

Amélioration génétique de la moutarde brune (*Brassica juncea*)

Apports du marquage moléculaire pour la création de génotypes de type hiver



Le programme de sélection génétique de la moutarde brune

Objectifs de sélection:

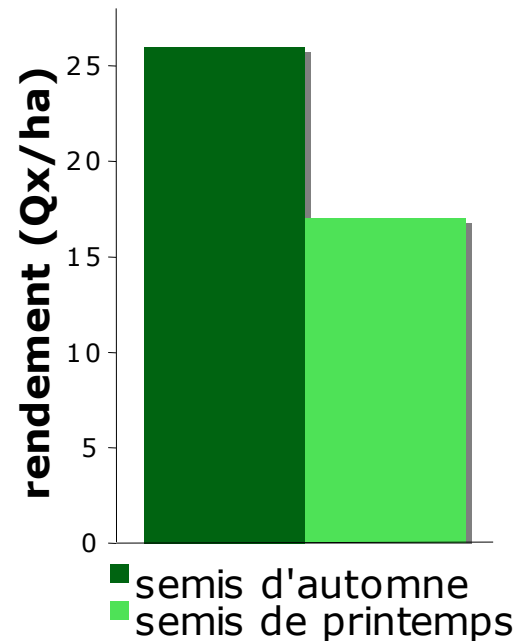
Améliorer - le rendement

développer des variétés résistantes au froid



Semis 15-03

Semis 15-09



- la qualité technologique

Six variétés inscrites au catalogue officiel

Une variété en cours d'inscription



Projet : création de génotypes de type hiver (Déc 2010)

Contexte :

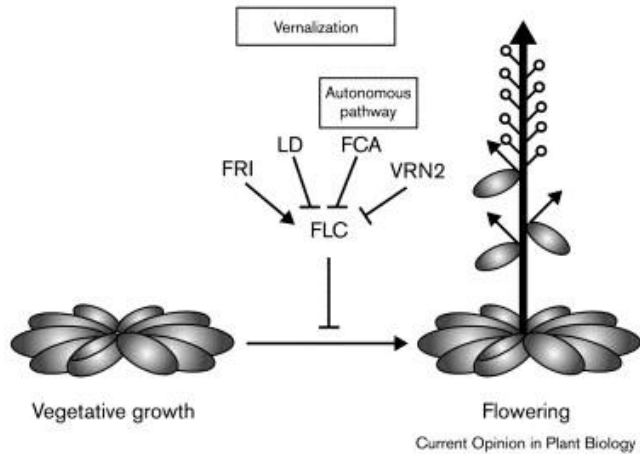
80% des semis de moutarde brune sont réalisés en automne
Pas de vraies variétés d'hiver (sans besoin de vernalisation)

Objectifs du projet :

Introduire des gènes de vernalisation par croisement interspécifique avec le colza

Explorer la variabilité intraspécifique chez *B. juncea*

Vernalisation chez les Brassicacées : Arabidopsis, colza (*B. napus*) et moutarde brune



Chez le colza, un gène majeur BnFLC confère le besoin de vernalisation (analogue à AtFLC)

Deux types de cultivars de colza cultivés :
- les variétés d'hiver (Europe)
- les variétés de printemps (Canada)

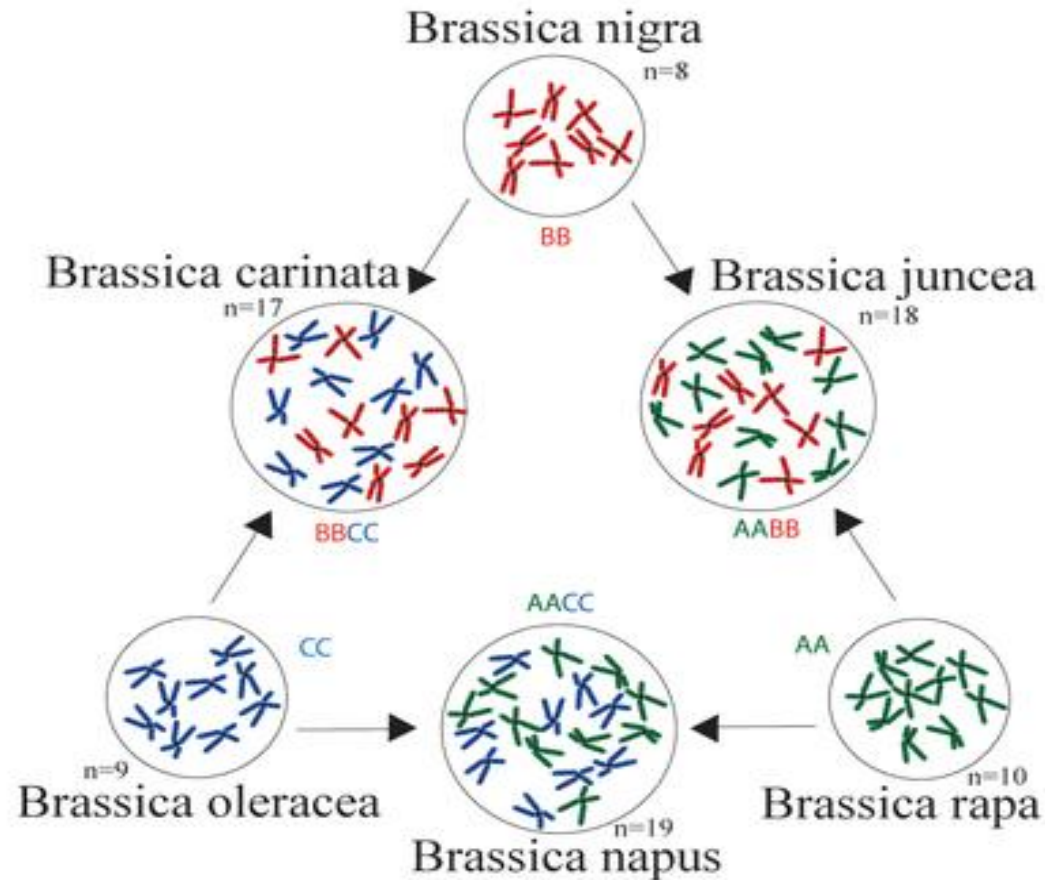
Chez *Brassica juncea*, pas de variétés de type hiver adaptées aux conditions européennes.

Des homologues au gène FLC ont été identifiées récemment

Bonne conservation des gènes régulant la transition de la phase végétative à la phase florale

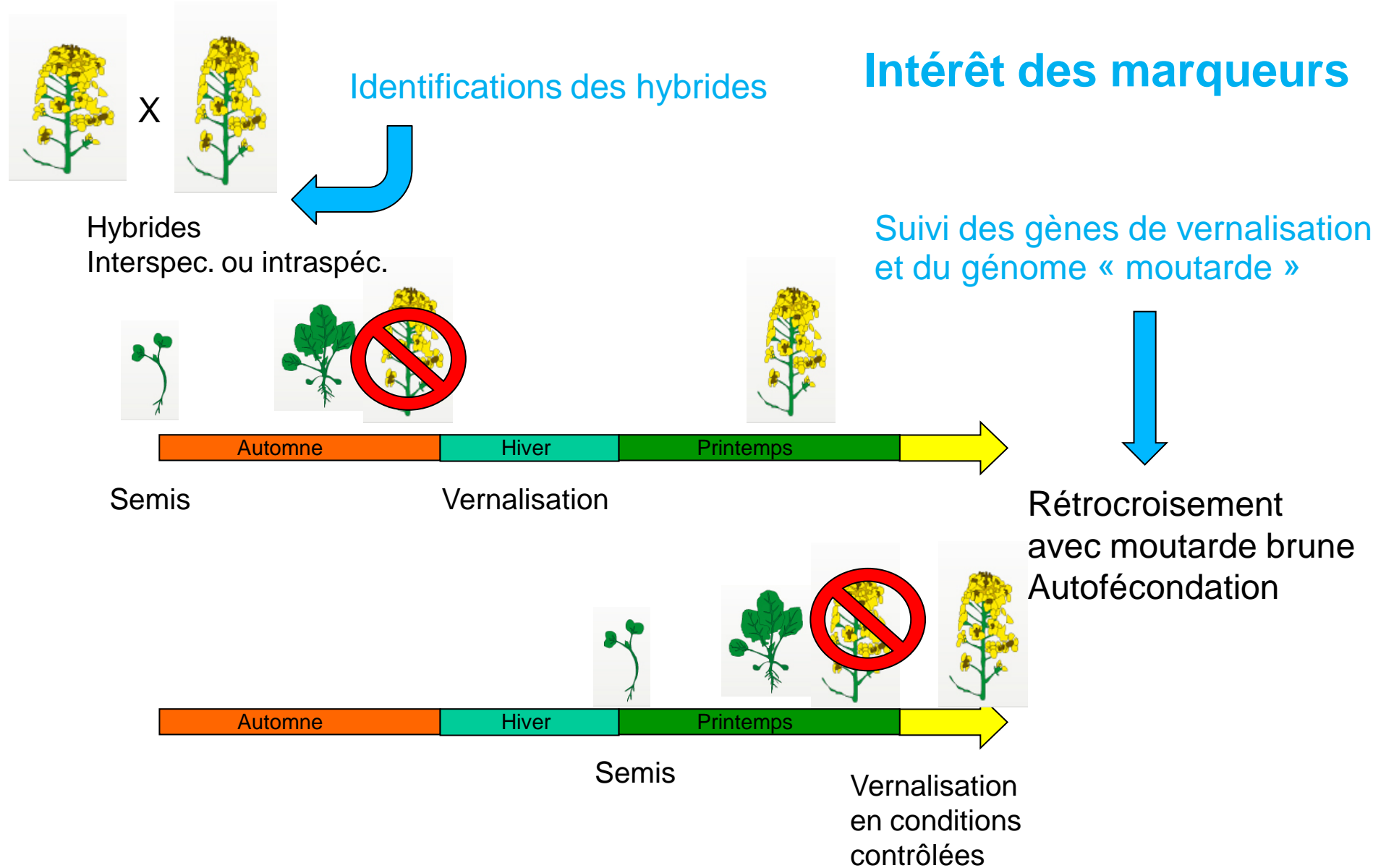
Il existe des gènes majeurs qui peuvent être transférés

Réalisation de croisements interspécifiques entre la moutarde brune et des variétés de colza d'hiver

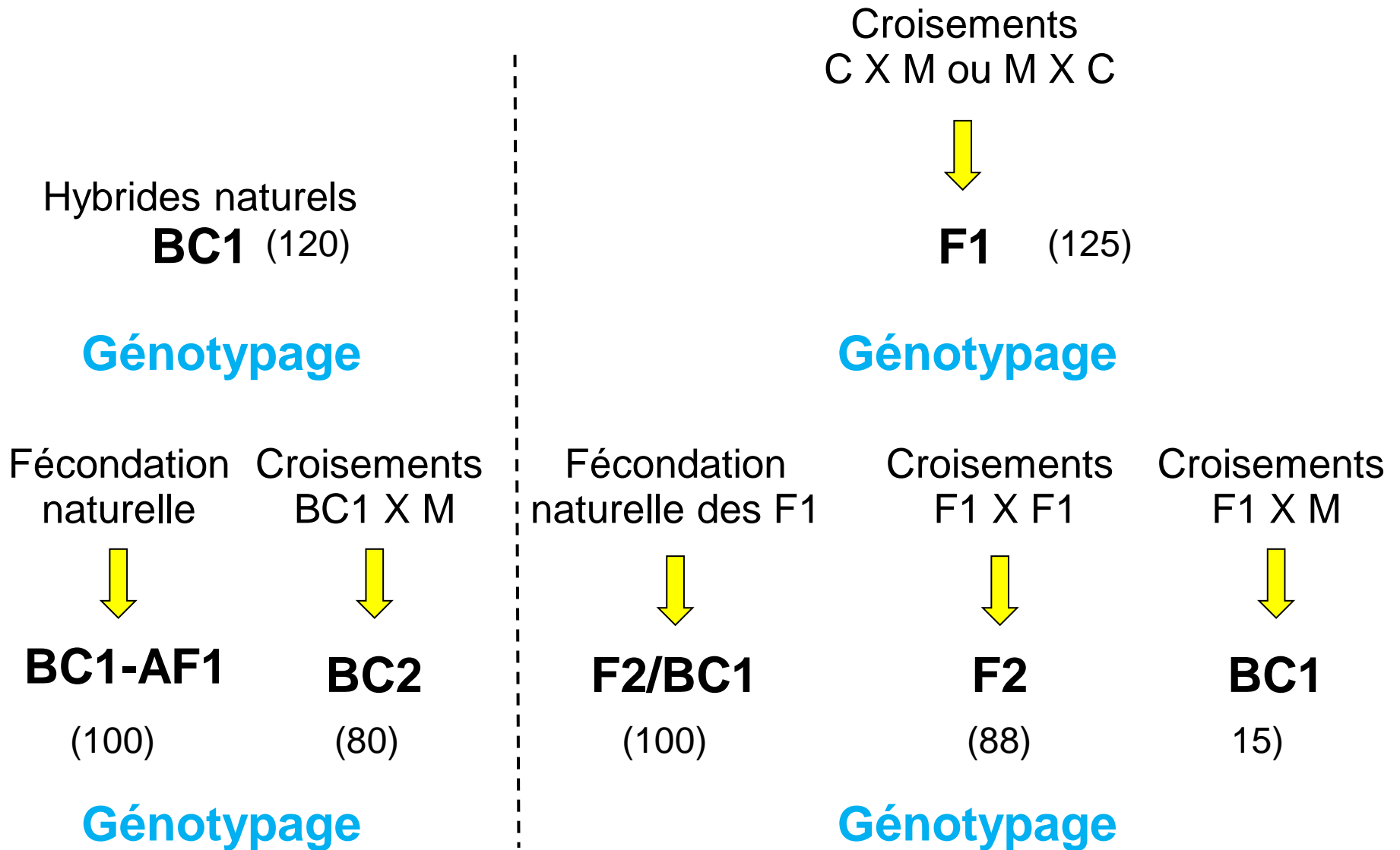


Les relations au sein des *Brassica*

Réalisation de croisements interspécifiques entre la moutarde brune et des variétés de colza d'hiver



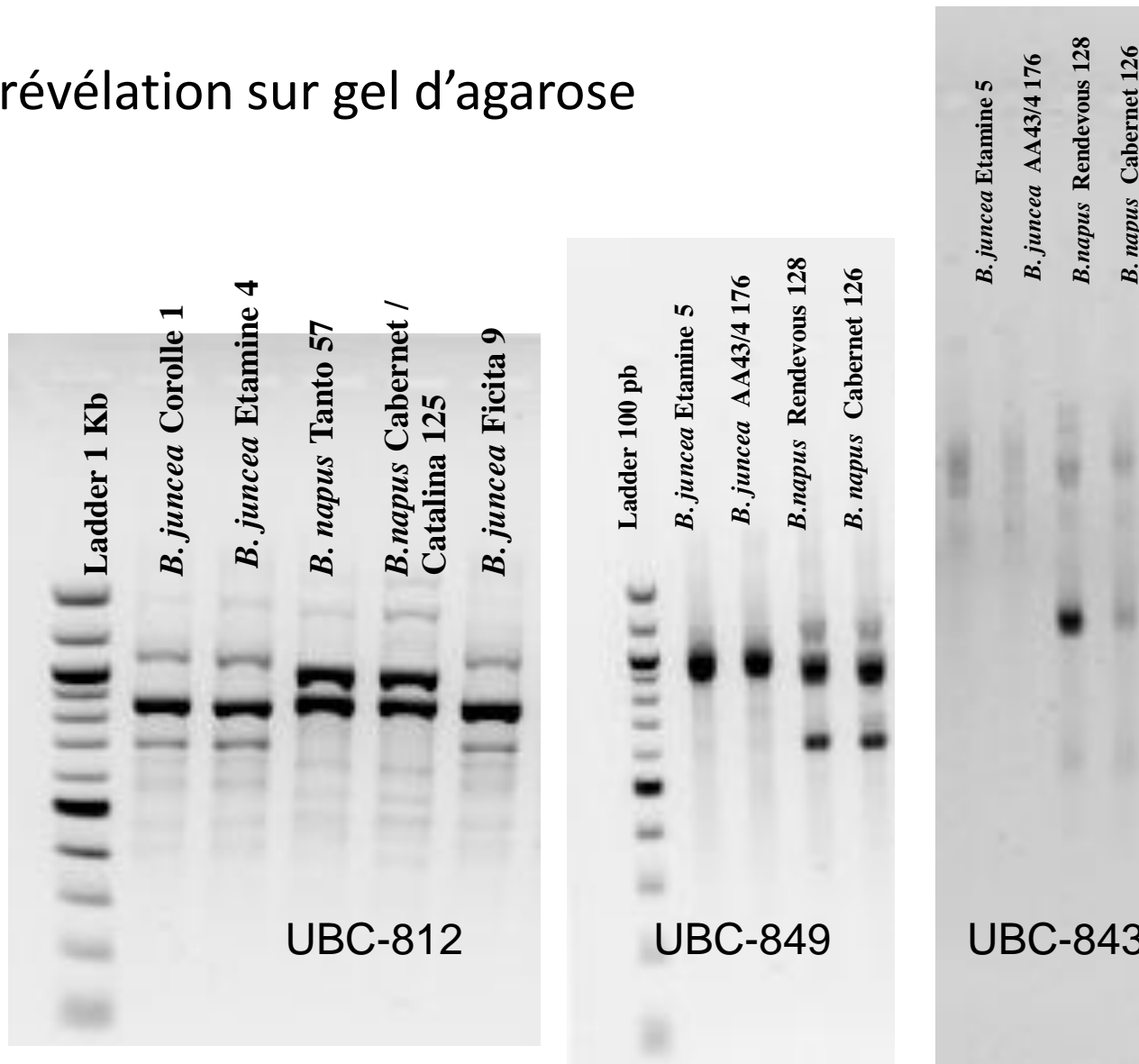
Réalisation et génotypage des hybridations interspécifiques



Recherche et développement de marqueurs moléculaires espèce-spécifiques

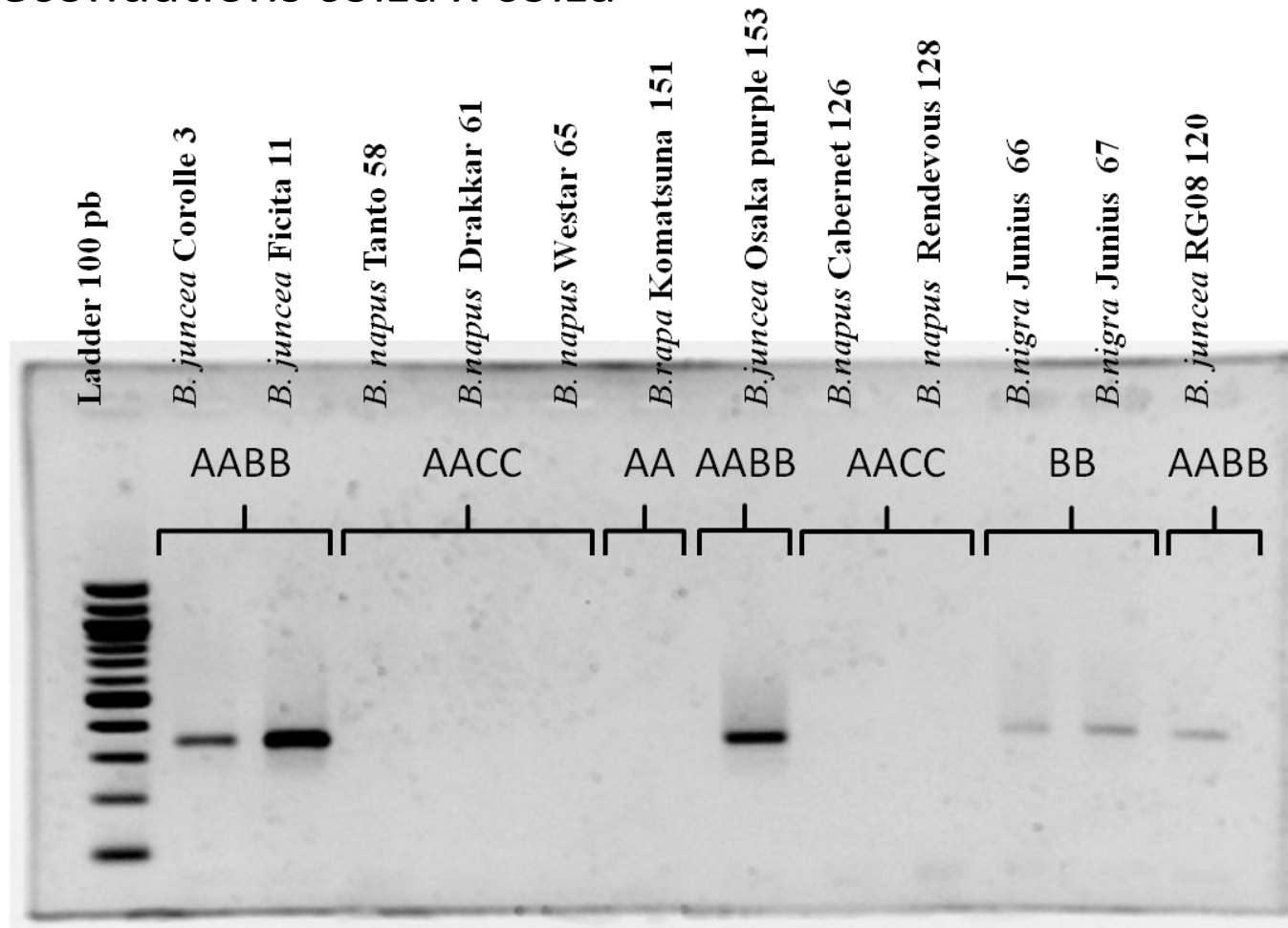
Identification de 3 marqueurs ISSR (Huangfu et al. 2011)

PCR puis révélation sur gel d'agarose



Recherche et développement de marqueurs moléculaires espèce-spécifiques

Marqueur pBNBH35 spécifique du génome B (Shelfhout et al. 2004)
Pour distinguer les hybrides colza (AACC) x moutarde (AABB) des autofécondations colza x colza

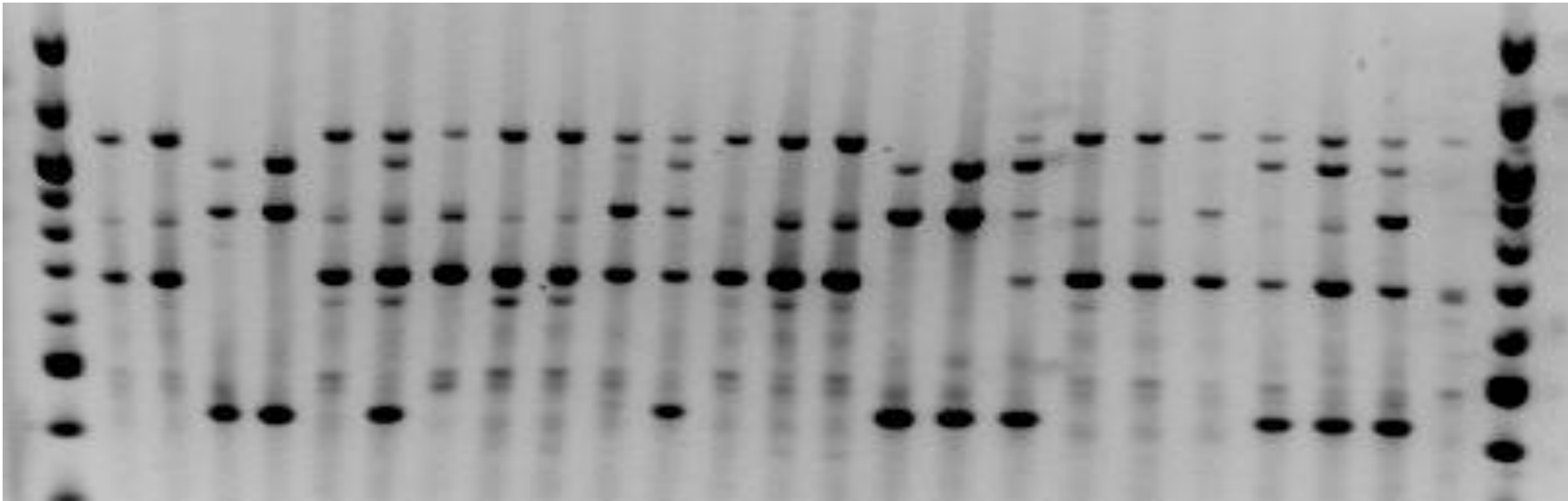


Recherche et développement de marqueurs moléculaires espèce-spécifiques

Essais 2010-2011: 20 Familles BC1 identifiées en champ

ISSR UBC 812

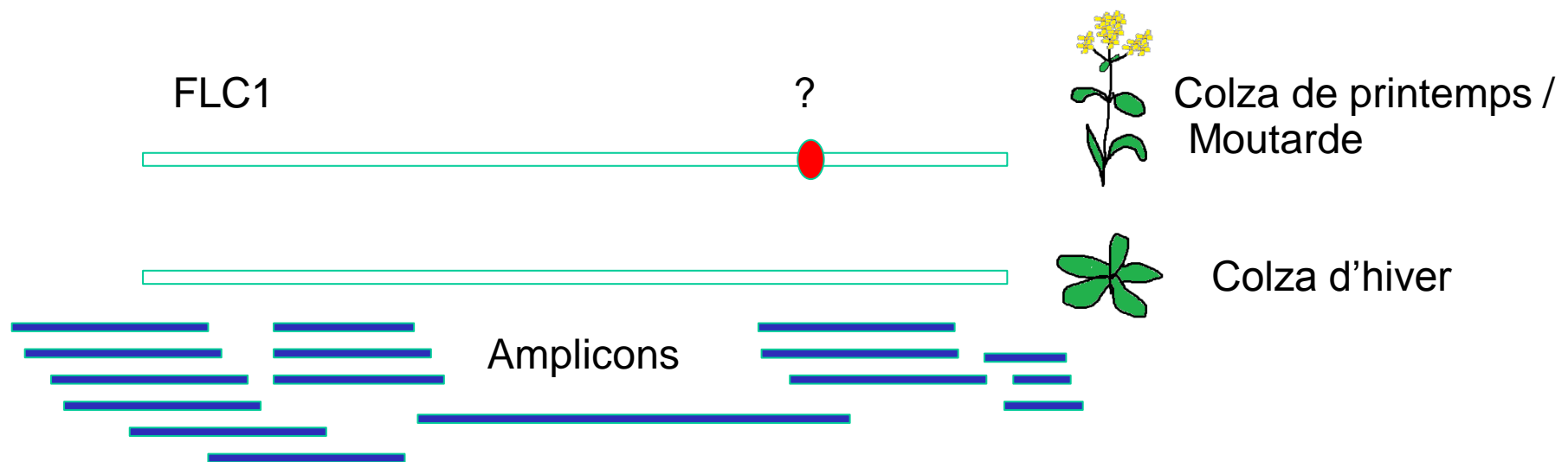
Ladder 100 pb
B. juncea Corolle 2
B. juncea Etamine 5
B. napus Drakkar 64
B. napus Rendezvous 128
Hybride ? 82
Hybride ? 83
Hybride ? 84
Hybride ? 85
Hybride ? 86
Hybride ? 87
Hybride ? 88
Hybride ? 89
B. juncea Corolle 3
B. juncea Etamine 6
B. napus Drakkar 59
B. napus Cabernet 126
Hybride ? 90
Hybride ? 91
Hybride ? 92
Hybride ? 93
Hybride ? 94
Hybride ? 95
Hybride ? 96
Hybride ? 97
Ladder 100 pb



Marquage et suivi des gènes de vernalisation

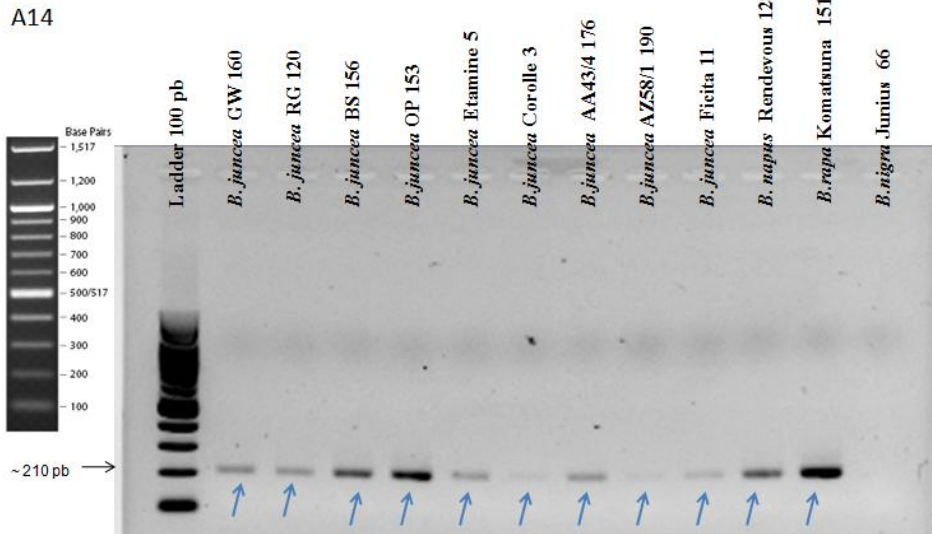
Polymorphisme du gène FLC1

Amplifications des fragments chez différents génotypes de *B. juncea* + colza d'hiver



Marquage et suivi des gènes de vernalisation

Polymorphisme du gène FLC1



Strategie PCR clonage sequençage de FLC1

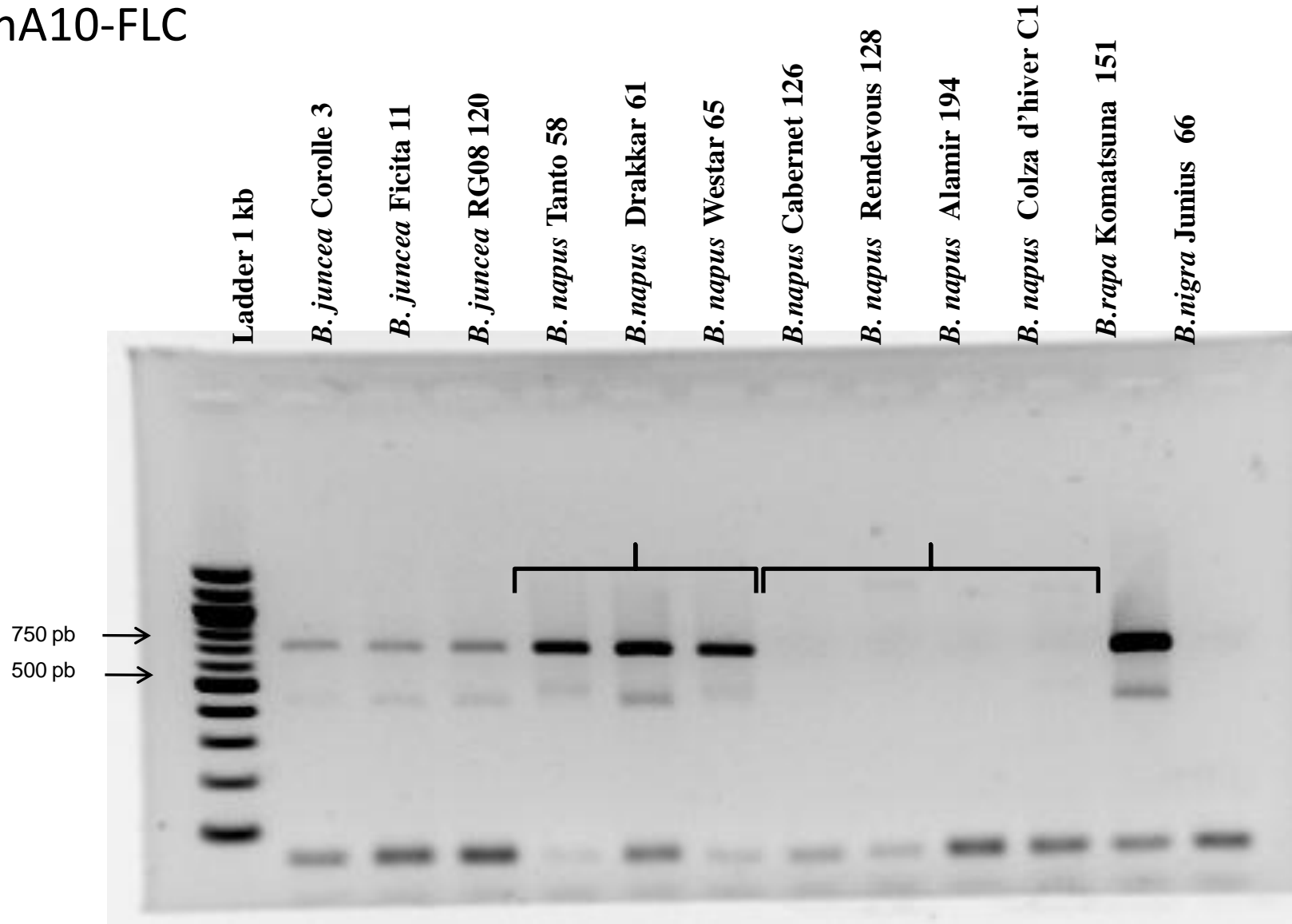
<i>B. napus</i>	{	gi 17933449 gb AY036888.1	ACAAATCTCOGACATCAATCTTCGGTAAAGCTCCCACTGCTTAATTAGT	662
		A14-10-1rc_T7	ACAAATCTCOGACATCAATCTTCGGTAAAGCTCCCACTGCTTAATTAGT	390
		A14-10-7rc_T7	ACAAATCTCOGACATCAATCTTCGGTAAAGCTCCCACTGCTTAATTAGT	183
<i>B. juncea</i>	{	A14-1-5rc_T7	ACAAATCTCOGACATCAATCTTCGGTAAAGCTCCCACTGCTTAATTAGT	373
		A14-1-6rc_T7	ACAAATCTCOGACATCAATCTTCGGTAAAGCTCCCACTGCTTAATTAGT	187
		A14-2-3rc_T7	ACAAATCTCOGACATCAATCTTCGGTAAAGCTCCCACTGCTTAATTAGT	187
		A14-2-4rc_T7	ACAAATCTCOGACATCAATCTTCGGTAAAGCTCCCACTGCTTAATTAGT	187
		A14-3-1rc_T7	ACAAATCTCOGACATCAATCTTCGGTAAAGCTCCCACTGCTTAATTAGT	187
		A14-3-3rc_T7	ACAAATCTCOGACATCAATCTTCGGTAAAGCTCCCACTGCTTAATTAGT	186
		A14-4-1rc_T7	ACAAATCTCOGACATCAATCTTCGGTAAAGCTCCCACTGCTTAATTAGT	187
		A14-4-3rc_T7	ACAAATCTCOGACATCAATCTTCGGTAAAGCTCCCACTGCTTAATTAGT	183
		A14-5-1rc_T7	ACAAATCTCOGACATCAATCTTCGGTAAAGCTCCCACTGCTTAATTAGT	812
		A14-6-4rc_T7	ACAAATCTCOGACATCAATCTTCGGTAAAGCTCCCACTGCTTAATTAGT	187
		A14-6-2rc_T7	ACAAATCTCOGACATCAATCTTCGGTAAAGCTCCCACTGCTTAATTAGT	187
		A14-7-4rc_T7	ACAAATCTCOGACATCAATCTTCGGTAAAGCTCCCACTGCTTAATTAGT	187
		A14-7-7rc_T7	ACAAATCTCOGACATCAATCTTCGGTAAAGCTCCCACTGCTTAATTAGT	183
		A14-8-1rc_T7	ACAAATCTCOGACATCAATCTTCGGTAAAGCTCCCACTGCTTAATTAGT	209
<i>B. rapa</i>	{	A14-9-1rc_T7	ACAAATCTCOGACATCAATCTTCGGTAAAGCTCCCACTGCTTAATTAGT	182
		A14-9-2rc_T7	ACAAATCTCOGACATCAATCTTCGGTAAAGCTCCCACTGCTTAATTAGT	589
		A14-11-1rc_T7	ACAAATCTCOGACATCAATCTTCGGTAAAGCTCCCACTGCTTAATTAGT	186
		A14-11-6rc_T7	ACAAATCTCOGACATCAATCTTCGGTAAAGCTCCCACTGCTTAATTAGT	186

→ Aucun polymorphisme spécifique trouvé

Marquage et suivi des gènes de vernalisation

Polymorphisme du gène FLC1

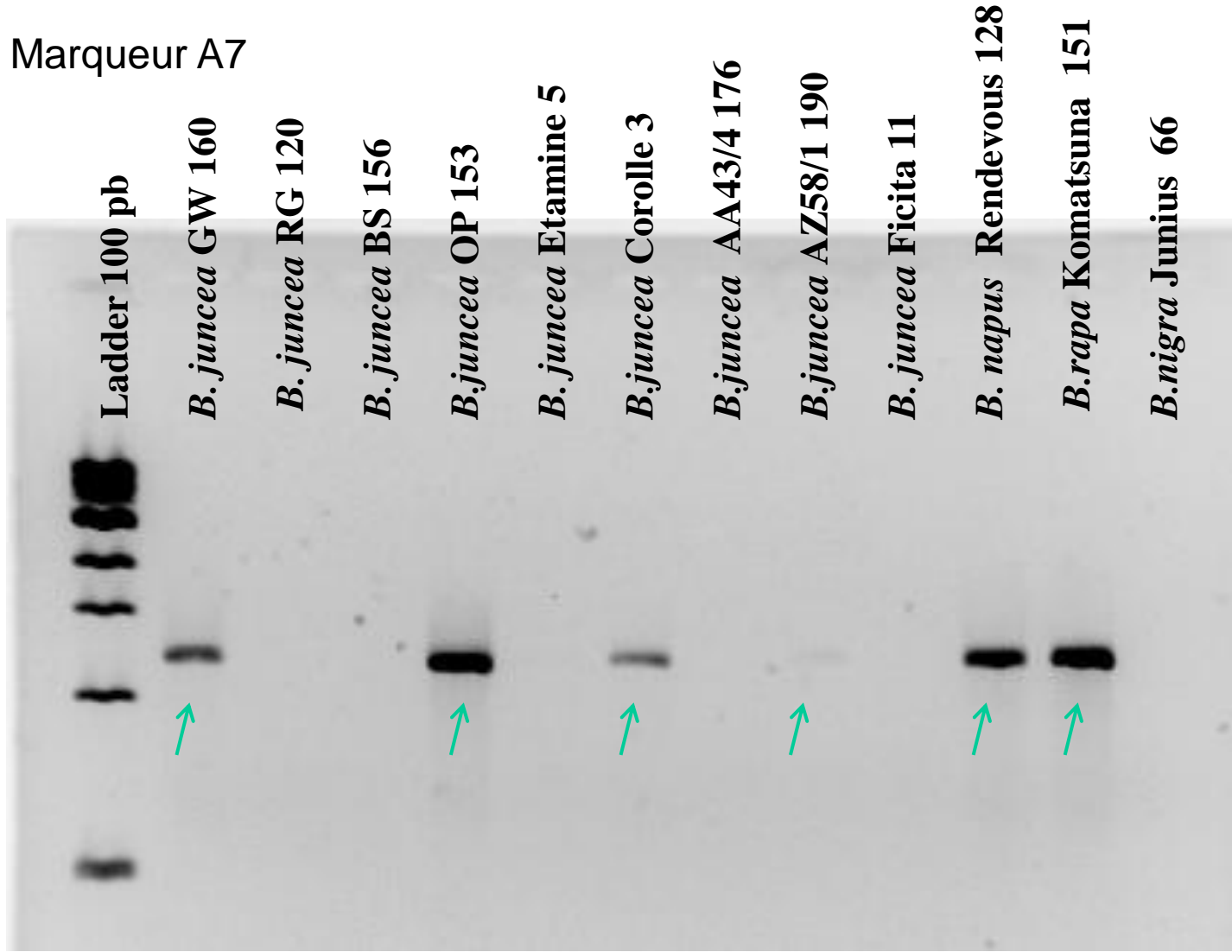
BnA10-FLC



Marquage et suivi des gènes de vernalisation

Polymorphisme du gène FLC1

Marqueur A7



Corrélation marqueurs / résistance au froid

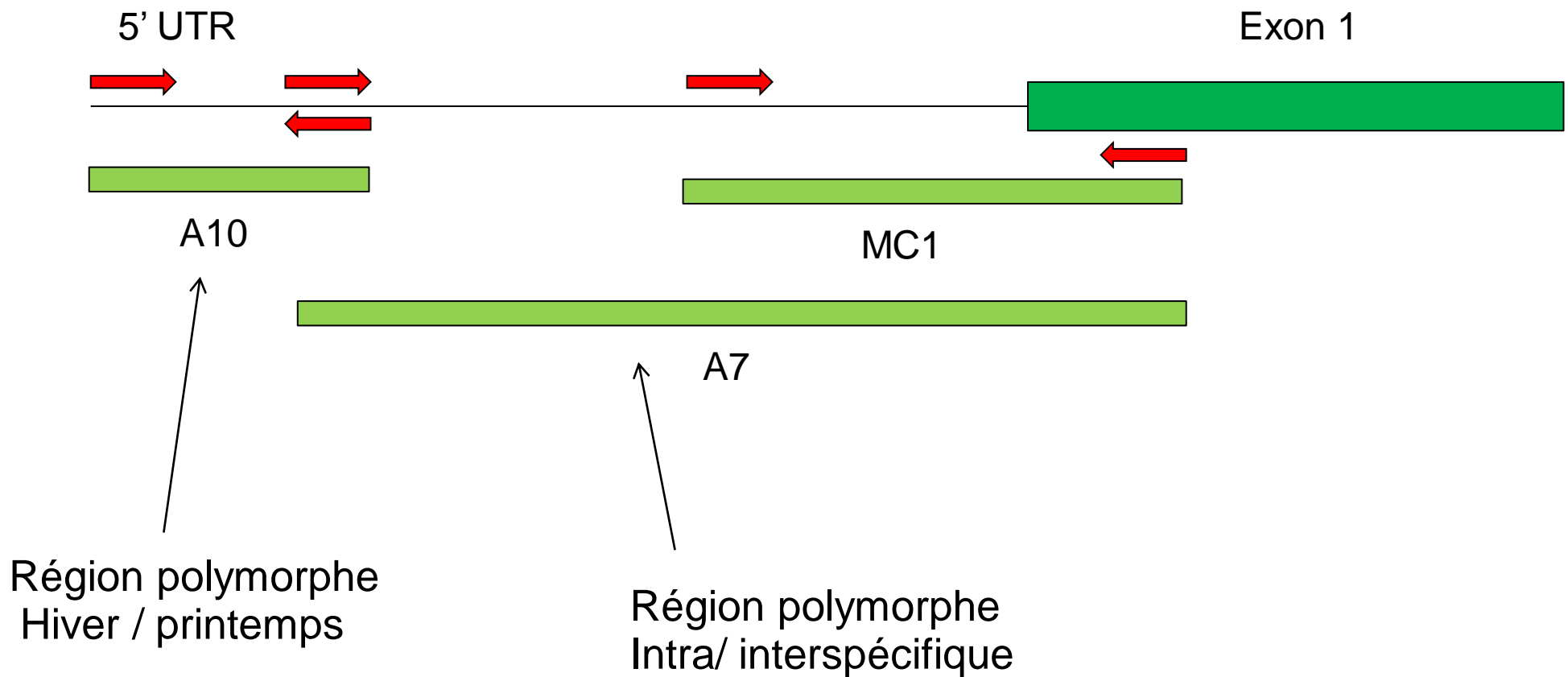
Observation d'une corrélation entre présence du marqueur A7 et la survie aux fortes gelées

Plante	Génotype	Bn83B1	UBC 812	UBC 849	A7	Survie 22/03/12
70-2	Etamine x Alamir		1	1	1	non
70-3	Etamine x Alamir		1	1	1	non
70-4	Etamine x Alamir		3	3	2	ok
70-5	Etamine x Alamir		3	3	2	ok
70-6	Etamine x Alamir		3	3	2	ok
70-7	Etamine x Alamir		3	3	2	ok
70-8	Etamine x Alamir		1	1	1	non
70-9	Etamine x Alamir		3	3	2	ok
70-10	Etamine x Alamir		3	3	2	ok
70-11	Etamine x Alamir	2		1	1	non
70-12	Etamine x Alamir	2		1	1	non
70-13	Etamine x Alamir	2		1	1	non
70-14	Etamine x Alamir	2		1	1	non
70-15	Etamine x Alamir	1		1	1	non
70-16	Etamine x Alamir	2		1	1	non
70-17	Etamine x Alamir	1		1	1	non
70-18	Etamine x Alamir	2		3	2	ok
70-19	Etamine x Alamir	1		1	1	non
70-20	Etamine x Alamir	1		1	1	non
70-21	Etamine x Alamir	2		3	2	ok
70-22	Etamine x Alamir			1	1	non



Marquage et suivi des gènes de vernalisation

Polymorphisme de la région 5' du gène FLC1



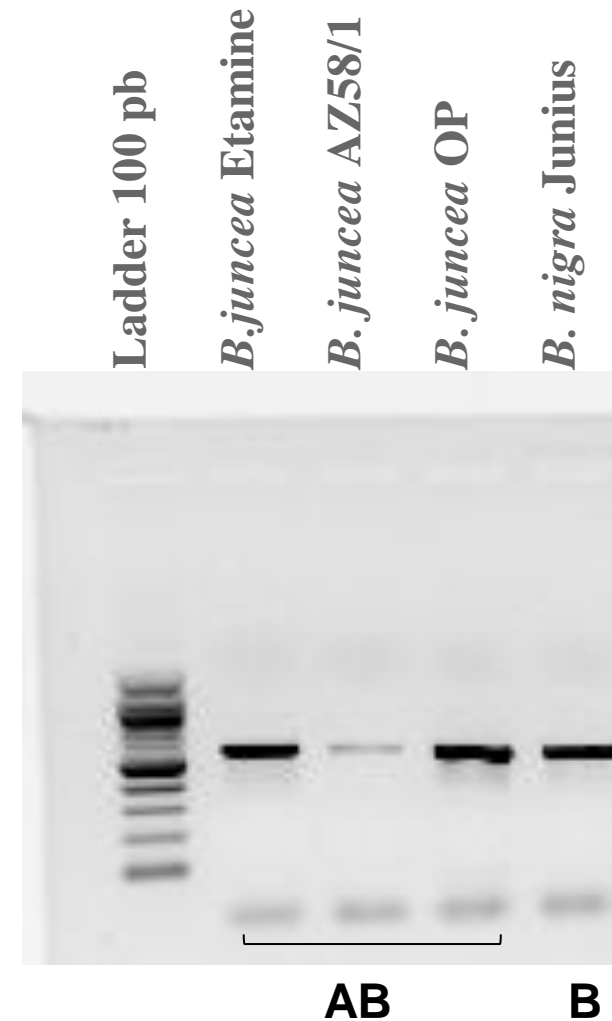
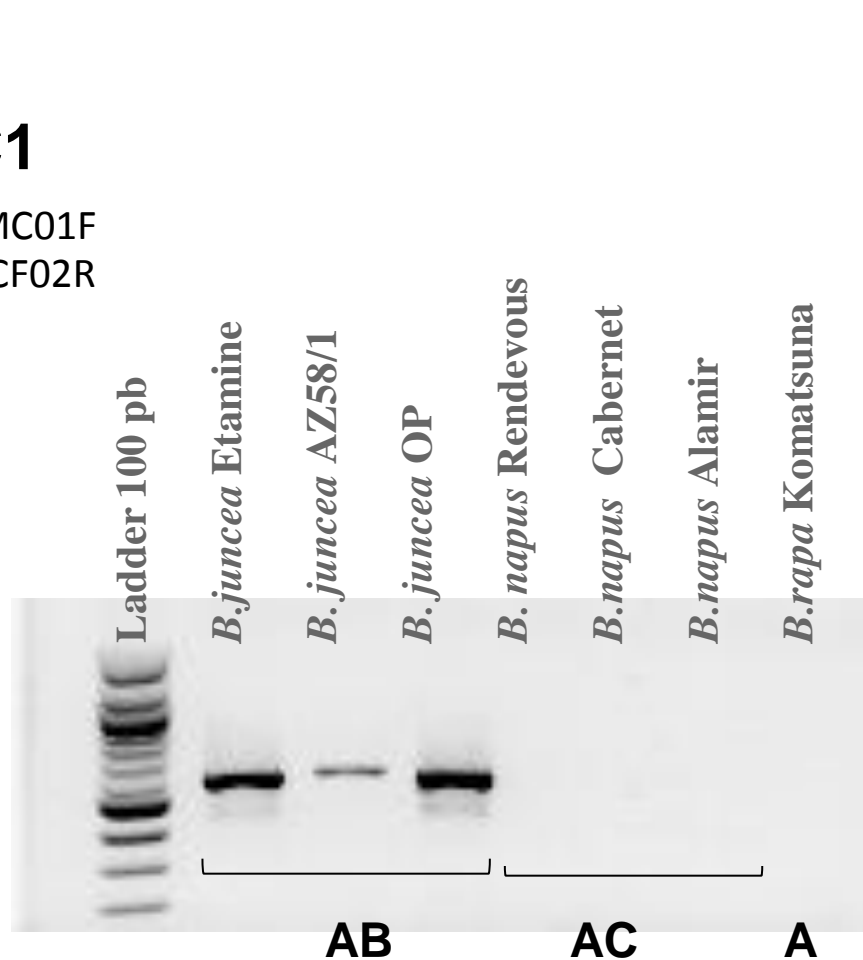
Marquage et suivi des gènes de vernalisation

Polymorphisme de la région 5' du gène FLC1

Stratégie PCR inverse : séquençage en amont de Exon1

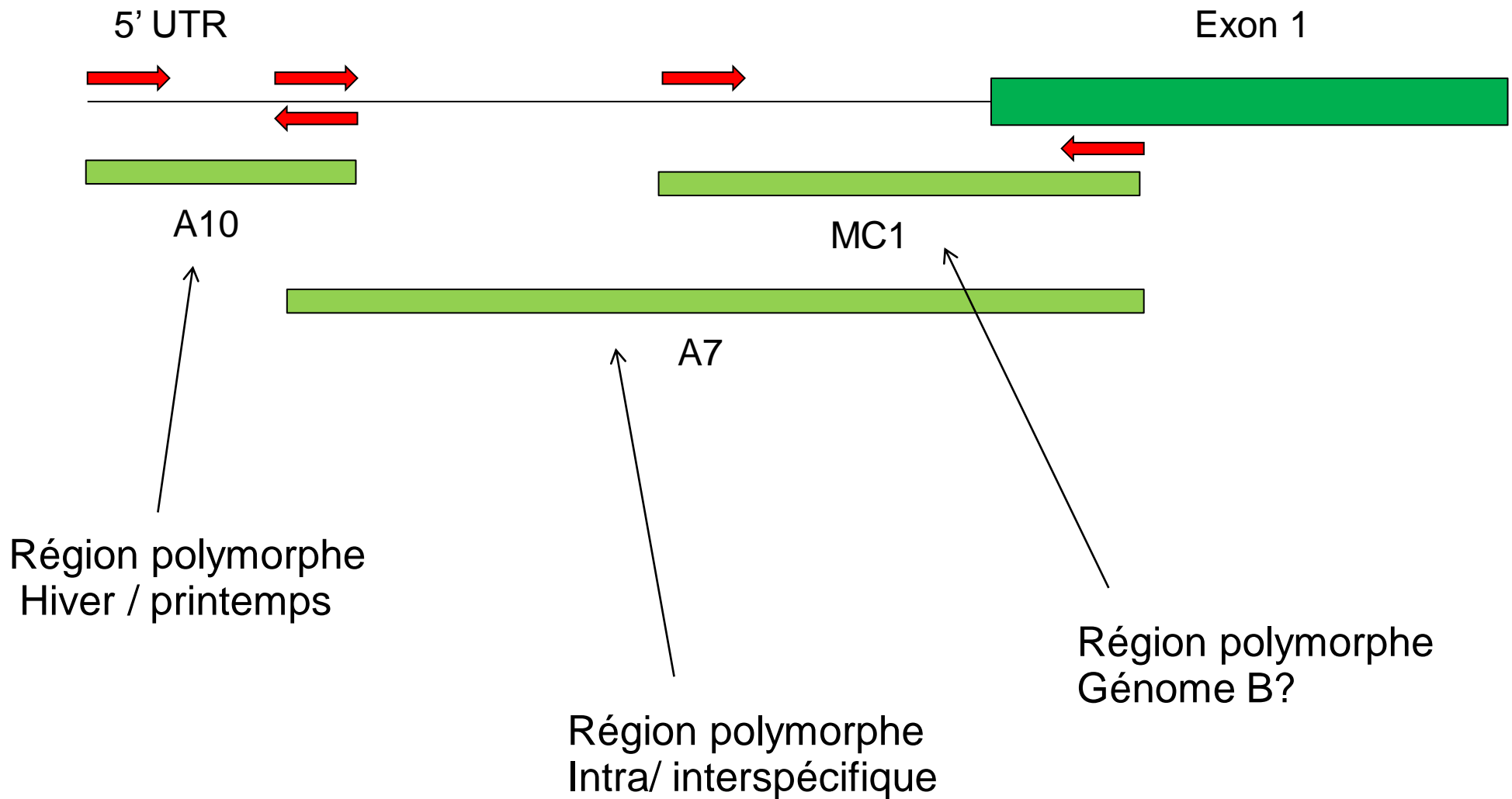
MC1

BjFLC1MC01F
BnFLC1CF02R
502 pb



Marquage et suivi des gènes de vernalisation

Polymorphisme de la région 5' du gène FLC1



Utilisation de la diversité intraspécifique

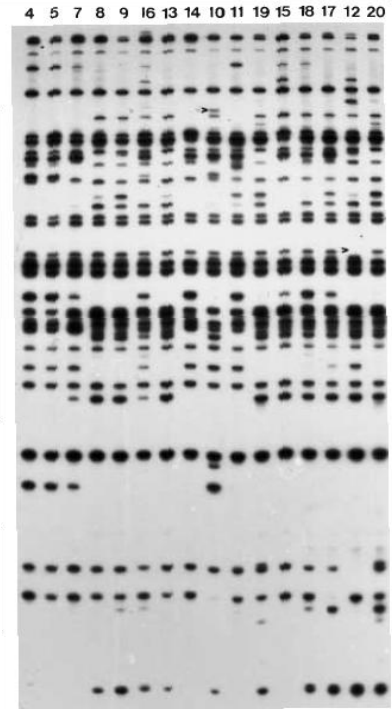
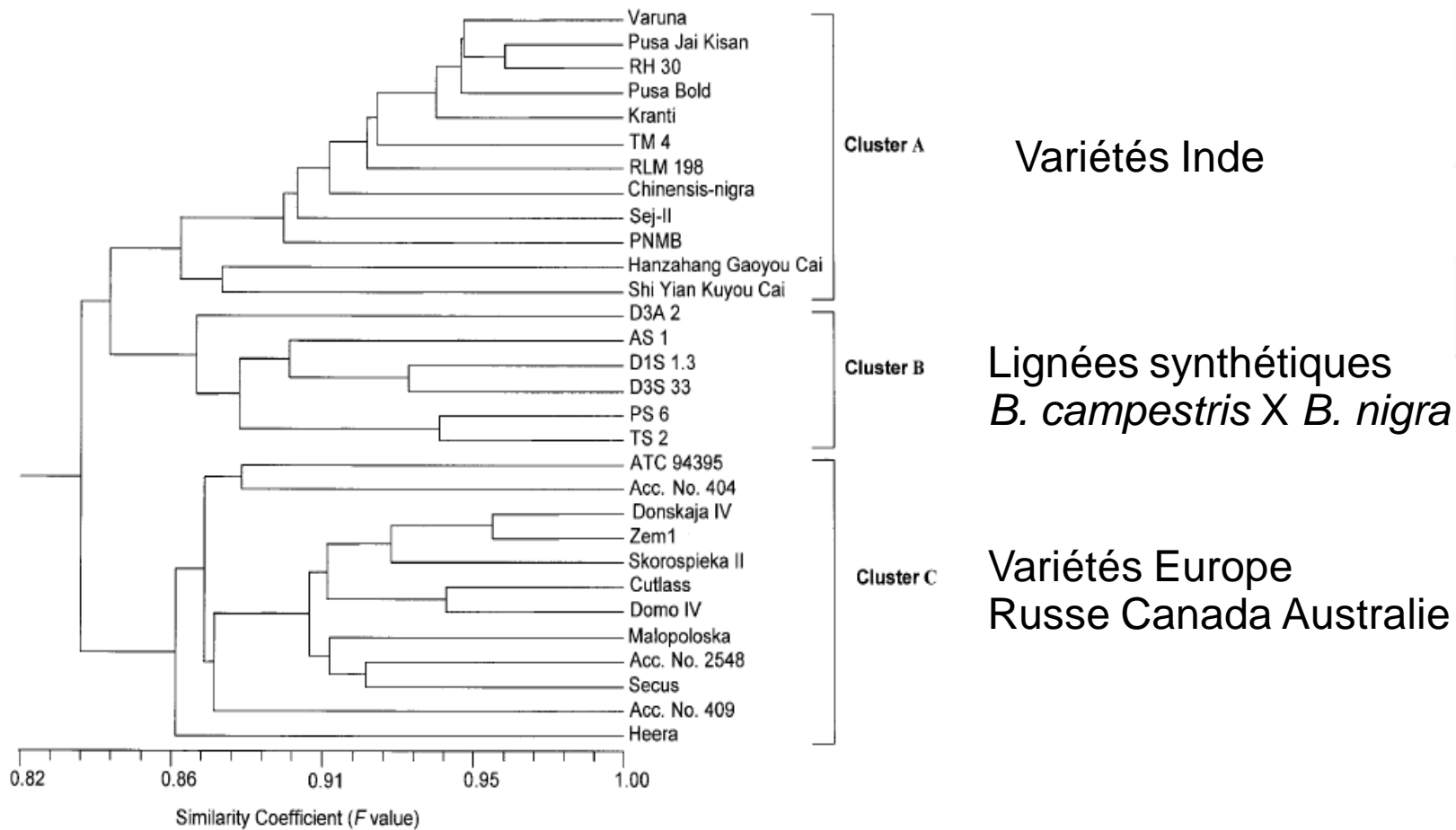
Etude de la variabilité de la phase végétative chez des écotypes de moutarde brune



La base génétique

Diversité génétique estimée par les marqueurs moléculaires

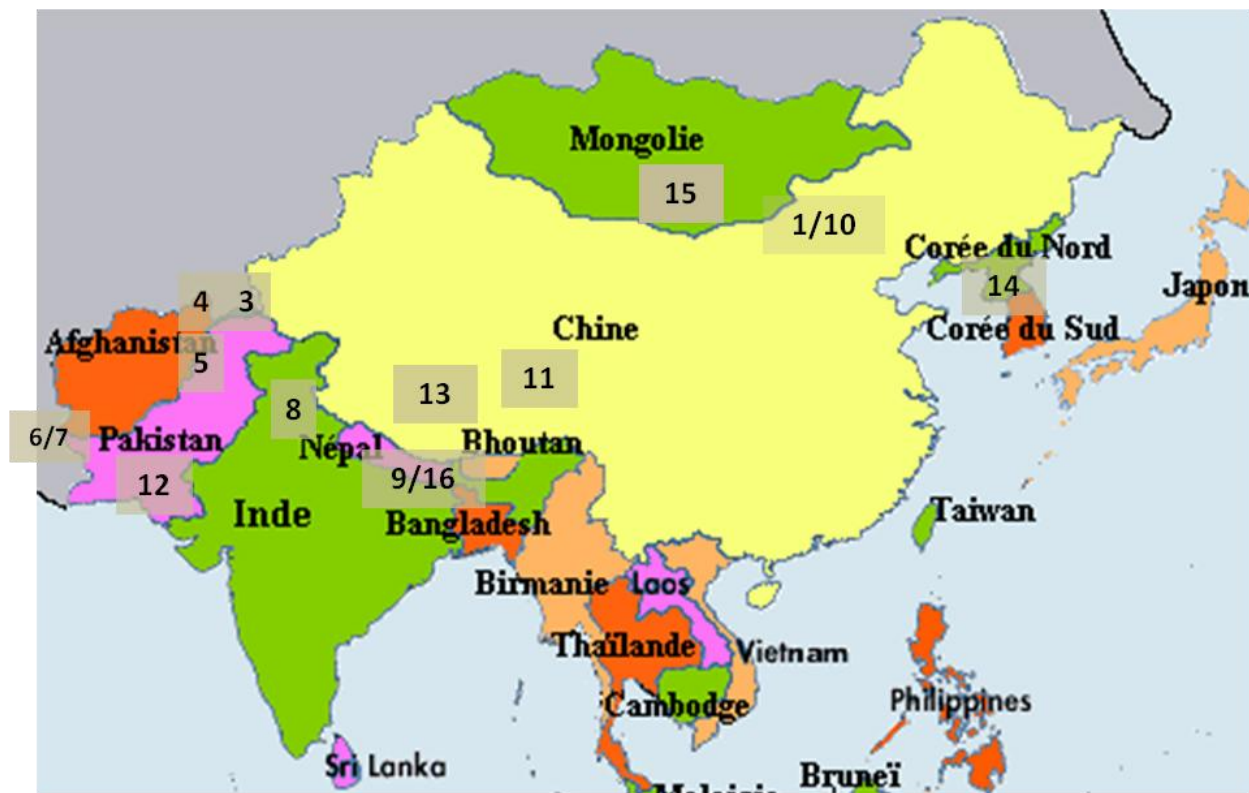
Mise en évidence de trois groupes



La diversité disponible n'est pas complètement explorée

Etude de la variabilité de la phase végétative chez des écotypes de moutarde brune

Etamine
Ficita
RG10
1 Chine, proche Mongolie
2 var. SHELGHAM Pakistan, Punjab
3 Afghanistan, Badakhashan
4 Afghanistan, Kondoz
5 Afghanistan, Nangarhar
6 Pakistan Nord-Ouest
7 Pakistan Nord-Ouest
8 var. SARROW 1246 Inde
9 Népal
10 var. O22 Chine
11 var.077 Chine
12 var. BARD1 BN1 Pakistan
13 var. BRA61/80, Chine, Xizang
14 var. BRA 1284/91; Corée du Nord
15 var. 96S-114 Mongolie
16 Var. Marpha/ 7049, Népal



Etude de la variabilité de la phase végétative chez des écotypes de moutarde brune

USDA 9, Népal



USDA 16, Népal



USDA 3, Afghanistan



USDA 14, Corée du Nord
stade boutons floraux



AZ58/1



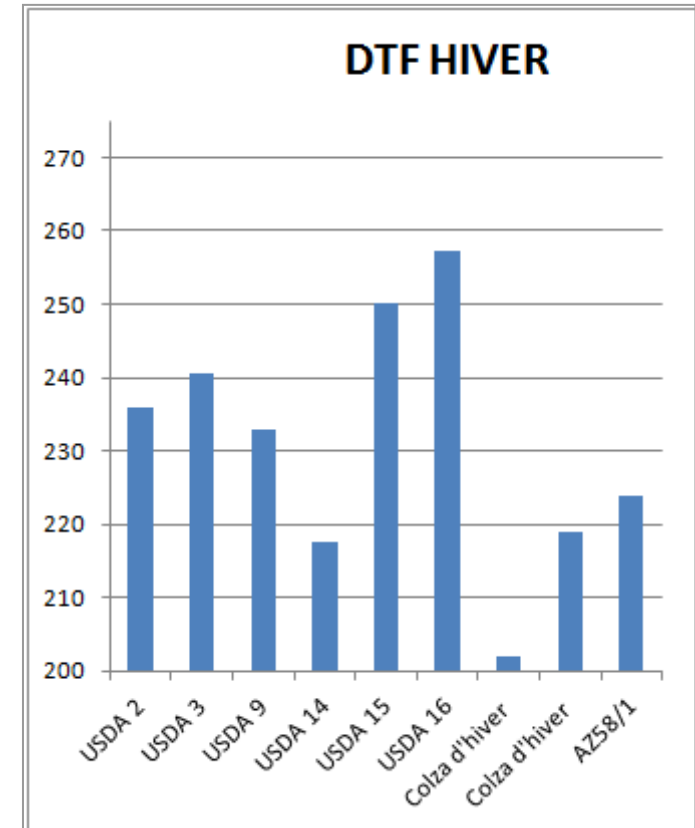
Colza d'hiver Catalina en fleurs



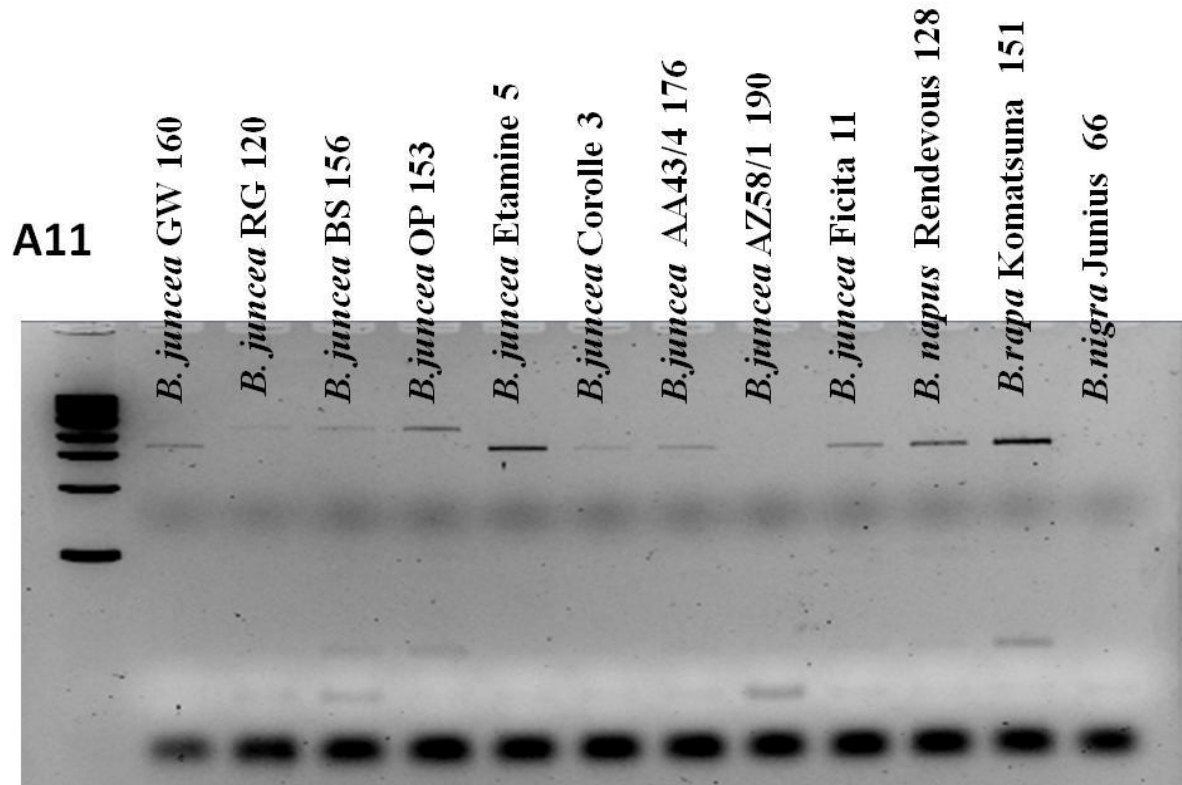
Ficita



Etamine

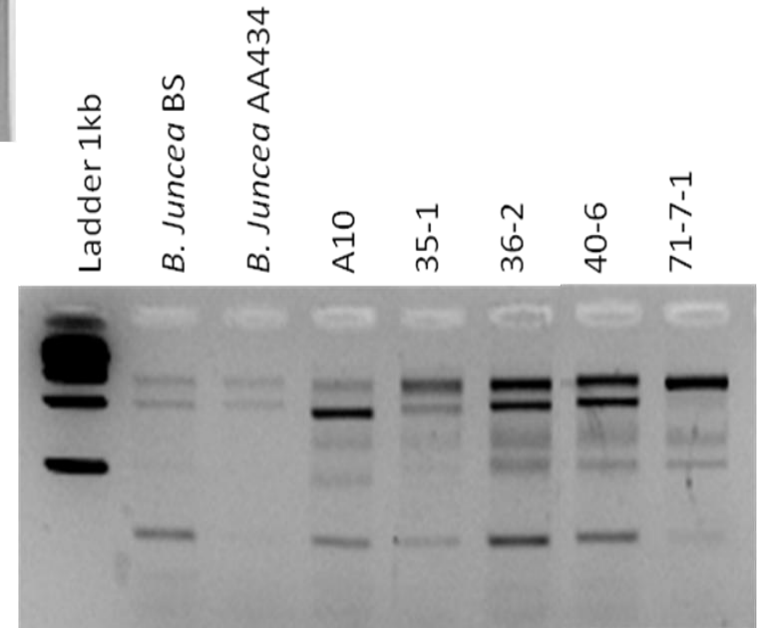


Etude de la diversité génétique



Marqueurs anonymes

Polymorphisme de FLC1



Perspectives:

Marqueurs liés au gènes de vernalisation

Marqueurs du génome B

Marqueurs « identification des génotypes et variétés »

Personnes impliquées:

Marine CHASSERAY
Thierry GUINET

AgroSup Dijon

Projet financé par l'A.M.B, France Agrimer et le
Conseil Régional de Bourgogne.

