

---

UNIVERSITÉ D'AVIGNON ET DES PAYS DE VAUCLUSE

THÈSE

Présentée pour obtenir le grade de **Docteur en sciences** de l'université d'Avignon  
et des pays de Vaucluse  
**Spécialité: Sciences Agronomiques**

**Analyse fonctionnelle et étude de la régulation de gènes  
candidats sous-jacents au QTL  $GpaV_{spl}$  impliqué dans la  
résistance au nématode à kyste *Globodera pallida* chez la  
pomme de terre**

par **Patricio CASTRO-QUEZADA**

Directrice de thèse : Véronique Lefebvre

Soutenue publiquement le 31 mai 2013, devant le jury composé de

Mme Diana Fernandez	Directrice de recherche, IRD	Rapporteur
M. Philippe Castagnone-Sereno	Directeur de recherche, INRA	Rapporteur
M. Marc Bardin	Chargé de recherche, INRA (HDR)	Examineur
Mme. Frédérique Arousseau	Responsable sélection, Comté Nord	Examineur
M. Jawad Aarouf	Maître de conférences, UAPV	Co-encadrant
M. Bernard Caromel	Ingénieur d'études, INRA	Co-encadrant

---

**Ecole doctorale**

ED 536 Sciences et Agrosociétés, Université d'Avignon et de Pays de Vaucluse

**Laboratoire**

INRA-UR 1052 Génétique et Amélioration des Fruits et Légumes

CS60094, F84143 Montfavet Cedex

Centre INRA PACA Avignon-Montfavet-France

## Résumé

Les nématodes à kystes sont l'un des bioagresseurs causant le plus de dégâts sur les cultures de pommes de terre. La résistance trouvée chez l'accession spl88S.329.18, issue de l'espèce *Solanum sparsipilum* est caractérisée par un déterminisme oligogénique avec un QTL à effet fort localisé sur le chromosome V (*GpaV<sub>spl</sub>*) et un QTL mineur localisé sur le chromosome XI (*GpaXI<sub>spl</sub>*). Pour obtenir une résistance de haut niveau, l'effet du QTL *GpaV<sub>spl</sub>*, doit être complété par celui du QTL à effet faible *GpaXI<sub>spl</sub>*. Par génomique comparative, le locus *GpaV* a été localisé dans un intervalle compris entre 16 et 60 kb sur les génomes de la tomate et des espèces apparentées à la pomme de terre, *Solanum demissum* et *Solanum phureja*. Deux gènes ont été annotés dans cet intervalle sur les génomes de la tomate et de *S. demissum* : le premier appartient à la famille des TIR-NBS-LRR (TNL), famille de gènes de résistance classiques, et le second appartient à la famille des « mitochondrial, transcription termination factor » (mTERF), dont l'implication dans des mécanismes de résistance n'a jamais été démontrée.

Les objectifs de ma thèse étaient d'identifier le(s) gène(s) responsable(s) de la résistance à *G. pallida*, conférée par le locus *GpaV<sub>spl</sub>*, et d'étudier sa régulation. Suite à la publication de la séquence du génome de *S. phureja*, en 2011, nous avons mis en évidence que le locus *GpaV* était dupliqué chez *S. phureja* et que cette duplication était également présente chez *S. sparsipilum*. Les quatre gènes annotés au locus *GpaV<sub>spl</sub>* ont été nommés Spl\_mTERF18430, Spl\_TNL18429, Spl\_mTERF18453 et Spl\_TNL18428.

L'effet des deux gènes Spl\_mTERF18430 et Spl\_TNL18428 sur la résistance à *G. pallida* a été analysé *via* des expériences de transformation génétique suivies par des tests de résistance sur les plantes transformées. Un effet partiel du gène Spl\_TNL18428 sur la résistance à *G. pallida* a été mis en évidence par complémentation de plantes sensibles. Aucun effet significatif n'a été détecté pour le gène Spl\_mTERF18430. Des expériences d'extinction génique suggèrent que le deuxième gène TIR-NBS-LRR, Spl\_TNL18429, qui est également exprimé dans les racines et qui présente un fort pourcentage d'identité de séquence avec le gène Spl\_TNL18428, pourrait également être impliqué dans la résistance à *G. pallida*. L'expression du gène rapporteur GFP, placé sous le contrôle du promoteur du gène Spl\_TNL18428, est fortement induite dans les cellules situées autour du syncytium. Ceci renforce l'hypothèse d'une implication du gène Spl\_TNL18428 dans la résistance à *G. pallida*, car la localisation de l'expression de la GFP est similaire à celle de la nécrose, qui est caractéristique de la réaction développée par les plantes résistantes autour du syncytium induit par les nématodes.

En tenant compte des données bibliographiques récentes, montrant que plusieurs gènes NBS-LRR peuvent être indispensables à l'expression d'une résistance, nos résultats suggèrent que les deux gènes Spl\_TNL18428 et Spl\_TNL18429 sont nécessaires à l'expression de la résistance à *G. pallida*.

**Mots-clés :** pomme de terre, *Solanum tuberosum*, nématode à kyste, *Globodera pallida*, résistance, expression génique, RT-qPCR