



## PROPOSITION DE STAGE 2022-2023

Le GIS Fruits souhaite soutenir des stages étudiants de 6 mois, niveau Master 2 sur le thème des fruits et offre pour cela de financer des bourses de stages réalisés dans des labos INRAE. Le sujet proposé doit :

- i) s'inscrire dans les axes thématiques du GIS,
- ii) être construit en partenariat entre au moins 3 membres du GIS\*,
- iii) le stagiaire doit être encadré par un maître de stage INRAE.

\* Les trois partenaires proposant le stage ne doivent pas appartenir à la même unité.

>Axes thématiques du GIS : <http://www.gis-fruits.org/Le-GIS-Fruits/Axes-thematiques>

>Partenaires du GIS : <http://www.gis-fruits.org/Le-GIS-Fruits/Membres-fondateurs>

**Organismes partenaires : (1) INRAE (2) Centre d'Expérimentation de Pépinières (CEP) (3)**

Montpellier SupAgro

*Dont l'école membre du GIS le cas échéant : Institut Agro*

**Lieux du stage :** INRAE Centre NAB Unité UMR BFP

**Durée :** 6 mois

**Dates :** 6 mois entre Janvier et Septembre 2021

**Niveau :** Stage de fin d'études BAC + 5 (Option Ingénieur, ou Master 2)

**Profil du stage :** Recherche appliquée

### **INTITULE DU STAGE : Développement d'outils moléculaires pour la sélection d'arbres fruitiers résistants à la sharka**

Contexte et problématique : La sharka est une maladie virale touchant les arbres fruitiers à noyaux du genre Prunus qui comprend les pêchers, les abricotiers, les pruniers et les amandiers. Quelques sources de résistance ont été décrites, principalement chez l'abricotier et l'amandier (Karayiannis et al, 1999; Pascal et al, 2002) mais aucune chez le pêcher. Ceci nous a conduit à mettre en place deux stratégies d'introggression de la résistance : (i) par croisement intra-spécifique chez l'abricotier et (ii) par croisement inter-spécifique entre le pêcher (cv. Honey Blaze, sensible à la sharka) et l'amandier (cv. Del Cid, résistant à la sharka). Dans les deux cas, le déterminisme génétique est polygénique, avec très probablement l'implication de deux loci dont un majeur.

Dans le cas de l'abricotier, les premiers outils moléculaires en appui à la sélection ont été développés (Decroocq et al, 2014 ; Lambert et al, 2019), ils ciblent le locus majeur, nommé PPVres, contrôlant la résistance mais ne sont pas suffisants pour sélectionner précisément les descendants résistants au virus faute d'avoir identifié le deuxième locus (Decroocq et al, 2014 ; Mariette et al, 2016). Afin de pallier à ce manque, nous avons engagé une approche d'association génétique au sein du compartiment sauvage, après avoir découvert une fréquence élevée de l'haplotype PPVres résistant dans les populations naturelles d'abricotiers, en Asie Centrale (Decroocq et al, 2016). Les résultats préliminaires confirment le locus PPVres en tant que déterminant majeur de la résistance chez l'abricotier et permettent d'identifier avec une probabilité très forte ( $p$  value  $< 10^{-9}$ ) le second locus, localisé 20 Mbp en aval de PPVres (Decroocq et al, données non-publiées). Dans le cas du transfert de la résistance de l'amandier vers le pêcher, l'évaluation de populations en génération F2 ont permis de mettre en évidence deux loci contrôlant le caractère, l'un majeur positionné en bas du chromosome 3 et le second sur le haut du chromosome 8 (Rapport de stage de Master 2 de Jessica Cadillon, 2021).

Objectifs généraux du stage / Résultats attendus : Les données obtenues chez l'abricotier et l'amandier ouvrent la voie à la mise en place de la sélection assistée par marqueurs pour la résistance à la sharka. Nous disposons dès à présent d'information sur les sites polymorphes liés à chacun des deux loci abricotier ainsi que ceux co-localisant avec les deux loci amandier. Nous avons à disposition des marqueurs nucléotidiques (SNP) et de type microsatellites (SSR). *L'objectif du stage est donc de valider ces marqueurs moléculaires (1) dans des panels plus larges d'abricotiers cultivés et sauvages ainsi que dans des descendance en ségrégation pour la résistance à la sharka. Dans le cas de la descendance interspécifique pêcher x amandier,*

les marqueurs positionnés sur le chromosome 3 et 8 seront utilisés pour cribler une population F2 élargie à près de 1000 individus. Les hybrides portant les allèles favorables aux deux loci seront testés pour la résistance à la sharka (pour validation de la sélection assistée par marqueurs), ils seront également séquencés en fragments courts avec la technologie ILLUMINA afin d'évaluer leur fond génétique. Les individus validés phénotypiquement et présentant un maximum d'allèles hérités du pêcher (cv Honey Blaze) serviront de géniteurs pour la prochaine génération, soit par autofécondation, soit par croisement avec une variété pêcher choisie par les sélectionneurs et les collègues de CEP INNOVATION.

Ce projet de stage s'insère dans l'action thématique 3 du GIS Fruits : **Connaissance et maîtrise du fonctionnement des bio-agresseurs**. En effet, il vise à valider des marqueurs moléculaires pour la mise en place de la sélection assistée par marqueurs chez l'abricotier et chez le pêcher pour la résistance à la sharka. A terme, ces connaissances serviront à mettre en place des programmes d'introgession et de sélection de la résistance au virus à la fois chez le pêcher et l'abricotier cultivés. Le partenaire 2 (**CEP INNOVATION**) est déjà très impliqué dans les programmes de sélection de nouvelles variétés de pêcher, ainsi que dans la création de nouveaux cultivars abricotiers résistants à la sharka (voir la gamme ARAMIS®). Ce partenaire aidera au choix des populations de sélection à tester ainsi que des géniteurs pêcheurs à privilégier dans les générations suivantes. Il recherche également de nouveau outil à intégrer dans le processus de sélection pour le rendre plus efficient. Il pourra utiliser et tester les marqueurs dans ces descendance afin d'avoir des preuves de concepts. Le partenaire 3 (**Montpellier SupAgro**), de par son expertise et ses compétences, viendra en appui du partenaire 1, à la fois pour le suivi régulier du bon déroulé du stage, l'analyse des données et la restitution finale des résultats.

Publications de l'équipe d'accueil et/ou relative au sujet (et/ou au projet dans lequel s'insère le stage) :

Decroocq et al (2014). Selecting with markers linked to the PPVres major QTL is not sufficient to predict resistance to Plum Pox Virus (PPV) in apricot. *Tree Genetics and Genomes*, 10 (5), 1161-1170, <https://dx.doi.org/10.1007/s11295-014-0750-0>, <https://hal.inrae.fr/hal-02631340>

Mariette et al (2016). Genome-wide association links candidate genes to resistance to Plum Pox Virus in apricot (*Prunus armeniaca*). *New Phytologist*, 209 (2), DOI: 10.1111/nph.13627, <https://dx.doi.org/10.1111/nph.13627>, <https://hal.inrae.fr/hal-01198840>

Decroocq et al (2016). New insights into the history of domesticated and wild apricots and its contribution to Plum pox virus resistance. *Molecular Ecology*, 25 (19), 4712-4729, <https://dx.doi.org/10.1111/mec.13772>, <https://hal.inrae.fr/hal-02328844>

Lambert et al (2019) Development and validation of an SNP-based new set of markers useful for early selection for sharka disease in apricot (*P. armeniaca*). 17. International Symposium on Apricot Breeding and Culture, Jul 2019, Malatya, Turkey. pp.1, 2019. (hal-02790319)

Liu et al (2019). The complex evolutionary history of apricots: species divergence, gene flow and multiple domestication events. *Molecular Ecology*, 28 (24), 5299-5314, <https://dx.doi.org/10.1111/mec.15296>, <https://hal.inrae.fr/hal-02346625>

Groppi et al (2021). Population genomics of apricots unravels domestication history and adaptive events. *Nature Communications*, 12 (1), 3956, <https://dx.doi.org/10.1038/s41467-021-24283-6>, <https://hal.inrae.fr/hal-03282504>

Rapport de Master 2 de Jessica Cadillon, 2021. Genetic diversity and resistance to sharka in almond (*P. dulcis* and related species). Stage soutenu par le GIS Fruits en 2021.

*Les données génomiques (SSR, SNP) ont été générées au travers de deux projets nationaux (France Génomique SWAG et ANR CHEX ABRiWG) et un projet transnational, Méditerranéen (PRIMA, FREECLIMB).*

Références citées et non listées ci-dessus :

Pascal et al. Preliminary observations on the resistance to sharka in peach and related species, in Proceedings of the 5th International Peach Symposium, Vols 1 and 2, R.S. Johnson and C.H. Chrisosto, Editors. 2002. p. 699-706

Karayiannis et al (1999) Susceptibility of apricot cultivars to Plum pox virus. International symposium on apricot culture. *Acta Horticulturae*, 488, 753-759. DOI: 10.17660/ActaHortic.1999.488.125

### **ACTIVITES DOMINANTES CONFIEES AU STAGIAIRE :**

- Développement d'un set de 48 marqueurs nucléotidiques (SNP) liés aux loci contrôlant la résistance (2 loci sur le chromosome 1 pour l'abricotier, un locus sur le chromosome 3 et le dernier sur le chromosome 8 pour le pêcher) et criblage par HRM ou KASPar de collections abricotiers cultivés et sauvages (250 individus sauvages et 150 cultivars) et de populations interspécifiques pêcher x amandier (=1 000 individus).
- Criblage avec un set de 20 marqueurs de type SSR sur LICOR de collections abricotiers cultivés et sauvages

(250 individus sauvages et 150 cultivars) et de populations intraspécifiques chez l'abricotier. Ces descendances ségrégent pour la résistance, une partie a déjà été déjà criblée avec le marqueur ZP002 lié à PPVres –Decroocq et al, 2014- soit plus de 1 500 individus. De nouvelles populations seront également testées, elles sont issues du croisement entre une variété abricotier cultivée et un individu sauvage, résistant à la sharka (soit une centaine d'individus F1). Ces descendances abricotiers seront également criblées avec le set de SNP décrit ci-dessus.

- Analyses statistiques de corrélation entre type et fréquence allélique et résistance au virus
- Extraction d'ADN à partir de feuilles et préparation pour envoi aux plateformes de séquençage, notamment pour les individus pêcheurs x amandiers présentant les allèles favorables aux deux loci du chromosome 3 et 8.
- Mise en place chez le partenaire avignonnais (INRAE UGAFL) des tests de résistance à la sharka sur individus pêcheurs x amandiers présentant les allèles favorables aux deux loci du chromosome 3 et 8.

### **PROFIL REQUIS :**

- Dernière année de Formation Supérieure BAC + 5
- Connaissances : Génétique quantitative, Génotypage avec marqueurs de type SSR et SNP.
- Compétences opérationnelles : Capacité à réaliser des PCR (polymerase chain reaction). Utilisation courante de R, notions de base en statistiques et/ou analyses de données de séquençage de type NGS.
- Langues : Français / Anglais possible
- Permis de conduire (le cas échéant) : non applicable

### **INDEMNISATION (SUR BUDGET INRAE-GIS FRUITS) :**

Selon la réglementation en vigueur pour 2023 (environ 600 €/mois)

### **AVANTAGES PROPOSES (le cas échéant) :**

- logement et déplacement : non applicable pour ce stage
- restauration : Restaurant sur place subventionné par l'INRAE

### **CONTACT MAITRE DE STAGE INRAE :**

(1) Maître de stage INRAE (obligatoire)

Nom et fonction du responsable à contacter : Véronique DECROOCQ

Adresse : INRAE, UMR BFP 1332, 71 Avenue Edouard Bourlaux, 33140 Villenave d'Ornon

Tél. : 0557122383

Site web (équipe et/ou projet) :

Mail : veronique.decroocq@inrae.fr