



HAL
open science

Quelques exemples d'intérêts et de limites de la sélection assistée par marqueurs chez la pomme de terre

Marie-Claire Kerlan, Sylvie Marhadour, Bernard Caromel, E. Bonnel, Sarah Danan, Véronique Lefebvre, Jean-Eric Chauvin

► To cite this version:

Marie-Claire Kerlan, Sylvie Marhadour, Bernard Caromel, E. Bonnel, Sarah Danan, et al.. Quelques exemples d'intérêts et de limites de la sélection assistée par marqueurs chez la pomme de terre. *Innovations Agronomiques*, 2013, 27, pp.111-122. 10.17180/8a3r-m431 . hal-01208610

HAL Id: hal-01208610

<https://hal.science/hal-01208610v1>

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.



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

Quelques exemples d'intérêts et de limites de la sélection assistée par marqueurs chez la pomme de terre

Kerlan M.C.¹, Marhadour S.², Caromel B.³, Bonnel E.⁴, Danan S.³, Lefebvre V.³, Chauvin J.E.¹

¹: INRA, UMR 1349 IGEPP, Keraïber, 29260 Ploudaniel

²: FN3PT - INRA UMR 1349 IGEPP, Keraïber, 29260 Ploudaniel

³: INRA, UR1052 UGAFL, CS 60094, F-84143 Montfavet cedex

⁴: Germicopa SAS, Allée L. Herrieu, 29334 Quimper

Correspondance : marie-claire.kerlan@rennes.inra.fr

Résumé :

La sélection assistée par marqueurs (SAM) n'est possible que si les marqueurs moléculaires sont facilement utilisables et informatifs. Chez la pomme de terre, espèce tétraploïde et hétérozygote, la SAM est encore assez peu développée pour le moment. Notre démarche a été, d'une part, de rechercher des marqueurs moléculaires liés à des caractères d'intérêt à partir de populations diploïdes en ségrégation et de tester leur transférabilité au niveau tétraploïde et, d'autre part, de tester des marqueurs moléculaires déjà publiés dans des fonds génétiques tétraploïdes différents. Les modèles retenus étaient la résistance aux bioagresseurs (le mildiou du feuillage causé par *Phytophthora infestans*, la résistance aux nématodes à kyste *Globodera rostochiensis* et *G. pallida*, la résistance au virus Y) et la teneur en glycoalcaloïdes des tubercules.

Dans le cas d'un déterminisme génétique simple (cas du gène *Ry* conférant la résistance au virus Y issu de *Solanum stoloniferum* ou du gène *R1* de résistance au mildiou issu de *S. demissum*), les marqueurs publiés ont pu être validés dans différents fonds génétiques. Pour le gène *H1* conférant la résistance à *G. rostochiensis*, le marqueur disponible au moment du projet s'est avéré ne pas être lié à la résistance dans notre matériel mais d'autres marqueurs ont été validés depuis.

Dans le cas d'une résistance oligogénique, illustrée par la résistance à *G. pallida* dont le déterminisme génétique est sous le contrôle de 2 QTL, la portabilité de 4 marqueurs permettant de suivre le QTL à effet fort *GpaV_{spl}* dans différents fonds génétiques tétraploïdes a été testée. Deux marqueurs permettant de suivre le QTL à effet faible *GpaX_{spl}* ont également été validés. L'ensemble des marqueurs a été transféré aux partenaires professionnels qui les utilisent désormais à des échelles différentes dans leurs schémas de sélection.

Pour les caractères à déterminisme polygénique (résistance au mildiou du feuillage et teneur en glycoalcaloïdes), il semble actuellement prématuré d'envisager la SAM.

Mots clés : Pomme de terre, autotétraploïde, hétérozygotie, sélection assistée par marqueurs, résistance, mildiou, nématode, virus, glycoalcaloïdes

Abstract: Some examples of interests and limits of Marker Assisted Selection in potato

Marker-assisted selection (MAS) is only possible if molecular markers are easy to handle and informative. In potato, a tetraploid and highly heterozygous species, SAM is poorly developed. In our study we developed two approaches: 1) search for molecular markers linked to traits of interest in diploid segregating populations and test of their transferability at the tetraploid level and 2) test of molecular markers that have already been published in different tetraploid genetic backgrounds. The

targeted traits were resistance to pathogens (late blight caused by *Phytophthora infestans*, cyst nematodes *Globodera rostochiensis* and *G. pallida*, virus Y) and glycoalkaloid content in tubers.

In the case of a monogenic control (like resistance to late blight conferred by the *R1* gene originating from *Solanum demissum* or the resistance to the Y virus conferred by the *Ry* gene originating from *S. stoloniferum*), the published markers have been validated in different genetic backgrounds. For the *H1* gene conferring resistance to *G. rostochiensis*, markers available at the time of the project were not found to be associated with resistance in our material but other markers have since been validated.

In the case of oligogenic resistance, illustrated by the resistance to *G. pallida*, which is controlled by two QTL, markers flanking the large effect QTL *GpaV_{spl}* were tested successfully in different diploid and tetraploid backgrounds. Two markers linked to the low effect QTL *GpaXI_{spl}* were also validated. These markers were transferred to the French breeders who are now using them in their breeding programs.

For polygenic quantitative traits (partial resistance to late blight and glycoalkaloid content), it seems not realistic to consider SAM for the moment.

Keywords: potato, autotetraploidy, heterozygosity, marker assisted selection, resistance, late blight, virus, nematodes, glycoalkaloid

Introduction

La sélection de variétés de pomme de terre adaptées conduit à essayer de cumuler un grand nombre de caractères favorables chez un même génotype (rendement, qualité, résistance, adaptation à un débouché). Or, il reste difficile de réaliser un progrès significatif sur un caractère sans diminuer le niveau d'expression favorable d'un autre. L'utilisation de marqueurs moléculaires devrait aider à mieux diriger cette sélection « multicaractère » tout en optimisant l'exploitation des ressources génétiques. Chez la pomme de terre, la sélection pour des caractères qualitatifs, bien que parfois difficile, est possible pour des caractères à hérédité simple. A titre d'exemple, le gène dominant *H1* venant de *Solanum andigena* et conférant une résistance au pathotype Ro1 de *Globodera rostochiensis* est utilisé depuis 40 ans par les sélectionneurs. La sélection pour des caractères quantitatifs est, quant à elle, plus laborieuse à mettre en place. La sélection assistée par marqueurs devrait augmenter l'efficacité et permettre de gagner du temps dans les schémas de création variétale pour les deux types de caractères. Toutefois, la structure génétique complexe de la pomme de terre (plante tétraploïde, hétérozygote) complique les études génétiques.

L'objectif de cet article est d'illustrer quelques exemples de sélection assistée par marqueurs chez la pomme de terre à partir de deux approches :

1. Rechercher des marqueurs moléculaires liés à des caractères d'intérêt à partir de populations diploïdes en ségrégation, et tester leur transférabilité au niveau tétraploïde,
2. Tester la portabilité des marqueurs moléculaires déjà publiés dans des fonds tétraploïdes différents.

Nous avons ciblé des marqueurs associés aux caractères de résistance aux bioagresseurs (le mildiou du feuillage causé par *Phytophthora infestans*, la résistance aux nématodes à kyste *Globodera rostochiensis* et *G. pallida*, la résistance au virus Y), puisque la lutte génétique est primordiale pour le développement de systèmes de protection et de production durables, qui répondent au souci de protection de l'environnement. Nous avons également ciblé des marqueurs, associés aux caractères de qualité et en particulier aux teneurs en glycoalcaloïdes dans les tubercules puisque ces composés peuvent avoir un impact sur la sécurité alimentaire et que les dosages conventionnels par HPLC sont assez difficiles à mettre en œuvre. Le présent article résume les principaux résultats acquis entre 2005

et 2008 au cours du projet intitulé « Intérêts et limites de la sélection assistée par marqueurs chez la pomme de terre » financé par le Ministère de l'Agriculture.

1- Exploitation des populations diploïdes en ségrégation

1-1 Quelques mots sur les cartes génétiques développées à l'INRA

Les cartes génétiques ont été développées à partir de parents diploïdes hétérozygotes, initialement dans le cadre de l'étude de la résistance vis à vis de *G. pallida*. Les descendances proviennent d'une part du croisement entre un dihaploïde de *S. tuberosum* (cv Caspar H3) et un clone de l'espèce diploïde *S. sparsipilum*, et d'autre part du croisement entre le dihaploïde de *S. tuberosum* Rosa H1 et d'un clone de l'espèce diploïde *S. spagazzinii* (Figure 1). Quatre cartes génétiques ont été ainsi générées selon le principe décrit par Grattapaglia et Sederoff en 1994 (Caromel *et al*, 2003 et 2005).

Du fait de la structure hétérozygote de chacun des parents, il est possible de suivre des marqueurs qui sont soit en couplage avec un phénotype résistant (marqueurs liés à l'allèle de résistance), soit en répulsion (marqueurs liés à l'allèle de sensibilité). Les marqueurs liés à l'allèle de sensibilité sont intéressants en cartographie, par contre ils ne sont exploitables que dans des hybrides de première génération, et par conséquent ont un intérêt limité en sélection assistée par marqueurs.

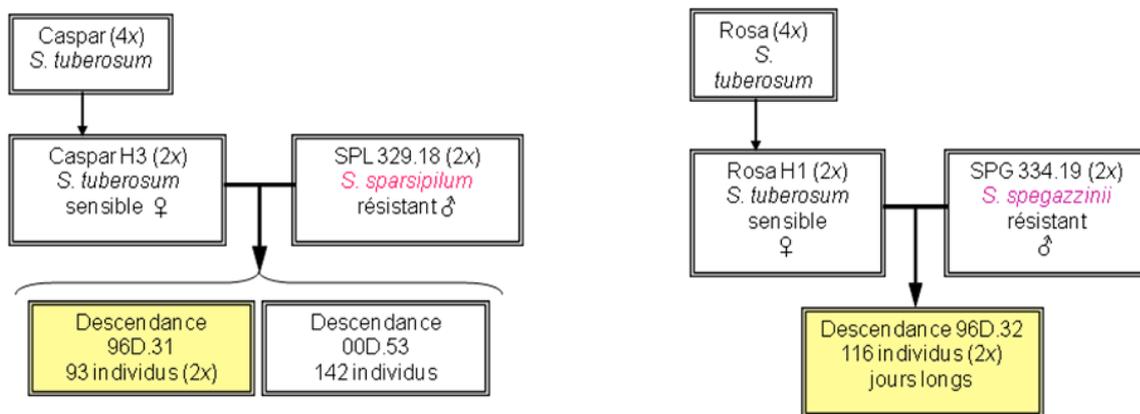


Figure 1: Descendances créées pour la construction des cartes génétiques, ayant permis la localisation de déterminants génétiques impliqués dans la résistance au nématode à kyste *Globodera pallida*, au mildiou du feuillage causé par *Phytophthora infestans* et dans la teneur en glycoalcaloïdes

1-2 Phénotypage et détection de QTL impliqués dans la résistance au mildiou

La résistance au mildiou des 4 parents des populations de cartographie « INRA » a été évaluée en conditions de contaminations naturelles, d'une part, et par des tests en conditions contrôlées permettant de décomposer la résistance globale en composantes élémentaires, d'autre part. Seul un test sur tige s'est avéré réellement discriminant et il a permis de mettre en évidence un niveau de résistance sur tige intéressant chez les parents *S. spagazzinii* SPG 334.19 et *S. sparsipilum* SPL 329.18. Le phénotypage des 2 descendances a permis de générer des données relatives à la capacité de progression du pathogène dans les tiges de la plante. Un phénotypage sur plantes entières cultivées en plateforme, en condition de contamination naturelle, a également été effectué pour les 2 descendances.

Au total, neuf variables ont été prises en compte pour la recherche de locus impliqués dans la variation du caractère (Quantitative Trait Loci ou QTL) chez les deux populations. En fin 2008, quatorze locus différents, répartis sur 10 chromosomes (figure 2) ont été identifiés. Deux QTL à effet fort ont été

cartographiés sur le chromosome X (K10) et expliquent 33% (chez *S. sparsipilum*) et 38% (chez *S. spegazzinii*) du caractère de résistance observé dans le test sur tige. Un QTL à effet majeur (55%), détecté à partir des données obtenues dans le test en condition de contamination naturelle, a été cartographié dans la zone du cluster de gènes de résistance à *P. infestans* sur le chromosome V (K5). Pour 2 loci, sur les chromosomes X et VIII, des QTL de plusieurs variables issues des 2 tests différents colocalisent, ce qui suggère l'implication de plusieurs gènes intervenant dans des mécanismes de résistance différents ou d'un gène en amont de mécanismes communs (Danan et al, 2009).

Compte tenu du nombre de régions chromosomiques impliquées dans le caractère de résistance sur tige, il semble difficilement envisageable de développer des marqueurs utilisables en SAM pour tous les loci. Toutefois, le QTL à effet fort *PiXspg* détecté sur le chromosome X s'exprime de façon constante, quelle que soit la souche utilisée pour les tests. La caractérisation fine de ce locus a donc été poursuivie au delà du projet, et a débouché sur la mise au point de marqueurs permettant un suivi du QTL dans différents fonds génétiques tétraploïdes.

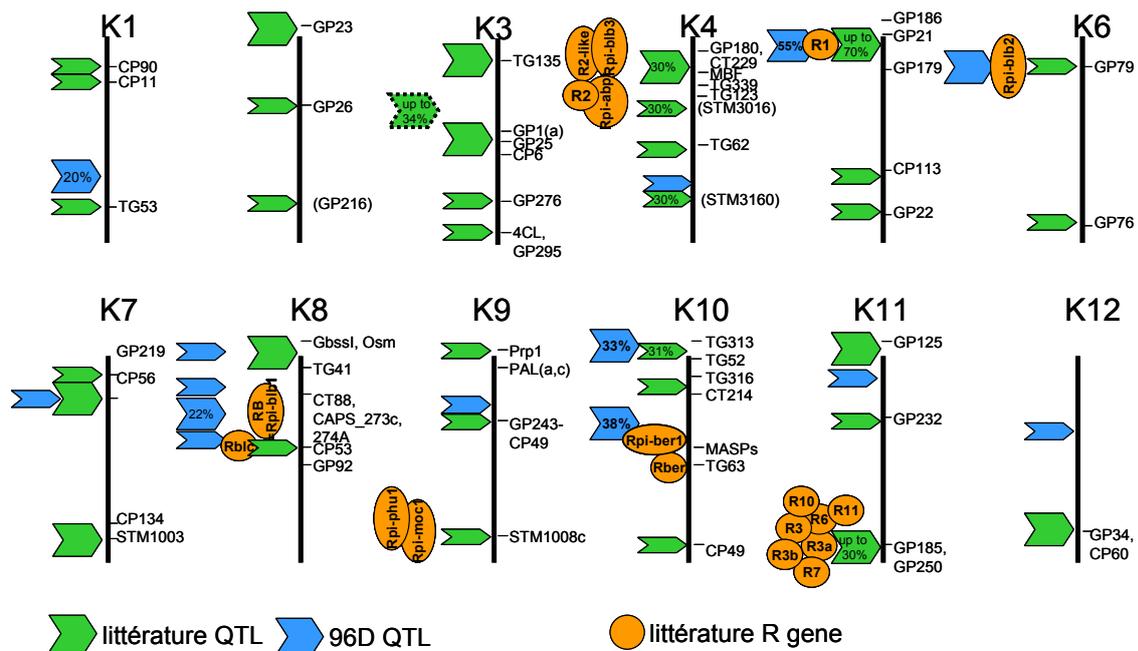


Figure 2 : QTL identifiés pour la résistance au mildiou du feuillage à partir des tests en condition de contamination naturelle et en conditions contrôlées (en bleu). Le R^2 est indiqué uniquement lorsqu'il est supérieur à 20%. Les QTL recensés dans la bibliographie sont indiqués en vert et les gènes R en orange.

1-3 Phénotypage et détection de QTL impliqués dans la teneur en glycoalcaloïdes

La pomme de terre cultivée renferme des glycoalcaloïdes dont les principaux sont la solanine et la chaconine. Les parents des populations de cartographie ont été évalués pour leur teneur en solanine et chaconine après dosage par HPLC. En raison des coûts des analyses, seule la descendance 96D.31 issue du croisement entre SPL329.18 et CasparH3 a été phénotypée. Les distributions sont données en Figure 3.

Pour les 2 variables chaconine et solanine, 11 QTL ont été identifiés, dont 7 distribués sur 4 chromosomes (I, V, VIII et XII) du parent SPL329.18, et 4 QTL sur 2 chromosomes (IV et VI) du parent Caspar H3. Ces résultats ont été présentés en 2010 au congrès EAPR-EUCARPIA « Potato breeding after completion of the DNA Sequence of the Potato Genome » (Kerlan et al, 2010).

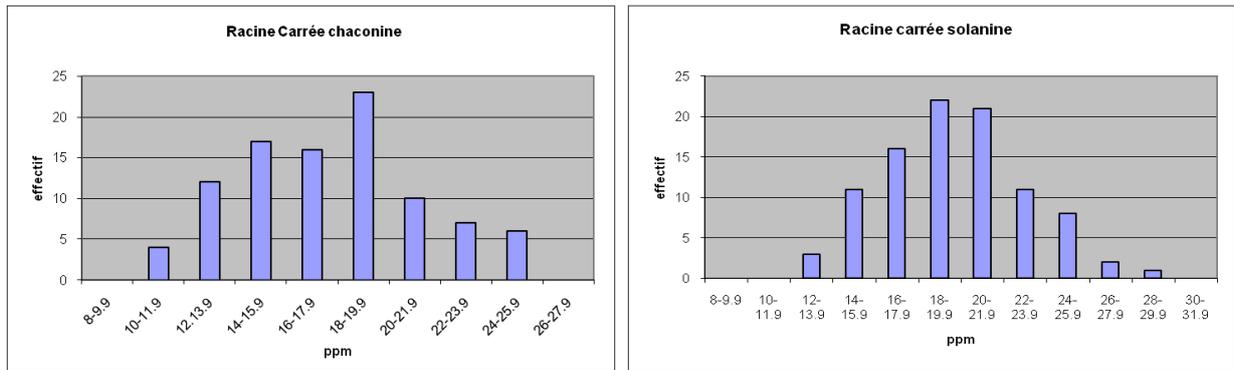


Figure 3 : Distribution des teneurs en chaconine et solanine dans la descendance 96D.31. Les données sont exprimées en racine carrée de la moyenne des teneurs en chaconine et solanine de 10 tubercules.

Du fait de la nature polygénique des teneurs en chaconine et en solanine, et de la très faible part de la variation expliquée (7.5 à 19.6%), le développement de marqueurs facilement utilisables pour la SAM n'a pas été initié.

1-4 Marqueurs associés à la résistance à *Globodera pallida*

Le nématode à kyste *G. pallida* est un parasite de quarantaine de la pomme de terre dont la prolifération est difficile à contrôler dans les conditions européennes de culture. Il n'existe pas de source de résistance de niveau satisfaisant dans l'espèce cultivée *Solanum tuberosum*, et la plupart des sources de résistance connues, originaires d'espèces sauvages de *Solanum tuberosum*, sont à déterminisme oligogénique ou polygénique. L'INRA exploite 3 sources de résistance (*S. sparsipilum*, *S. spegazzinii* et *S. vernei*). Cinq QTL de résistance ont été cartographiés : deux sur les chromosomes V et XI de *S. sparsipilum* (Caromel *et al*, 2005), trois sur les chromosomes V, VI et XII de *S. spegazzinii* (Caromel *et al*, 2003), et un sur le chromosome VIII de *S. tuberosum* (Caromel, 2004). Les deux QTL cartographiés sur les chromosomes V de *S. sparsipilum* et *S. spegazzinii* (*GpaV_{spl}* et *GpaV_{spg}*) ont un effet majeur ($R^2 = 76\%$ et 48%), les trois autres QTL détectés présentent un effet faible (R^2 compris entre 10 et 13%). Les QTL à effet fort *GpaV_{spg}* et *GpaV_{vm}* sont cartographiés en position colinéaire à *GpaV_{spl}* (Caromel *et al*, 2003, 2005 ; Rouppe van der Voort *et al*, 2000 ; Bryan *et al*, 2002).

La sélection assistée par marqueurs a été expérimentée uniquement dans le cas du suivi du QTL *GpaV_{spl}* provenant de la source *S. sparsipilum*. Les travaux de cartographie fine ont permis de positionner plus précisément le QTL *GpaV_{spl}* entre les marqueurs Asc151 et MS133; ces marqueurs flanquent le QTL, à 0,1 cM et 0,8 cM respectivement (B. Caromel, L. Chauvin *et al*, non publié) (Figure 4). Les marqueurs Asc70, Asc151 et MS133 et TG441 permettent de suivre l'allèle de résistance au QTL *GpaV_{spl}* et sont directement utilisables en sélection, alors que les marqueurs MS93 et MS97 mettent en évidence l'allèle de sensibilité et ne sont donc utilisables que dans les descendance issues du premier croisement interspécifique entre le clone de *S. sparsipilum* SPL329.18 et Caspar H3. La portabilité de ces marqueurs a été testée dans différents fonds génétiques diploïdes et tétraploïdes.

Au niveau diploïde, dans certains croisements « hybrides de première génération » qui diffèrent par le clone de *S. sparsipilum* source de la résistance ou par le clone dihaploïde de *S. tuberosum* utilisé en croisement, le marqueur lié à l'allèle de résistance n'est pas distinguable d'un marqueur présent au même endroit chez le parent sensible mais n'ayant aucun lien avec la résistance (cas pour les marqueurs Asc70 et MS133). Par contre, nous n'avons jamais vu de situation où l'allèle de sensibilité de *S. sparsipilum* comigre avec un marqueur du parent dihaploïde de *S. tuberosum*. Dans ces descendance, l'interprétation présence/absence de l'allèle de résistance peut donc se faire sans

ambiguïté soit sur la présence de l'allèle de résistance et/ou sur l'allèle de sensibilité de *S. sparsipilum*. Le génotypage à l'aide des marqueurs Asc70 et MS133 concorde avec celui obtenu pour les 2 marqueurs plus éloignés GP21 et GP179, aux recombinants près.

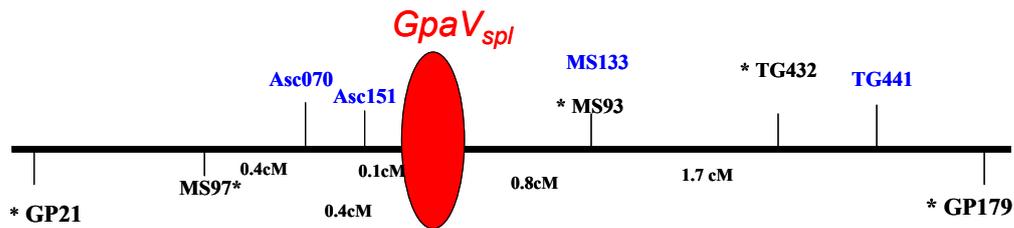


Figure 4: Localisation des marqueurs flanquant le QTL *GpaV_{spl}* sur la carte génétique (* signifie qu'on peut suivre uniquement l'allèle de sensibilité au locus)

Sur 15 familles génotypées, 7 ont été phénotypées pour le caractère de résistance (Figure 5). Les individus sensibles et résistants présentent des nombres de kystes comparables à ceux qui avaient été enregistrés dans la population de cartographie.

Pour une application en sélection assistée par marqueurs, ceci démontre que la connaissance du génotype permet d'éliminer les individus les plus sensibles (nombre de kystes formés >177), mais conduit à retenir un nombre non négligeable de génotypes à résistance intermédiaire (nombre de kystes formés compris entre 9 et 177) et à éliminer les recombinants résistants. Un phénotypage des individus génotypés «résistants» apparaît donc indispensable pour ne retenir *in fine* que les meilleurs individus.

Ces résultats ont été présentés lors du « Cost meeting Nemagenic » en 2009 (Kerlan et al 2009).

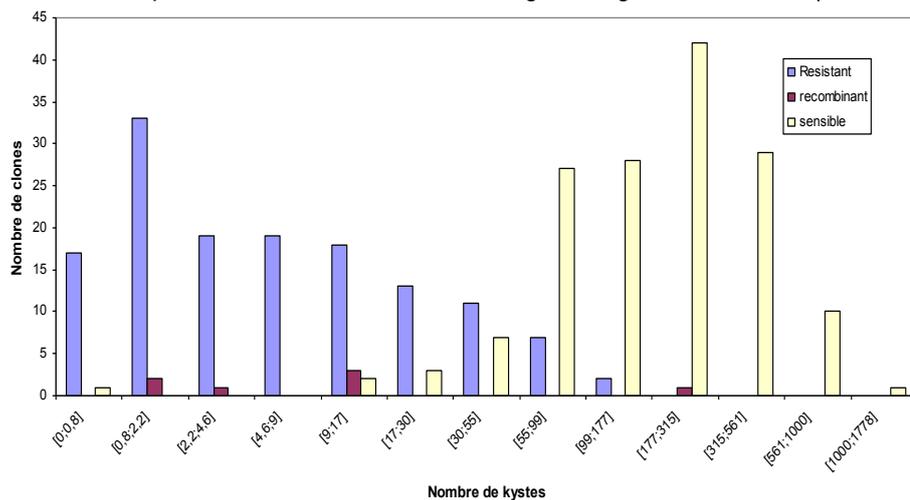


Figure 5: Distribution des clones en fonction du nombre de kystes observés. Les clones ont été génotypés à l'aide des couples de marqueurs GP21–GP179 et Asc70-MS133. Le bleu indique les clones génotypés résistants, le jaune les clones génotypés sensibles et le marron les clones génotypés recombinants.

Au niveau tétraploïde (Figure 6), les résultats de validation des marqueurs flanquant le QTL *GpaV_{spl}* peuvent se résumer ainsi :

- Les marqueurs Asc151 et TG441 permettent de suivre sans ambiguïté l'allèle de résistance dans des descendance tétraploïdes, puisqu'il existe du polymorphisme entre le parent portant la résistance apportée par *S. sparsipilum* et les variétés/clones testés et utilisés en croisement.
- Pour les marqueurs Asc070 et MS133: Il est indispensable de s'assurer que les marqueurs liés à l'allèle de résistance ne soient pas masqués par la présence d'un marqueur présent chez le parent sensible. Si cela est le cas, il sera impossible, sur la base du génotypage, de vérifier si dans la descendance l'allèle vient du parent résistant ou du parent sensible.

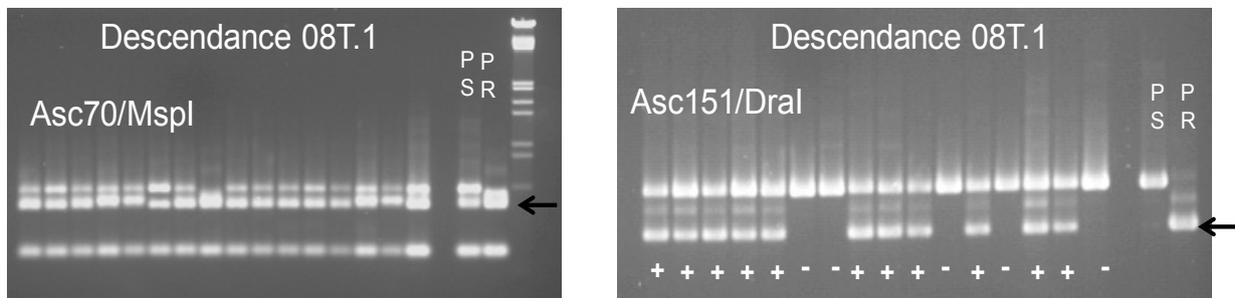


Figure 6 : Exemple de génotypage d'une descendance tétraploïde issue d'un parent résistant (PR) et d'un parent sensible (PS). L'allèle de résistance est indiqué par la flèche noire. Pour le marqueur Asc70, il existe une bande amplifiée chez le parent sensible; ce marqueur n'est donc pas utilisable en SAM. Pour le marqueur Asc151, il existe du polymorphisme entre les 2 parents. La présence de l'allèle de résistance dans la descendance est indiquée par un +.

Nous avons montré que l'association des 2 QTL *GpaV_{spl}* et *GpaXI_{spl}* induisait la formation d'une nécrose (Caromel *et al*, 2005) et qu'un génotype doit posséder les 2 QTL pour que la plante présente une résistance durable et à spectre large (Caromel *et al*, 2008). Deux marqueurs localisés du même côté du QTL *GpaXI_{spl}* cartographiés en position télomérique sur le chromosome XI permettent de suivre ce QTL en SAM. Par ailleurs, le polymorphisme de ces marqueurs dans différents fonds génétiques a été examiné.

Concernant la source *S. sparsipilum* de résistance à *Globodera pallida*, les 4 marqueurs permettant de suivre le QTL *GpaV_{spl}* et les 2 marqueurs permettant de suivre le QTL *GpaXI_{spl}* ont été mis à disposition des sélectionneurs français. Ces marqueurs sont maintenant intégrés, à des échelles différentes, dans les schémas de sélection des obtenteurs (S. Marhadour, non publié).

2 – Validation des marqueurs publiés, dans d'autres fonds génétiques tétraploïdes.

2-1 La résistance au virus Y (PVY)

Parmi les deux sources principales de résistance au virus Y, *S. stoloniferum* et *S. andigena*, l'origine *S. stoloniferum* semble la plus utilisée dans les variétés européennes. La résistance, de type immune au virus Y, est contrôlée par le gène *Ry*, cartographié sur le chromosome XII (Brigneti *et al*, 1997 ; Flis *et al*, 2005 ; Song *et al*, 2005).

Une liste de génotypes et/ou variétés déclarées immunes à PVY a été établie sur la base d'informations extraites à partir de « Geniteurslijst 1991 », et du site internet de la « Potato Pedigree Database », et de variétés connues pour être sensibles au virus Y d'après la notation CTPS. Enfin, des ADN ont été choisis au hasard dans la collection FN3PT (Fédération Nationale des Producteurs de Plants de

Pomme de Terre) utilisée pour l'identification variétale. Au total, 95 génotypes ont été testés pour les marqueurs les plus intéressants.

Sur une liste de 9 marqueurs extraits de la bibliographie, 6 ont été écartés et pour trois marqueurs (GP122₅₆₄/*EcoRV*, YES-3A et GP122₄₀₆/*EcoRV*), un polymorphisme lié à la résistance a été observé sur l'ensemble des 95 génotypes et variétés testés, sauf dans le cas de Corine et Santé. Le polymorphisme révélé par un de ces marqueurs est illustré sur la Figure 7.

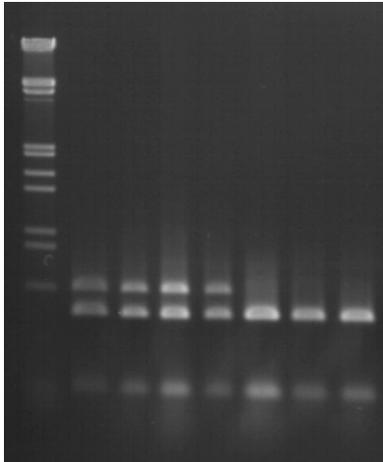


Figure 7 : Exemple de polymorphisme relevé par le marqueur GP122₅₆₄/*EcoRV* sur des variétés résistantes au PVY porteuses de *Ry_{sto}* (+) et sur des variétés sensibles (-).

Les tests ayant été réalisés sur un grand nombre de variétés montrent que le risque de faux positifs est faible. Les marqueurs sont faciles à mettre en œuvre et les tests de robustesse montrent que ces marqueurs sont peu sensibles aux principales variations susceptibles d'être rencontrées d'un laboratoire à l'autre. Le transfert a été réalisé en 2008 dans trois laboratoires des sélectionneurs français (S. Marhadour, non publié). Depuis cette date, un seul faux positif a été détecté.

Le principal risque lié à l'utilisation de ces marqueurs réside dans la possible rupture de la liaison entre les marqueurs et le gène. Ce risque semble cependant assez faible car les marqueurs se sont révélés efficaces dans une gamme étendue de variétés. Ce risque pourrait encore être réduit si l'on disposait d'un marqueur de chaque côté du gène. L'obtention de ce marqueur nécessiterait de procéder à la cartographie génétique de la zone ainsi qu'au phénotypage d'une population en ségrégation pour la résistance.

2-2 La résistance au Mildiou

L'objectif était de tester les marqueurs publiés, liés aux gènes *R* issus de *Solanum demissum* qui confèrent une résistance de type hypersensibilité au mildiou du feuillage. Ces gènes ont été introduits dans les variétés de pomme de terre cultivées dès le XIX^{ème} siècle.

Dans le cas du gène *R1*, un marqueur défini par l'équipe qui a cloné le gène (Ballvora *et al*, 2002) a été utilisé et a permis la détection du gène dans les génotypes où il était suspecté mais aussi dans d'autres génotypes où il était moins attendu, *i.e.* les hôtes différentiels 5, 6 et 9. Ces résultats ont été confirmés simultanément par Trognitz et Trognitz (2007). Un travail sur les conditions d'amplification a permis d'obtenir un fragment spécifiquement lié au gène *R1*.

Le gène *R3a* a été lui aussi cloné (Huang *et al*, 2004). Le travail initié n'a pas permis, pour le moment, de trouver de marqueur spécifique.

Le gène *R2* n'était pas cloné au moment du projet et des marqueurs cartographiés à proximité du gène ont été testés. Les résultats montrent que les marqueurs amplifient la plupart du temps une bande mais

qu'il n'y pas de polymorphisme direct lié à la présence du gène. Le travail n'a pas été poursuivi puisque les probabilités de trouver du polymorphisme lié au gène sont trop faibles du fait de la distance génétique entre les marqueurs et le gène.

Pour les gènes *R* de *S. demissum*, les résultats dépendent donc de la définition des marqueurs (dans le gène ou lié au gène). Certains de ces gènes *R* sont déjà contournés par les souches de mildiou observés sur le terrain et sont donc peu intéressants pour la sélection. Toutefois, leur caractérisation moléculaire reste un objectif pour la description des génotypes dans les collections variétales ou d'hybrides.

2-3 Résistance à *Globodera rostochiensis*

Le gène *H1* confère une résistance totale au nématode à kyste *Globodera rostochiensis*. Au moment du projet, ce gène était en cours de clonage (Bakker *et al*, 2004). Un marqueur proche du gène publié par Niewöhner (1995), puis par Skupinova *et al* (2002) a été testé sur une gamme de génotypes. Les résultats ont montré que le polymorphisme observé n'était pas lié à la présence du gène *H1*. Plus récemment, le gène *H1* ayant été cartographié finement (Finkers-Tomczak *et al*, 2011), Schultz *et al* (2012) ont testé l'efficacité de deux marqueurs sur plus de 300 cultivars australiens et écossais et montré une très forte liaison entre ces marqueurs et la résistance. Ces marqueurs sont utilisés dans plusieurs laboratoires des sélectionneurs français depuis 2011, pour suivre le gène *H1* lors du processus de sélection.

Conclusion

L'intérêt de la sélection assistée par marqueurs dépend de la complexité du déterminisme génétique du caractère et, bien sûr, du coût du phénotypage du caractère.

- Dans le cas d'un caractère à déterminisme simple, les marqueurs définis dans la séquence du gène semblent faciles à suivre dans différents fonds génétiques (cas du gène *R1*). Pour un marqueur lié au gène détecté dans une population donnée, la liaison avec le caractère peut être perdue lorsqu'on analyse des génotypes non apparentés. De plus, les polymorphismes mis en évidence dans la population d'origine ne sont pas forcément retrouvés dès qu'on change de fond génétique.

Il apparaît également que des marqueurs liés à des introgressions interspécifiques soient faciles à suivre même si le marqueur n'est pas défini dans le gène (cas la résistance au virus Y apporté par la source *S. stoloniferum*). Cela est probablement dû aux suppressions de recombinaisons qui sont fréquemment observées dans les régions chromosomiques introgressées d'espèces sauvages (Seah *et al*, 2004).

- Concernant les résistances de type oligogénique, la sélection assistée par marqueurs ne sera intéressante que si les déterminants génétiques sont faciles à suivre et les coûts de phénotypage supérieurs aux coûts de génotypage.

Pour la résistance à *G. pallida*, des marqueurs flanquant les QTL *GpaV_{spI}* et *GpaXI_{spI}* ont été validés dans différents fonds génétiques diploïdes et tétraploïdes. L'INRA a mis du matériel végétal amélioré à disposition des sélectionneurs français dans le cadre d'une convention qui lie l'Institut à l'ACVNPT (Association des Créateurs de Variétés Nouvelles de Pomme de Terre). L'utilisation de ce matériel et des marqueurs moléculaires associés permet désormais un suivi des QTL impliqués dans la résistance au fur et à mesure des croisements.

De nouveaux marqueurs dérivant de la séquence du gène présent au locus *GpaV_{spI}* sont disponibles et sous le couvert d'un brevet (WO2011080329) déposé par l'INRA en 2009.

Concernant les 2 autres sources de résistance à *G. pallida* (*S. spegazzinii*, et *S. vernei*), les QTL à effet fort *GpaV_{spg}* et *GpaV_{vm}* cartographiés sur le chromosome V en position colinéaire à *GpaV_{spl}* pourront être « tracés » à l'aide des marqueurs définis dans l'intervalle GP21-GP179 (Chauvin et al, 2012 ; Bryan et al, 2002 ; Rouppe van der Voort et al, 2000) et surtout grâce à des marqueurs définis à partir de la séquence de *GpaV_{spl}*, les allèles à ce locus présentant une forte homologie.

- Le développement de la sélection assistée par marqueurs dans le cas d'une résistance polygénique paraît plus compliqué. Il faut pouvoir définir des marqueurs qui permettent de suivre individuellement chacun des QTL. Si la SAM ne semble pas pertinente pour l'instant dans le cadre des programmes de résistance au mildiou du feuillage, il ne faut pas pour autant l'exclure définitivement puisqu'il existe des nouvelles sources de résistance plus intéressantes et encore non exploitées (Marhadour et al, 2012). D'autre part, des travaux de cartographie fine du QTL *PiX_{spg}* ont été conduits après la fin du contrat de branche et permettent désormais de suivre l'allèle favorable à ce locus qui explique une part de la résistance au mildiou et est stable face à différentes souches.

Les résultats présentés illustrent surtout la portabilité de marqueurs PCR ou CAPs. Les avancées en biotechnologie permettent désormais d'avoir accès à d'autres types de marqueurs comme les marqueurs de type SNP (Single Nucleotide Polymorphism). Par ailleurs, la séquence complète du génome de la pomme de terre est maintenant accessible. Ainsi, on peut raisonnablement imaginer le développement rapide de nombreux marqueurs dans les zones chromosomiques d'intérêt. Il ne faut cependant pas sous-estimer la difficulté du passage de matériel spécifiquement créé pour des études génétiques à du matériel de sélection tétraploïde, ni celle liée à l'utilisation des marqueurs dans des fonds génétiques diversifiés.

Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier le personnel technique de l'UMR IGEPP pour sa participation au génotypage et au phénotypage. Nous remercions également le Centre de Ressources Biologiques « BRACySol » pour la mise à disposition d'une partie du matériel végétal. Ces recherches ont bénéficié du soutien financier du Ministère de l'Agriculture (Convention N° 05-03-Pdterre, période 2005-2008) et de la Communauté Européenne (projets Apophys et Bioexploit), de la Fédération Nationale de Producteurs de Plants de Pomme de Terre, de la Société Germicopa et de l'Association des Créateurs de Variétés Nouvelles de Pomme de Terre.

Références bibliographiques

- Bakker E., Bakker J., van Vliet J., Coppoolse E., van der Vossen E., van Eck H., Bakker J., Govere A., 2004. High-resolution mapping of the H1 locus conferring resistance to the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis* using an ultra-dense genetic map. 1st SOL Genome Workshop, Wageningen.
- Ballvora A., Ercolano M.R., Weib J., Meksem K., Bormann C.E., Oberhagemann P., Salamini F., Gebhardt C., 2002. The R1 gene for potato resistance to late blight (*Phytophthora infestans*) belongs to the leucine zipper/ NBS/LRR class of plant resistance genes. The Plant Journal 30, 361-371.
- Brigneti G., Garcia-Mas J., Baulcombe D.C., 1997. Molecular mapping of the potato virus Y resistance gene *Ry_{sto}* in potato. Theoretical and Applied Genetics 94, 198-203.
- Bryan G.J., McLean K., Bradshaw J.E., Jong W.S.d., 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*. Theor. Appl. Genet. 105, 68-77.
- Caromel B., Kerlan M.C., Aarrouf J., Rouaux C., Lama N., Dantec J.P., Mugniéry D., Lefebvre V., 2008. The combination of resistance alleles at a major and minor effect QTLs confers a broad

spectrum resistance to *Globodera pallida*. In 5th Solanaceae Genome Workshop (Cologne, Germany), pp. 235.

Caromel B., Mugniéry D., Kerlan M.C., Andrzejewski S., Palloix A., Ellissèche D., Rousselle-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 (11), 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.

Caromel B., 2004. Cartographie génétique et étude de QTL conférant la résistance au nématode à kyste *Globodera pallida* (Stone) chez la pomme de terre (*Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum* L.). Thèse de doctorat de l'université Paris XI, 133 pages

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. 9th Solanaceae Conference, From bench to innovative applications, August 26-30, 2012, Neuchâtel, Suisse, Abstract book p44

Danan S., Chauvin J.E., Caromel B., Moal J.D., Pellé R., Lefebvre V., 2009. Major-effect QTLs for stem and foliage resistance to late blight in the wild potato relatives *Solanum sparsipilum* and *S. spegazzinii* are mapped to chromosome X. *Theor. Appl. Genet.* 119, 705-719.

Finkers-Tomczak A.M., Bakker E., et al. 2011. Comparative sequence analysis of the potato cyst nematode resistance locus H1 reveals a major lack of colinearity between three haplotypes in potato (*Solanum tuberosum* ssp.). *Theoretical and Applied Genetics* 122, 595-608.

Flis B., Hennig J., Strelczyk-Zyta D., Gebhardt C., Marczewski W., 2005. The R_Y-f_{sto} gene from *Solanum stoloniferum* for extreme resistance to *Potato Virus Y* maps to potato chromosome XII and is diagnosed by PCR marker GP122₇₁₈ in PVY resistant potato cultivars. *Molecular Breeding* 15, 95-101.

Grattapaglia D., Sederoff R., 1994. Genetic linkage maps of *Eucalyptus grandis* and *E. urophylla* using a pseudo-testcross mapping strategy and RAPD markers. *Genetics* 137, 1121-1137.

Huang S., Vleeshouwers G.A., Werij J.S., Hutten R., Van Eck H., Visser R.G.F., Jacobsen E., 2004. The R3 resistance to *Phytophthora infestans* in potato is conferred by two closely linked R genes with distinct specificities. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 17, 428-435.

Kerlan M.C., Caromel B., Chauvin L., Mugniéry D., Quéré J., Dantec J.P., Grenier E., Lefebvre V., Chauvin J.E., 2009. Efficiency of the marker-assisted introgression of the cyst nematode resistance originating from *Solanum sparsipilum* into different diploid potato backgrounds. Proceedings of the third COST 872 Annual Meeting, 26-28 may 2009, Toledo (Spain).

Kerlan M.C., Bonnel E., Marhadour S., Caromel B., Chauvin J.E., 2010. Glycoalkaloid contents in a family from a cross between a diploid *Solanum tuberosum* and a diploid *S. sparsipilum* are under polygenic control. EAPR Meeting, section Breeding and Varietal Assessment, 27-30 June 2010, Wageningen, The Netherlands.

Marhadour S., Méar A., Pellé R., Abiven J.M., Aurousseau F., Dubreuil H., Le Hingrat Y., Chauvin J.E., 2012. Markers assisted selection for late blight resistance in tetraploid potato, experience on the use of the potato genome sequence and SNP genotyping, 9th Solanaceae Conference: from the bench to innovative applications, University of Neuchâtel, Neuchâtel, Switzerland. pp. 90.

Niewöhner J., Salamini F., Gebhardt C., 1995. Development of PCR assays diagnostic for RFLP marker alleles closely linked to alleles *Gro1* and *H1*, conferring resistance to the root cyst nematode *Globodera rostochiensis* in potato. *Molecular Breeding* 1, 65-78.

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. *Theor. Appl. Genet.* 101, 1122-1130

Schultz L., Cogan N.O.I., McLean K., Dale M.F.B., Bryan G.J., Forster J.W., Slater A.T., 2012. Evaluation and implementation of a potential diagnostic molecular marker for *H1*-conferred potato cyst nematode resistance in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plant Breeding* 131, 315-321.

Seah S., Yaghoobi J., Rossi M., Gleason C.A., Williamson V.M., 2004. The nematode-resistance gene, Mi-1, is associated with an inverted chromosomal segment in susceptible compared to resistant tomato. *Theor. Appl. Genet.* 108, 1635-1642.

Skupinova S., Vejl P., Sedlak P., Domkarova J., 2002. Segregation of DNA markers of potato (*Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum* L.) resistance against Ro1 pathotype *Globodera rostochiensis* in selected F1 progeny. *Rostlinna vyroba* 48, 480-485.

Song Y.S., Hepting L., Schweizer G., Hartl L., Wenzel G., Schwarzfischer A., 2005. Mapping of extreme resistance to PVY (Ry_{sto}) on chromosome XII using anther-culture-derived primary dihaploid potato lines. *Theoretical and Applied Genetics* 111, 879-887.

Trognitz B.R., Trognitz F.C., 2007. Occurrence of the R1 allele conferring resistance to late blight in potato R-gene differentials and commercial cultivars. *Plant Pathology* 56, 150-155.