

LA RECHERCHE DE VARIÉTÉS RÉSISTANTES À L'OÏDIUM

Aurélie Petit



Avignon

21 nov. 2017



Rencontre Ecophyto Fraise



L'oïdium du fraisier



Symptômes sur les parties aériennes : tâches blanches à l'aspect poudreux, nécroses rougeâtres, port en cuillère des feuilles ⇒ perte de rendement

Conditions météo favorables au développement de l'oïdium :

températures : 7-28°C, optimum à 22°C

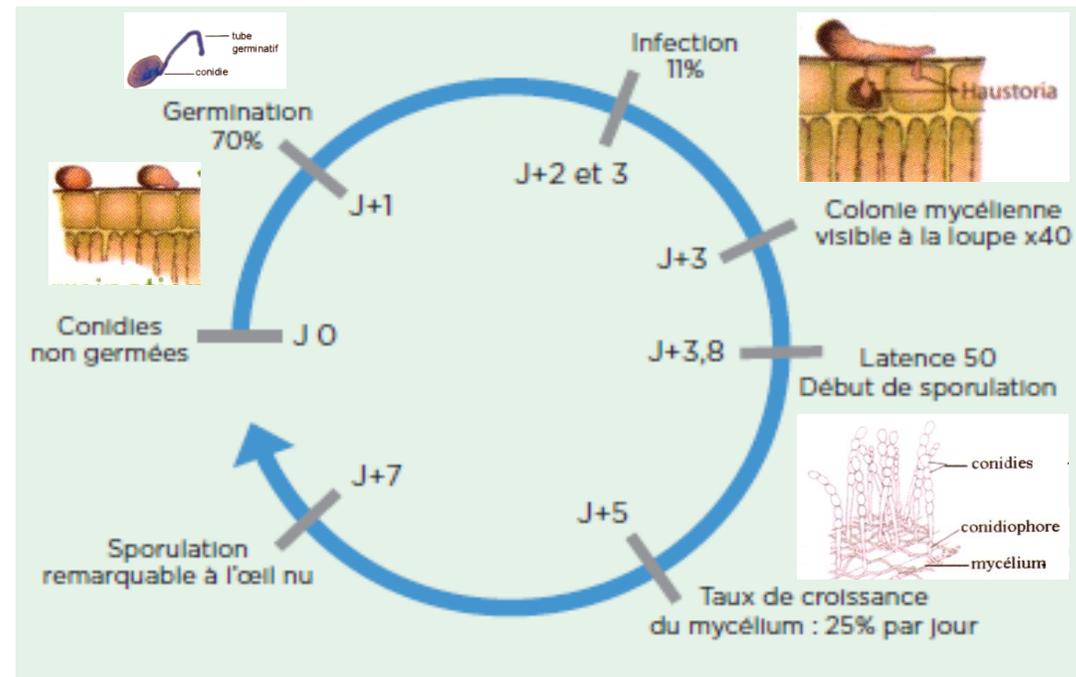
humidité relative : 10-65% pour l'infection, 65-99% pour la dissémination

(Amsalem et al., 2006)

Causé par le champignon *Podosphaera aphanis*,
spécifique du fraisier (Braun et Takamatsu, 2000)

Cycle biologique de *P. aphanis* :

- phase asexuée infectieuse (mycélium, conidie)
- phase sexuée de conservation (cléistothèque)



Cycle d'infection de *P. aphanis* (Bardet et al., 2010)



Liberté • Égalité • Fraternité
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

MINISTÈRE
DE L'AGRICULTURE
ET DE
L'ALIMENTATION

Projet CASDAR
2006-2008

Comment créer des variétés de fraise résistantes à l'oïdium ?

Héritabilité = part de variabilité d'un caractère transmise par hérédité
= part des facteurs génétiques dans la variation d'un caractère
= part des gènes dans les différences interindividuelles

J. AMER. SOC. HORT. SCI. 139(3):310-316. 2014.

Additive Genetic Effects for Resistance to Foliar Powdery Mildew in Strawberry Revealed through Divergent Selection

Colleen Kennedy, Luis F. Osorio, Natalia A. Peres, and Vance M. Whitaker¹
Gulf Coast Research and Education Center, University of Florida, 14625 CR 672, Wimauma, FL 33598

Effets additifs de la résistance multigénique = il faut plusieurs gènes pour acquérir la résistance

⇒ **Mécanisme de défense complexe**

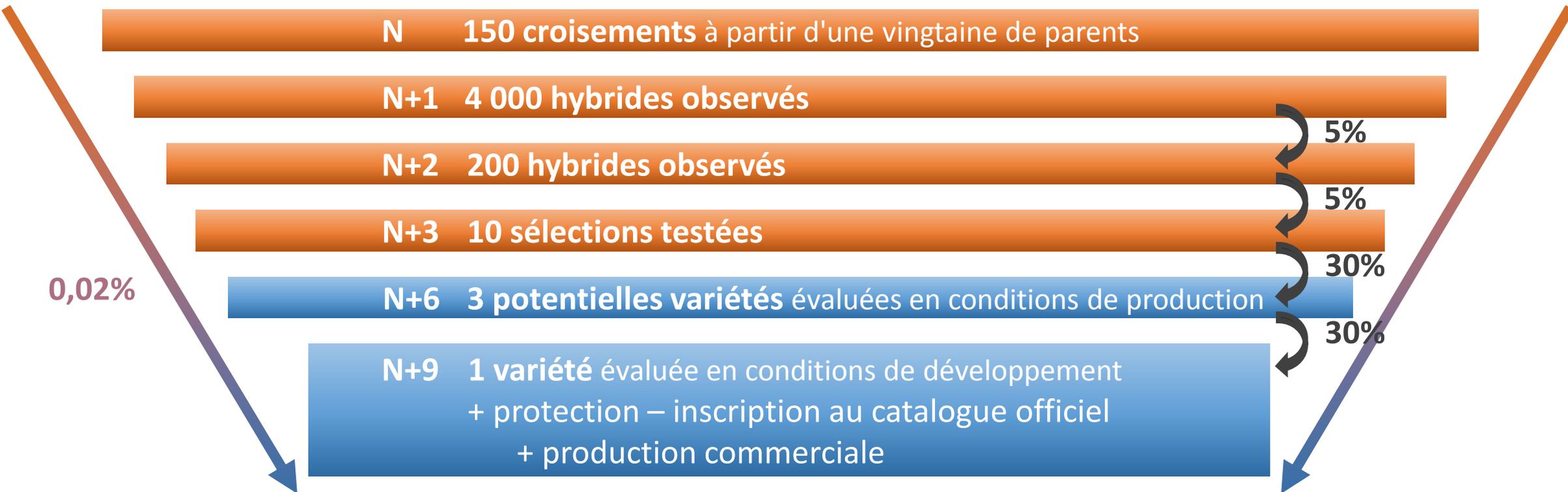
Héritabilité de la résistance à l'oïdium est moyenne à élevée : $H^2 = 0,4$ à $0,7$ suivant les variétés et l'environnement (Kennedy et al., 2014 ; Lifshitz et al., 2007 ; Davik et Honne, 2005 ; Nelson et al., 1995)

⇒ **Possibilité de gain génétique de la résistance par croisements successifs (par récurrence)**

La création de variétés de fraise résistantes à l'oïdium au Ciref

Critères de sélection :
vigueur du plant
résistance aux maladies
rendement
qualité du fruit...

Croisements
et sélection au Ciref



Evaluation au Ciref et
chez les producteurs

⇒ 9 ans pour créer une variété

La sélection au Ciref en N+1

De 4 000 à 200 hybrides



Comment créer des variétés de fraise résistantes à l'oïdium ?



aujourd'hui

Manière empirique : croisements et sélections des hybrides résistants en conditions d'infection naturelle

OU

Sélection Assistée par Marqueurs moléculaires (SAM) : approche qui permet de prévoir la présence d'un caractère d'intérêt dans un individu grâce aux marqueurs moléculaires qui encadrent le caractère

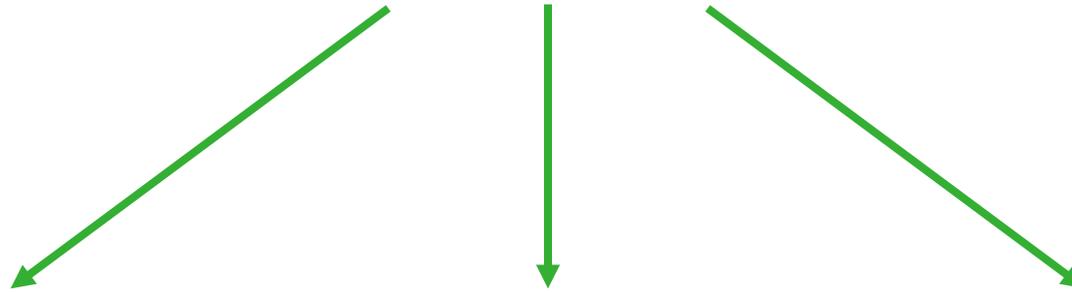
⇒ sélection rapide, fiable et précoce des géniteurs et hybrides

demain



Comment créer des variétés de fraise résistantes à l'oïdium ?

Sélection Assistée par Marqueurs moléculaires (SAM)



Comment évaluer les dégâts d'oïdium ?

Comment cultiver le champignon
au laboratoire ?

Comment infecter les fraisiers
et évaluer la résistance ?

Combien de gènes ?

Localisation sur les chromosomes ?

Effet et importance des gènes ?

Régulation des gènes ?

Identification des gènes ?

Combien de races du champignon ?

Résistance race-spécifique ?

1 ou plusieurs gènes de résistance par race ?

Evolution des races ?

Contournement de la résistance ?

Comment identifier les marqueurs pour la SAM ?

A partir d'une population en ségrégation

"Bulk Segregant Analysis" si 1 seul gène pour la résistance

⇒ 1 groupe d'individus résistants et 1 groupe d'individus sensibles, identifier les marqueurs dans chaque groupe, puis rechercher les marqueurs spécifiques d'un groupe

Détection de Quantitative Trait Loci (QTL) si plusieurs gènes

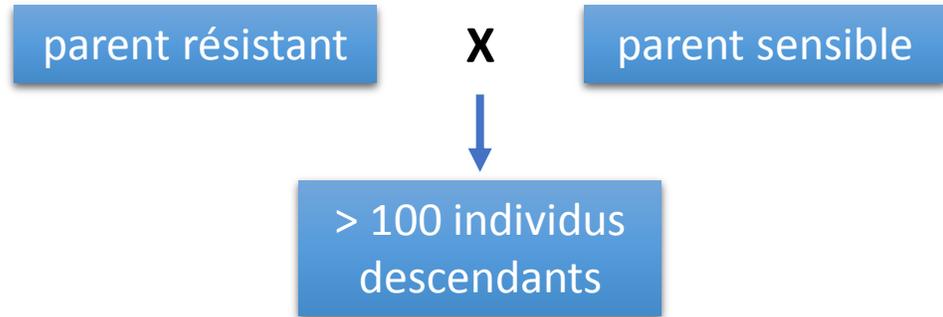
⇒ évaluer les dégâts d'oïdium sur une échelle de 10 notes sur tous les individus, identifier les marqueurs moléculaires sur tous les individus pour créer la carte génétique et rechercher les marqueurs associés à la note de "1"

A partir de variétés (ressources génétiques)

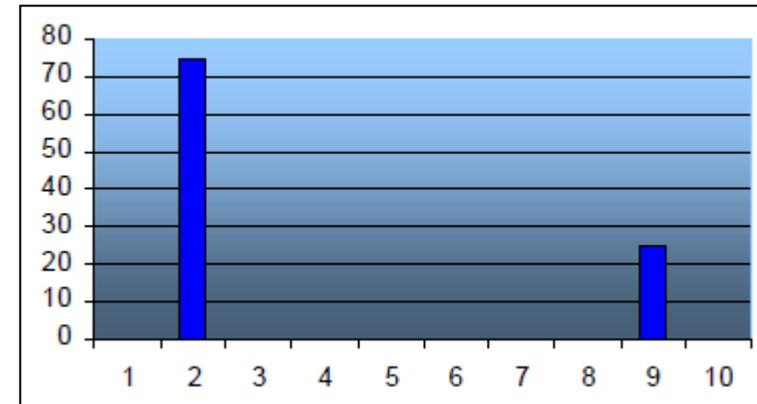
Génétique d'association

⇒ évaluer les dégâts d'oïdium sur une échelle de 10 notes sur des variétés, identifier les marqueurs moléculaires sur toutes les variétés, étudier la diversité génétique entre les variétés, puis étudier le lien entre marqueurs génétiques et variétés résistantes

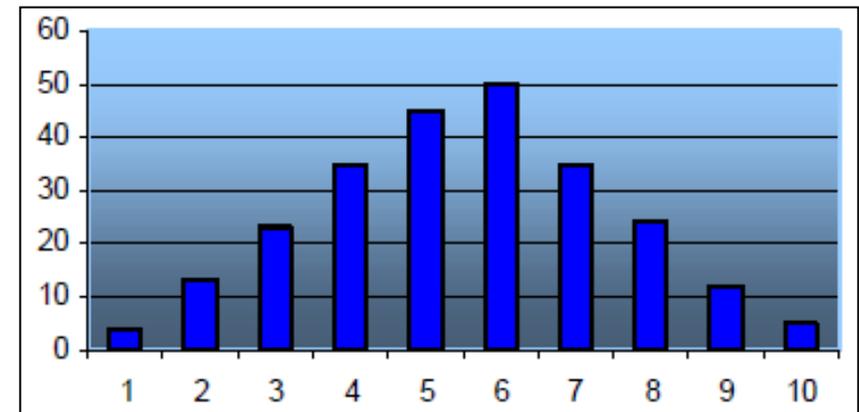
Création d'une population en ségrégation



nombre d'individus



notes de dégâts d'oïdium



Détection de QTL liés à la résistance à l'oïdium



Population en ségrégation

~200 individus issus du croisement entre Capitola et CF1116, tous 2 moyennement tolérants à l'oïdium

Carte génétique saturée

+ de 10 000 marqueurs, 170 marqueurs par chromosome

Notations des dégâts d'oïdium

Culture à Douville (24) sous tunnel en sol et hors-sol

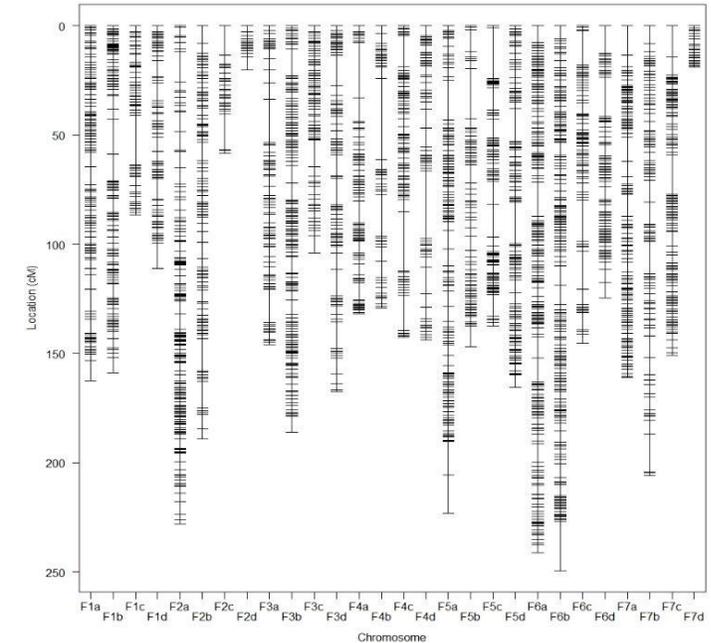
Contamination naturelle de l'oïdium

13 notations du % de mycélium sur les feuilles entre 2005 et 2011

Détection de QTL

16 QTL pour 6 dates de notations, situés sur 11 chromosomes, dont 2 QTL expliquant ~10% de la résistance

Carte génétique



⇒ **Nombreux QTL (donc résistance multigénique = mécanisme de défense complexe) à effet faible et instables dans le temps (forte interaction avec l'environnement ? Plusieurs souches ?)**

⇒ **Pas de possibilité d'utiliser des marqueurs pour la SAM avec cette étude**

Détection de QTL liés à la résistance à l'oïdium



EN 2018 AU CIREF :

Essai avec 1 nouvelle population en ségrégation

~120 individus

issus du croisement entre Candonga et Senga Sengana

Carte génétique saturée disponible

Notations des dégâts d'oïdium

Faire des notations du % de mycélium sur les feuilles

Culture à Douville sous tunnel hors-sol

Contamination naturelle de l'oïdium

Détection de QTL

Comparaison des QTL détectés avec ceux de la population précédente



Projet européen de 4 ans (2016-2020) :

étude des interactions entre variété et environnement

pour la qualité du fruit et la floraison,

sur fraise, framboise, et cassis

Etude préliminaire :

150 variétés et sélections du Ciref

5 plants / variété

Culture en sol à Douville

Contamination naturelle de l'oïdium

6 notations selon une échelle de 0 à 3 sur feuilles, fleurs et fruits en 2008-2009

Analyses statistiques des données

⇒ **Meilleure discrimination sur feuilles**

2nde étude :

20 variétés et sélections du Ciref

6 blocs de 4 plants / variété

Culture à Douville sous tunnel hors-sol

Contamination naturelle de l'oïdium

3 notations selon une échelle de 0 à 5 sur les feuilles en 2011

Analyses statistiques des données

⇒ **8 sélections tolérantes utilisables
comme parents pour les croisements**

Combien de races du champignon ?

Création d'un soucier

- Au laboratoire en conditions stériles
- Sur feuilles de fraisier sensible à l'oïdium
- Envoi de feuilles oïdiées par les partenaires du projet
- Isolement de quelques spores sous loupe binoculaire
- Entretien des souches in vitro, essai de cryoconservation

⇒ **Souches de Douville et de l'APREL**

Mise au point d'un protocole d'**extraction de l'ADN du champignon** à partir du mycélium

Séquençage et comparaison de l'ADN entre les souches

Identification des races

Mise au point d'empreintes génétiques spécifiques des races



Les principales équipes de recherche sur l'oïdium du fraisier

En génétique/sélection :

Université de Floride, USA

Université de Californie, USA

Agricultural Research Organization, Israël

Norwegian Crop Research Institute, Norvège

Gyeongnam Agr Res & Extens Serv, Corée du Sud

East Malling Research, UK

Institute of Horticulture, Chine

⇒ **Pas de SAM mise au point pour l'instant**

En pathologie... :

Université de Cornell, USA

Université de Floride, USA

Agr & Agri Food Canada, Canada

East Malling Research, UK

Norwegian Univ Life Sci, Norvège

University of Kuopio, Finlande

China Agr Univ, Chine

ARS, USA

SafeCrop Centre, Italie

Agricultural Research Organization, Israël

Mie University, Japon

Les futures stratégies de recherche en appui à la création de variétés de fraise

Méthodes d'édition du génome (CRISPR-Cas9...)

= cible, coupe, insère n'importe quel ADN

Création de variabilité génétique et sélection des individus résistants à l'oïdium

Insertion de gènes de résistance à l'oïdium d'une variété de fraise résistante à une variété sensible

Insertion de mutation dans le(s) gène(s) de sensibilité à l'oïdium pour le(s) inactiver

Sélection génomique

Approche + intégrative car prédiction de tous les caractères d'intérêt par l'utilisation de marqueurs sur tout le génome

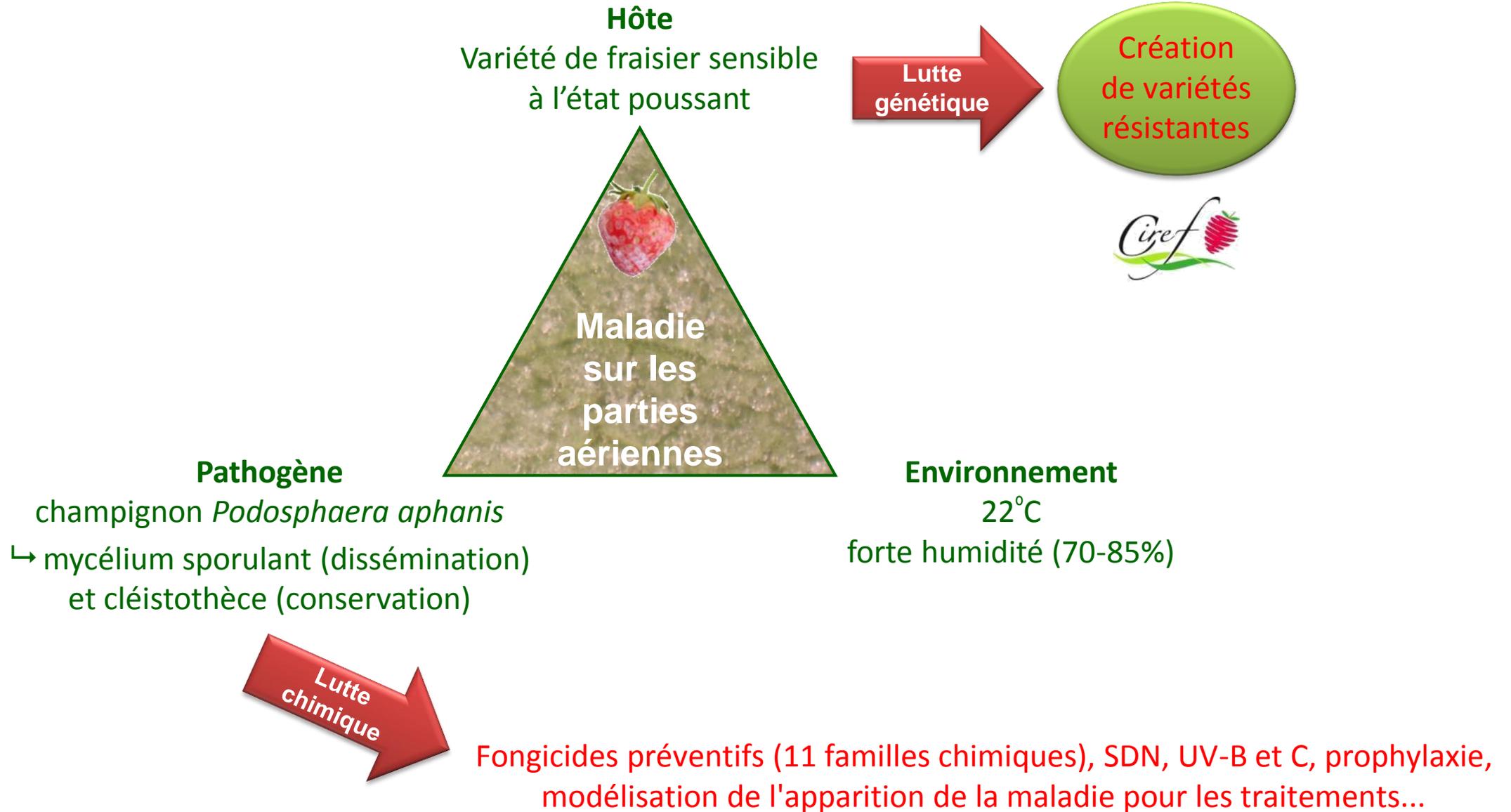
Approche gènes-candidats

= transfert de la connaissance de gènes de résistance à l'oïdium (*MLO*...) ou aux maladies (*RGA*, *PR*, *RPW8.2*...) d'espèces voisines du fraisier (pommier, melon, rosier...)

Nécessite le génome du fraisier cultivé (fin 2018 ?)

Génome du fraisier des bois (*F. vesca*) depuis fin 2010... toujours en cours d'annotation

Complémentarité des luttes



Les principales variétés du Ciref tolérantes à l'oïdium

Ciflorette



Rubis des Jardins



Osiris



Cirafine





Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera
CONSEJERÍA DE AGRICULTURA, PESCA Y DESARROLLO RURAL



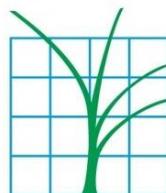
UNIVERSIDAD DE MÁLAGA



VIVEROS CALIFORNIA



Ctifl



Merci !