses séances de restitution et discussion avec les professionnels (producteurs, techniciens et sélectionneurs) en lien avec l'AOP Pêches et Abricots de France (cf III_ Bilan intermédiaire et perspectives _ Actions de communication réalisées et à venir).

Suivi des moyens mis en œuvre :

- **Suivi des indicateurs de pilotage du projet**

Les discussions entre P1 et P2 en présentiel, au téléphone et par échanges de messages électroniques, avec comptes-rendus (cf ANNEXES) ou pas, n'ont pas été répertoriés en détail.

- **Suivi des indicateurs de résultats définis dans le dossier finalisé**

Production de tableaux d'informations, de résultats et conclusions sur le génotype des accessions testées :

- 20 juin 2018 _ 39 variétés de référence
- 13 novembre 2018 _ variétés supplémentaires
- 7 janvier 2019 _ génotypage 8 variétés témoins supplémentaires transmises par K. Gasic
- 5 mars 2019 _ génotypage des 2 populations biparentales (Action 2)
- mars 2019 _ analyse généalogie et cohérence haplotypes
- 24 mai 2019 _ core-collection pêcher INRAE
- juillet 2019 : résultats des variétés des sélectionneurs
- 27 juillet 2020 _ 17 variétés supplémentaires

Pour compléter, les actions de présentation des résultats aux professionnels de la filière au fil des 1ères années est présentée en 'Bilan intermédiaire et perspectives _ Actions de communication réalisées et à venir'.

II - Les partenariats

Les rôles des deux partenaires étaient bien définis au départ, sans ambiguïté, ce qui a permis un positionnement clair de chacun, au cœur de leur expertise. Ainsi INRAE a assuré à la fois le rôle de pilote du projet et d'expert en génétique et biologie moléculaire, tandis que la SEFRA a endossé avec enthousiasme son rôle d'expert pêcher et d'interlocuteur des professionnels de la filière.

Les liens étroits entre la SEFRA et l'AOP Pêches et Abricots de France ont permis de mettre en place une communication fréquente et efficace entre chercheurs d'INRAE et acteurs de la filière. Ceci doit réellement être perçu comme une plus-value positive essentielle de ce projet. En effet, s'est ainsi instaurée une réunion annuelle de l'AOP sur la génétique du pêcher, étendue en 2021 à celle de l'abricotier, permettant un dialogue régulier entre chercheurs et professionnels : présentation des avancées de la recherche, identification des enjeux de la filière, réflexion sur des actions à mener...

III – Le déroulement du projet

Organisation mise en place par le chef de file et chaque partenaire: travail réalisé, moyens humains, matériels et financiers mobilisés

Les moyens humains mobilisés en 2019 sont présentés dans les tableaux joints en partie B. Le temps consacré aux études réalisées en 2018 n'a pas été comptabilisé mais représente un volume horaire plus conséquent que celui de 2019 côté INRAE.

Action 1 - Validation de test ADN vis-à-vis des réactions à *X. pruni* chez le pêcher

Rappel des objectifs attendus

Cette action vise à valider un jeu de marqueurs moléculaires (Ppe-Xap) associés à la résistance et à la sensibilité à *X. pruni* (maladie de quarantaine) dans des fonds génétiques différents de ceux jusque-là testés, afin de pouvoir cribler efficacement les variétés de pêcheurs vis-à-vis de cette maladie et pourvoir ainsi les recommander à la plantation en zones sensibles. Ppe-Xap sera validé sur un lot d'une quarantaine de variétés connues pour leur moindre ou forte sensibilité à *X. pruni*.

Méthodes de travail utilisées

Cette action associe des éléments **d'observations des variétés et de génotypage par des marqueurs moléculaires**. Elle consiste à valider le jeu de marqueurs moléculaires sur des variétés bénéficiant d'observations, nombreuses et diverses, quant à leur comportement en situation de forte pression de la maladie.

Les étapes réalisées sont les suivantes :

1. Etablissement par des experts Pêcher d'une liste de variétés ayant un comportement contrasté vis-à-vis de *X. pruni*
2. Récupération des ADN de variétés de pêcher dites de référence auprès de K. Gasic
3. Prélèvement des échantillons de feuilles sur les variétés listées et génotypage
4. Extension du génotypage à des variétés et génotypes supplémentaires

5. Intégration d'informations sur la généalogie des variétés
6. Bilans et restitution auprès des différents partenaires

Résultats obtenus

1. Etablissement par des experts Pêcher d'une liste de variétés ayant un comportement contrasté vis-à-vis de *X. pruni*

La liste de référence, établie par P2, comprend 39 variétés avec des observations à 'Dires d'experts et enquêtes' (10 'sensibles', 11 peu sensibles) et à 'Dires producteurs en situation de forte pression' (10 'sensibles', 8 'peu sensibles').

2. Récupération des ADNs de variétés de pêcher dites de référence

Nous avons reçu de K. Gasic l'ADN des 2 variétés de référence américaines :

- Clayton 'peu sensible' _ allèles G1 : R1|SU_ allèles G6 : R1|R2
- O'Henry 'sensible' _ allèles G1 : SU|SU_ allèles G6 : SU|SU

De plus, pour compléter notre base de référence de génotypage avec l'ensemble des haplotypes disponibles, l'ADN de 8 variétés témoins supplémentaires a été transmis par K. Gasic :

- Loring, Bradley, Intrepid, Caroking, Raritan rose, Red globe, Crimson lady, Zin dai.

Cela a permis à P1 d'optimiser le génotypage des SNP (cf Annexe N°4) et de compléter les interprétations des résultats de génotypage à partir des haplotypes.

3. Prélèvement des échantillons de feuilles sur les variétés listées et génotypage

Les feuilles des variétés à génotyper ont été prélevées par P2 et transmises à P1. Après extraction de l'ADN, P1 a réalisé le génotypage avec 3 SNP pour le groupe de liaison 1 et 4 SNP pour le groupe 6. A partir de ces données, les haplotypes ont été déduits et le comportement attendu en termes de résistance estimé.

Sur les 19 variétés « dites peu sensibles », 2 présenteraient au moins un allèle de résistance, **Pamela cov et Magique®** sur le chromosome 6. Certaines ne présentent pas les allèles de résistances décrits par les américains et testés par les marqueurs moléculaires (8 variétés). Il existe donc certainement d'autres zones de résistances. Les autres variétés sont très hétérozygotes, il n'est donc pas possible de conclure, mais ont potentiellement un allèle de résistance sur le chromosome 6.

4. Extension du génotypage à des variétés et génotypes supplémentaires

Dans un second temps, des variétés supplémentaires (commerciales ou récentes), sans observations, ont été génotypées, de façon à savoir si elles portent des allèles de résistance :

- 85 variétés en 2018
- 191 accessions de la core-collection INRAE en 2019
- 17 variétés en 2020

Sur les 85 variétés, 9 disposeraient d'au moins un allèle de résistance sur le chromosome 6 et devraient bien se comporter, mais nous n'avons pas de certitudes.

Il s'agit des nectarines blanches Nectasweet®Nectardream cov, Nectasweet®Nectarlove cov et Big White®, des pêches plates REGALCAKE®Flatreine cov, REGALCAKE®Flatwo cov, REGALCAKE®Flatelse cov, Samantha cov, PSB 5927-3 et de la nectarine jaune Monbassa cov.

Sur les 17 variétés testées en 2020, une seule, Omega, ne porte que des allèles de résistance, aux 2 loci et 9 autres variétés sont au minimum hétérozygotes résistantes aux 2 loci. **Ces 10 variétés sont à privilégier en zone de forte pression de la maladie.** Les 7 restantes ne portent pas d'allèle de résistance sur le groupe de liaison 6 et sont à éviter en zone de forte pression de la maladie (cf ANNEXE N°1).

En 2019, le génotypage a été étendu à la 'core-collection' Pêcher INRAE, sous-ensemble optimisé d'accessions, étudiée dans le cadre de CaressPrunus (CASDAR 2016). L'objectif était de caractériser ces ressources génétiques et d'identifier des accessions possédant des allèles de résistance et intéressante à utiliser dans de futurs croisements.

Nous avons ainsi repéré 7 accessions avec des profils homozygotes résistants sur les 2 groupes de liaison, parfaits pour transmettre systématiquement des allèles de résistance à leurs descendants. Il s'agit de Bolinha, Cardinal, Chui_Lum_Ta, Nectarine_cerise, Nemaguard, Sudanell et Super_Crimson. D'autres portent des allèles de résistance à l'état hétérozygote et peuvent être intéressantes également, mais requièrent l'utilisation des marqueurs pour cribler les descendants.

5. Intégration d'informations sur la généalogie des variétés

Du fait de la forte hétérozygotie des variétés, il n'est pas possible de connaître avec certitude leurs haplotypes. Génotyper les parents ou des descendants pour savoir comment les SNP se transmettent permet d'en déduire les haplotypes avec certitude.

Aussi, en 2018-19, 54 variétés ou hybrides de sélectionneurs, parents ou descendants des variétés analysées en 2018 et largement utilisés par les sélectionneurs dans leur programme de sélection, ont été génotypés. Cela a permis d'étayer les conclusions pour les variétés génotypées précédemment.

Au total, en 2019 et 2020, 195 (39+85+54+17) variétés et hybrides en cours de sélection provenant de 13 sélectionneurs différents ont été génotypées, les haplotypes déduits et les conclusions sur les allèles proposées. Une vérification de la cohérence de la généalogie a été réalisée lorsque connue. Pour les hybrides des programmes, les analyses ont été effectuées en aveugle et chaque sélectionneur a reçu les résultats de ses variétés seulement.

6. Restitution auprès des différents partenaires

Le partage des informations, des avancées et des résultats entre les 2 partenaires s'est déroulé de façon fluide, spontanée et continue, au fil de l'eau.

Des activités ont été réalisées au-delà de ce qui était initialement prévu. Ainsi, la demande des professionnels de la filière pour caractériser plus de variétés et d'hybrides des programmes de sélection en cours nous a conduit à étendre cette action au-delà de la 1ère année du projet.

Action 2 - Création variétale pour la résistance à *X. pruni* chez le Pêcher

Rappel des objectifs attendus

Cette action, initiée en année -3 suite aux discussions avec des professionnels de Rhône-Alpes, a pour objectif la création de matériel végétal Pêcher résistant à *X. pruni*. Pour ce faire, des croisements contrôlés ont été réalisés en mars de cette même année à partir de deux pro-géniteurs de résistance à cette maladie, SCo8-26008 et Loring, fournis par K. Gasic. Les individus issus de ces deux combinaisons (Zéphir x SCo8-26008 et Zéphir x Loring) ont ensuite été élevés en serre au GAFL et plantés hiver année -3/année -2 dans une parcelle de verger de la SEFRA. L'implantation de ces descendances hybrides à la SEFRA pour sélection vis-à-vis de *X. pruni* a d'abord été dictée par le statut de maladie de quarantaine de *X. pruni*, donc non-expérimentable à l'INRA en conditions de verger, et ensuite par le caractère endémique de la maladie en région Rhône-Alpes, notamment à la SEFRA. Ceci rendait donc possible une expérimentation en place vis-à-vis de *X. pruni* dans le cadre de contaminations dites naturelles. Cela tient aussi au fait d'avoir été interpellé par les producteurs adhérents à cette station expérimentale à qui cette maladie pose régulièrement d'importants problèmes.

Les observations de symptômes sur feuilles devraient permettre de valider sur feuillage le jeu de marqueurs développés au préalable pour la résistance des fruits à *X. pruni*.

Méthodes de travail utilisées

Evaluation des génotypes et génotypage ; création de nouveaux hybrides.

Les étapes réalisées sont les suivantes

1. évaluation vis-à-vis de *X. pruni* sur feuillage et fruits
2. évaluation du potentiel agronomique
3. caractérisation moléculaire avec le jeu de marqueurs moléculaires Ppe-Xap
4. sélection des meilleurs individus pour croisements contrôlés et autofécondations

Résultats obtenus

Les individus des deux populations F1 Zéphir x SCo8-26008 et Zéphir x Loring, respectivement 101 et 173 individus plantés à la SEFRA, ont été génotypés avec les SN. Le génotypage a permis d'éliminer les individus hors-type.

Il s'est avéré que 2 parents sur 3 sont homozygotes pour la résistance en LG1 et LG6. Aussi les 2 populations F1 sont très homogènes et ne présentent pas de variabilité de sensibilité à *X. pruni* en

champ. Aucun symptôme n'a été observé. L'évaluation de la qualité des fruits a été réalisée en 2019 par la SEFRA.

Résultats de génotypage :

- Zéphir [R1|R1 ; SU|SU]

- Loring [R1|R1 ; R2|R2]

- SCo8-26008 [R1|I ; R1|R2]

population Zéphir x Loring -> homogène : [R1|R1 ; SU|R2]

population Zéphir x SCo8-26008 : individus [R1|I ; SU|R1] ou [R1|I ; SU|R2]

En 2019, des autofécondations de 2 individus de Zéphir x Loring ont été réalisées afin d'obtenir des plantes homozygotes résistantes aux 2 loci. A l'issue du criblage de 72 plantes, 8 avec le génotype [R1|R1 ; R2|R2] ont été conservées.

En 2020, une nouvelle autofécondation, d'un 3ème arbre de Zéphir x Loring, portant des fruits de qualité satisfaisante, a été réalisée. Vingt fruits ont été récoltés et les amandes mises en culture pour génotypage. 4 plantes avec le génotype [R1|R1 ; R2|R2] ont été conservées.

En 2021, des croisements contrôlés entre individus des deux descendance portant des allèles complémentaires, ont été réalisés. De plus, une autofécondation d'un arbre de la descendance Zéphir x SCo8-26008 a été réalisée. Un marquage moléculaire sera réalisé en fin d'année pour ne conserver que des individus avec des génotypes de type [R1|R1 ; R1|R2] et [R1|R1 ; R2|R2].

Le bagage génétique des parents utilisés dans les croisements a quelque peu modifié les plans de cette action. En effet, de façon cohérente, aucun symptôme de la maladie n'a été observé sur les hybrides obtenus, portant tous des résistances.

Par contre ce matériel est une source intéressante d'allèles de résistance et a permis d'engager des croisements essentiels pour obtenir des individus cumulant des allèles de résistance aux 2 loci. Ce matériel permettra de diversifier les fonds génétiques des variétés utilisées en croisement en France pour produire des variétés portant ces résistances à X. pruni.

IV - Les modalités de valorisation du projet

La SEFRA a très souvent interagit avec les professionnels de la filière pour ajuster les actions et a provoqué des réunions régulières impliquant INRAE pour de nombreuses séances de restitution et discussion avec les professionnels (producteurs, techniciens et sélectionneurs) en lien avec l'AOP Pêches et Abricots de France.

Ainsi, des actions de communication ont été réalisées lors :

- des visites annuelles en saison des parcelles d'essai ouvertes aux préconisateurs (techniciens et conseillers de chambre d'agriculture, d'organisations de producteurs et d'associations de bassin),
- des expositions variétales et journées techniques
- de séminaires de restitution dans le cadre de manifestations type "Rencontres phytosanitaires fruits à noyau" (Ctifl, DGAL, SDQPV), ou de "Journée Pêche", journée technique de l'AOP.

Interventions SEFRA

2019

- 05/02/2019 commission technique pêche
- 27/06/2019 expositions variétales
- 25/07/2019 expositions variétales
- 05/09/2019 expositions variétales et remise du calendrier des variétés

2020

- 06/02/2020 commission technique pêche
- 03/09/2020 expositions variétales et remise du calendrier des variétés

2021

- 05/02/2021 commission technique pêche

Interventions INRAE

2018

- 27/09/2018 Journée Technique SEFRA Séance Arbo ; Présentation du Projet
 - 15/10/2018 Réunion Réseau technique de l'AOP Pêches et Abricots de France
- Participants : AOP, stations expérimentales, INRAE, sélectionneurs et arboriculteurs
- 18/12/2018 Réunion Commission BioAgresseurs Fruits à Noyaux organisée par la SEFRA
- 2020**

- 17/02/2020 Réunion de l'AOP Pêches et Abricots de France sur la génétique du pêcher
- Participants : AOP, stations expérimentales, INRAE, sélectionneurs et arboriculteurs

2021

- 19/01/2021 Rencontres du GIS Fruits sur le thème : gestion des bioagresseurs (Casdar)
- <https://www.gis-fruits.org/Evenements-du-GIS/Les-Rencontres-du-GIS-Fruits-sur-le-theme-gestion-des-bioagresseurs2>

- 5/02/2021 Réunion de l'AOP Pêches et Abricots de France sur la génétique du pêcher
- Participants : AOP, stations expérimentales, INRAE, sélectionneurs et arboriculteurs

Les variétés conseillées pour la plantation en zone de forte pression de la maladie ont été consignées dans un calendrier en 2019, mis à jour en 2020, et diffusé lors des expositions variétales en 2019 et 2020 (cf Annexe A5).

Un page internet dédiée au projet est disponible à cette adresse :

<https://www6.paca.inrae.fr/gafl/Partenariats-et-projets/Projets-nationaux/ReXapPech>

Le topo présenté le 19/01/2021 y est accessible ainsi que le calendrier des variétés conseillées pour la plantation en zone de forte pression de la maladie. Une version modifiée de ce rapport (ajout du contexte socio-économique et scientifique, simplification des aspects de suivi du projet) y sera également disponible.

V – Les perspectives

Les points forts et points faibles

Les travaux réalisés ont permis la validation du jeu de marqueurs moléculaires (Ppe-Xap) associés à la résistance à *X. pruni* chez le Pêcher.

La difficulté d'utilisation de ces marqueurs repose sur la définition d'haplotypes résistants et l'hétérozygotie des variétés. L'interprétation des résultats n'est donc pas toujours évidente ou certaine et la connaissance des haplotypes des parents ou descendants est souvent nécessaire pour conclure.

Sur la base de ces éléments, observations et marqueurs du LG6 surtout, on peut conseiller de planter, en zone de forte pression Xanthomonas, certaines variétés plutôt que d'autres, sans cependant pouvoir garantir leur niveau de résistance.

- Les variétés bénéficiant d'observations, nombreuses et diverses, quant à leur comportement en situation de forte pression, sont à privilégier, d'autant plus si elles portent potentiellement un allèle de résistance sur LG6.

- Parmi les nouvelles variétés (pas d'observations), l'aide des marqueurs et de l'origine des variétés permet d'identifier des variétés qui devraient bien se comporter mais pour lesquelles on n'a pas de recul en situation de verger.

- Parmi les autres variétés, certaines pourraient porter d'autres facteurs de résistance que ceux portés par les 2 zones du génome (sur LG1 et LG6) décrites par les américains et testés par les marqueurs moléculaires ; c'est sans doute le cas des 8 variétés 'peu sensible' qui ne portent pas d'allèle de résistance sur LG6.

Ces informations sont d'ores et déjà importantes pour orienter les choix de plantations en zone de forte pression de la maladie. Les professionnels de la filière (producteurs, obtenteurs et techniciens) ont exercé une pression forte pour que nous avancions rapidement sur cette problématique et partageons les résultats sans attendre. Des communications fréquentes ont donc été effectuées, notamment pour influencer sur le choix des variétés à planter et sur l'utilisation de géniteurs résistants dans les programmes de croisement.

Ce projet a permis en outre de renforcer les partenariats entre la recherche publique (INRAE), les instituts techniques (Ctifl), les stations régionales d'expérimentation (SEFRA) et les organisations professionnelles (AOP Pêches et Abricot de France). **ReXapPech sert d'ores et déjà d'exemple à suivre pour élaborer d'autres actions visant à répondre aux demandes de la filière.**

Un point faible majeur réside dans le fait que les variétés résistantes identifiées ont pour une majorité un fond génétique similaire, ce qui réduit la diversité des facteurs de résistance déployés en plantation. Des efforts pour diversifier les sources de résistance à *Xanthomomas* seront importants pour le futur. Pour cela il faudra acquérir des connaissances quant à la variabilité génétique disponible chez le Pêcher vis-à-vis de *X. pruni*. Cependant, les contraintes expérimentales qu'impose le fait que ce soit un organisme réglementé compliquent la tâche.

Des actions supplémentaires de communication sont envisagées

- articles techniques d'information dans des revues destinées aux professionnels de l'arboriculture (L'Arboriculture fruitière) ou plus généralistes (Réussir Fruits & Légumes).

Les évolutions en cours, les inflexions envisagées

Le test ADN peut être appliqué en routine à un échantillon plus large de variétés ou de descendance en ségrégation pour les caractériser/les cribler vis-à-vis de cette maladie bactérienne. Outre les sélectionneurs-obtenteurs-éditeurs de variétés de pêcher, ce test ADN pourra s'adresser à différentes structures publiques ou interprofessionnelles ayant en charge la caractérisation variétale, i.e. les responsables des vergers de comportements de niveau 1 et 2 Pêcher (Ctifl, stations régionales d'expérimentation), et/ou les instances nationales ou communautaires en charge des examens de DHS pêcher (INRA-GEVES-CTPS/INOV/OCVV) pour l'inscription et la protection des nouvelles variétés.

Comme le test doit être accompagné d'une expertise permettant la définition d'haplotypes, voire d'analyses complémentaires sur des individus apparentés, de façon à conclure sur le génotype, cette analyse pourrait être proposée comme service par une 'plateforme R&D' en cours de réflexion.

Annexes

Cf fichier joint

B – Compte rendu financier

Les pièces à fournir sont les suivantes :

Par le chef de file :

- compte de réalisation consolidé, de l'ensemble du projet, action par action, établi par le chef de file
- le compte du chef de file faisant apparaître le versement aux tiers
- la copie des conventions (et avenants le cas échéant) avec montants des travaux prévus et des subventions CASDAR prévues, établie par le chef de file
- la copie éventuelle de l'accord de propriété intellectuelle du projet

Pour chaque partenaire recevant des financements CASDAR (chef de file + chaque organisme tiers) ou devant effectuer des travaux (même s'ils ne sont pas subventionnés) :

- le compte de réalisation global du projet (signé du commissaire aux comptes ou de l'agent comptable)
- le tableau des agents mobilisés sur le projet (modèle DGAL)
- pour les organismes privés : le rapport du commissaire aux comptes de la structure établi spécifiquement pour le projet en question et qui doit viser le respect de la convention et du guide des modalités financières
- le tableau des dépenses directes
- le tableau des prestations de service (cf décision en comité de pilotage)
- en cas de non assujettissement à la TVA, une attestation du représentant légal de la structure ou de l'administration fiscale (ne pas faire figurer si la convention est établie en HT)
- Recettes obtenues complétant la convention du CASDAR : source (collectivités, organismes français..., modalités d'obtention, années concernées)
- Octroi de subvention européenne