

L'Institut Agro Rennes-Angers

Site d'Angers Site de Rennes

université
de **BORDEAUX**

Année universitaire : 2021- 2022 Spécialité : Ingénieur Horticole Spécialisation option : Science et Ingénierie du Végétal Génétique et Amélioration des Plantes	Mémoire de fin d'études <input checked="" type="checkbox"/> d'ingénieur de l'Institut Agro Rennes-Angers (Institut national d'enseignement supérieur pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement) <input type="checkbox"/> de master de l'Institut Agro Rennes-Angers (Institut national d'enseignement supérieur pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement) <input type="checkbox"/> de l'Institut Agro Montpellier (étudiant arrivé en M2) <input type="checkbox"/> d'un autre établissement (étudiant arrivé en M2)
---	---

Développement et validation de marqueurs moléculaires associés à la phénologie et à la qualité du fruit du cerisier doux

Par : Océane BELLEROSE

Devant le jury composé de :

Président : Anne LAPERCHE

Rapporteur : Mélanie JUBAULT

Maître de stage : Elisabeth DIRLEWANGER

Examinatrice : Maria MANZANARES-
DAULEUX

Enseignant référent : Anne LAPERCHE

Les analyses et les conclusions de ce travail d'étudiant n'engagent que la responsabilité de son auteur et non celle de l'Institut Agro Rennes-Angers

Mémoire de fin d'études

Développement et validation de marqueurs moléculaires associés à la phénologie et à la qualité du fruit du cerisier doux

Par : Océane BELLEROSE



Maître de stage : Elisabeth DIRLEWANGER

Co-encadrants : José QUERO-GARCIA & Camille BRANCHEREAU

ENGAGEMENT DE NON PLAGIAT

Je, soussignée, Océane Bellerose, déclare être pleinement consciente que le plagiat de documents ou d'une partie d'un document publiés sur toutes formes de support, y compris l'internet, constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée. En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées pour écrire ce rapport ou mémoire.

Signature :



Remerciements :

Tout d'abord, je tiens à remercier le GIS Fruit d'avoir financé ce stage, qui, sans ce financement, n'aurait pas pu avoir lieu. Je remercie également toutes les personnes que j'ai pu rencontrer durant ces six derniers mois.

Je tiens à remercier mes encadrants, Elisabeth Dirlwanger, José Quero García et Camille Brancherau qui se sont montrés disponibles et à l'écoute tout au long de ce stage.

Elisabeth, merci pour ton accompagnement pendant ce stage, pour toutes tes explications et conseils qui m'ont beaucoup apporté. Merci pour ton énergie débordante qui me donne toujours le sourire !

José, je te remercie pour ta bienveillance et tes conseils. Ce fut un plaisir de travailler avec toi et de partager cette passion pour la création variétale.

Camille, je tiens à te remercier pour ton aide durant ce stage. Pour tous tes conseils, tes formules magiques sur Excel et sur R ! Et je tiens surtout à te remercier pour ta bonne humeur et tous ces bons moments partagés. Ce stage n'aurait pas été aussi agréable sans toi.

Merci à vous trois pour le temps que vous m'avez accordé, tant dans mes interrogations que dans la relecture de mon rapport. Merci pour tout.

Je remercie également Lydie Fouilhaux pour son humeur rayonnante et Jacques Joly pour ses blagues qui m'auront bien fait rire tout au long de ce stage.

J'aimerais remercier Teresa Barreneche, Hélène Christmann, Mathieu Fouché et Bénédicte Wenden pour tous leurs conseils et les moments partagés. Merci Teresa pour la relecture de mon rapport de stage et pour toutes tes petites histoires lors des pauses.

Je souhaite également remercier Patrice Mora, Loïck Le Dantec, Laurent Richard et Xavier Lafon.

Je tiens également à remercier l'équipe de stagiaire, Loïse Grosset-Grange, Lina Boutaleb et Chloé Pinelli avec qui j'ai passé de super moments ! Mention spéciale à nos séances d'escalades et nos fous rires.

Enfin, je vous remercie tous pour votre accueil et pour cette bonne ambiance au sein de l'équipe.

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des tableaux et figures

I)	Introduction	1
II)	Synthèse bibliographique	2
II.1.	Taxonomie et historique du cerisier	2
II.2.	Les enjeux de la création variétale du cerisier doux.....	2
II.2.1.	Objectifs de création variétale et réchauffement climatique	2
II.2.2.	Limites et perspectives d'amélioration.....	3
II.3.	Etat de l'art : outils génétiques et génomiques du cerisier doux	3
II.3.1.	Génomes et outils de génotypage du cerisier doux	3
II.3.2.	Cartes de liaisons génétiques.....	4
II.3.1.	Principaux QTL et marqueurs moléculaires utilisables en SAM	4
II.4.	Questions de recherche et démarche	5
III)	Matériels et méthodes.....	6
III.1.	Matériel végétal.....	6
III.2.	Cartographie génétique et recherche de QTL pour la date de floraison	7
III.2.1.	Phénotypage de la date de floraison et statistiques descriptives.....	7
III.2.2.	Construction de la carte génétique de l'autofécondation de 'Lapins'	8
III.2.3.	Détection de QTL associés à la date de floraison	8
III.3.	Sélection assistée par marqueurs SSR pour le poids du fruit.....	9
III.4.	Sélection assistée par marqueurs KASP multi-caractères	9
III.4.1.	Définition et stratégie de développement des marqueurs KASP	9
III.4.2.	Validation des marqueurs KASP	9
IV)	Résultats.....	11
IV.1.	Cartographie et détection de QTL de date de floraison sur l'autofécondation de 'Lapins' 11	
IV.2.	Sélection assistée par marqueurs SSR pour le poids du fruit sur la descendance issue de la pollinisation libre de 'Folfer'	11
IV.3.	Évaluation des marqueurs KASP pour plusieurs caractères d'intérêt	12
IV.3.1.	Vérification des postulats de l'ANOVA	12
IV.3.2.	Analyses marqueur par marqueur pour chaque caractère	12
IV.3.3.	Analyses des haplotypes associés aux QTL pour chaque caractère.....	15
IV.3.4.	Sélection assistée par marqueur multi-caractères	16
V)	Discussion	18
V.1.	Construction de la carte génétique et détection de QTL.....	18

V.2.	Sélection assistée par marqueurs SSR pour le poids du fruit.....	19
V.3.	Sélection assistée par marqueur KASP multi-caractères sur les différents panels	19
V.3.1.	Intérêt des analyses par haplotypes	19
V.3.1.	Prise en compte de la structure.....	20
V.4.	Transférabilité des marqueurs KASP sur de nouveaux panels de cerisier	20
VI)	Conclusion et perspectives	22
	Références bibliographiques	23

Liste des abréviations

A3C : Adaptation du Cerisier au Changement Climatique

ADN : Acide Désoxyribo Nucléique

ANOVA : ANalysis Of VAriance

cM : centiMorgan

CNR : Cell Number Regulator

CRB : Centre de Ressources Biologiques

DAM : Dormancy Associated MADS box

DHS : Distinction Homogénéité Stabilité

Eclat : Eclatement

Ferm : Fermeté

Flo : Floraison

g : gramme

GC : Gène candidat

GIEC : Groupement d'experts Intergouvernemental sur l'Evolution du Climat

GL : Groupe de Liaison

ha : hectare

IGV : Integrative Genomics Viewer

INRAE : Institut National de Recherche pour l'Agriculture, l'Alimentation et l'Environnement

KASP : Kompetitive Allele Specific PCR

pb : paires de bases

PCR : Polymerase Chain Reaction

PM : Poids moyen du fruit

Prod : Productivité

PVE : Pourcentage de la Variance phénotypique Expliquée par le QTL

QTL : Quantitative Trait Loci

R x L : 'Regina' × 'Lapins'

RAPD : Random Amplified Polymorphic DNA

SAM: Sélection assistée par marqueurs

SSR : Single Sequence Repeat

Liste des tableaux et figures

Liste des tableaux :

Tableau 1 : QTL pour la date de floraison et pour des caractères de qualité du fruit du cerisier doux (adapté de Branchereau, (2022))

Tableau 2 : Matériel végétal étudié

Tableau 3 : Accessions du CRB étudiées

Tableau 4 : Accessions en cours de DHS étudiées

Tableau 5 : Marqueurs KASP définis dans les QTL respectifs pour les caractères étudiés : poids du fruit, fermeté, éclatement et productivité

Tableau 6 : Carte génétique de 'Lapins' réalisée à partir de la descendance issue de l'autofécondation de 'Lapins'

Tableau 7 : QTL pour la date de floraison (début de floraison : DF ; pleine floraison : PF ; fin de floraison : FF) obtenus à partir de la descendance issue de l'autofécondation de 'Lapins'

Tableau 8 : Effet des allèles pour chaque marqueur pour les caractères étudiés : poids du fruit, fermeté, éclatement et productivité

Tableau 9 : Effet des allèles pour chaque haplotype associé aux QTL pour les caractères étudiés : poids du fruit, fermeté, éclatement et productivité

Tableau 10 : Effet des allèles pour chaque haplotype par GL pour les caractères étudiés : poids du fruit et éclatement

Tableau 11 : Effet des allèles pour chaque haplotype par GL et en multi-caractères pour les caractères étudiés : poids du fruit/productivité et fermeté/éclatement

Tableau 12 : Effet des allèles des marqueurs choisis pour la SAM pour les caractères étudiés : poids du fruit, fermeté, éclatement et productivité

Tableau 13 : Individus de la population RxL triés selon la stratégie de sélection en SAM multi-caractères

Tableau 14 : Accessions du CRB triées selon la stratégie de sélection en SAM multi-caractères

Tableau 15 : Accessions de la DHS triées selon la stratégie de sélection en SAM multi-caractères

Liste des figures :

Figure 1 : Principaux stades phénologiques BBCH (Meier, 1994)

Figure 2 : Analyses réalisées en amont (bleu) et pendant le stage (vert)

Figure 3 : ACP réalisée sur les accessions du CRB avec les quatre caractères étudiés

1) Introduction

Apprécié pour ses fruits sucrés et juteux, le cerisier doux (*Prunus avium* L.) est une espèce cultivée à travers le monde entier. Principalement produit dans les zones tempérées, la production s'élève, pour l'année 2020, à 2,6 millions de tonnes dans le monde, à 731 141 tonnes en Europe et à 32 740 tonnes en France (FAOSTAT, 2020). Malgré une augmentation constante de la production de cerises dans le monde, à l'échelle de la France, une diminution est observée. En effet, ces 40 dernières années ont montré une diminution continue de la production française, passant de 112 700 tonnes en 1980 à 30-40 000 tonnes entre 2015 et 2019 (FAOSTAT, 2020 ; France AgriMer, 2020). Vulnérable face aux aléas climatiques, la production de cerises subit de grandes variations interannuelles ce qui classe le cerisier doux comme espèce pouvant être mise en péril face au réchauffement climatique.

Du fait de son importance économique et dans un contexte de changement climatique, l'amélioration du cerisier doux devient une priorité. Les principaux critères de sélection sont liés à la qualité du fruit, tels que le poids du fruit, la fermeté, l'éclatement du fruit et la productivité de l'arbre. Bien que la création de nouvelles variétés soit un levier pour l'adaptation des cultures, elle reste un processus long par rapport à d'autres espèces, du fait de la période de juvénilité de 3 à 5 ans, et coûteux.

Afin de réduire la durée des programmes de sélection, de nouveaux outils, tels que la sélection assistée par marqueurs (SAM), sont de plus en plus développés. La détection de Quantitative Trait Locus (QTL) impliqués dans le contrôle de divers caractères d'intérêt permet d'identifier des marqueurs moléculaires liés à ces caractères et de les utiliser après validation pour le choix de géniteurs et/ou de descendants possédant ces traits sans passer par le phénotype. Cependant aujourd'hui la SAM chez le cerisier reste limitée essentiellement au caractère du poids du fruit (Olmstead *et al.*, 2008 ; Zhang *et al.*, 2010), d'où l'intérêt de développer des outils pour d'autres caractères et mettre en place une SAM multi-caractères.

De plus, le dernier rapport du GIEC confirme une nouvelle fois que l'accélération du changement climatique se poursuit et se traduit particulièrement par l'augmentation des températures moyennes dans le monde entier (Allan *et al.*, 2021). Le réchauffement climatique induit des floraisons avancées rendant ainsi les fleurs vulnérables aux aléas climatiques, comme les gels printaniers (Campoy *et al.*, 2011). Ainsi, en plus des critères de qualité du fruit, des critères de phénologie s'ajoutent dans les programmes de sélection. Les futures variétés attendues devront avoir une bonne qualité du fruit et des floraisons plus tardives et de faibles besoins en froids.

L'objectif de ce stage de fin d'études est de développer des marqueurs moléculaires associés aux caractères de qualité du fruit et de phénologie du cerisier doux afin d'optimiser les programmes de sélection. Ces marqueurs sont étudiés dans le but de passer d'une SAM mono caractère à une SAM multi-caractères.

Dans une première partie, une synthèse bibliographique du cerisier doux sera présentée. Les enjeux de la création variétale et l'impact des changements climatiques, ainsi que les connaissances actuelles en génétique et génomique seront abordés, suivis de la présentation des questions de recherche et de la démarche choisie. La seconde partie de ce rapport présentera le matériel et les méthodes utilisés. Puis, la troisième partie portera sur les résultats obtenus et, enfin, la quatrième partie sera composée de la discussion de ces résultats et des perspectives qu'ils offrent.



(A) Bourgeon d'hiver



(B) Bourgeon gonflé



(C) Boutons visibles



(D) Séparation des
boutons



(E) Etamines visibles



(F) Pleine floraison



(G) Chute des pétales



(H) Nouaison



(I) Chute du calice



(J) Jeune fruit



(K) Fruits mûrs

Figure 1 : Principaux stades phénologiques BBCH (Meier, 1994)

II) Synthèse bibliographique

II.1. Taxonomie et historique du cerisier

Appartenant au genre *Prunus* de la famille des Rosacées (*Rosaceae*), le cerisier doux (*Prunus avium* L.) est une espèce pérenne de valeur agronomique importante. D'après De Candolle (1886), il serait originaire d'une zone entre la Mer Noire et la Mer Caspienne. De cette région, l'espèce s'est étendue jusqu'en Europe occidentale, principalement par le biais des oiseaux (Zohary & Hopf, 2000). D'après des données archéologiques, les premières traces de domestication du cerisier doux remontent à 4 000 ans avant Jésus-Christ, dans l'est du bassin méditerranéen. Domesticquée pour ses fruits, la culture du cerisier doux n'a cessé de se développer et est aujourd'hui présente dans plus d'une quarantaine de pays situés en zone tempérée (Dirlewanger *et al.*, 2007).

Une classification du cerisier a été établie, d'abord, par des caractères morphologiques puis validée par des études phylogénétiques (Dirlewanger *et al.*, 2007; Burger *et al.*, 2016). Ces études ont montré que le cerisier doux appartient au sous-genre *Cerasus*, plus précisément aux *Eucerasus*, section où coexistent des espèces présentant plusieurs niveaux de ploïdie. Le cerisier doux fait partie des espèces diploïdes à $2n = 2x = 16$ chromosomes. Il existe également dans cette section, des espèces tétraploïdes à $2n = 4x = 32$ chromosomes, telles que le cerisier acide (*P. cerasus* L.), le cerisier des steppes (*P. fruticosa*) et le cerisier anglais (*Prunus x gondouinii* Rehder).

Le cerisier est une plante monoïque, principalement allogame stricte, dont la reproduction sexuée (pollinisation) est majoritairement assurée par les insectes (reproduction entomophile). L'allogamie du cerisier est due à un système d'auto-incompatibilité gamétophytique rendant les autofécondations complexes (Crane & Brown, 1938). De nos jours, des variétés auto-fertiles ont été sélectionnées, telles que 'Stella' première variété auto fertile (Lapins, 1971), qui a permis par la suite, le développement de nombreuses variétés auto-fertiles, comme 'Lapins' (S_1S_4) et 'Sunburst' (S_3S_4) (Lane & Schmid, 1984).

II.2. Les enjeux de la création variétale du cerisier doux

II.2.1. Objectifs de création variétale et réchauffement climatique

Les premiers programmes de création variétale sur le cerisier doux ont débuté au Etats-Unis à la fin du XIX siècle (Iezzoni *et al.*, 2017) et entre 1940 et 1950 en Europe, précisément en Italie, en Estonie, en Allemagne, en Hongrie et au Royaume-Uni. Puis, c'est en 1940 que la France a débuté ses premiers programmes de sélection (Sansavini & Lugli, 2008). Aujourd'hui, l'amélioration des cerisiers doux est en plein développement, assurée par de nombreux pays, par des entreprises publiques et privées. En France, les programmes de sélection sont principalement conduits par l'Institut National de Recherche pour l'Agriculture, l'Alimentation et l'Environnement (INRAE) en partenariat avec CEPIInnovation et quelques entreprises privées telles que G. Delbard et Agro Sélection Fruits.

Apprécié pour sa chair savoureuse et sucrée, la cerise est aussi riche en vitamines (C et A selon les variétés) et en minéraux (calcium, fer, cuivre et oligo éléments) (AOP Cerise de France, 2021). Cependant, le cerisier doux est un arbre très sensible aux conditions climatiques, de la floraison à la fructification (figure 1). De plus, les fruits sont également très fragiles et sensibles au climat. En effet, la pluie peut provoquer l'éclatement des cerises en les rendant impropre à la consommation, et ainsi diminuer drastiquement la rentabilité de la récolte (Knoche, 2019).

En raison d'une forte sensibilité à son environnement, le cerisier fait partie des espèces d'intérêt agronomique majeur pour lesquelles le réchauffement climatique actuel est problématique. En effet, de nombreuses études ont démontré l'importance des températures froides et chaudes sur la floraison de *Prunus avium* (Quero-Garcia & Dirlewanger, 2014). Aujourd'hui, l'objectif du programme d'Innovation variétale INRAE est de créer de nouvelles variétés répondant à une gamme de critères liés à la qualité du fruit dans un contexte de changement climatique. Les principaux critères de sélection sont : (i) une bonne qualité du fruit (poids du fruit, fermeté, tolérance à l'éclatement, goût ...) ; (ii) le rendement qui prend en compte la stabilité et la saisonnalité de celui-ci ; (iii) l'auto-compatibilité des variétés ; (iv) les résistances aux maladies comme le chancre bactérien (*Pseudomonas mors pv. prunorum* et *P. syringae*) et à la monilose (*Monilia laxa*, *M. fructigena* et *M. fructicola*) et enfin à (v) l'adaptabilité à son environnement (Kappel *et al.*, 2012; Quero-García *et al.*, 2017; Dondini *et al.*, 2018; Quero-García, lezzoni, *et al.*, 2019).

II.2.2. Limites et perspectives d'amélioration

Face au changement climatique, il est primordial de créer de nouvelles variétés adaptées aux conditions futures. Cependant, le cerisier doux est une espèce pérenne avec une période juvénile longue (3-5 ans), ce qui rend le processus de sélection long et coûteux. Il faut 24 ans en moyenne pour créer une nouvelle variété. De ce fait, l'amélioration de l'espèce pour l'adaptation au changement climatique se doit d'être entreprise dès maintenant (Campoy *et al.*, 2011). Les printemps plus doux provoquent des floraisons avancées et rendent les fleurs vulnérables au gel printanier. Ainsi, la création de variétés avec une bonne qualité de fruit et des floraisons plus tardives est une priorité. Néanmoins, aujourd'hui, aucune variété répondant à tous les critères recherchés n'a été encore obtenue chez le cerisier doux (Quero-Garcia *et al.*, 2019).

Les programmes de sélection du cerisier doux sont longs et coûteux. D'où le besoin d'optimiser les stratégies de sélection afin de réduire le temps et le coût des programmes. L'introduction des outils génétiques et génomiques offre de nouvelles perspectives. En effet, les marqueurs moléculaires permettent d'identifier les individus avec les caractères d'intérêt dès le stade plantule et sans passer par des années de phénotypage. La SAM est aujourd'hui un outil de sélection très exploité. Par exemple, une étude a démontré qu'il était possible de sélectionner par SAM les individus possédant les allèles correspondant aux «gros fruits», grâce à deux marqueurs SSR du cerisier doux (Olmstead *et al.*, 2008; Zhang *et al.*, 2009). Néanmoins, la SAM est pour le moment uniquement développée pour le poids du fruit. Or, de nombreux caractères liés à la qualité du fruit sont complexes et corrélés pour certains d'entre eux. Ces corrélations montrent les limites de la SAM mono-caractère et poussent au développement de stratégies SAM permettant de prendre en compte plusieurs caractères.

II.3. Etat de l'art : outils génétiques et génomiques du cerisier doux

II.3.1. Génomes et outils de génotypage du cerisier doux

Actuellement, les génomes complets de plusieurs variétés de cerisier sont disponibles, tels que, 'Satonishiki' (Shirasawa *et al.*, 2017), 'Regina' (Le Dantec *et al.*, 2018), 'Tieton' (Wang *et al.*, 2020) et 'Big Star' (Pinosio *et al.*, 2020).

Un ensemble de données sur le transcriptome du cerisier sont également disponibles (Vimont *et al.*, 2019). Une autre étude portant sur trois cultivars de cerisier doux ('Bing', 'Lapins' et 'Rainier'), sur feuilles et fruits mûrs a permis d'améliorer l'assemblage et l'annotation du génome du cerisier, d'extraire des SNP polymorphes entre différents cultivars, d'identifier les

Caractères	Références	Principaux QTL	
		Groupes de liaison	PVE max
Date de floraison	Dirlewanger et al. (2012)	1,4,5	46(GL4)
	Castède et al. (2014)	1,4,5,6,7	46(GL4)
	Calle, Cai, et al. (2020)	1,2	60(GL1)
Poids du fruit	Zhang et al. (2010)	2,6	54(GL2)
	Rosyara et al. (2013)	1,2,3,6	-
	Campoy et al. (2014)	1,2,3,5,6,8	37(GL1)
	Calle & Wünsch (2020)	1,2,5	45(GL2)
	Calle, Balas, et al. (2020)	1,3	17(GL1)
Fermeté	Campoy et al. (2014)	1,2,3,5,6,8	37(GL2)
	Cai et al. (2019)	4	85
	Calle & Wünsch (2020)	4	64
	Calle, Balas, et al. (2020)	1,6	23
Eclatement du fruit	Quero-García et al. (2021)	1,2,3,4,5,6,7	26(GL5)
Productivité	Quero-García et al. (2019)	1,6	18(GL6)

Tableau 1 : QTL pour la date de floraison et pour des caractères de qualité du fruit du cerisier doux (adapté de Branchereau, (2022))

transcrits épissés de manière différentielle et identifier des cibles génétiques (Maldonado *et al.*, 2019).

Enfin, les puces à ADN font partie intégrante des outils pour l'étude des génomes. Le consortium international sur les Rosacées « International Rosaceae SNP Consortium (IRSC) » a participé au développement de la puce cerisier 'RosBREED cherry 6K SNP array v1' utilisant la technologie Illumina Infinium® II (Peace *et al.*, 2012). Issue du séquençage de 16 variétés de cerisier doux, et de 8 variétés de cerisiers acides, cette puce donne accès à 4214 SNP provenant du cerisier doux et à 1482 SNP provenant du cerisier acide. Puis, une nouvelle puce regroupant les marqueurs de la puce RosBREED cherry 6k SNP array v1 et 7863 nouveaux marqueurs, nommée « 6+9K SNP array », donne accès à 13 559 SNP (Vanderzande *et al.*, 2020). Cette puce peut être utilisée pour la construction de cartes génétiques à haute densité. Ces données sont accessibles via la base de donnée sur les rosacées : Genome Database for Rosaceae (GDR, <https://www.rosaceae.org>).

II.3.2. Cartes de liaisons génétiques

Les cartes génétiques sont des outils essentiels pour la compréhension du déterminisme génétique de caractères complexes d'intérêt agronomique. De nombreuses cartes génétiques sur cerisier doux ont été réalisées. Dans ce rapport, seules les cartes de 'Regina' et 'Lapins' seront présentées.

En utilisant la première puce cerisier RosBREED, des cartes de 'Regina' et 'Lapins' ont pu être construites grâce aux descendants issus du croisement de ces variétés (RxL). Les marqueurs hétérozygotes chez 'Regina' ont permis de construire la carte parentale de 'Regina' (335 marqueurs ; 619,4 cM), ceux hétérozygotes chez 'Lapins' ont permis de construire la carte parentale pour 'Lapins' (247 marqueurs ; 610,1 cM) et ceux hétérozygotes chez les deux parents permettent de construire la carte consensus (Klagges *et al.*, 2013).

Ces cartes ont permis la détection de QTL et l'identification de gènes candidats pour plusieurs caractères.

II.3.1. Principaux QTL et marqueurs moléculaires utilisables en SAM

Dans cette partie, seront détaillés les principaux QTL détectés sur cerisier doux (tableau 1).

Les caractères étudiés chez le cerisier doux sont pour la plupart polygéniques, mais sont contrôlés par des QTL pouvant présenter un fort pourcentage de variance phénotypique expliquée (PVE). Concernant la date de floraison, les QTL les plus importants ont été détectés sur les groupes de liaison (GL) 1 et 4 (Castède *et al.*, 2014) sur des cultivars à floraison précoce, tels que 'Lapins' et 'Garnet' ou encore sur le cultivar ultra-précoce, 'Cristobalina' (Calle *et al.*, 2018; Cai *et al.*, 2019). Les intervalles de confiance des QTL ont révélé qu'ils couvrent la région des gènes Dormancy Associated MADS box (DAM), PavDAM5 et PavDAM6, gènes associés à la dormance des bourgeons. De plus, ces QTL ont permis l'identification de gènes candidats impliqués dans la voie de synthèse des gibbérellines et la voie de la température ambiante. De nombreux autres QTL liés à la phénologie de l'arbre ont été également détectés pour les besoins en froid et en chaud (Castède *et al.*, 2014) et pour la date de maturité (Dirlewanger *et al.*, 2012; Isuzugawa *et al.*, 2019; Calle & Wunsch, 2020).

La qualité du fruit prend en compte de nombreux critères, tels que, le poids du fruit, la taille du fruit, la fermeté et la tolérance à l'éclatement. Une étude conduite sur le poids et la taille du fruit, a permis l'identification de deux QTL majeurs sur le GL 2 et 6 (Zhang *et al.*, 2010). Cette étude montre, d'une part que le QTL du GL 2 associé au poids du fruit, co-localise avec un

autre QTL, lié au nombre de cellules du mésocarpe et d'autre part, que le QTL du GL 6, lui, co-localise avec des QTL qui contrôlent la variation du poids et la dimension du noyau. De plus, les résultats ont révélé que l'allèle dit « petit fruits » est dominant face à l'allèle dit « gros fruits », d'où l'intérêt du développement par la suite d'une SAM pour le poids du fruit à partir de marqueurs permettant d'identifier les allèles « petit fruits » ou « gros fruits » (Olmstead *et al.*, 2008; Zhang *et al.*, 2010). Une étude regroupant la famille utilisée par Zhang *et al.* (2010), une famille issue du croisement entre 'Regina' et 'Lapins' et cinq autres familles de cerisier acide a abouti à l'identification de gènes candidats appartenant à la famille des Cell Number Regulator (CNR) impliqués dans le contrôle de la variation du poids du fruit. Ces gènes ont été positionnés dans les zones génomiques des QTL des GL 2 et 6, PavCNR12 et PavCNR20 correspondent aux gènes candidats proposés (De Franceschi *et al.*, 2013). Puis, une étude a montré la présence de trois QTL sur le GL 2 et un QTL sur les GL 1, 3 et 6, tous associés au poids du fruit. Ces QTL ont pu être obtenus grâce à une approche bayésienne de détection multi-parentale basée sur quatre familles de cartographie (Rosyara *et al.*, 2013). Enfin, de nouveaux QTL associés au poids du fruit ont été identifiés sur le GL 5 grâce à une analyse de détection multi-années en utilisant le logiciel MultiQTL (Campoy *et al.*, 2015). Récemment, des études ont confirmé la présence de ces QTL dans des fonds génétiques différents (Calle & Wünsch, 2020; Calle, Serradilla, *et al.*, 2021).

Parmi les critères de qualité du fruit, la fermeté est une caractéristique très importante. Des études ont révélé qu'il existe de nombreuses colocalisations entre les QTL de poids et de fermeté du fruit. Ces co-localisations ont été identifiées dans les familles issues des croisements entre 'Regina' x 'Lapins' et 'Regina' x 'Garnet', et ont montré des corrélations négatives entre ces deux caractères (Campoy *et al.*, 2015). Pour le QTL majeur de fermeté du fruit du GL 4, découvert dans d'autres fonds génétiques, l'allèle dit « fruit mou » est dominant par rapport à l'allèle dit « fruit ferme » (Cai *et al.*, 2019; Calle & Wünsch, 2020). Cependant, parmi les variétés étudiées, les cultivars modernes semblent tous être homozygotes pour l'allèle « ferme », ce qui suggère que ce locus révèle une signature de sélection (Cai *et al.*, 2019).

La tolérance à l'éclatement du fruit induit par la pluie est également un caractère très étudié, encore plus dans le contexte actuel de changement climatique où les épisodes pluvieux au printemps sont de plus en plus fréquents. L'éclatement du fruit est un caractère complexe, évalué visuellement dans trois zones différentes du fruit (pédoncule, joue, point pistillaire) (Quero-García *et al.*, 2021). Cette étude a permis l'identification d'au moins un QTL stable et important pour chacun des trois types d'éclatement dans les GL 2, 4 et 5.

La productivité de l'arbre est également un critère important pour les producteurs. Deux QTL liés à la productivité ont été détectés sur le GL 1 et 6 (Quero-García, Iezzoni, *et al.*, 2019).

L'ensemble de ces études représentent des données précieuses pour l'amélioration du cerisier doux. En effet, les QTL permettent de mieux comprendre la variabilité des caractères d'intérêt et de développer une SAM pour ces caractères. Aujourd'hui, la SAM est un outil important des programmes de sélection, mais reste encore limitée pour le cerisier, seulement utilisée pour le poids du fruit à l'aide de deux marqueurs SSR, BPPCT03 et CPSCT038 (Olmstead *et al.*, 2008). Cependant, les caractères agronomiques d'intérêt sont bien souvent corrélés entre eux, les corrélations peuvent être positives comme négatives ce qui rend la SAM multi-caractères indispensable afin d'éviter les contres sélections.

II.4. Questions de recherche et démarche

Ce stage cherche à répondre aux questions suivantes :

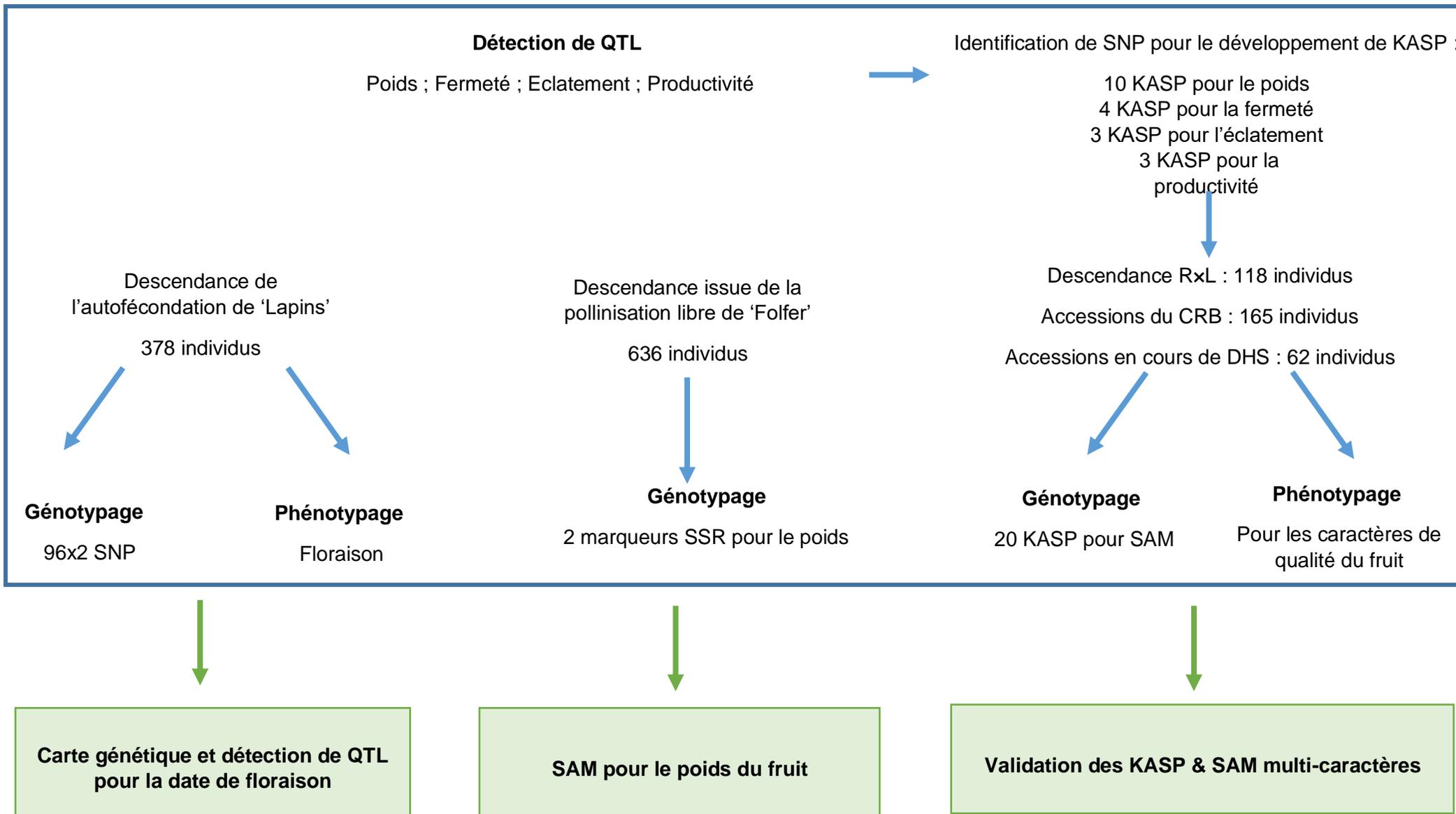


Figure 2 : Analyses réalisées en amont (bleu) et pendant le stage (vert)

Comment détecter de nouvelles régions génomiques impliquées dans la date de floraison ? Quels sont les avantages et inconvénients de différents types de marqueurs (SSR vs SNP) utilisés en SAM ? Quelles stratégies permettent de développer une SAM multi-caractères ? Les marqueurs identifiés sur un panel donné peuvent-ils être utilisés comme outils de sélection sur de nouveaux panels ?

En amont de ce stage, des individus issus de l'autofécondation de la variété 'Lapins' ont été phénotypés pour la date de floraison durant l'année 2021 et génotypés avec 192 marqueurs SNP sélectionnés à partir de la carte génétique de 'Lapins' réalisée à partir de la descendance R×L. Ces marqueurs SNP sont tous issus de la puce RosBREED cherry 6K, hétérozygotes chez 'Lapins' et couvrent les 8 chromosomes. Cette nouvelle carte génétique permettra de faire une détection de nouveaux QTL. L'hypothèse de cette détection de QTL est qu'il existe des QTL associés à la date de floraison, avec des hautes PVE, sur d'autres GL, c'est-à-dire, hors du GL 4.

Une famille issue de la pollinisation libre de 'Folfer' sera étudiée dans le but de sélectionner les hybrides d'intérêt. Une SAM sera réalisée sur ces hybrides à partir des deux marqueurs SSR associés au poids du fruit. Ces résultats permettront d'éliminer les individus possédant l'allèle « petit fruit » et ainsi de réduire le nombre d'hybrides sans phénotypage. L'hypothèse est que, bien que la variété 'Folfer' ne présente que des allèles associés au caractère « gros fruit », elle a pu être pollinisée par des variétés présentant au moins un allèle défavorable. Les marqueurs SSR pourraient alors permettre de réduire les coûts des programmes de sélection, en effectuant de la sélection précoce, via l'élimination d'individus présentant des allèles défavorables.

Enfin, la famille issue du croisement entre les variétés 'Regina' et 'Lapins' (R×L), les accessions de la collection du Centre de Ressources Biologiques (CRB) et les accessions qui ont été étudiées ou sont encore en cours d'étude pour la Distinction Homogénéité Stabilité (DHS) ont été phénotypées pendant plusieurs années pour différents caractères : le poids du fruit, la fermeté, l'éclatement (seul l'éclatement au point pistillaire sera pris en compte dans ce rapport) et la productivité. En se basant sur les résultats de différentes études sur les QTL liés à ces caractères d'intérêt agronomiques, des SNP ont été sélectionnés puis transformés en marqueurs Kompetitive Allele Specific PCR (KASP). Au total, 20 marqueurs KASP ont pu être développés, pour le poids du fruit, la fermeté, l'éclatement et la productivité de l'arbre. L'ensemble de ces marqueurs KASP a été génotypé sur les trois panels de cerisier doux afin d'évaluer leur transférabilité et de valider ou non leur utilisation en SAM multi-caractères.

La figure 2 présente les analyses qui ont été réalisées avant et pendant le stage.

III) Matériels et méthodes

III.1. Matériel végétal

Le tableau 2 présente les différents panels étudiés.

Une autofécondation de 'Lapins' a été réalisée en 2010 par l'équipe A3C de UMR BFP/INRAE-Bordeaux dans un tunnel en utilisant des arbres en pot, la fécondation étant assurée par des bourdons. Les arbres ont été plantés en 2013 à l'Unité Expérimentale Arboricole (UEA) de INRAE de Toulence (située à 50 km au sud-est de Bordeaux, en France). Ce domaine est situé en bord de Garonne, le sol est principalement limoneux et profond, à 15 m d'altitude sur une latitude de 44.57 N et une longitude de 0.28 O. Le climat est caractérisé par des hivers doux et une pluviométrie annuelle de 777 mm (les vergers présents sur le site ne sont pas irrigués hormis les accessions en cours de test de DHS).

Océane Bellerose – Mémoire de fin d'études

Population	Nombre d'individus	Site	Année de plantation	Porte-greffes	Phénotypage		Méthode de génotypage
					Caractères	Nb d'années	
Descendance issue de la pollinisation libre 'Folfer'	636	Toulenne	2022	-	-	-	SSR (CPSCT038; BPPCT034)
'Lapins' × 'Lapins'	378	Toulenne	2013	-	Floraison	1	Puce RosBREED 6k SNP (2×96 SNP)
'Regina × 'Lapins'	118	Toulenne	2002	-	Poids moyen	10	10 KASP
					Fermeté		4 KASP
					Productivité		3 KASP
					Eclatement		3 KASP
Collection du CRB	165	Bourran	2002-2003	PG : Colt	Poids moyen	2003-2019	10 KASP
					Fermeté		4 KASP
					Productivité		3 KASP
					Eclatement		3 KASP
Accessions en cours de DHS	62	Toulenne	-	PG : Maxma Delbard® 14	Poids	1980-2021	10 KASP
					Fermeté		4 KASP
					Productivité		3 KASP
							3 KASP

Tableau 2 : Matériel végétal étudié

La SAM par marqueurs SSR a été réalisée sur les descendants issus de la pollinisation libre de la variété 'Folfer' cultivée à Toulence. 'Folfer' a été choisi comme génotype mère et a été fécondé de manière aléatoire par les variétés proches de la parcelle grâce à l'intervention de pollinisateurs naturels. Cette variété est arrivée sur le marché en 2005, elle est issue du programme de sélection d'INRAE et est caractérisée par sa précocité (les fruits arrivent 10 à 12 jours après 'Burlat') et sa qualité du fruit (gros et ferme). La pollinisation libre de la variété 'Folfer' a été réalisée pendant le printemps de l'année 2021, les noyaux ont été récoltés à maturité des fruits en juin 2021 et les 636 hybrides ainsi obtenus ont été mis en culture sous serre.

La SAM par KASP en multi-caractères a été réalisée sur trois populations. La première population qui a été étudiée est issue du croisement contrôlé entre les variétés 'Regina' et 'Lapins' (R×L). Ce croisement a été réalisé par pollinisation manuelle en 2001, à INRAE de Bordeaux et les hybrides ont été implantés sur le site de Toulence en 2002. A l'origine, R×L a été créée dans le but d'étudier le contrôle génétique de plusieurs caractères liés à la qualité du fruit et particulièrement la tolérance à l'éclatement. 'Regina' correspond au génotype tolérant et 'Lapins' au génotype sensible. En premier lieu, R×L a donné 132 descendants, parmi ces individus certains sont morts et d'autres ont été définis comme hors types, finalement la population R×L est composée de 122 individus.

La seconde population utilisée en SAM multi-caractères est composée d'un échantillon d'accessions de la collection Cerisier du Centre de Ressources Biologiques (CRB) *Prunus*, *Juglans* cultivée sur le site de Bourran (localisé à 120 km au sud-est de Bordeaux). Le matériel végétal conservé dans le CRB regroupe les principales espèces cultivées de fruits à noyaux du genre *Prunus* et leurs espèces apparentées. Au total, 400 accessions de cerisier doux et acide, d'intérêt scientifique majeur, sont conservées dans la collection nationale et la collection de recherche. Dans ce rapport, 165 accessions du CRB ont été étudiées, ces accessions provenant de 16 pays de différentes parties du monde (Europe, Amérique, Asie), comprennent des variétés traditionnelles anciennes et également des variétés améliorées, elles représentent la diversité génétique du cerisier doux au sein du CRB. La plupart des accessions ont déjà été génotypées avec la puce 6K et ce génotypage a permis d'étudier l'étendue de leur diversité génétique et leur structure (Campoy *et al.*, 2016). De plus, le groupe de structure auquel appartiennent les accessions du CRB est connu (tableau 3).

La troisième population étudiée regroupe un ensemble d'accessions en cours ou déjà évalué pour la DHS. Cette population était constituée au départ de 27 accessions actuellement en DHS puis 35 nouvelles accessions ont été ajoutées (tableau 4). Les 35 nouveaux individus sont des accessions présentes également dans la collection du CRB. Les données phénotypiques de ces accessions sont issues des notations faites lors des évaluations de DHS des variétés.

III.2. Cartographie génétique et recherche de QTL pour la date de floraison

La nouvelle carte génétique et la détection de QTL ont été réalisées à partir des 378 individus issus de l'autofécondation de 'Lapins', 'Lapins' étant une variété à floraison précoce.

III.2.1. Phénotypage de la date de floraison et statistiques descriptives

Le phénotypage des descendants de l'autofécondation de 'Lapins' a été réalisé sur une année (2021) pour la date de floraison. L'évaluation de la floraison est basée sur l'observation du stade phénologique de chaque arbre, tous les jours (ou tous les deux jours) à compter de l'apparition des premières fleurs. Trois notations sont effectuées, pour le début de floraison

Océane Bellerose – Mémoire de fin d'études

Individus	Structure	Moyennes ajustées			
		PM	Ferm	Pro	Eclat_P
Bigarreau-Hatif-Burlat	1	5.85	57.60	4.50	0.04
Bigarreau-Moreau	1	6.18	49.60	3.17	0.04
Bigarreau-Noir-d'Ecully	1	7.17	64.80	3.83	2.53
Merveille-de-Saint-Genis-Laval	1	6.96	72.40	2.67	0.02
Precoce-Bernard	1	5.73	60.50	4.30	0.14
Alpine-de-Provence	1	6.34	63.20	5.33	0.00
Belliquette	1	3.48	63.30	5.17	0.93
Bigarreau-Coeur-de-Pigeon-tardif	1	6.15	82.00	2.60	1.81
Bigarreau-Courte-Queue	1	5.14	63.60	5.33	0.11
Bigarreau-Grand	1	6.16	66.20	5.67	3.35
Bigarreau-Precoce-de-Sorede	1	5.76	63.10	3.40	0.53
Blancale-precoce	1	5.00	54.50	4.83	0.14
Blanchere	1	4.03	49.40	7.21	0.18
Bruelles	1	3.57	72.60	5.00	0.00
Caillou	1	4.30	85.70	5.50	0.00
Cerise-des-moissons	1	4.25	59.20	4.30	4.93
Cypres	1	3.88	61.00	4.17	0.07
Early-black	1	5.01	60.10	4.00	2.93
Gascoigne-double	1	2.89	46.90	4.67	0.00
Gascoigne-tardive-de-Seninghem	1	4.07	60.40	5.00	0.01
Jerusalem	1	6.41	58.60	2.00	0.00
Le-cardan	1	4.75	55.40	4.83	0.01
Targonnois	1	4.38	79.10	4.87	0.22
V3694	1	5.85	48.80	5.09	0.56
V3855	1	5.03	62.10	4.00	1.99
V3858	1	4.92	67.10	4.50	0.09
V4063	1	4.94	50.80	5.00	21.91
V4092	1	3.22	53.90	5.33	0.00
Xapata	1	3.27	51.30	5.50	0.22
Ramon-Oliva	2	4.78	64.40	1.33	8.83
Bigarreau-Marmotte	2	5.82	64.30	3.59	0.03
Napoleon	2	4.35	62.40	7.02	0.63
Bigarreau-de-Fontainebleau	2	4.91	67.30	5.17	0.98
Bigarreau-Hatif-productif	2	5.78	57.00	1.83	0.02
Bigarreau-Noir	2	4.50	72.10	4.67	7.00
Blanche-de-Gaujac	2	6.66	65.20	6.17	3.33
Grosse-Rouge-de-la-Faculte	2	5.99	71.40	5.10	0.21
Noir-de-Chlumac	2	5.14	66.70	5.67	1.33
Noire-de-Meched	2	7.18	59.40	4.17	0.00
Tardive-Chainaut	2	6.32	64.80	5.50	12.13
Vesseaux	2	7.25	72.30	4.46	0.06
Yuko-Nishiki	2	4.18	57.30	4.17	0.00
13-N-7-39	2	7.93	69.10	5.17	16.67
5-N-34-15	2	6.92	76.40	4.17	1.00
7616-4	2	7.58	70.40	5.17	0.05
Angela	2	5.46	64.90	1.87	0.49
Bada	2	6.93	58.40	2.50	1.03
Bing	2	6.92	64.70	5.00	0.01
Ferdiva	2	5.80	78.50	4.17	0.00
Ferdouce	2	6.93	69.40	5.67	0.02
Feria	2	7.57	71.50	2.88	1.33
Fertard	2	6.61	84.30	1.58	0.04
Garnet	2	5.75	76.90	4.83	0.02
Katalin	2	7.59	69.40	5.00	0.20
Kavics	2	6.20	80.70	1.87	0.14
Kordia	2	7.80	76.50	3.00	0.21
Kordia	2	7.80	76.50	3.00	0.21
Kristin	2	6.02	73.60	4.50	0.20
Lambert	2	4.67	71.30	3.15	0.72
Lapins	2	6.99	72.00	5.50	2.72
Larian	2	8.00	69.60	2.00	0.05
Linda	2	6.28	66.70	5.50	0.01
Margit	2	7.57	68.80	3.30	0.15
Maru-Ruby	2	6.93	73.60	3.90	16.67
Nanyo	2	4.27	69.20	2.90	0.12
New star	2	6.45	65.50	5.67	4.33
Ohio-Beauty	2	4.76	63.90	6.00	0.00
Probla-Simcoe	2	5.86	76.30	5.17	0.67
Rainier	2	7.72	65.60	4.67	0.21
Royalton	2	7.76	67.40	3.67	0.13
Rubin	2	8.53	72.20	5.33	0.00
Sandra-rose	2	8.67	77.30	3.50	6.13
Schmidt	2	4.83	60.70	4.17	0.00
S-J-9-8-bl	2	7.70	46.30	4.08	0.26
Skeena	2	7.67	81.10	5.50	0.06
Stark-Hardy-Giant	2	6.14	76.10	4.17	0.10
Stella	2	7.21	60.00	5.67	0.04
Sumni-New-Moon	2	6.88	82.60	3.67	7.00
Sumnue	2	6.49	68.20	5.33	8.33
Sumste-Samba	2	8.61	72.80	4.10	2.00
Sumtare-Sweetheart	2	7.61	78.00	6.50	0.03
Sweet-Ann	2	5.58	70.60	4.83	0.02
Uriase-de-Bistria	2	7.66	68.10	2.90	0.21
Vega	2	8.61	66.80	3.00	0.14
Velvet	2	6.67	66.70	4.90	0.09
Vernon	2	6.30	76.00	3.83	0.21
Vic	2	6.87	69.30	6.10	0.33
Viscount	2	6.16	64.50	6.33	4.33
Vista	2	5.72	64.50	3.74	0.16
Bigarreau-d'Or-Stark-Gold	Admixed	4.50	62.90	3.59	0.09
Bigarreau-Guillaume	Admixed	6.84	57.40	6.00	2.67
Bigarreau-Pelissier	Admixed	7.55	85.20	2.17	0.05
Fougerouse	Admixed	5.59	59.50	7.17	2.67
Geant-Hedelfingen	Admixed	6.76	73.40	3.67	0.00
Guigne-jaune-de-Doenissen	Admixed	5.28	68.20	6.17	1.67
Hartland	Admixed	5.74	69.00	3.10	0.14
Kassins-Fruhe	Admixed	3.86	52.30	3.50	0.13
Sandar	Admixed	7.98	46.80	4.00	0.13
Abourou	Admixed	4.43	45.90	3.83	0.13
Bigarreau-Camus-de-Venasque	Admixed	5.67	83.60	4.16	0.29
Bigarreau-Coeur	Admixed	5.34	56.70	3.83	0.13
Bigarreau-de-Juin	Admixed	2.85	57.40	3.67	0.00
Bigarreau-de-Mai	Admixed	3.11	54.90	4.00	0.19
Bigarreau-Maria-Gaucher	Admixed	6.88	57.60	4.17	0.01
Bigarreau-Saint-Bruno	Admixed	4.90	69.30	7.00	0.01
Blancale-tardive	Admixed	2.85	75.90	3.62	0.22
Cacouanne-blanche	Admixed	5.36	71.50	6.00	0.20
Chalonnaise-n2	Admixed	4.10	57.40	5.00	0.17
Cristobalina	Admixed	3.36	69.80	3.00	0.13
Durette	Admixed	3.42	84.40	5.33	0.00
Durone-prima-di-Vignola	Admixed	7.77	69.80	2.17	0.06
Durone-Nero-Seconda-di-Vignola	Admixed	6.38	82.20	2.17	0.09
Duroni-3	Admixed	8.72	67.70	3.33	0.01
Etienne-Thuilleaux	Admixed	4.28	36.00	3.83	0.00
Franco-Tellier	Admixed	4.21	76.00	4.00	2.20
Grosse-blanche-de-Verchocq	Admixed	5.54	68.40	4.00	0.22
Guigne-d'Annonay	Admixed	2.94	43.00	5.33	0.15
Guigne-Douce-du-Champ-de-lair	Admixed	4.08	50.80	5.17	7.12
Guigne-noire-de-Boccard	Admixed	4.02	56.70	4.00	0.00
Guigne-precoce-du-pays-du-blanc	Admixed	4.14	45.80	4.33	0.13
Mora-di-Cazzano	Admixed	5.47	78.60	2.12	0.22
Olivette	Admixed	3.28	63.50	3.83	0.00
Precoce-d'Isigny	Admixed	3.31	45.70	3.05	0.11
Premiere	Admixed	3.74	51.50	4.62	0.00
Sainte-Marie	Admixed	4.18	68.20	5.33	7.33
Saint-Georges	Admixed	2.94	43.40	4.17	0.21
Sato-Nishiki	Admixed	4.54	63.30	3.50	0.10
Turca	Admixed	5.44	79.50	1.10	0.21
V4135	Admixed	2.50	36.30	5.70	0.13
Versaillaise	Admixed	6.34	64.80	4.83	0.02
4_84	Admixed	6.26	67.80	6.00	0.02
Agoudet-Delice-de-Malicoine	Admixed	5.45	78.00	5.17	0.02
Belle-de-Fabrega	Admixed	7.33	79.90	4.33	0.00
Bianca-di-Verona	Admixed	6.70	72.90	4.67	0.00
Cerna	Admixed	8.90	73.90	3.17	0.27
Duroni-di-Vignola-II	Admixed	5.48	73.80	3.80	4.49
Early-Rivers	Admixed	4.22	46.40	4.00	0.13
Ferbolus-Verdel	Admixed	4.96	74.40	5.33	0.00
Fercer-Arcina	Admixed	6.38	77.10	4.33	0.00
Ferlizac	Admixed	7.63	68.80	2.20	0.10
Fernier	Admixed	6.71	72.90	5.33	0.67
Ferrola	Admixed	7.31	72.40	4.83	0.67
Ferpin	Admixed	6.26	60.20	1.46	1.73
Ferprime-Primulat	Admixed	4.56	56.90	4.33	0.24
Folfer	Admixed	NA	NA	NA	NA
Francesca	Admixed	5.97	59.60	6.77	0.06
Gardel-Coralise	Admixed	6.89	67.40	5.00	3.67
Giorgia	Admixed	5.85	71.60	5.50	0.00
Glacier	Admixed	10.06	59.40	5.50	0.06
Graffioni	Admixed	7.12	66.20	5.50	0.02
Grosse-Schw arze-Knoepelkirsche	Admixed	4.67	59.50	4.70	0.01
Imperiale	Admixed	5.40	76.40	6.00	0.02
Masdel-Lory-Strong	Admixed	7.89	76.90	3.83	5.67
Merton-Crane	Admixed	6.80	62.50	3.00	0.20
OTEA	Admixed	6.18	53.30	4.00	0.00
Regina	Admixed	6.36	75.70	3.67	0.01
Rippert-Botond	Admixed	5.68	66.80	5.67	0.00
Scwecja-A	Admixed	4.15	67.60	4.33	0.22
Valerij-Chkalov	Admixed	6.55	60.90	4.00	0.34
Vittoria	Admixed	5.36	75.60	4.17	0.13
Summit	Admixed	NA	NA	NA	NA

Tableau 3 : Accessions du CRB étudiées

(DF), la pleine floraison (PF) et la fin de floraison (FF). La date de DF est exprimée en jours du calendrier julien et correspond au jour où 10% des fleurs de l'arbre sont ouvertes. Puis, la date de PF correspond au jour où 75% des fleurs de l'arbre sont ouvertes. Et enfin, la date de FF correspond au jour où 50% des fleurs sont fanées. Ces trois stades de floraison sont fortement corrélés, chaque stade de floraison sera étudié séparément au sein de ce rapport.

Afin de réaliser des analyses statistiques sur la famille issue de l'autofécondation de 'Lapins', la normalité et l'indépendance des résidus ont été validées graphiquement et l'homoscédasticité des variances a été vérifiée par un test de Bartlett.

III.2.2. Construction de la carte génétique de l'autofécondation de 'Lapins'

La descendance F_2 de 'Lapins' permet de discriminer pour chaque marqueur les hybrides hétérozygotes (AB), et ceux à l'état homozygote pour chaque allèle (AA) et (BB) et de faire des détections de QTL plus fines sur une descendance F_1 .

Les 378 individus de 'Lapins' × 'Lapins' ($L \times L$) ont été génotypés en amont de ce stage, à l'aide de 2×96 marqueurs SNP de la puce RosBREED cherry 6K. Les SNP ont été choisis à partir de la carte génétique de 'Lapins' réalisée à partir de la descendance $R \times L$ (tous hétérozygotes chez 'Lapins'). Ce génotypage a été réalisé par la plateforme GENTYANE de INRAE-Centre Auvergne Rhône Alpes. Puis, les résultats du génotypage ont été étudiés durant le stage avec le logiciel SNP Genotyping Analysis de la suite « Biomark and EP1™ » accessible sur le site de Fluidigm (<https://www.fluidigm.com>). Le logiciel a permis d'identifier les différents groupes génotypiques aux marqueurs de chaque individu.

De même que pour les individus, en amont de la construction de la carte génétique un tri a été effectué sur les marqueurs. Les marqueurs possédant plus de 15% de données manquantes ont été supprimés.

La carte génétique de 'Lapins' a été construite en utilisant le logiciel JoinMap® 5 (Stam & Ooijen, 1996). Les marqueurs ont été regroupés via leur liaison avec un score LOD minimum de 10 puis, ils ont été ordonnés dans les GL avec des valeurs de LOD de 8 à 10 puis les fréquences de recombinaison ont été calculées. Enfin, la distance entre marqueurs a été estimée à partir de ces fréquences de recombinaison en utilisant la fonction de Kosambi. La carte a pu être visualisée à l'aide de MapChart 2.2 (Voorrips, 2002). Plusieurs GL présentaient des marqueurs dont l'ordre n'était pas en cohérence avec la carte physique. Ces marqueurs ont alors été supprimés avant de reconstruire une nouvelle carte concordante avec les cartes physiques de référence existantes.

III.2.3. Détection de QTL associés à la date de floraison

Pour la détection de QTL associés à la date de floraison, la fonction de cartographie d'intervalle multiple (MIM) du logiciel MultiQTL v2.6 a été utilisée (Haifa & Israël, 2002). La fonction MIM est une méthode itérative où le QTL majeur est utilisé comme cofacteur dans le modèle afin de détecter les QTL qui ont pu être potentiellement masqués par le premier. Cette opération est répétée jusqu'à ce qu'aucun autre QTL ne soit détecté. Cette méthode permet de prendre en compte tous les QTL sur tous les groupes de liaisons.

Afin de valider la présence d'un QTL statistiquement significatif, un test d'hypothèse est réalisé et l'erreur de type I est calculé. Pour cela, le calcul s'effectue au niveau chromosomique selon la formule suivante : $a_{chr} = 1 - (1 - [1 - a_g]^{1M})^m$. Avec M le nombre total de marqueurs utilisés pour l'identification de QTL, et m le nombre de marqueurs sur le GL (Saintagne *et al.*, 2004). Le pourcentage défini pour l'erreur de type I est de 5% à l'échelle du génome. Concernant le pourcentage de variance phénotypique expliquée par le QTL (PVE), il

Océane Bellerose – Mémoire de fin d'études

Accessions	Individus
Accessions en cours de DHS	BADACSONY
	BEDEL_BELISE
	BLACK_STAR
	C-73-5
	EARLIRED
	FERMINA
	FEROBRI
	FERPACT
	FERTILLE
	GIANTRED
	GIRODEL
	GRACE_STAR
	MERVEILLE_DES_PREAUX
	OBT_INRA_4L15
	PANARO_1_sweet_early
	PENNY
	SF91131
	STACCATO
	SUMBIGO
	SUMCOJA
	SUMGITA_canada_giant
	SUNBURST
	TIETON
VAN	
VANDA	
VIVA	
X6_TECHLOVAN	
Accessions du CRB	Napoleon
	Bigarreau-dOr-Stark-Gold
	Geant-Hedelfingen
	Sandar
	Noire-de-Meched
	Bigarreau-Camus-de-Venasque
	Duroni-3
	Ferdiva
	Ferdouce
	Feria
	Fertard
	Garnet
	Kordia
	Lapins
	Maru-Ruby
	Rainier
	Rubin
	Skeena
	Stark-Hardy-Giant
	Stella
	Sumini-New-Moon
	Sumnue
	Sumste-SAMBA
	Sumtare-SWEETHEART
	Agoudel-Delice-de-Malicorne
	Belle-de-Fabrega
	Fercer-ARCINA
	Fernier
	Ferpin
	Ferprime-PRIMULAT
	Folfer
	Gardel-CORALISE
	Glacier
Regina	
Summit	

Tableau 4 : Accessions en cours de DHS étudiées

a été calculé à l'aide du logiciel avec la formule suivante : $\frac{1}{4} (d^2 a_{ph}^2)$ où d^2 représente l'effet de substitution estimé du QTL ($d = X(A) - X(B)$, dont A et B sont les deux génotypes homozygotes aux loci marqueurs et a_{ph} est la variance phénotypique du caractère.

III.3. Sélection assistée par marqueurs SSR pour le poids du fruit

En Mars 2022, les feuilles des 636 hybrides de la famille issue de la pollinisation libre de 'Folfer' ont été prélevées et envoyées au BioGEVES (Domaine du Magneraud, Surgères, Nouvelle-Aquitaine) afin de procéder au génotypage des marqueurs SSR CPSC038 et BPPCT034 associés au poids du fruit (Olmstead *et al.*, 2008; Zhang *et al.*, 2010). Les résultats de génotypage ont été analysés sur le logiciel Geneious Prime (<https://www.geneious.com/prime>), permettant de repérer les pics associés aux marqueurs et d'identifier les allèles « petits fruits » et « gros fruits ».

Pour mettre en place la SAM, chaque individu a été classé en fonction de son génotype au marqueur. Les individus portant l'allèle « gros fruits » aux deux marqueurs ont été conservés.

III.4. Sélection assistée par marqueurs KASP multi-caractères

La SAM multi-caractères a été réalisée sur les trois populations d'étude présentées précédemment : la famille RxL ; les accessions du CRB et les accessions en cours de DHS. L'ensemble des individus des trois populations ont été génotypés avec des marqueurs KASP.

III.4.1. Définition et stratégie de développement des marqueurs KASP

Les marqueurs sont définis à partir de SNP identifiés dans les zones des QTL associés aux caractères d'intérêt. A l'aide du logiciel Integrative Genomics Viewer (IGV) qui permet d'aligner des données de transcriptomique le long du génome de référence (ici, le génome de 'Regina'), il est possible de visualiser les SNP et de sélectionner ceux qui sont hétérozygotes avec des proportions équivalentes pour les deux allèles. Veiller à l'hétérozygotie des SNP était très important afin de maximiser les chances que le marqueur soit polymorphe au sein des populations. La séquence des marqueurs SNP est récupérée (50 pb avant et après le nucléotide polymorphe) et envoyée au BioGEVES, en charge de générer les marqueurs KASP par amplification de l'ADN par PCR. Un marqueur KASP est obtenu à l'aide de 3 amorces différentes : une amorce dite « *forward* » qui est spécifique d'un allèle du SNP, une seconde amorce *forward* qui est spécifique à l'autre allèle du SNP, et une dernière amorce dite « *reverse* » qui est non spécifique des allèles. Les deux allèles peuvent être distingués par la fluorescence émise lors de la réaction PCR grâce à la conjugaison entre les amorces *forward* et les colorants fluorométriques HEX ou FAM (<https://www.lgcgroup.com>).

Vingt marqueurs SNP ont été identifiés pour l'analyse et transformés en KASP par le BioGEVES. Parmi ces vingt marqueurs KASP (tableau 5), dix sont associés au poids du fruit (répartis parmi quatre QTL sur deux groupes de liaisons (GL 2 et GL 6), quatre à la fermeté du fruit (pour deux QTL sur GL 4 et GL 5), trois à l'éclatement (un QTL sur le GL 5) et trois à la productivité de l'arbre (un QTL sur le GL 6). L'ensemble des individus des différents panels présentés précédemment ont été génotypés à l'aide de ces marqueurs KASP.

III.4.2. Validation des marqueurs KASP

Afin de réaliser une SAM multi-caractères, les KASP ont été évalués sur les différents panels.

Caractères	GL	QTL	PVE	Position SNP	Marqueurs KASP
Poids du fruit	GL2	QTL1_GL2_PM	18.4	13 040 692 15 928 163 19 290 899	GL2_REGINA_013_PM GL2_REGINA_015_PM GL2_REGINA_019_PM
		QTL2_GL2_PM		16.8	26 932 208 27 326 550
	GL6	QTL3_GL6_PM	17.7	10 449 981 10 492 468	GL6_REGINA_010_449_PM GL6_REGINA_010_492_PM
		QTL4_GL6_PM		28 541 734 30 067 406 31 768 425	GL6_REGINA_028_PM GL6_REGINA_030_PM GL6_REGINA_031_PM
Fermeté	GL4	QTL1_GL4_Ferm	71.4	12 380 653 12 749 000	GL4_REGINA_012_380_Ferm GL4_REGINA_012_749
	GL5	QTL2_GL5_Ferm	13.8	18 894 496 19 006 967	GL5_REGINA_018_Ferm GL5_REGINA_019_Ferm
Eclatement	GL5	QTL1_GL5_Eclat	17.3	4 500 983	GL5_REGINA_004_Eclat
		QTL2_GL5_Eclat	17.4	14 565 712 14 695 755	GL5_REGINA_014_565_Eclat GL5_REGINA_014_695_Eclat
Productivité	GL1	QTL1_GL1_Prod	10.3	34 590 896	GL1_REGINA_034_Prod
	GL6	QTL2_GL6_Prod	18	22 253 849 24 289 168	GL6_REGINA_022_Prod GL6_REGINA_024_Prod

Tableau 5 : Marqueurs KASP définis dans les QTL respectifs pour les caractères étudiés : poids du fruit, fermeté, éclatement et productivité

En orange : marqueurs utilisés pour l'analyse multi-caractères (poids moyen et productivité) ; En bleu : marqueurs utilisés pour l'analyse multi-caractères (fermeté et éclatement pistillaire)

i. Statistiques descriptives des données phénotypiques

Les données phénotypiques de chaque panel ont été triées en amont des analyses, les individus avec un nombre de données manquantes (NA) trop important ont été supprimés. Les analyses sur R×L ont été réalisées sur dix ans de phénotypage pour le poids du fruit, huit ans pour la fermeté, neuf ans pour la productivité de l'arbre et huit ans pour l'éclatement.

De même que pour les descendants R×L, les accessions du CRB ont également été phénotypées pendant plusieurs années (16 ans). Afin de limiter le nombre de données manquantes, dans le cadre de ce travail les analyses ont été effectuées sur six ans de données phénotypiques pour chaque caractère.

Enfin, les données phénotypiques des accessions en DHS, étaient très hétérogènes et présentaient une quantité importante de données manquantes. Pour limiter le nombre de données manquantes, le poids du fruit a été étudié pour dix années de phénotypage, quatre années pour la fermeté et cinq années pour la productivité. Concernant l'éclatement, aucune donnée phénotypique n'était disponible pour ces accessions.

Les valeurs moyennes ajustées, minimales et maximales et l'écart-type ont été calculés pour chaque caractère pour les différentes années d'études. La normalité et l'indépendance des résidus ont été validées graphiquement et l'homoscédasticité des variances a été validée par un test de Bartlett.

ii. Analyses des marqueurs KASP et construction d'haplotypes

L'effet du génotype de chaque marqueur KASP, homozygote ou hétérozygote, a été obtenu par un test ANOVA basé sur le modèle linéaire : $Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + e_{ij}$ où Y_{ij} est la valeur du caractère étudié du $i^{\text{ème}}$ individu la $j^{\text{ème}}$ année ; μ la valeur moyenne du caractère ; β_j l'effet fixe du génotype au marqueur KASP de l'individu i ; α_i l'effet fixe de la $j^{\text{ème}}$ année sur le caractère ; $\alpha\beta_{ij}$ l'effet d'interaction entre le génotype au marqueur de l'individu i et l'année j ; et e_{ij} l'erreur résiduelle du modèle. Toutes les analyses statistiques de ce rapport ont été réalisées sur le logiciel R 4.0.1 (R Core Team, 2022).

Dans un premier temps, l'analyse a été réalisée marqueur par marqueur. Ensuite, des groupes d'haplotypes ont été construits. Un haplotype est construit selon l'ordre physique des marqueurs sur un GL donné. De ce fait, le génotype d'un haplotype correspond à la succession des génotypes de chaque marqueur regroupés pour l'étude d'un caractère.

Tout d'abord, des haplotypes ont été construits pour les QTL associés aux différents caractères. Pour le poids du fruit, quatre haplotypes (deux sur le GL 2 et deux sur le GL 6) ont été construits. Deux haplotypes ont été construits pour les autres caractères étudiés : la fermeté (GL 4 et 5), l'éclatement (GL 5) et la productivité (GL 1 et 6) (tableau 5). Puis, une étude a été effectuée en regroupant les haplotypes construits par GL pour un unique caractère. Enfin, la dernière analyse s'est basée sur les haplotypes construits par GL prenant en compte plusieurs caractères (tableau 5).

Pour l'interprétation des résultats, les génotypes favorables et défavorables identifiés dans la famille R×L, par l'analyse marqueur par marqueur, servent de référence pour les autres populations et les différents niveaux d'analyses.

L'effet du génotype pour les différents haplotypes a été testé à l'aide du modèle suivant : $Y_{ij} = \mu + h_i + \beta_j + h\beta_{ij} + e_{ij}$ (2), avec Y_{ij} la valeur du caractère du $i^{\text{ème}}$ individu la $j^{\text{ème}}$ année ; μ la valeur moyenne du caractère ; h_i l'effet fixe du génotype aux marqueurs de l'individu i ; β_j l'effet fixe de la $j^{\text{ème}}$ année sur le caractère ; $h\beta_{ij}$ l'effet d'interaction entre le génotype de l'individu i et l'année j ; et e_{ij} l'erreur résiduelle du modèle. Pour chaque panel, des tests de Tukey ont été

utilisés pour comparer les différents génotypes (marqueur par marqueur et groupes d'haplotypes) entre eux.

iii. Cas des accessions du CRB : prise en compte de la structure

Dans le cas précis des accessions du CRB, une première analyse a été effectuée en suivant le même modèle que pour les autres panels. Puis, une seconde analyse a été réalisée en prenant en compte la structure des accessions de la collection du CRB (Campoy *et al.*, 2016). Lors de cette étude, deux groupes ont été mis en évidence, l'un comportant principalement des accessions dites « Landraces » (G1) et l'autre regroupant majoritairement des accessions dites « Bred cultivars » (G2). Les accessions restantes, dont le coefficient d'appartenance n'a pas permis de les classées dans les deux groupes, sont considérées comme « Admixed ». Parmi les génotypes dit « Admixed », certaines accessions ont un génome qui est majoritairement de type « Bred cultivar » et d'autres qui possède un génome qui est majoritairement de type « Landraces ». Certains génomes d'hybrides présentent également un génome de type 50 % G1 et 50% G2.

Pour prendre en compte la structure des accessions du CRB sur l'effet des marqueurs, chaque groupe de structure a été analysé indépendamment. Chaque groupe de structure, a été analysé marqueur par marqueur, haplotypes par QTL, haplotypes par GL mono-caractère et haplotypes par GL multi-caractères. Ces analyses ont été réalisées avec les mêmes modèles ANOVA utilisés sur les autres populations. De plus, une analyse des composantes principales (ACP) a été réalisée pour les deux groupes de structure G1 et G2 avec les quatre caractères d'étude (poids du fruit, fermeté, éclatement et productivité).

IV) Résultats

IV.1. Cartographie et détection de QTL de date de floraison sur l'autofécondation de 'Lapins'

A partir des 263 descendants de l'autofécondation de 'Lapins' et de 122 marqueurs, la carte génétique de 'Lapins' a pu être construite, comprenant les huit GL (tableau 6 et annexe 2). Les GL comprennent en moyenne 15 marqueurs avec une distance maximale entre deux marqueurs consécutifs de 42,63 cM. Les GL sont constitués au minimum de 12 marqueurs et au maximum de 18 marqueurs. L'ensemble des marqueurs couvrent 1377,69 cM (tableau 6).

La détection de QTL a été effectuée avec les données phénotypiques de l'année 2021. Des QTL ont été identifiés sur les GL 2, 7 et 8 pour le DF et la PF et sur les GL 1, 2 pour la FF. Le QTL avec un PVE le plus fort (9.3) se trouve sur le GL 2 pour le DF (tableau 7). Les résultats montrent une différence de l'ordre de 1 jour (d) entre le génotype homozygote et hétérozygote. Ce QTL présente un intervalle de 92 cM (tableau 7). L'ensemble des QTL détectés présentent des intervalles de confiance important.

IV.2. Sélection assistée par marqueurs SSR pour le poids du fruit sur la descendance issue de la pollinisation libre de 'Folfer'

Les hybrides de l'année 2021 issus de la pollinisation libre de 'Folfer' ont été génotypés avec deux marqueurs SSR, BPPCT034 et CPSCT038, associés au poids du fruit.

Chaque individu a été classé en fonction de son génotype au marqueur. Lorsqu'un individu portait au moins un allèle « gros fruits » et aucun allèle « petit fruit », celui-ci était conservé, a contrario, lorsqu'un individu possédait au moins un allèle « petit fruit », il était éliminé.

GL	Markers	Length (cM)	Max gap (cM)
1	17	309,116	42,628
2	15	125,954	15,417
3	17	157,484	19,289
4	18	151,064	13,328
5	13	153,986	31,076
6	14	183,122	24,395
7	12	135,772	25,149
8	16	161,195	20,199
Total	122	1377,693	42,628

Tableau 6 : Carte génétique de 'Lapins' réalisée à partir de la descendance issue de l'autofécondation de 'Lapins'

Trait	GL	L (cM)	IC 95%	LOD	PVE (%)	d
DF	2	26,4	0.0-92.0	6,3	9,3	-0,9
DF	7	89,2	58.9-119.4	6,2	8,0	-2,7
DF	8	73,9	56.7-91.1	7,4	8,8	2,9
PF	2	36,9	0.0-108.6	5,7	3,6	-0,2
PF	7	86,9	49.5-124.4	5,1	6,2	-1,9
PF	8	71,4	33.9-108.9	4,9	4,7	1,7
FF	1	261,9	143.7-305.3	5,9	2,3	-0,7
FF	2	19,8	0.0-77.7	4,5	2,8	-1,4

Tableau 7 : QTL pour la date de floraison (début de floraison : DF ; pleine floraison : PF ; fin de floraison : FF) obtenus à partir de la descendance issue de l'autofécondation de 'Lapins'

Concernant les individus avec les allèles inconnus, c'est-à-dire, dont l'association avec le caractère gros ou petit fruit était inconnu, ils étaient également supprimés.

Parmi les 636 individus soumis à la SAM encore au stade plantule, 313 individus avaient deux allèles « gros fruits ». Seuls ces individus ont été conservés pour être plantés.

IV.3. Évaluation des marqueurs KASP pour plusieurs caractères d'intérêt

IV.3.1. Vérification des postulats de l'ANOVA

L'ensemble des marqueurs KASP ont été utilisés pour génotyper les trois populations d'étude (R×L, accessions du CRB, accessions en cours de DHS) pour les différents caractères d'intérêt.

Pour chaque panel étudié, la normalité et l'indépendance des résidus des données phénotypiques ont été validées graphiquement. L'homoscédasticité des résidus a également été validée à l'aide d'un test de Bartlett. Ces résultats permettent l'application de l'ANOVA pour l'ensemble des analyses sur l'effet des marqueurs et des génotypes pour les différents caractères étudiés, au sein de chaque population.

IV.3.2. Analyses marqueur par marqueur pour chaque caractère

Pour chaque population, la moyenne du poids du fruit, pour 100 fruits est exprimé en grammes, la fermeté est évaluée à partir de dix fruits avec deux mesures par fruit (une sur chaque joue) en unités Durofel® (valeur de 1 à 100), l'éclatement est évalué visuellement sur 50 fruits (éclatement exprimé en pourcentage) et la productivité est notée à partir d'une échelle allant de 1 à 9. Les résultats obtenus, marqueur par marqueur, pour le poids du fruit, pour la fermeté, l'éclatement et la productivité sont présentés dans le tableau 8. Les p-valeurs de chaque test statistique se trouvent en annexe 3.

i. Evaluation des hybrides 'Regina' × 'Lapins' (R×L)

L'analyse marqueur par marqueur de la famille R×L montre que tous les marqueurs pour le poids du fruit, sur les GL 2 et 6, ont des effets significatifs sur la variation du poids (tableau 8, annexe 3). Le marqueur GL_026_PM, sur le GL 2, présente le gain le plus important, le génotype favorable, homozygote TT (coloré en vert) est supérieur de 2.08 g par rapport au génotype homozygote CC défavorable (coloré en rouge). Sur ce même GL, pour le marqueur GL2_013_PM, le génotype défavorable est identique aux génotypes parentaux de 'Regina' et 'Lapins' (tableau 8). Sur le GL6, c'est l'homozygote TT au marqueur GL6_10_492_PM qui apporte le gain le plus important, 0.81 g de plus par rapport à l'homozygote CC. Sur ce GL, le génotype parental 'Regina' est retrouvé comme le génotype favorable pour le marqueur GL6_010_449_PM, et défavorable pour les marqueurs GL6_028_PM et GL6_031_PM. A l'inverse, le génotype de 'Lapins' est le génotype favorable pour les marqueurs GL6_028_PM et GL6_031_PM et défavorable pour le marqueur GL6_010_449_PM. Pour le marqueur GL6_030_PM, le génotype favorable est celui présent chez 'Regina' et 'Lapins'.

Les résultats sur la fermeté montrent que tous les tests statistiques sont significatifs sauf pour le marqueur GL5_018_Ferm sur le GL 5 (tableau 8). Au marqueur GL4_12_749_Ferm, sur le GL 4, le gain le plus important est de 2,43 pour l'hétérozygote AG par rapport à l'homozygote GG. Sur le GL 5, c'est également l'hétérozygote AG qui apporte le gain le plus fort, 4,06 de plus par rapport à l'homozygote GG. Au marqueur GL5_019_Ferm, les génotypes parentaux sont retrouvés, l'allèle favorable correspond au génotype de 'Regina' et l'allèle défavorable à 'Lapins'.

Océane Bellerose – Mémoire de fin d'études

Marqueurs	RxL				CRB			CRB + Structure						DHS					
	Géno	Ind	\bar{x}	Gain	Ind	\bar{x}	Gain	G1 (29 ind)			G2 (60 ind)			Admixed (79 ind)			Ind	\bar{x}	Gain
								Ind	\bar{x}	Gain	Ind	\bar{x}	Gain	Ind	\bar{x}	Gain			
Poids du fruit																			
GL2_013_PM	TT	24	8.48	0.40*	11	6.27	0.44	1	5.64	0.51	4	6.58	0.27	6	6.12	0.52	2	8.36	-1,19
	TC ²	93	7.53		118	5.83		22	5.13		43	6.31		48	5.60		40	9.55	
GL2_015_PM	TC ^R	50	8.38	1.10*	59	5.58	1.29	15	5.33	0.44	18	5.96	-0,52*	25	5.91	0,49*	4	8.31	-1,37
	CC ^L	68	7.28		7	4.29		14	4.89		40	6.48		41	5.42		41	9.68	
GL2_019_PM	TT	35	8.18	0.68*	5	6.63	1.06	-	-	-	2	6.26	0.23	3	6.88	1.6	1	10.81	1,14
	CC	32	7.50		77	5.57		11	4.76	-	32	6.03		32	5.28		28	9.67	
GL2_026_PM	TT	25	8.73	2.08*	49	6.77	2,50*	4	6.17	1,71*	25	6.95	2.91	18	6.64	2,53	24	9.90	-
	CC	35	6.65		21	4.27		9	4.46		3	4.04		8	4.11		-	-	
GL2_027_PM	CC	28	8.58	1,91*	60	6.55	1,35*	4	5.16	0,34	29	6.79	2,17	24	6.47	0,67	24	10.18	2,00
	TT	33	6.67		19	5.20		7	4.82		4	4.62		7	5.80		1	8.18	
GL6_010_449_PM	CG ^R	47	7.94	0,33*	4	4.27	-1,64	-	-	-	1	6.36	-0,04	3	3.57	-2,14	1	8.15	-1,42
	GG ^L	71	7.61		158	5.91		2	4.67	-	58	6.40		68	5.71		45	9.57	
GL6_010_492_PM	TT	20	8.08	0,81*	34	5.92	1,71	2	4.58	-0,42	6	6.11	-0,34	26	5.99	1,11*	8	9.25	-0,66*
	CC	35	7.26		3	4.21		9	5.00		13	6.45		14	4.88		11	9.91	
GL6_028_PM	GG ^L	60	8.03	0,58*	76	5.65	-0,38*	13	4.68	-0,91*	28	5.89	-0,87*	32	5.72	0,15	19	10.2	1,04*
	GC ^R	58	7.45		79	6.03		14	5.59		27	6.76		36	5.57		24	9.16	
GL6_030_PM	AT ²	55	8.03	0,53*	44	5.59	-0,33	9	4.62	-0,69	45	6.23	-0,47*	16	4.65	-1,20*	12	8.72	-1,03*
	AA	58	7.50		120	5.92		20	5.31		15	6.70		54	5.85		32	9.75	
GL6_031_PM	AA ^L	47	8.07	0,68*	77	5.75	-0,15	11	4.67	-0,71*	31	5.82	-1,06*	32	5.94	0,60*	23	9.93	0,79*
	GA ^R	71	7.39		88	5.90		18	5.38		29	6.88		39	5.34		23	9.14	
Fermeté																			
GL4_012_380_Ferm	AA	63	66.00	2,32*	140	66.5	3,9	26	63.80	-4,8	52	68.1	-1,4	59	64.90	2,90	40	66.1	-1,04
	AC	55	63.70		23	62.6		3	68.60		7	69.5		11	62.00		4	67.14	
GL4_012_749_Ferm	AG	63	66.10	2,43*	18	66.9	1,30	4	65.30	0,80	9	66.00	-2,3	5	56.40	-8,80	7	60.2	-6,70
	GG	55	63.60		147	65.6		25	64.50		51	68.3		66	65.20		38	66.9	
GL5_018_Ferm	AA	18	65.50	0,90	70	65.6	-0,80	14	63.60	3,5	24	68.5	-6,7	31	65.00	6,10	15	65.00	-6,00
	TT	28	64.60		12	66.4		4	60.10		3	75.2		4	58.90		3	71.00	
GL5_019_Ferm	AG ^R	48	67.30	4,06*	82	64.4	-4,60*	13	63.60	0,10	30	67.4	-0,2	35	63.70	-2,20	22	66.5	0,80
	GG ^L	70	63.30		35	69.00		5	63.50		16	67.6		13	65.90		16	65.7	
Eclatement																			
GL5_004_Eclat	AA ^L	53	10.30	-8,36*	22	1.36	-0,95	2	0.10	-3,43	10	1.01	-4,26*	9	3.05	2,99*	-	-	-
	GA ^R	36	18.70		37	2.32		5	3.53		12	5.27		20	0.06		-	-	
GL5_014_565_Eclat	TG ^R	64	9.99	-8,99*	27	0.54	-0,85	4	0.46	-1,41	8	0.32	-1,56	15	0.49	-0,31	-	-	-
	GG ^L	53	18.99		135	1.39		25	1.87		52	1.88		53	0.80		-	-	
GL5_014_695_Eclat	GG	35	7.58	-11,40*	15	0.71	-0,76	4	1.86	0,28	7	0.51	-2,00	4	1.75	0,98	-	-	-
	TT	29	18.90		90	1.47		18	1.58		27	2.51		41	0.77		-	-	
Productivité																			
GL1_034_Prod	TT	29	6.22	1,25*	87	4.28	-0,14	17	4.91	1,78	30	4.36	1,14	38	4.00	-0,40	29	5.12	-1,61
	GG	25	4.97		12	4.42		1	3.13		5	3.22		5	4.40		3	6.73	
GL6_022_Prod	TA ^R	61	4.72	0,34*	97	4.39	0,06	13	4.77	0,06	36	4.39	0,19	45	4.11	-0,19	29	5.86	0,67*
	TT ^L	57	4.38		56	4.33		14	4.71		18	4.20		22	4.30		20	5.19	
GL6_024_Prod	CT ^R	59	4.35	0,48*	79	4.44	0,17	11	4.69	-0,14	26	4.31	0,05	38	4.24	0,02	29	6.11	1,13*
	CC	44	3.87		79	4.27		18	4.83		28	4.26		32	4.22		22	4.98	

Tableau 8 : Effet des allèles pour chaque marqueur pour les caractères étudiés : poids du fruit, fermeté, éclatement et productivité

Case verte : allèle favorable au marqueur chez RxL ; Case rouge : allèle défavorable au marqueur chez RxL ; Gain en rouge : inversion entre les allèles favorables et défavorables (référence : RxL) ; * : test significatif (p-valeur < 0,05) ; ^R : génotype parental 'Regina' ; ^L : génotype parental 'Lapins' ; ² : génotype chez 'Regina' et 'Lapins'

Pour l'éclatement, les tests statistiques sont significatifs pour les trois marqueurs étudiés (tableau 8). Le gain le plus important est de -11,40 d'éclatement au marqueur GL5_14_695_Eclat_P sur le GL 5. C'est le génotype homozygote GG qui détient un pourcentage d'éclatement plus faible en comparaison à l'homozygote TT. Le marqueur GL5_004_Eclat présente les génotypes parentaux, favorable pour 'Lapins' et défavorable pour 'Regina' alors que le marqueur GL5_014_565_Eclat présente les génotypes parentaux mais inversés par rapport au marqueur GL5_004_Eclat_P.

Pour les marqueurs liés à la productivité l'effet des allèles est significatif pour tous les marqueurs (tableau 8). Le gain le plus important est de 1.25, chez le génotype TT par rapport au génotype GG au marqueur GL1_034_Prod sur le GL 1. Au GL 6, c'est le génotype CT au marqueur GL6_24_Prod qui apporte 0.48, de plus que le génotype CC. Les allèles favorables des marqueurs GL6_022_Prod et GL6_024_Prod possèdent le génotype de 'Regina' et le marqueur GL6_022_Prod présente le génotype parental de 'Lapins' pour l'allèle défavorable.

i. Evaluation des accessions issues du CRB

Concernant la collection des accessions du CRB une première analyse a été réalisée sans prendre en compte sa structure (tableau 8). Les p-valeurs des tests statistiques se trouvent en annexe 3. Pour chaque marqueur, les génotypes favorables et défavorables identifiés chez R×L ont été comparés chez les accessions du CRB. Parmi les 10 marqueurs associés au poids du fruit, les marqueurs du GL 2 révèlent des résultats cohérents entre les génotypes favorables et défavorables identifiés chez R×L. Les tests statistiques sont significatifs pour les marqueurs GL2_26_PM et GL2_27_PM (p-valeur en annexe 3). Comme pour la population R×L, c'est le marqueur GL2_026_PM du GL 2 qui révèle le gain le plus important, de 2.50 g. Sur le GL6, des inversions sont présentes à tous les marqueurs sauf au marqueur GL6_010_492_PM. Ce marqueur présente un gain de 1,71 g pour le génotype TT par rapport au génotype CC. Cependant, ce résultat n'a pas pu être testé statistiquement du fait d'un nombre d'individus trop faible présentant ce génotype. Pour la fermeté c'est le marqueur GL4_012_380_Ferm du GL 4 qui apporte un gain de 3,9, pour le génotype homozygote AA par rapport au génotype hétérozygote AC. Cependant ces résultats ne sont pas significatifs. Sur le G L5, les résultats sont inversés entre les génotypes défavorables et favorables identifiés sur R×L. C'est au marqueur GL5_019_Ferm que l'inversion est la plus importante, la différence est de 4,60. Les trois marqueurs étudiés pour l'éclatement se sont révélés tous significatifs et sans inversion. Le marqueur GL5_004_Eclat_P du GL 5 montre le gain le plus important, de -0.95 pour le génotype AA par rapport au génotype GA. Enfin, les analyses liées à la productivité, une inversion est observée entre les allèles favorables et défavorables de référence pour le marqueur GL1_034_Prod. Sur le GL 6, les résultats obtenus sont cohérents avec les génotypes identifiés chez R×L et le gain le plus important est au marqueur GL6_024_Prod. Le génotype CT apporte 0.17 de plus que le génotype CC.

Une seconde analyse a été effectuée sur les accessions du CRB en prenant en compte la structure de la collection (tableau 8). Trois études ont été réalisées, en considérant les accessions du groupe 1 (G1, 29 individus), les accessions du groupe 2 (G2, 60 individus) et les accessions considérées comme admixed (Admixed, 71 individus).

Les résultats du G1 au GL 2 sont cohérents avec les génotypes identifiés chez R×L pour le poids du fruit. Le marqueur GL2_026_PM sur le GL 2 montre le gain le plus important de 1.71 g. Cependant, les résultats montrent également que le génotype favorable identifié chez R×L, pour le marqueur GL2_019_PM, n'est pas présent au sein des accessions du CRB du G1. Pour le GL6, tous les marqueurs associés au poids du fruit révèlent des inversions. La différence la plus importante est identifié au marqueur GL6_028_PM, 0,91 g de plus pour le génotype dit défavorable chez R×L. Les marqueurs associés à la fermeté montrent des

résultats cohérents pour tous les marqueurs hormis le marqueur GL4_012_380_Ferm qui présente une inversion. Le génotype dit défavorable chez RxL est supérieur au génotype favorable de 4,8 chez les accessions du G1 du CRB. Pour l'éclatement le marqueur GL5_004_Eclat présente le gain le plus important de -3,43. Seul le marqueur GL5_014_695_Eclat présente une inversion. Enfin, les résultats pour la productivité sont cohérents pour les marqueurs GL1_034_Prod et GL6_022_Prod. Le marqueur GL1_034_Prod présente le gain le plus important, de 1,78. Seul le marqueur GL6_024_Prod montre une inversion.

Le G2 révèle au GL 2 des résultats cohérents pour tous les marqueurs associés au poids du fruit, sauf pour le marqueur GL2_015_PM, où une inversion est constatée (tableau 8). Le gain le plus important pour le GL 2 est au marqueur GL2_026_PM. Le génotype homozygote TT est supérieur de 2.91 g au génotype hétérozygote CC. Au GL6, l'ensemble des marqueurs présentent des inversions. L'inversion la plus importante est au marqueur GL6_031_PM, la différence est de 1,06 g. Les résultats des marqueurs associés à la fermeté montrent des inversions pour tous les marqueurs et la différence la plus importante se trouve au marqueur GL5_018_Ferm. Le génotype dit défavorable chez RxL apporte 6,7 de plus que le génotype favorable. Pour l'éclatement, tous les résultats sont cohérents avec les génotypes identifiés chez RxL. Le marqueur GL5_004_Eclat possède le gain le plus important de -3,43 pour le génotype AA par rapport au génotype GA. Enfin, aucune inversion n'est constatée pour la productivité, le gain le plus important est identifié au marqueur GL1_034_Prod avec 1,14 de plus pour le génotype favorable.

Les accessions considérées comme 'admixed' présentent des résultats cohérents au GL 2 pour le poids du fruit (tableau 8). Le marqueur GL2_026_PM présente le gain le plus grand, de 2.53g, pour l'homozygote TT contre l'homozygote CC. Au GL 6, les marqueurs GL6_010_449_PM et GL6_030_PM présentent des inversions. L'inversion la plus importante est identifiée au marqueur GL6_010_449_PM avec une différence de 2,14 g. Concernant la fermeté, au GL 4 le marqueur GL4_012-749_Ferm présente une inversion de 8,80. Au GL 5, le marqueur GL5_018_Ferm présente le gain le plus important de 6,10. Cependant, le marqueur GL5_019_Ferm présente une inversion avec une différence de 2,20. Pour l'éclatement, le gain le plus important est identifié au marqueur GL5_014_565_Eclat avec un gain de -0,31. Cependant, les marqueurs GL5_004_Eclat et GL5_014_695 présentent des inversions avec une différence, respectivement de 2,99 et 0,98. Enfin, Pour la productivité, seul le marqueur GL6_024_Prod ne présente pas d'inversion. Le génotype favorable apporte un gain de 0.02 par rapport au génotype défavorable.

i. Evaluation des accessions en cours d'évaluation DHS

Les mêmes analyses ont été réalisées sur les accessions en cours de DHS (tableau 8 et annexe 4). Pour les marqueurs associés au poids du fruit, le gain le plus important est identifié au marqueur GL2_027_PM. Le génotype homozygote CC est supérieur de 2,00 g au génotype TT. Au GL 6, c'est le marqueur GL6_028_PM qui présente le gain le plus important, de 1,04 g pour le génotype GG par rapport au génotype GC. Cependant, les marqueurs GL6_010_449_PM, GL6_010_492_PM et GL6_030_PM présentent des résultats inversés en comparaison avec les génotypes favorables et défavorables identifiés sur RxL. Pour la fermeté, seul le marqueur GL5_019_Ferm est cohérent avec les résultats obtenus sur RxL. Le gain est de 0.80 pour le génotype AG en comparaison au génotype GG. Les autres marqueurs associés à la fermeté montrent des inversions et c'est au marqueur GL4_012_749_Ferm que la différence est la plus importante, 6,70 de plus pour le génotype GG par rapport au génotype favorable. Enfin, concernant la productivité, le marqueur GL1_034_Prod présente une inversion, la différence entre les génotypes est de 1,61. Les résultats du GL 6 sont cohérents avec les génotypes de référence obtenus chez RxL et le

génotype CT au marqueur GL6_024_prod est supérieur de 1.13 au génotype CC (tableau 8). L'éclatement n'a pas été phénotypé sur cette population.

IV.3.3. Analyses des haplotypes associés aux QTL pour chaque caractère

Le tableau 9 présente l'ensemble des résultats obtenus pour l'analyse des haplotypes associés aux QTL pour tous les caractères et pour chaque population. Les haplotypes ont été définis à partir des marqueurs dans les zones de QTL associées au caractère donné (tableau 5) et des génotypes favorables et défavorables identifiés chez R×L dans l'analyse marqueur par marqueur. Les p-valeurs des tests statistiques sont présentés en annexe 5.

i. Evaluation des hybrides de 'Regina' × 'Lapins'

Tous les tests statistiques sont significatifs pour tous les caractères sur le croisement R×L sauf pour le QTL1_GL2_PM et QTL2_GL5_Ferm (tableau 9 l'annexe 5). Parmi les deux QTL du GL 2, c'est le QTL2_GL2_PM qui montre le gain le plus important. L'haplotype favorable TT-CC est supérieur à l'haplotype défavorable CC-TT, de 2.06 g. Cependant, un individu présente un poids du fruit plus faible que le génotype défavorable de référence. Pour le GL6, c'est le QTL3_GL6_PM qui présente le gain le plus fort, de 0.82 g pour l'haplotype CG-TT. Le QTL associé à la fermeté, qui présente un gain plus fort est le QTL1_GL4_Ferm. L'haplotype AA-AG est plus ferme de 2,42 par rapport au l'haplotype AC-GG. L'haplotype AA-AG du QTL2_GL5_Ferm lié à la fermeté, présente un gain de 0.83. Cependant, des individus avec des fermetés plus faibles que celles des génotypes défavorables de référence, ont été trouvés au sein de la population. Pour le QTL du GL 5 associé à l'éclatement, le QTL2_GL5_Eclat montre un gain de -11,71 pour le génotype favorable TG-GG en comparaison au génotype défavorable GG-TT. Enfin, le QTL du GL 6, associé à la productivité révèle un gain de 0,55 pour l'haplotype TA-CT comparé à l'haplotype TT-CC.

i. Evaluation des accessions de la collection du CRB

L'analyse des groupes d'haplotypes associés au QTL a également été réalisée avec, et sans prendre en compte la structure du CRB. Les haplotypes favorables et défavorables identifiés chez les individus du croisement R×L servent de référence pour l'étude des accessions du CRB.

Les QTL testés (sans la structure) associés aux caractères sont visibles dans le tableau 9. En comparaison avec les individus R×L, les résultats sur les accessions du CRB pour le poids du fruit, au GL 2 montrent un gain plus important au QTL2_GL2_PM. L'haplotype favorable permet de gagner 2 g par rapport à l'haplotype défavorable. Pour ce QTL, comme chez R×L, un haplotype plus faible à l'haplotype de référence est identifié. Cet haplotype possède la même séquence que l'haplotype trouvé chez R×L (CC-CC). Sur le GL6, les deux QTL présentent des inversions, la différence la plus importante de 1,90 g est identifié que QTL3_GL6_PM. Sur ce même QTL, un génotype supérieur au haplotype de référence est identifié. De même, pour le QTL4_GL6_PM, des haplotypes favorables et défavorables différents des haplotypes de référence ont été identifiés. Pour la fermeté, l'haplotype AA-AG, au GL 4, est plus ferme de 5.50 comparé à l'haplotype AC-GG. Mais un haplotype défavorable différent à la référence a également été identifié. Au GL 5, le marqueur QTL2_GL5_Ferm révèle une inversion avec une différence de 7,67 entre l'haplotype favorable et défavorable. Cependant, l'haplotype favorable identifié, au sein des accessions, montre un gain de 15,79. Concernant l'éclatement, le QTL2_GL5_Eclat révèle un gain de 1,17. De même que pour la fermeté, un haplotype favorable supérieur est identifié pour ce QTL. Enfin, pour le QTL2_GL5_Prod lié à la productivité, l'haplotype favorable de référence permet de gagner 0.18 par rapport au défavorable. Cependant un haplotype favorable supérieur a été identifié au sein des accessions du CRB.

Océane Bellerose – Mémoire de fin d'études

Haplotypes par QTL	RxL				CRB				CRB + Structure												DHS														
	Géno	Ind	\bar{x}	Gain	Géno	Ind	\bar{x}	Gain	GP1 (29 ind)				GP2 (60 ind)				Admixed (71 ind)				Géno	Ind	\bar{x}	Gain											
									Géno	Ind	\bar{x}	Gain	Géno	Ind	\bar{x}	Gain	Géno	Ind	\bar{x}	Gain					Géno	Ind	\bar{x}	Gain							
Poids du fruit																																			
QTL1_GL2_PM	TT-TC-TT	1	7.70	0.34	TT-TC-TT	-			TT-TC-TT	-			TT-TC-TT	-			TT-TC-TT	-			TT-TC-TT	-			TT-TC-TT	-									
	TC-CC-CC	32	7.36		TC-CC-CC	49	5.92	-		TC-CC-CC	8	4.65	-	TC-CC-CC	20	6.26	-	TC-CC-CC	5	4.3	-	TC-CC-CC	25	9.80	-	TC-CC-CC	25	9.80	-						
					TC-CC-TT	4	7.05		3.81	TC-CC-TC	2	6.07		1.99	TC-CC-TT	1	7.58		2.77	TT-TC-TC	4	7.1		4.23	TC-CC-TT	1	10.81		2.78						
QTL2_GL2_PM	TT-CC	25	8.73	2.06*	TT-CC	40	6.83	2.00	TT-CC	2	6.70	1.88	TT-CC	21	6.91	2.89	TT-CC	15	6.7	1.64	TT-CC	18	10.01	-	TT-CC	18	10.01	-							
	CC-TT	33	6.67		CC-TT	11	4.83		CC-TT	6	4.82		CC-TT	1	4.02		CC-TT	4	5.05		CC-TT	4	5.05		CC-TT	4	5.05		CC-TT	4	5.05	CC-TT	4	5.05	
	CC-CC	1	6.39		CC-CC	3	3.34		CC-CC	1	3.42		TT-CT	4	7.23		CT-TT	3	7.03		CT-CT	3	3.1		3.92	CT-CT	3		3.1	3.92	CT-CT	3	3.1	3.92	CT-CT
QTL3_GL6_PM	CG-TT	20	8.08	0.82*	CG-TT	3	3.57	-1.9	CG-TT	-			CG-TT	-			CG-TT	3	3.6	-1.30	CG-TT	11	9.90	-	CG-TT	11	9.90	-							
	GG-CC	35	7.26		GG-CC	38	5.47		GG-CC	9	4.65	GG-CC	13	6.45	GG-CC	14	4.9	GG-CC	14		4.9	GG-CC	14		4.9	GG-CC	14		4.9	GG-CC	14	4.9			
					CG-TC	1	6.36		GG-TC	16	5.28	0.70	CC-TC	1	3.04	GG-TT	23	6.3	2.76		CG-TC	1	8.152			CG-TC	1		8.152		CG-TC	1	8.152		
QTL4_GL6_PM	GG-AT-AA	48	8.12	0.65*	GG-AT-AA	21	5.53	-0.56	GG-AT-AA	6	4.46	-1.25*	GG-AT-AA	9	6.25	-0.46	GG-AT-AA	4	4.2	-1.49	GG-AT-AA	-		-	GG-AT-AA	-		-							
	GC-AA-GA	48	7.47		GC-AA-GA	51	6.09		GC-AA-GA	11	5.72		GC-AA-GA	18	6.71		GC-AA-GA	21	5.7		GC-AA-GA	21	5.7		GC-AA-GA	14	9.44			GC-AA-GA	14	9.44			
	GG-TT-AA	3	7.33		CC-AT-GA	1	6.49		GG-AT-GA	1	6.337		2.54	GG-AA-GA	1		8.67	GG-AA-GA	5		6.5	GG-AA-GA	5		6.5	GG-AA-GA	1		11.32		GG-AA-GA	1	11.32		
			GC-AT-AA	7	5.03	GC-AT-AA	7	5.03	GC-AT-AA	1	3.792	GC-AT-AA	18	5.48	GC-AT-AA	18	5.48	GC-AT-AA	18	5.48	GC-AT-AA	18	5.48	GC-AT-AA	18	5.48	GC-AT-AA	18	5.48						
Fermeté																																			
QTL1_GL4_Ferm	AA-AG	62	66.20	2.42*	AA-AG	14	67.44	5.50*	AA-AG	4	64.4	-4.64	AA-AG	8	67.5	-4.38	AA-AG	2	57	-6.86	AA-AG	-		-	AA-AG	-		-							
	AC-GG	54	63.8		AC-GG	19	61.94		AC-GG	3	69.05		AC-GG	6	71.9		AC-GG	8	64		AC-GG	8	64		AC-GG	8	64		AC-GG	3	66.75		AC-GG	3	66.75
	AA-GG	1	53.96		CC-GG	2	55.75		AA-GG	22	63.69		AA-GG	1	53.1		CC-GG	1	69		13.72	AC-AG	3		56	AC-AG	1		69.72		AC-AG	1	69.72		
QTL2_GL5_Ferm	AA-AG	18	65.44	0.83	AA-AG	27	62.94	-7.67	AA-AG	5	63.27	4.39	AA-AG	12	68.4	-6.82	AA-AG	9	63	5.23	AA-AG	7	64	-7.00	AA-AG	7	64	-7.00							
	TT-GG	28	64.61		TT-GG	8	70.61		TT-GG	1	58.88		TT-GG	3	75.2		TT-GG	3	57		TT-GG	3	57		TT-GG	3	57		TT-GG	3	57	TT-GG	3	57	
	AT-AG	30	68.50		AA-GG	1	70.75		AT-AA	2	72.71		AA-AA	11	68.7		AT-GG	10	68		21.15	AT-AA	1		46	AT-AA	1		46	AT-AA	1	46	AT-AA	1	46
			AT-GG	42	62.40	AT-AA	6	54.96	Eclatement																										
QTL1_GL5_Eclat	TG-GG	35	7.58	-11.71*	TG-GG	5	0.34	-1.17	TG-GG	1	2.38	0.00	TG-GG	3	0	-2.62	TG-GG	1	7.2	6.40	TG-GG	-		-	TG-GG	-		-							
	GG-TT	27	19.3		GG-TT	87	1.51		GG-TT	18	2.38		GG-TT	26	2.63		GG-TT	39	0.8		GG-TT	39	0.8		GG-TT	39	0.8		GG-TT	39	0.8	GG-TT	39	0.8	
					TT-GG	1	0		GG-GG	3	0.01		-2.37	TT-GG	1		0	TT-GG	1		0	TT-GG	1		0	TT-GG	1		0	TT-GG	1	0	TT-GG	1	0
Productivité																																			
QTL1_GL6_Prod	TA-CT	42	4.07	0.55*	TA-CT	62	4.36	0.18	TA-CT	8	4.536	-0.07	TA-CT	20	4.19	0.01	TA-CT	32	4.3	-0.10	TA-CT	19	6.281	1.38	TA-CT	19	6.281	1.38							
	TT-CC	40	3.52		TT-CC	45	4.18		TT-CC	12	4.608		TT-CC	13	4.18		TT-CC	18	4.4		TT-CC	18	4.4		TT-CC	18	4.4		TT-CC	18	4.4	TT-CC	18	4.4	
	TA-CC	4	2.95		TA-TT	4	5.29		AA-CC	1	5.667		AA-CC	1	5		AA-CC	2	5.3		3.33	AA-TT	1		4.5	AA-TT	1		4.5	AA-TT	1	4.5	AA-TT	1	4.5

Tableau 9 : Effet des allèles pour chaque haplotype associé aux QTL pour les caractères étudiés : poids du fruit, fermeté, éclatement et productivité

Case verte : allèle favorable au marqueur chez RxL ; Case rouge : allèle défavorable au marqueur chez RxL ; En vert : allèle favorable de la population ; En rouge : allèle défavorable de la population ; Gain en rouge : inversion entre les allèles favorables et défavorables (référence : RxL) ; * : test significatif (p-valeur < 0,05) ;

Au sein du G1, les résultats pour le poids du fruit montrent qu'avec le QTL2_GL2_PM présente le gain le plus important pour les haplotypes de référence. L'haplotype TT-CC apporte 1,88 g de plus que l'haplotype CC-TT. Au GL 6, le QTL4_GL6_PM révèle une inversion entre les haplotypes avec une différence de 1,25 g. L'haplotype favorable identifié parmi les accessions du CRB permet de gagner 2,54 g en comparaison avec l'haplotype défavorable identifié. Concernant la fermeté, une inversion est observée au QTL1_GL4_Ferm, avec une différence de 4,64. Au QTL2_GL5_Ferm l'haplotype favorable permet de gagner 4,39 de fermeté par rapport au défavorable. Pour l'éclatement le QTL ne présente pas de différence entre les haplotypes. Lorsque les haplotypes identifiés sur les accessions du CRB sont étudiés, l'haplotype favorable permet de gagner -2,37. Enfin, le QTL associé à la productivité montre une inversion avec une différence de 0,07.

Dans le G2, seuls les résultats aux QTL du GL 2 associé au poids du fruit, au QTL associé à la productivité et au QTL en lien avec l'éclatement sont cohérents avec les haplotypes identifiés chez R×L. L'ensemble des autres QTL présentent des inversions. Au GL 2, le gain de l'haplotype favorable est de 2,89 g pour le QTL2_GL2_PM associé au poids du fruit. Les résultats pour l'éclatement révèlent un gain de -2,62 au QTL2_GL5_Eclat pour l'haplotype favorable.

Les accessions Admixed révèlent des résultats cohérents seulement pour le QTL2_GL2_PM (poids du fruit) et le QTL2_GL5_Ferm (fermeté). Pour le poids du fruit, l'haplotype favorable est supérieur de 1,64 g à l'haplotype défavorable et de 5,23 pour la fermeté. Les autres QTL présentent des inversions entre les génotypes favorables et défavorables.

ii. Evaluation des accessions en cours d'évaluation DHS

Les résultats de l'analyse par haplotype associé aux QTL réalisée sur les accessions en cours de DHS, n'a pas révélé de gain ou de perte car les haplotypes favorables et défavorables identifiés chez R×L, n'ont pas été retrouvés pour le poids du fruit. Seul le QTL2_GL5_Ferm a pu être étudié mais celui-ci présente une inversion. L'haplotype défavorable chez R×L est supérieur de 7,00 à l'haplotype favorable. Enfin, concernant la productivité, l'haplotype favorable apporte 1,38 de plus que l'haplotype défavorable. Cependant, les résultats montrent qu'il existe au sein des accessions un individu qui éclate plus que l'haplotype défavorable identifié chez R×L.

IV.3.4. Sélection assistée par marqueur multi-caractères

Afin d'évaluer la faisabilité d'une SAM multi-caractères, une première analyse de groupes d'haplotypes par GL et par caractère a été effectuée puis une analyse par haplotype et par GL multi-caractères. L'analyse par GL mono-caractère concerne les GL 2, 5 et 6 et l'analyse par GL multi- caractères sur les GL 5 et 6.

A partir des résultats obtenus pour toutes les analyses précédentes, les individus dans chaque population ont été sélectionnés selon leurs génotypes favorables ou défavorables aux marqueurs. Les marqueurs choisis pour chaque caractère sont les marqueurs validés par les analyses.

i. Evaluation des hybrides de 'Regina' x 'Lapins'

Les résultats des analyses par GL mono-caractère sont présentés dans le tableau 10. La construction des haplotypes par GL a pour conséquence de diminuer les effectifs par classe et certains génotypes de référence n'ont pas été retrouvés. Au GL 2, l'haplotype favorable n'est pas présent de ce fait les haplotypes n'ont pas pu être comparés. Cependant, la comparaison entre l'haplotype favorable et défavorable de la population, montre un gain de 3,76 g. Sur le GL 6, les haplotypes de référence sont présents et révèlent un gain de 1,50 g

Océane Bellerose – Mémoire de fin d'études

Haplotypes par GL	RxL				CRB				CRB + Structure												DHS							
	Géno	Ind	x̄	Gain	Géno	Ind	x̄	Gain	GP1 (29 ind)				GP2 (60 ind)				Admixed (71 ind)				Géno	Ind	x̄	Gain				
									Géno	Ind	x̄	Gain	Géno	Ind	x̄	Gain	Géno	Ind	x̄	Gain								
Poids du fruit																												
GL2_PM	TT-TC-TT-TT-CC	-			TT-TC-TT-TT-CC	-			TT-TC-TT-TT-CC	-			TT-TC-TT-TT-CC	-			TT-TC-TT-TT-CC	-			TT-TC-TT-TT-CC	-			TT-TC-TT-TT-CC	-		
	TC-CC-CC-CC-TT	6	6.54	-	TC-CC-CC-CC-TT	1	4.90	-	TC-CC-CC-CC-TT	1	5.00	-	TC-CC-CC-CC-TT	1	2.88	-	TC-CC-CC-CC-TT	1	2.85	-	TC-CC-CC-CC-TT	1	7.939	5.09	TC-CC-CC-CC-TT	11	10.33	3.81
	TC-CC-TC-TT-CC	1	10.15	3.76	TC-CC-TT-CT-TT	1	7.94	4.70	TC-TC-TT-TT-CC	1	7.12	3.33	TC-TC-TT-TT-CC	5	7.69	4.81	TC-CC-TT-CT-TT	1	2.85	-	TC-TC-CC-CC-CT	1	2.85	-	TC-CC-CC-TT-CC	1	6.52	3.81
	TC-CC-TC-CC-CC	1	6.39		TC-TT-CC-CC-CT	2	3.24		TC-CC-CC-CT-CC	1	3.79		TC-TC-CC-CC-CT	1	2.88		TC-TC-CC-CC-CT	1	2.85		TC-TC-CC-CC-CT	1	2.85		TC-TC-CC-CC-CT	1	6.52	3.81
GL6_PM	CG-TT-GG-AT-AA	13	8.44	1.50*	CG-TT-GG-AT-AA	1	4.21	-1.01	CG-TT-GG-AT-AA	-			CG-TT-GG-AT-AA	-			CG-TT-GG-AT-AA	1	4.21	-0.62	CG-TT-GG-AT-AA	1	4.21	-	CG-TT-GG-AT-AA	1	4.21	-
	GG-CC-GC-AA-GA	16	6.94		GG-CC-GC-AA-GA	10	5.23		GG-CC-GC-AA-GA	1	4.07	-	GG-CC-GC-AA-GA	3	6.79	-	GG-CC-GC-AA-GA	6	4.83		GG-CC-GC-AA-GA	1	4.83		GG-CC-GC-AA-GA	1	11.05	-
	GG-TG-GG-AT-AA	13	8.64	1.80	GG-TT-CC-AA-GA	1	7.89	4.85	GG-CC-GG-AT-GA	1	6.34	2.92	GG-CC-GG-AA-GA	1	8.67	5.79	GG-TG-GG-AA-AA	6	7.14	3.92	GG-TG-GG-AA-AA	1	7.14		GG-TT-GG-AA-AA	1	11.52	4.59
	GG-CC-GC-AT-AA	1	6.83		CC-TC-GG-AA-AA	1	3.04		GG-TT-GG-AA-AA	1	3.42		GG-TT-GG-AA-AA	1	2.88		GG-TT-GG-AA-AA	1	3.22		GG-TT-GG-AA-AA	1	3.22		GG-TT-GG-AA-AA	1	6.93	
Eclatement																												
GL5_Eclat	AA-TG-GG	16	18.44	10.87*	AA-TG-GG	-			AA-TG-GG	-			AA-TG-GG	-			AA-TG-GG	-			AA-TG-GG	-			AA-TG-GG	-		
	GA-GG-TT	20	7.56		GA-GG-TT	15	3.50	-	GA-GG-TT	3	4.671	-	GA-GG-TT	5	9.791	-	GA-GG-TT	7	0.243	-	GA-GG-TT	7	0.243	-	GA-GG-TT	7	0.243	-
	GG-TG-GT	2	5.58	-26.03	GG-TG-TT	1	0.00	-4.10	GG-TG-GG	1	0.00		AA-GG-GG	1	0.00		GG-TT-GG	1	0.00	-7.20	GG-TT-GG	1	0.00		GG-TT-GG	1	0.00	
	GG-GG-TT	3	31.61		AA-GG-TT	6	4.10		GG-TG-GG	1	0.00		AA-GG-GG	1	0.00		GG-TT-GG	1	0.00	-7.20	GG-TT-GG	1	0.00		GG-TT-GG	1	0.00	

Tableau 10 : Effet des allèles pour chaque haplotype par GL pour les caractères étudiés : poids du fruit et éclatement

Case verte : allèle favorable au marqueur chez RxL ; Case rouge : allèle défavorable au marqueur chez RxL ; En vert : allèle favorable de la population ; En rouge : allèle défavorable de la population ; Gain en rouge : inversion entre les allèles favorables et défavorables (référence : RxL) ; * : test significatif (p-valeur < 0,05) ; R

Haplotypes multi-traités	Caractères	Géno				Géno				GP1 (29 ind)				GP2 (60 ind)				Admixed (71 ind)				Géno							
		Ind	x̄	Gain	Ind	x̄	Gain	Géno	Ind	x̄	Gain																		
		Poids du fruit & Productivité																											
GL6_PM_Prod	PM	CG-TT-TA-CT-GG-AT-AA	-		CG-TT-TA-CT-GG-AT-AA	-																							
		GG-CC-TT-CC-CG-AA-GA	3	9.30	2.83	GG-CC-TT-CC-CG-AA-GA	2	8.90	5.86	GG-CC-TT-CC-CG-AA-GA	1	6.686	4.27	GG-CC-TT-CC-CG-AA-GA	1	8.67	5.79	GG-CC-TT-CC-CG-AA-GA	1	8.721	5.87	GG-CC-TT-CC-CG-AA-GA	1	8.721	5.87	GG-CC-TT-CC-CG-AA-GA	1	11.869	4.94
		CG-TC-TT-CT-GC-AA-GA	1	6.4696		CG-TC-TT-CT-GC-AA-GA	1	3.042		CG-TC-TT-CT-GC-AA-GA	1	2.418		CG-TC-TT-CT-GC-AA-GA	1	2.88		CG-TC-TT-CT-GC-AA-GA	1	2.849		CG-TC-TT-CT-GC-AA-GA	1	2.849		CG-TC-TT-CT-GC-AA-GA	1	6.93	
	Prod	GG-CC-TT-CC-CG-AA-GA	-		GG-CC-TT-CC-CG-AA-GA	-																							
CG-TT-TT-CT-GC-AA-GA	1	5.67	2.92	GG-CC-TT-CT-GC-AA-GA	1	7.167	6.17	GG-TC-TA-CC-GG-AT-AA	1	7.25	4.65	GG-CC-TA-CT-GC-AA-GA	1	6.33	5.08	GG-TC-TT-CC-GC-AA-GA	1	6.00	4.67	GG-TC-TT-CC-GC-AA-GA	1	6.00		GG-TC-TT-CC-GC-AA-GA	4	6.67	3.17		
GG-CC-TA-CC-GC-AA-GA	2	2.75		GG-TC-TT-CT-GC-AA-GA	1	1.00		GG-TC-TT-CC-GC-AA-GA	1	2.60		GG-TC-TT-CC-GC-AA-GA	1	1.25		GG-CC-TA-CC-GC-AA-GA	1	1.333		GG-CC-TA-CC-GC-AA-GA	1	1.333		GG-TC-TT-CC-GC-AA-GA	1	3.50			
Fermeté & Eclatement																													
GL5_Ferm_Eclat	Ferm	AA-TG-GG-AA-AG	1	57.275	-0.72	AA-TG-GG-AA-AG	-			AA-TG-GG-AA-AG	-																		
		GA-GG-TT-TT-GG	3	58.00		GA-GG-TT-TT-GG	5	69.88	-	GA-GG-TT-TT-GG	1	58.88	-	GA-GG-TT-TT-GG	1	76.83	-	GA-GG-TT-TT-GG	3	57.41	-	GA-GG-TT-TT-GG	3	57.41	-	GA-GG-TT-TT-GG	3	57.41	-
		GG-TG-GG-AT-AG	1	80.45	25.80	AA-GG-GG-AT-GG	1	81.06	45.02	GG-GG-TT-AT-AG	2	72.70	22.02	AA-GG-GG-AA-AG	1	45.93		AA-GG-GG-AT-GG	1	76.40	40.10	AA-GG-GG-AT-GG	1	76.40	40.10	AA-GG-GG-AT-GG	1	76.40	40.10
	GA-GG-TT-AA-AG	2	54.65		GG-GG-GT-AT-AA	1	36.04		GG-GG-GG-AA-AG	1	50.68		AA-GG-GG-AA-AG	1	45.93		GA-GG-TT-AA-AG	1	36.30		GA-GG-TT-AA-AG	1	36.30		GA-GG-TT-AA-AG	1	36.30		
Eclat	AA-TG-GG-AA-AG	1	15.98		AA-TG-GG-AA-AG	-																							
	GA-GG-TT-TT-GG	3	14.60	1.38	GA-GG-TT-TT-GG	5	4.741	-	GA-GG-TT-TT-GG	1	0.012	-	GA-GG-TT-TT-GG	1	5.667	-	GA-GG-TT-TT-GG	3	0.667	-	GA-GG-TT-TT-GG	3	0.667	-	GA-GG-TT-TT-GG	3	0.667	-	
	AA-TG-GG-AT-AG	1	2.88	-33.03	AA-GG-GG-AA-AG	2	0.00	-21.91	GG-GG-TT-AA-AG	1	0.00	-12.00	AA-GG-GG-AA-AG	1	0.00	-11.01	AA-GG-GG-AA-AG	1	0.00	-7.20	AA-GG-GG-AA-AG	1	0.00		AA-GG-GG-AA-AG	1	0.00		
GA-GG-GT-AT-GG	3	35.90		GA-GG-TT-AA-AG	1	21.91		GA-GG-TT-AT-GG	1	12.00		GA-GG-TT-AT-GG	4	11.01															

Tableau 11 : Effet des allèles pour chaque haplotype par GL et en multi-caractères pour les caractères étudiés : poids du fruit/productivité et fermeté/éclatement

Case verte : allèle favorable au marqueur chez RxL ; Case rouge : allèle défavorable au marqueur chez RxL ; En vert : allèle favorable de la population ; En rouge : allèle défavorable de la population ; Gain en rouge : inversion entre les allèles favorables et défavorables (référence : RxL) ; * : test significatif (p-valeur < 0,05) ;

de plus pour l'haplotype favorable. Un gain de 1,80 g est observé entre l'haplotype favorable et défavorable de la population. Enfin, pour l'éclatement, les haplotypes de référence sont inversés et présentent une différence de 10,87. Néanmoins, entre l'haplotype favorable et défavorable de la population, un gain de -26,03 est apporté par l'haplotype favorable. En analyse multi-caractères, les haplotypes de référence sont retrouvés seulement pour le GL 5 pour la fermeté et l'éclatement (tableau 11). Cependant, pour les deux caractères, les résultats ne sont pas cohérents, ils présentent des inversions. Pour la fermeté, la différence entre les haplotypes est de 0,72 et de 1,38 pour l'éclatement. La comparaison entre les haplotypes favorables et défavorables dans la population montre un gain de 25,80 pour la fermeté et de -33,03 pour l'éclatement.

A partir de toutes ces analyses, le marqueur GL2_026_PM associé au poids du fruit a été choisi pour faire de la SAM multi-caractère. Ce marqueur a été sélectionné parce qu'il présente les gains les plus forts et est validé dans plusieurs populations. Pour la fermeté, c'est le marqueur GL4_012_749_Ferm qui a été choisi pour la SAM parce qu'il a été validé sur les accessions de la DHS et présente le gain le plus important chez R×L. Les marqueurs GL5_004_Eclat et GL5_014_565_Eclat ont été sélectionnés pour l'éclatement car ils présentent les gains les plus importants et le moins d'inversions. Enfin, à titre informatif, les marqueurs GL6_022_Prod et GL6_024_Prod ont été choisis pour connaître les génotypes au marqueur des individus (tableau 12). A partir de ces marqueurs les individus R×L ont été triés selon une stratégie de hiérarchisation des caractères. Les résultats sont présentés dans le tableau 13. Les individus R×L17, 44 et 130 présentent des allèles favorables pour tous les caractères. Parmi les individus défavorables, R×L27 présente tous les allèles défavorables. Pourtant, malgré les allèles défavorables cet individu présente des valeurs intéressantes pour ces caractères.

ii. Evaluation des accessions issues du CRB

De même que pour la population R×L, au GL 2, l'haplotype favorable identifié chez R×L n'a pas été détecté. Le gain obtenu entre l'haplotype favorable et l'haplotype défavorable de la population, est de 4,70 g. Sur le GL 6, les haplotypes de référence sont inversés et révèlent une différence de 1,01 g. L'haplotype favorable de la population permet de gagner 4,85 g de plus que l'haplotype défavorable. Enfin, pour l'éclatement, l'haplotype favorable de référence n'a pas été trouvé. L'haplotype favorable de la population permet de gagner -4,10 d'éclatement par rapport au défavorable. En analyse multi-caractères, aucun haplotype de référence n'a été retrouvé (tableau 11). Cependant les haplotypes favorables permettent de gagner, respectivement pour le poids du fruit, la productivité, la fermeté et l'éclatement, 5,86 g, 6,17, 45,02 et -21,91.

La combinaison de tous les résultats précédents a permis, par le tri hiérarchique des caractères, de conserver un individu et d'éliminer 19 individus (tableau 14). La variété 'Uriase-de-Bistrita' présente quasiment tous les allèles favorables pour chaque caractère. Dans les individus défavorables, les cultivars 'Saint-Georges' et 'V4092' possèdent des fruits très petits et très mous.

Les tableaux 10 et 11 présentent les résultats sur les GL en multi-caractères, pour les groupes de structure. Dans les deux cas (G1 « Landraces » et G2 « Bred cultivars ») aucune combinaison de référence n'est retrouvée. Le gain le plus important est observé au GL 2 pour le G1 et au GL 6 pour le G2. Au GL 2, le gain le plus important est de 3,33 g et de 5,79 g pour l'haplotype favorable au GL 6 (G2) pour l'analyse par GL. En analyse multi-caractères, pour le G1, les haplotypes favorables permettent de gagner, respectivement pour le poids du fruit, la productivité, la fermeté et l'éclatement, 4,27 g, 4,65, 22,02 et -12,00. Pour le G2, les haplotypes favorables permettent de gagner, respectivement pour le poids du fruit, la productivité et

Marqueurs	Géno	Ind	\bar{x}	Gain	Ind	\bar{x}	Gain	G1 (29 ind)			G2 (60 ind)			Admixed (79 ind)			Ind	\bar{x}	Gain
								Ind	\bar{x}	Gain	Ind	\bar{x}	Gain	Ind	\bar{x}	Gain			
Poids du fruit																			
GL2_026_PM	TT	25	8.73	2.08*	49	6.77	2,50*	4	6.17	1,71*	25	6.95	2.91	18	6.64	2.53	24	9.90	-
	CC	35	6.65		21	4.27		9	4.46		3	4.04		8	4.11				
Fermeté																			
GL4_012_749_Ferm	AG	63	66.10	2.43*	18	66.9	1.30	4	65.30	0.80	9	66.00	-2.3	5	56.40	-8.80	7	60.2	-6,70
	GG	55	63.60		147	65.6		25	64.50		51	68.3		66	65.20		38	66.9	
Eclatement																			
GL5_004_Eclat	AA ^L	53	10.30	-8.36*	22	1.36	-0.95	2	0.10	-3.43	10	1.01	-4,26*	9	3.05	2,99*			-
	GA ^R	36	18.70		37	2.32		5	3.53		12	5.27		20	0.06				
GL5_014_565_Eclat	TG ^R	64	9.99	-8.99*	27	0.54	-0.85	4	0.46	-1.41	8	0.32	-1.56	15	0.49	-0.31			-
	GG ^L	53	18.99		135	1.39		25	1.87		52	1.88		53	0.80				
Productivité																			
GL6_022_Prod	TA ^R	61	4.72	0.34*	97	4.39	0.06	13	4.77	0.06	36	4.39	0,19	45	4.11	-0.19	29	5.86	0,67*
	TT ^L	57	4.38		56	4.33		14	4.71		18	4.20		22	4.30		20	5.19	
GL6_024_Prod	CT ^R	59	4.35	0.48*	79	4.44	0.17	11	4.69	-0.14	26	4.31	0,05	38	4.24	0.02	29	6.11	1,13*
	CC	44	3.87		79	4.27		18	4.83		28	4.26		32	4.22		22	4.98	

Tableau 12 : Effet des allèles des marqueurs choisis pour la SAM pour les caractères étudiés : poids du fruit, fermeté, éclatement et productivité

Case verte : allèle favorable au marqueur chez RxL ; Case rouge : allèle défavorable au marqueur chez RxL ; Gain en rouge : inversion entre les allèles favorables et défavorables (référence : RxL) ; * : test significatif (p-valeur < 0,05) ; ^R : génotype parental 'Regina' ; ^L : génotype parental 'Lapins' ; ² : génotype chez 'Regina' et 'Lapins'

l'éclatement, 5,79 g, 5,08 et -11,01. Ici la différence pour la fermeté n'est pas calculée puisque l'haplotype défavorable de référence correspond au meilleur haplotype du groupe. Enfin, parmi les accessions « Admixed », seuls les résultats associés au poids du fruit, au GL 6 permet d'évaluer les haplotypes de références pour l'analyse par GL. Cependant, une inversion entre les haplotypes de références est observée avec une différence de -0,62 g. Pour le GL 2 associé au poids du fruit et le GL 5 associé à l'éclatement, les haplotypes favorables de la population permettent de gagner, respectivement 5,09 g et -7,20. Pour l'analyse multi-caractères, aucun haplotype de référence n'est identifié. En multi-caractères, les haplotypes favorables permettent de gagner, respectivement pour le poids du fruit, la productivité, la fermeté et l'éclatement, 5,87 g, 4,67, 40,10 et -7,20.

Les résultats de la SAM regroupent l'ensemble des individus favorables et défavorables identifiés avec la SAM réalisée sur les accessions du CRB. L'appartenance des groupes de structure des individus défavorables et de l'individu favorable est présentée dans le tableau 14.

Une représentation graphique d'une analyse en composantes principales (ACP) a été réalisée pour tous les caractères sur les accessions du CRB pour chaque groupe de structure (figure 3). Cette ACP montre, au sein de chaque groupe, que plus les accessions « Landraces » présentent des fruits plus petits et mou que les accessions « Modern Bred », qui présentent de gros fruits et fermes. Ces résultats permettent de mettre en évidence, que ces deux groupes sont bien issus deux populations ancestrales différentes et l'évolution des variétés vers les critères de sélection actuels.

iii. *Evaluation des accessions en cours d'évaluation DHS*

Les résultats de l'étude par GL associé au poids du fruit, sur les accessions de la DHS n'ont pas permis d'identifier les haplotypes de références. Mais l'haplotype favorable de la population permet de gagner, respectivement au GL 2 et GL6, 3,81 g et 4,59 g. De même, dans l'analyse multi-caractères sur le GL6, les haplotypes de références ne sont pas retrouvés. L'haplotype favorable de la population permet de gagner, respectivement au GL 2 et GL6, 4,94 g et 3,17 g.

La combinaison de tous les résultats permet d'identifier 3 individus favorables et 30 défavorables en SAM (tableau 15). D'après leurs génotypes aux marqueurs, les meilleurs cultivars semblent être 'Fertard' et 'Sunburst'.

V) Discussion

V.1. Construction de la carte génétique et détection de QTL

La construction de la carte génétique de 'Lapins' réalisée à partir de l'autofécondation de 'Lapins' a permis de mettre en évidence de nouveaux QTL. Cependant, la carte génétique a été construite à partir de marqueurs qui présentaient d'importantes distorsions de ségrégation (annexe 2). Ceci pourrait résulter d'un problème dû à la très faible quantité d'ADN disponible pour la plupart des individus. Un seul des allèles est détecté faute d'amplification PCR expliquant ainsi le déficit d'hétérozygotes.

Comme attendu, aucun QTL n'a été détecté sur le GL 4, confirmant les résultats obtenus sur la population F_1 R \times L où ce QTL avait été détecté uniquement chez 'Regina' (Castède *et al.*, 2014). Dans l'autofécondation de 'Lapins', le QTL du GL 2 pour le DF présente le PVE le plus important, bien que relativement faible comparé à celui du GL 4 détecté dans R \times L (Castède *et al.* 2014). Le principal résultat attendu avec la F_2 de Lapins était la détection d'un QTL sur GL 1 avec un PVE important, à l'image de celui détecté avec la population R \times L sur

Océane Bellerose – Mémoire de fin d'études

	Ind	GL2_026_PM	GL4_012_749_Ferm	GL5_004_Eclat	GL5_014_565_Eclat	GL6_022_Prod	GL6_024_Prod	PM	Ferm	Eclat	Prod
Favorables	RxL17	TT	AG	AA	TG	TA	CT	8.75	64.80	17.13	6.00
	RxL44	TT	AG	AA	TG	TA	CT	8.15	68.70	5.48	4.61
	RxL53	TT	AG	AA	TG	TT	CT	8.39	61.10	1.68	5.00
	RxL10	TT	AG	GG	TG	TT	CT	10.09	44.10	12.21	1.82
	RxL130	TT	AG	AA	TG	TA	CT	9.49	53.60	15.91	4.49
	RxL65	TT	AG	GG	TG	TT	CC	10.04	60.20	23.50	6.00
Défavorables	RxL3	CC	GG	GA	TG	TT	CC	6.85	72.5	7.25	5
	RxL8	CC	GG	GA	NA	TT	CT	NA	NA	NA	NA
	RxL27	CC	GG	GA	GG	TT	CC	7.79	68	10.5	4.78
	RxL30	CC	GG	GA	TG	TA	TT	7.53	64.4	14.63	3.89
	RxL119	CC	GG	GA	TG	TA	TT	NA	NA	NA	NA
							Moyenne	8.56	61.93	12.03	4.62
							Max	10.09	72.50	23.50	6.00
							Min	6.85	44.10	1.68	1.82

Tableau 13 : Individus de la population RxL triés selon la stratégie de sélection en SAM multi-caractères

En vert : allèle favorable ; En rouge : allèle défavorables

le GL 1 de 'Lapins' (Castède *et al.*, 2014; Branchereau, 2022). Néanmoins, ce QTL n'a été que très faiblement détecté pour la FF. Une raison pourrait être que l'expression de ce QTL est très dépendante des conditions climatiques (Branchereau, 2022) et que l'étude n'est basée que sur une année de phénotypage.

Afin d'améliorer la fiabilité de ces résultats, la carte génétique de 'Lapins' pourrait être reconstruite à partir de nouvelles données de génotypage obtenues à partir de plus d'ADN pour chaque individu. Par ailleurs, des données de phénotypage obtenues sur plusieurs années permettrait d'augmenter la puissance de détection des QTL et de diminuer leurs intervalles de confiance. Cette condition est nécessaire pour le développement de KASP. Actuellement, pour la date de floraison, des marqueurs KASP sont disponibles pour le QTL du GL 4 (Branchereau *et al.* 2022) et des marqueurs PCR sur GL 1 (Calle *et al.*, 2021), ce qui reste insuffisant compte tenu de la complexité de ce caractère.

V.2. Sélection assistée par marqueurs SSR pour le poids du fruit

La SAM pour le poids du fruit à l'aide des deux marqueurs SSR a permis de réduire considérablement le nombre d'hybrides à observer en verger. Seuls les jeunes plants présentant les allèles favorables pour les deux SSR étudiés ont été plantés, ce qui d'un point de vue technique représente un gain de moyens (humains et financiers) et un gain de place considérable en verger. Toutefois, parmi les individus éliminés, certains possèdent des allèles inconnus, non identifiés comme « petits » ou « gros fruits ». En les éliminant, il est possible que certains individus produisant des « gros fruits » aient été perdus. De plus, cette SAM se limite au QTL sur le GL 2. Or, ce caractère étant complexe, cette SAM ne prend pas en compte les autres QTL. Par ailleurs, cette SAM se limite à ce seul caractère et peut donc être optimisée.

V.3. Sélection assistée par marqueur KASP multi-caractères sur les différents panels

V.3.1. Intérêt des analyses par haplotypes

L'étude marqueur par marqueur permet d'identifier chez R×L, ceux ayant l'effet le plus important pour un caractère donné. Toutefois, ce type d'analyse est assez restrictif pour des caractères complexes. Afin d'augmenter la fiabilité, il était important d'étudier le génotype sur une distance plus grande. D'où l'intérêt de construire des haplotypes qui permettent de couvrir plus largement la zone d'étude.

Cependant, lorsque les analyses sont réalisées à partir d'haplotypes, le nombre de combinaisons d'haplotypes uniques augmente (i.e. augmentation du nombre de recombinaisons génétiques). De plus, il est possible que les haplotypes construits à partir des marqueurs identifiés chez R×L ne soient pas présents au sein des autres populations. Cette augmentation du nombre d'haplotypes uniques a pour conséquence de réduire le nombre d'individus par classe génotypique, ce qui rend impossible la réalisation de tests statistiques. Toutefois, bien que les comparaisons soient réalisées entre un petit nombre d'individus (parfois un seul individu avec une combinaison d'allèles donnée), les résultats permettent de sélectionner des géniteurs potentiels pour le programme de sélection.

De plus, même si les QTL présentent des intervalles de confiance de petite taille d'un point de vue génétique, la construction d'haplotypes est effectuée à partir de marqueurs relativement éloignés les uns des autres par rapport à la position physique, la distance entre marqueurs reste de l'ordre de 10 000 pb. Or, plus les marqueurs sont éloignés, plus la fréquence de recombinaisons génétiques est élevée.

Océane Bellerose – Mémoire de fin d'études

	SAM CRB (G1, G2 et Admixed)	Structure	GL2_026_PM	GL4_012_749_Ferm	GL5_004_Eclat	GL5_014_565_Eclat	GL6_022_Prod	GL6_024_Prod	PM	Ferm	Eclat	Prod
Favorable	Uriase-de-Bistrita	2	TT	AG	GG	TG	TA	CT	7.66	68.10	0.21	2.90
Défavorables	Bigarreau-Coeur-de-Pigeon-tardif	1	CC	GG	GG	GG	TT	CC	6.15	82.00	1.81	2.60
	Blancale-precoce	1	CC	GG	GG	GG	TT	CC	5.00	54.50	0.14	4.83
	Blanchere	1	CC	GG	GG	GG	TA	CC	4.03	49.40	0.18	7.21
	Caillou	1	CC	GG	GG	GG	TT	CC	4.30	85.70	0.00	5.50
	Cerise-des-moissons	1	CC	GG	GA	GG	TA	CC	4.25	59.20	4.93	4.30
	Cypres	1	CC	GG	GG	GG	TT	CC	3.88	61.00	0.07	4.17
	V3855	1	CC	GG	GA	GG	TA	CC	5.03	62.10	1.99	4.00
	V4063	1	CC	GG	GA	GG	TT	CC	4.94	50.80	21.91	5.00
	Bigarreau-Courte-Queue	1	CC	GG	GG	GG	TT	CC	5.14	63.60	0.11	5.33
	Jerusalem	1	CC	GG	GG	GG	TA	CT	6.41	58.60	0.00	2.00
	V4092	1	CC	GG	GG	GG	TA	CC	3.22	53.90	0.00	5.33
	Xapata	1	CC	GG	GG	GG	TA	CC	3.27	51.30	0.22	5.50
	Yuko-Nishiki	2	CC	GG	AA	GG	TT	CC	4.18	57.30	0.00	4.17
	Durette	2	CC	GG	GA	GG	TA	CT	3.42	84.40	0.00	5.33
	Saint-Georges	Admixed	CC	GG	GG	GG	TA	CC	2.94	43.40	0.21	4.17
Guigne-Douce-du-Champ-de-air	Admixed	CC	GG	NA	GG	TA	CT	4.08	50.80	7.12	5.17	
Blancale-tardive	Admixed	CC	GG	GA	TG	TT	CC	2.85	75.90	0.22	3.62	
Cristobalina	Admixed	CC	GG	GG	GG	TA	CT	3.36	69.80	0.13	3.00	
	Moyenne							4.43	62.20	2.07	4.43	
	Max							7.66	85.70	21.91	7.21	
	Min							2.85	43.40	0.00	2.00	

Tableau 14 : Accessions du CRB triées selon la stratégie de sélection en SAM multi-caractères

En vert : allèle favorable ; En rouge : allèle défavorables

Afin d'augmenter la fiabilité des résultats, il serait intéressant de travailler avec des populations plus grandes. Ceci permettrait de valider les allèles favorables et défavorables identifiés avec des tests statistiques basés sur un plus grand nombre d'individus. Une population plus grande permettrait d'obtenir des QTL avec des intervalles de confiances plus faible ce qui aura pour conséquence de développer des marqueurs moins éloignés, facilitera la construction d'haplotype moins long et ainsi fournira des groupes d'individus plus important.

V.3.1. Prise en compte de la structure

La première analyse effectuée sur les accessions de la collection du CRB a été faite sans prendre en compte la structure. Or, parmi les accessions du CRB, l'existence d'une structure en deux groupes avait été mis en évidence (Campoy *et al.*, 2016). Ainsi, afin d'augmenter la fiabilité des résultats, les accessions du CRB ont été testées selon leur appartenance à ces groupes. En divisant ainsi les accessions du CRB, les groupes formés présentaient des effectifs réduits, limitant les tests statistiques. Le G1 est réduit à 29 individus et les résultats sur ce groupe sont pour la plupart non significatifs ou n'ont pas pu être testés. Les figures d'ACP révèlent des fruits petits et mous pour le G1 (« Landraces ») et des fruits plus gros et fermes dans le G2 (« Modern Bred ») comme attendus. Dans les cultivars modernes, on constate que l'allèle « fruit mou » du QTL au GL 4 a quasiment disparu, cela étant en accord avec le fait que la fermeté soit un caractère fortement amélioré.

V.4. Transférabilité des marqueurs KASP sur de nouveaux panels de cerisier

L'étude de l'effet des allèles marqueur par marqueur associés au poids du fruit permet de valider les marqueurs GL2_026_PM et GL2_027_PM sur le GL 2, avec des gains plus fort pour le marqueur GL2_026_PM. En effet, les allèles favorables sont validés au sein de toutes les populations. Les allèles défavorables quant à eux sont validés sur toutes les populations, exceptées les accessions de la DHS (l'allèle défavorable au marqueur GL2_026_PM n'est pas représenté). Sur le GL6, les marqueurs n'ont pas pu être validés en raison du nombre trop important d'inversions d'effets. Néanmoins, l'effet du génotype aux marqueurs du GL 6 est moindre par rapport aux marqueurs du GL 2, validant le rôle important du QTL du GL 2 dans le contrôle du poids du fruit. Le QTL2_GL2_PM permet de valider l'haplotype favorable sur l'ensemble des populations. Cependant, même si aucune inversion n'est observée, des haplotypes avec un poids du fruit supérieur ou inférieur aux haplotypes favorables et défavorables de référence (identifiés chez R×L) sont observés dans certaines populations.

Pour la fermeté, l'analyse marqueur par marqueur dans les différentes populations révèle de nombreuses inversions entre les génotypes favorables et défavorables identifiés chez R×L. Pour le GL 4, ces inversions peuvent être dues au fait que le QTL associé à la fermeté du GL 4 a été trouvé sur la population 'Fercer' × X (Quero-García, Campoy, *et al.*, 2019). Parmi les marqueurs associés à la fermeté, c'est le marqueur GL4_012_749_Ferm qui semble être le plus approprié pour réaliser une SAM, parce qu'il est validé chez R×L et dans la collection du CRB. La collection du CRB étant une population qui présente une diversité génétique importante, si un marqueur est validé dans cette population alors il est possible que celui-ci puisse fonctionner sur n'importe quel autre panel de cerisier. Il est également important de rappeler que les marqueurs ont été sélectionnés en fonction des zones associées aux QTL mais que dans l'ensemble, les QTL (hormis le QTL du GL 4 sur 'Fercer' × X) présentent des PVE assez faibles (entre 10 et 18%). Ceci peut expliquer les résultats non significatifs obtenus pour certains caractères. Concernant l'éclatement du fruit, le marqueur GL5_014_565_Eclat permet de valider l'allèle favorable et l'allèle défavorable sur les accessions du CRB et dans les différents groupes de structure. Le marqueur GL5_004_Eclat est quant à lui validé sur toutes les populations évaluées pour ce caractère et présente des gains importants. L'analyse associée aux QTL permet de valider l'haplotype sur R×L, les accessions du CRB et les accessions des groupes G1 et G2 du CRB. Cependant, même si les résultats ne sont pas

validés sur toutes les populations, les pourcentages d'éclatement restent faibles. L'étude de l'effet des haplotypes par GL mono-caractère et multi-caractères permet de retrouver seulement les haplotypes défavorables de référence. De ce fait, il est difficile de valider les haplotypes à cette échelle d'analyse.

Enfin, l'étude des marqueurs liés à la productivité présente des inversions mais les marqueurs GL6_022_Prod et GL6_024_Prod sont validés dans la collection du CRB (sans analyse de la structure), dans les deux groupes de structure et dans les accessions de la DHS. Bien que la productivité soit un caractère complexe et très dépendant de l'environnement et de la conduite de culture, il est intéressant de pouvoir identifier des génotypes favorables et défavorables. Au niveau des QTL, les haplotypes sont validés dans les accessions du CRB et la DHS.

Il faut souligner qu'il est difficile de comparer les populations entre elles car celles-ci ne sont pas cultivées dans les mêmes conditions. Les individus R×L ne sont pas greffés contrairement aux accessions du CRB et de la DHS. De plus, les accessions du CRB ne sont pas plantées au même endroit, ce qui introduit un biais vis-à-vis de l'environnement et du sol. Aussi, les accessions du CRB et les descendants de R×L ne sont pas irrigués contrairement aux accessions de la DHS. De plus, il y a quelques années, la collection du CRB a été conduite en conditions de bas intrants (décision européenne), ce qui a eu pour conséquence, l'obtention de valeurs faibles sur le poids du fruit en 2011. Ces paramètres peuvent expliquer les écarts observés entre les populations, comme le poids du fruit dans les accessions du CRB. De plus, il s'avère que sur la collection du CRB situé à Bourran, les pluies ont été moins importantes que sur le site de plantation de la population R×L à Toulonne. L'étude de l'éclatement sur la collection du CRB, de par son site d'implantation, offre donc des conditions moins favorables pour l'étude de ce caractère.

Finalement, l'ensemble des résultats semble montrer que l'analyse marqueur par marqueur est la plus adéquate pour faire de la SAM. En effet, les allèles favorables et défavorables sont conservés entre populations. Les marqueurs GL2_026_PM (pour le poids), GL4_012_749_Ferm (pour la fermeté), GL5_004_Eclat et GL5_014_565_Eclat (pour l'éclatement) et GL6_022_Prod et GL6_024_Prod (pour la productivité) semblent être transférables sur de nouveaux panels de cerisier et utilisables en SAM.

Afin de mettre en place une SAM, une hiérarchie des caractères a été établie : (1) Poids du fruit (référence au marqueur GL2_026_PM) du GL 2) ; (2) Fermeté (référence au marqueur GL4_012_749_PM du GL 4) ; (3) Eclatement (référence aux marqueurs GL5_004_Eclat et GL5_014_565-Eclat du GL 5). Ensuite, les génotypes aux marqueurs du GL 6 pour la productivité ont été vérifiés (i.e. individus porteurs ou non des génotypes favorables ou défavorables). Cependant, compte tenu de tous les résultats de SAM confondus, certains individus sont porteurs des génotypes favorables mais possèdent des valeurs phénotypiques peu favorables pour certains caractères. A l'inverse, plusieurs individus sont classés dans les défavorables mais présentent des données phénotypiques intéressantes. Ces résultats montrent que selon les niveaux d'exigences pour les caractères, certains individus sont à conserver en tant que géniteurs.

Finalement, la SAM multi-caractères semble être plus efficace aujourd'hui pour trouver des géniteurs d'intérêt plutôt que pour faire directement une sélection d'individus. Il serait intéressant de sélectionner les meilleurs individus pour certains caractères puis les croiser avec les meilleurs individus associés à d'autres caractères pour obtenir des individus qui combinent tous les caractères d'intérêt.

Océane Bellerose – Mémoire de fin d'études

	Ind	GL2_026_PM	GL4_012_749_Ferm	GL6_022_Prod	GL6_024_Prod	PM	Ferm	Prod
Favorables	FERTARD	TT	AG	TT	CT	11.39	66.2	4.4
	OBT_INRA_4L15	TT	AG	TT	CC	NA	NA	5.11
	SUNBURST	TT	AG	TT	CT	10.03	49.5	6.3
Défavorables	AGOUEL-DELICEMALICORNE	TT	GG	TT	CC	7.62	73.7	5.25
	BLACK_STAR	TT	GG	TT	CT	NA	NA	5.19
	C-73-5	TT	GG	TA	CC	NA	NA	NA
	DURONI-3	CT	GG	TA	CC	10.17	59.8	5.8
	EARLIRED	TT	GG	TA	CC	9.12	68.8	4.22
	Fercher-ARCINA	TT	GG	TT	CC	12.3	69.7	5.2
	FERDOUCE	TT	GG	TA	CC	11	NA	5
	FERIA	TT	GG	TT	CC	11.52	54.5	3.48
	FERMINA	TT	GG	TT	CC	9.97	73.2	4.9
	FEROBRI	TT	GG	TT	CC	10.71	70.2	4.5
	FERPACT	CT	GG	TT	CC	11.13	70.6	3.48
	FERPIN	CT	GG	TT	CC	10.32	NA	4.68
	Ferprime-PRIMULAT	CT	GG	TT	CC	8.31	NA	3.5
	FERTILLE	TT	GG	TA	CC	10.99	68.2	5.6
	FOLFER	CT	GG	TT	CC	11.34	71.2	4.7
	GIRODEL	CT	GG	TA	CC	11.32	62.2	5.19
	GLACIER	CT	GG	TT	CC	NA	NA	NA
	GRACE_STAR	TT	GG	TT	CC	9.79	58	7.34
	LAPINS	CT	GG	TT	CT	8.81	NA	6.5
	PANARO_1_SWEET_EARLY	CT	GG	TT	CT	NA	NA	4.88
	PENNY	TT	GG	TA	CC	NA	NA	6.4
	Sandar	CT	GG	TA	CC	NA	NA	2.56
	STACCATO	TT	GG	TA	CC	9.82	70.4	5.2
	SUMBIGO	CT	GG	TA	CC	NA	NA	NA
	SUMGITA_CANADA_GIANT	TT	GG	TT	CT	9.97	60.1	5.18
	SUMINI-NEWMOON	CT	GG	AA	CC	8.66	70.9	5
	SUMMIT	TT	GG	TT	CT	10.3	61.4	6.6
	SUMTARE-SWEETHEART	TT	GG	TA	CC	NA	NA	NA
VANDA	CT	GG	TT	CC	7.08	56.3	6.57	
X6_TECHLOVAN	TT	GG	TT	CC	10.91	67	4.73	
					Moyennes	10.11	65.10	5.08
					Max	12.30	73.70	7.34
					Min	7.08	49.50	2.56

Tableau 15 : Accessions de la DHS triées selon la stratégie de sélection en SAM multi-caractères

En vert : allèle favorable ; En rouge : allèle défavorables

VI) Conclusion et perspectives

Ce stage a permis de construire une carte génétique de 'Lapins' à partir de la F₂ de 'Lapins' pour la détection de nouveaux QTL associés à la date de floraison. La nouvelle carte génétique de 'Lapins' a permis de détecter de nouveaux QTL pour la floraison autre que celui du GL 4. Cependant, les intervalles de confiance des QTL, de par leur taille, n'ont pas permis de développer de KASP. La prochaine étape sera de construire une nouvelle carte génétique afin de réduire les intervalles de confiance des QTL pour ensuite pouvoir développer des marqueurs KASP associés à la date de floraison, hors du GL 4. Ainsi, ces KASP permettront d'inclure des caractères de phénologie du cerisier dans la SAM multi-caractères.

Une SAM a été réalisée sur le semis libre de 'Folfer' à partir de marqueurs SSR pour le poids du fruit afin de faire une sélection d'individus portant l'allèle « gros fruit ». La SAM réalisée dans la population issue de la pollinisation libre de 'Folfer' à partir de marqueurs SSR a permis de réduire de façon importante le nombre d'hybrides à étudier. Le tri a été effectué seulement selon le poids du fruit, bien que le poids du fruit reste le critère numéro un en sélection, il était primordial de développer une SAM multi-caractères. En prenant en compte plusieurs caractères, les individus sélectionnés, même s'ils sont très peu, présentent un meilleur équilibre entre chaque caractère.

Enfin, des marqueurs KASP ont été évalués pour plusieurs caractères d'intérêt dans le but de développer une SAM multi-caractères.

Parmi les vingt marqueurs KASP évalués, six d'entre eux ont été validés : un marqueur associé au poids du fruit, un marqueur de fermeté, deux marqueurs d'éclatement et deux marqueurs de productivité. Les résultats ont montré que l'effet des allèles était plus fiable à l'échelle des marqueurs qu'aux différents niveaux d'études par haplotypes. Parmi les individus étudiés, la SAM a permis d'identifier des géniteurs potentiels pour les prochains croisements du programme de sélection. Ces marqueurs KASP pourraient ensuite être utilisés en routine SAM multi-caractères pour la sélection de futurs hybrides. Une approche GWAS, sur de nouveaux panels de cerisier, pourrait être réalisée afin de développer de nouveaux marqueurs KASP pour de nouveaux caractères.

Références bibliographiques

- Allan, R.P., C. Cassou, D. Chen, A. Cherchi, L. Connors, F.J. Doblaz-Reyes, H. Douville, F. Driouech, T.L. Edwards, E. Fischer, G.M. Flato, P. Forster, K.M. AchutaRao, B. Adhikary, E. Aldrian and K. Armour. 2021. Summary for Policymakers 32.
- AOP Cerise de France. 2021. Les variétés et les Zones de Production de Cerise - AOP Cerises de France. 2021. <<http://www.cerises-de-france.fr/1.cfm?p=412-les-varietes-de-cerise>>.
- Branchereau, C. 2022. Étude des interactions génotype x environnement sur la phénologie du cerisier doux (*Prunus avium*). Thèse de doctorat en Sciences, Technologie, Santé. Université de Bordeaux. 257 p
- Burger, P., R. Marie-Pierre, L. Bouby and J.-F. Terral. 2016. Burger et al (2016) Approche historique de l'agrobiodiversité du Cerisier (*Prunus avium* L. / *Prunus cerasus* L.) en Europe Nord-Occidentale. *Food and History* 14 : 131–162
- Cai, L., J. Quero-García, T. Barreneche, E. Dirlwanger, C. Saski and A. Iezzoni. 2019. A fruit firmness QTL identified on linkage group 4 in sweet cherry (*Prunus avium* L.) is associated with domesticated and bred germplasm. *Sci. Rep.* 9:5008.
- Calle, A., L. Cai, A. Iezzoni and A. Wünsch. 2018. High-density linkage maps constructed in sweet cherry (*Prunus avium* L.) using cross- and self-pollination populations reveal chromosomal homozygosity in inbred families and non-syntenic regions with the peach genome. *Tree Genet. Genomes* 14:37.
- Calle, A., J. Grimplet, L. Le Dantec and A. Wünsch. 2021. Identification and Characterization of DAMs Mutations Associated With Early Blooming in Sweet Cherry, and Validation of DNA-Based Markers for Selection. *Front. Plant Sci.* 12.
- Calle, A., M.J. Serradilla and A. Wünsch. 2021. QTL mapping of phenolic compounds and fruit colour in sweet cherry using a 6+9K SNP array genetic map. *Sci. Hortic.* 280:109900.
- Calle, A. and A. Wünsch. 2020. Multiple-population QTL mapping of maturity and fruit-quality traits reveals LG4 region as a breeding target in sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Hortic. Res.* 7:1–13.
- Campoy, J., D. Ruiz and J. Egea. 2011. Dormancy in temperate fruit trees in a global warming context: A review. *Sci. Hortic.* 130:357–372.
- Campoy, J.A., L. Le Dantec, T. Barreneche, E. Dirlwanger and J. Quero-García. 2015. New Insights into Fruit Firmness and Weight Control in Sweet Cherry. *Plant Mol. Biol. Report.* 33:783–796.
- Campoy, J.A., E. Lerigoleur-Balsemin, H. Christmann, R. Beauvieux, N. Girollet, J. Quero-García, E. Dirlwanger and T. Barreneche. 2016. Genetic diversity, linkage disequilibrium, population structure and construction of a core collection of *Prunus avium* L. landraces and bred cultivars. *BMC Plant Biol.* 16:49.
- Castède, S. 2014. Génétique moléculaire de la floraison chez le cerisier doux: étude et compréhension du déterminisme génétique et moléculaire de la floraison chez le cerisier (*Prunus avium*) en vue de son adaptation aux futures conditions climatiques. Thèse de doctorat en Sciences, Technologie, Santé. Université de Bordeaux. 263 p
- Castède, S., J.A. Campoy, J.Q. García, L. Le Dantec, M. Lafargue, T. Barreneche, B. Wenden and E. Dirlwanger. 2014. Genetic determinism of phenological traits highly affected by climate change in *Prunus avium*: flowering date dissected into chilling and heat requirements. *New Phytol.* 202:703–715.
- Crane, M.B. and A.G. Brown. 1938. Incompatibility and Sterility in the Sweet Cherry, *Prunus Avium* L. *J. Pomol. Hortic. Sci.* 15:2–116.
- De Candolle, A. 1886. Origine des plantes cultivées. F. Alcan.
- De Franceschi, P., T. Stegmeir, A. Cabrera, E. van der Knaap, U.R. Rosyara, A.M. Sebolt, L. Dondini, E. Dirlwanger, J. Quero-García, J.A. Campoy and A.F. Iezzoni. 2013. Cell number regulator genes in *Prunus* provide candidate genes for the control of fruit size in sweet and sour cherry. *Mol. Breed.* 32:311–326.

- Dirlewanger, E., J. Claverie, A. Wünsch and A.F. Iezzoni. 2007. Cherry, p. 103–118. In : C. Kole (ed.). *Fruits and Nuts, Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants*. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Dirlewanger, E., J. Quero-García, L. Le Dantec, P. Lambert, D. Ruiz, L. Dondini, E. Illa, B. Quilot-Turion, J.-M. Audergon, S. Tartarini, P. Letourmy and P. Arús. 2012. Comparison of the genetic determinism of two key phenological traits, flowering and maturity dates, in three *Prunus* species: peach, apricot and sweet cherry. *Heredity* 109:280–292.
- Dondini, L., S. Lugli and S. Sansavini. 2018. Cherry Breeding: Sweet Cherry (*Prunus avium* L.) and Sour Cherry (*Prunus cerasus* L.), p. 31–88. In : J.M. Al-Khayri, S.M. Jain & D.V. Johnson (eds.). *Advances in Plant Breeding Strategies: Fruits: Volume 3*. Springer International Publishing, Cham, pp 31-88
- FAOSTAT. 2020. Production de cerises. FAO. 2020. <<https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>>.
- Haifa and Israël. 2002. Multi Q.T.L. 2002. <<https://carmel-ltd.haifa.ac.il/index.php/spinoffcomp/273-multi-q-t-l>>.
- Isuzugawa, K., K. Shirasawa, S. Kurosaka, Y. Takahashi, Y. Saito, E. Adachi, M. Ikenaga and T. Yamamoto. 2019. QTL analysis and candidate gene SNP for harvest day in sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Acta Hort.* 1235 : 33–40.
- Kappel, F., A. Granger, K. Hrotkó and M. Schuster. 2012. Cherry, p. 459–504. In : M.L. Badenes & D.H. Byrne (eds.). *Fruit Breeding, Handbook of Plant Breeding*. Springer US, Boston, MA.
- Klagges, C., J.A. Campoy, J. Quero-García, A. Guzmán, L. Mansur, E. Gratacós, H. Silva, U.R. Rosyara, A. Iezzoni, L.A. Meisel and E. Dirlewanger. 2013. Construction and Comparative Analyses of Highly Dense Linkage Maps of Two Sweet Cherry Intra-Specific Progenies of Commercial Cultivars. *PLOS ONE* 8:e54743.
- Knoche, M. 2019. The mechanism of rain cracking of sweet cherry fruit. *Italus Hortus* 26:59 – 65.
- Lane, W.D. and H. Schmid. 1984. LAPINS AND SUNBURST SWEET CHERRY. *Can. J. Plant Sci.* 64:211–214.
- Lapins, K.O. 1971. STELLA, A SELF-FRUITFUL SWEET CHERRY. *Can. J. Plant Sci.* 51:252–253.
- Le Dantec, L., N. Girollet, M. Fouche, J. Gouzy, E. Sallet, J. Quero-Garcia, T. Barreneche, B. Wenden and E. Dirlewanger. 2018. A High Quality Draft Assembly of the Diploid “Regina” Sweet Cherry Genome. *Plant & Animal Genome Conference XXVI / January 12-16*. San Diego, CA, USA
- Iezzoni, A., A. Wünsch, H. Monika, D. Giovannini, J. M., J. Quero Garcia, C. J.A., A. Vokurka and T. Barreneche. 2017. Biodiversity, Germplasm Resources and Breeding Methods, p. 36–59 *Cherries: Botany, Production and Uses*.
- Maldonado, J., A. Dhingra, B. Carrasco, L. Meisel and H. Silva. 2019. Transcriptome datasets from leaves and fruits of the sweet cherry cultivars ‘Bing’, ‘Lapins’ and ‘Rainier.’ *Data Brief* 23:103696.
- Olmstead, J.W., A.M. Sebolt, A. Cabrera, S.S. Sooriyapathirana, S. Hammar, G. Iriarte, D. Wang, C.Y. Chen, E. van der Knaap and A.F. Iezzoni. 2008a. Construction of an intra-specific sweet cherry (*Prunus avium* L.) genetic linkage map and synteny analysis with the *Prunus* reference map. *Tree Genet. Genomes* 4:897–910.
- Peace, C., N. Bassil, D. Main, S. Ficklin, U.R. Rosyara, T. Stegmeir, A. Sebolt, B. Gilmore, C. Lawley, T.C. Mockler, D.W. Bryant, L. Wilhelm and A. Iezzoni. 2012. Development and Evaluation of a Genome-Wide 6K SNP Array for Diploid Sweet Cherry and Tetraploid Sour Cherry. *PLOS ONE* 7:e48305.
- Pinosio, S., F. Marroni, A. Zuccolo, N. Vitulo, S. Mariette, G. Sonnante, F.A. Aravanopoulos, I. Ganopoulos, M. Palasciano, M. Vidotto, G. Magris, A. Iezzoni, G.G. Vendramin and M. Morgante. 2020. A draft genome of sweet cherry (*Prunus avium* L.) reveals genome-wide and local effects of domestication. *Plant J.* 103:1420–1432.

- Quero-García, J., J.A. Campoy, T. Barreneche, L. Le Dantec, B. Wenden, M. Fouché, E. Dirlewanger, H. Silva, L. Cai and A. Iezzoni. 2019. Present and future of marker-assisted breeding in sweet and sour cherry. *Acta Hortic.* 1235 : 1–14.
- Quero-García, J. and E. Dirlewanger. 2014. Le cerisier vulnérable au changement climatique. *Jard. Fr.* 12.
- Quero-García, J., A. Iezzoni, G. López-Ortega, C. Peace, M. Fouché, E. Dirlewanger and M. Schuster. 2019. Advances and challenges in cherry breeding Achieving Sustainable Cultivation of Temperate Zone Tree Fruits and Berries. Burleigh Dodds Science Publishing.
- Quero-García, J., A. Iezzoni, G. Lopez-Ortega, C. Peace, M. Fouche, E. Dirlewanger and M. Schuster. 2019. Advances and challenges in cherry breeding.
- Quero-García, J., A. Iezzoni, J. Pulawska and G.A. Lang. 2017. Cherries: Botany, Production and Uses. CABI.
- Quero-García, J., P. Letourmy, J.A. Campoy, C. Branchereau, S. Malchev, T. Barreneche and E. Dirlewanger. 2021. Multi-year analyses on three populations reveal the first stable QTLs for tolerance to rain-induced fruit cracking in sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Hortic. Res.* 8:1–16.
- R Core Team. 2022. R: The R Project for Statistical Computing. 2022. <<https://www.r-project.org/>>.
- Rosyara, U.R., M.C.A.M. Bink, E. Van de Weg, G. Zhang, A. Sebolt, E. Dirlewanger, J. Quero-García, M. Schuster and A.F. Iezzoni. 2013. Fruit size QTL identification and the prediction of parental QTL genotypes and breeding values in multiple pedigreed populations of sweet cherry. *Mol. Breed.* 32:875–887.
- Saintagne, C., C. Bodénès, T. Barreneche, D. Pot, C. Plomion and A. Kremer. 2004. Distribution of genomic regions differentiating oak species assessed by QTL detection. *Heredity* 92:20–30.
- Sansavini, S. and S. Lugli. 2008. SWEET CHERRY BREEDING PROGRAMS IN EUROPE AND ASIA. *Acta Hortic.* 795 : 41–58.
- Shirasawa, K., K. Isuzugawa, M. Ikenaga, Y. Saito, T. Yamamoto, H. Hirakawa and S. Isobe. 2017. The genome sequence of sweet cherry (*Prunus avium*) for use in genomics-assisted breeding. *DNA Res.* 24:499–508.
- Stam, P. and J.W. van Ooijen. 1996. JoinMap, version 2.0.
- Vanderzande, S., P. Zheng, L. Cai, G. Barac, K. Gasic, D. Main, A. Iezzoni and C. Peace. 2020. The cherry 6+9K SNP array: a cost-effective improvement to the cherry 6K SNP array for genetic studies. *Sci. Rep.* 10:7613.
- Vimont, N., M. Fouché, J.A. Campoy, M. Tong, M. Arkoun, J.-C. Yvin, P.A. Wigge, E. Dirlewanger, S. Cortijo and B. Wenden. 2019. From bud formation to flowering: transcriptomic state defines the cherry developmental phases of sweet cherry bud dormancy. *BMC Genomics* 20:974.
- Voorrips, R.E. 2002. MapChart: Software for the Graphical Presentation of Linkage Maps and QTLs. *J. Hered.* 93:77–78.
- Wang, J., W. Liu, D. Zhu, P. Hong, S. Zhang, S. Xiao, Y. Tan, X. Chen, L. Xu, X. Zong, L. Zhang, H. Wei, X. Yuan and Q. Liu. 2020. Chromosome-scale genome assembly of sweet cherry (*Prunus avium* L.) cv. Tieton obtained using long-read and Hi-C sequencing. *Hortic. Res.* 7:122.
- Zhang, G., A. Sebolt, S. Sooriyapathirana, D. Wang, M. Bink, J. Olmstead and A. Iezzoni. 2009. Fruit size QTL analysis of an F1 population derived from a cross between a domesticated sweet cherry cultivar and a wild forest sweet cherry. *Tree Genetics & Genomes* 6:25–36.
- Zohary, D. and M. Hopf. 2000. Domestication of plants in the Old World: the origin and spread of cultivated plants in West Asia, Europe and the Nile Valley. *Domest. Plants Old World Orig. Spread Cultiv. Plants West Asia Eur. Nile Val.*

Liste des annexes

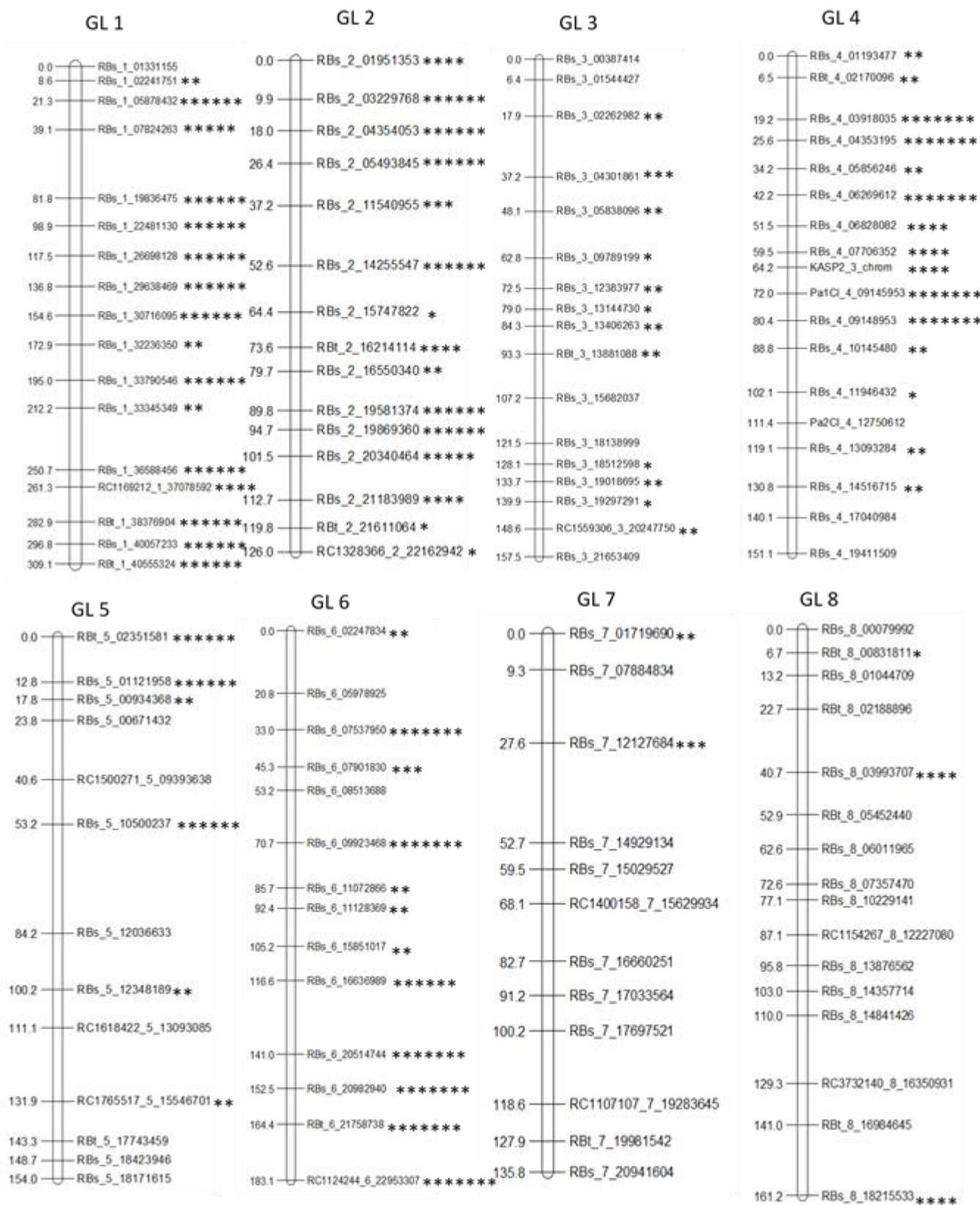
Annexe 1 : Séquences des marqueurs SNP sélectionnés pour le développement de KASP

Annexe 2 : Carte génétique réalisée à partir de la F₂ de 'Lapins'

Annexe 3 : P-valeurs des tests statistiques pour chaque marqueur pour les caractères étudiés : poids du fruit, fermeté, éclatement et productivité

Annexe 4 : P-valeurs des tests statistiques par marqueur pour les caractères étudiés : poids du fruit, fermeté, éclatement et productivité

Annexe 5 : P-valeurs des statistiques par haplotypes associés aux QTL pour les caractères étudiés : poids du fruit, fermeté, éclatement et productivité



Annexe 2 : Carte génétique réalisée à partir de la F₂ de 'Lapins'

* : p-valeur < 0,1 ; ** : p-valeur < 0,05 ; *** : p-valeur < 0,01 ; **** : p-valeur < 0,005 ; ***** : p-valeur < 0,001 ;
 ***** : p-valeur < 0,0005 ; ***** : p-valeur < 0,0001

Océane Bellerose – Mémoire de fin d'études

Marqueurs	RxL		
	Géno	Ind	P-val
Poids du fruit			
GL2_013_PM	TT TC ²	24 93	2,00E-16
GL2_015_PM	TC ^R CC ^L	50 68	2,00E-16
GL2_019_PM	TT CC	35 32	2,02E-07
GL2_026_PM	TT CC	25 35	2,00E-16
GL2_027_PM	CC TT	28 33	2,00E-16
GL6_010_449_PM	CG ^R GG ^L	47 71	2,88E-04
GL6_010_492_PM	TT CC	20 35	2,92E-09
GL6_028_PM	GG ^L GC ^R	60 58	4,39E-11
GL6_030_PM	AT ² AA	55 58	8,50E-09
GL6_031_PM	AA ^L GA ^R	47 71	2,50E-14
Fermeté			
GL4_012_380_Ferm	AA AC	63 55	6,28E-04
GL4_012_749_Ferm	AG GG	63 55	3,41E-04
GL5_019_Ferm	AG ^R GG ^L	48 70	2,70E-09
Eclatement			
GL5_004_Eclat	AA ^L GA ^R	53 36	3,73E-08
GL5_014_565_Eclat	TG ^R GG ^L	64 53	2,36E-12
GL5_014_695_Eclat	GG TT	35 29	5,57E-11
Productivité			
GL1_034_Prod	TT GG	29 25	9,23E-14
GL6_022_Prod	TA ^R TT ^L	61 57	2,93E-03
GL6_024_Prod	CT ^R CC	59 44	6,55E-05

Marqueurs	Géno	CRB		
		Ind	\bar{x}	Gain
Poids du fruit				
GL2_026_PM	TT CC	49 21	6,77 4,27	2,00E-16
GL2_027_PM	CC TT	60 19	6,55 5,20	2,77E-11
GL6_028_PM	GG ^L GC ^R	76 79	5,65 6,03	3,31E-03
Fermeté				
GL5_019_Ferm	AG ^R GG ^L	82 35	64,4 69,00	2,70E-09
CRB + Structure				
Marqueurs	Géno	G1 (29 ind)		
		Ind	\bar{x}	Gain
Poids du fruit				
GL2_026_PM	TT CC	4 9	6,17 4,46	6,64E-06
GL6_028_PM	GG ^L GC ^R	13 14	4,68 5,59	3,74E-03
GL6_031_PM	AA ^L GA ^R	11 18	4,67 5,38	5,11E-03
G2 (60 ind)				
Marqueurs	Géno	G2 (60 ind)		
		Ind	\bar{x}	Gain
Poids du fruit				
GL2_015_PM	TC ^R CC ^L	18 40	5,96 6,48	1,40E-02
GL6_028_PM	GG ^L GC ^R	28 27	5,89 6,76	0,0000342
GL6_030_PM	AT ² AA	45 15	6,23 6,70	3,58E-02
GL6_031_PM	AA ^L GA ^R	31 29	5,82 6,88	5,66E-08
Eclatement				
GL5_004_Eclat	AA ^L GA ^R	10 12	1,01 5,27	0,0000789
Admixed (79 ind)				
Marqueurs	Géno	Admixed (79 ind)		
		Ind	\bar{x}	Gain
Poids du fruit				
GL2_015_PM	TC ^R CC ^L	25 41	5,91 5,42	2,20E-02
GL6_010_492_PM	TT CC	26 14	5,99 4,88	5,44E-05
GL6_030_PM	AT ² AA	16 54	4,65 5,85	1,28E-06
GL6_031_PM	AA ^L GA ^R	32 39	5,94 5,34	4,04E-03
Eclatement				
GL5_004_Eclat	AA ^L GA ^R	9 20	3,05 0,06	0,0000148

Annexe 3 : P-valeurs des tests statistiques pour chaque marqueur pour les caractères étudiés : poids du fruit, fermeté, éclatement et productivité

Marqueurs	Géno	DHS		
		Ind	\bar{x}	Gain
Poids du fruit				
GL6_010_492_PM	TT	8	9.25	4.31E-02
	CC	11	9.91	
GL6_028_PM	GG ^L	19	10.2	1.84E-07
	GC ^R	24	9.16	
GL6_030_PM	AT ²	12	8.72	1.20E-05
	AA	32	9.75	
GL6_031_PM	AA ^L	23	9.93	6.89E-05
	GA ^R	23	9.14	
Productivité				
GL6_022_Prod	TA ^R	29	5.86	1.59E-03
	TT ^L	20	5.19	
GL6_024_Prod	CT ^R	29	6.11	2.25E-08
	CC	22	4.98	

Annexe 4 : P-valeurs des tests statistiques par marqueur pour les caractères étudiés : poids du fruit, fermeté, éclatement et productivité

Haplotypes par QTL	RxL			
	Géno	Ind	\bar{x}	Gain
Poids du fruit				
QTL2_GL2_PM	TT-CC	25	8.73	2.00E-16
	CC-TT	33	6.67	
QTL3_GL6_PM	CG-TT	20	8.08	5.72E-09
	GG-CC	35	7.26	
QTL4_GL6_PM	GG-AT-AA	48	8.12	1.08E-10
	GC-AA-GA	48	7.47	
Fermeté				
QTL1_GL4_Ferm	AA-AG	62	66.20	4.33E-04
	AC-GG	54	63.78	
QTL2_GL5_Ferm	AT-AG	30	68.50	2.02E-12
	AT-GG	42	62.40	
Eclatement				
QTL1_GL5_Eclat	TG-GG	35	7.58	7.07E-13
	GG-TT	27	19.29	
Productivité				
QTL1_GL6_Prod	TA-CT	42	4.07	1.26E-03
	TT-CC	40	3.52	
CRB				
Haplotypes par QTL	Géno	Ind	\bar{x}	Gain
	Fermeté			
QTL1_GL4_Ferm	AA-AG	14	67.44	5.13E-03
	AC-GG	19	61.94	
CRB + Structure				
Haplotypes par QTL	GP1 (29 ind)			
	Géno	Ind	\bar{x}	Gain
Poids du fruit				
QTL4_GL6_PM	GG-AT-AA	6	4.46	1.25E-04
	GC-AA-GA	11	5.72	

Annexe 5 : P-valeurs des statistiques par haplotypes associés aux QTL pour les caractères étudiés : poids du fruit, fermeté, éclatement et productivité

