

CARTOGRAPHIE ET DÉVELOPPEMENT DE MARQUEURS LIÉS AU GÈNE DE RÉSISTANCE À LA SEPTORIOSE *STB16Q* EN VUE DE SON CLONAGE

Saintenac Cyrille

PARTENAIRES

FLORIMOND-DESPREZ (OLIVIER ROBERT, COORDINATEUR)

INRA GDEC

PRI

USDA

INRA BIOGER

RAGT

ARVALIS INSTITUT DU VÉGÉTAL



INTRODUCTION

- **Nous avons identifié la séquence ADN du gène *Stb16q***
 - C'est la 1^{ère} fois au monde qu'un gène efficace et large spectre contre la septoriose (*Z. tritici*) a été identifié !!!
 - Nous avons défini des marqueurs moléculaires 100% fiables pour identifier le gène *Stb16q*
 - Ces résultats seront publiés et utilisables par tous
- Ces résultats ne sont pas issus d'un seul projet FSOV de 3 ans mais de plusieurs...



L'HISTOIRE DE LA DÉCOUVERTE DE *STB16Q*

- Durée : 11 ans (2004 à 2015) / 4 programmes de 2 ou 3 ans

Résultats fondamentaux

Identification des gènes *Stb16q*, *Stb17* & *Stb18* et de leurs marqueurs liés

Identification des protéines responsables de l'agressivité de *Z. tritici*

Identification de la séquence ADN de *Stb16*

FSOV 2004

FSOV 2008-B
PRI2

FSOV 2010-K PRI2

FSOV 2012-F
Stb16q

Résultats appliqués

Utilisation des sources de *Stb16q*, *Stb17* & *Stb18* en sélection

Utilisation des marqueurs de *Stb16q* en sélection :
→ Utilisation facilitée de Nogal (*Stb16q*) comme géniteur de nouvelles variétés

Aucune application...!

Identification totalement fiable de *Stb16q*

Nouvelles variétés avec *Stb16q* en combinaison avec d'autres gènes *Stb*

INTRODUCTION: *STB16Q*

- Cartographié sur l'extrémité du bras long du chromosome 3D
- Issu d'un blé synthétique (M3 et TA4152-19)
- Aucune virulence n'a été identifiée contre ces deux accessions
- Effectif au stade plantule et au stade adulte, contrôle l'apparition des nécroses (*N*), des pycnides (*P*) et la latence

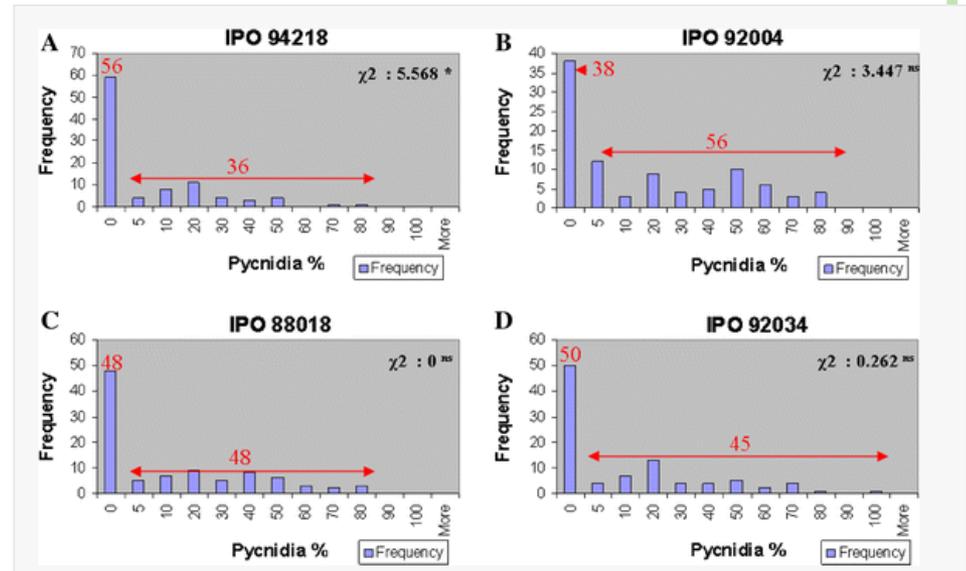
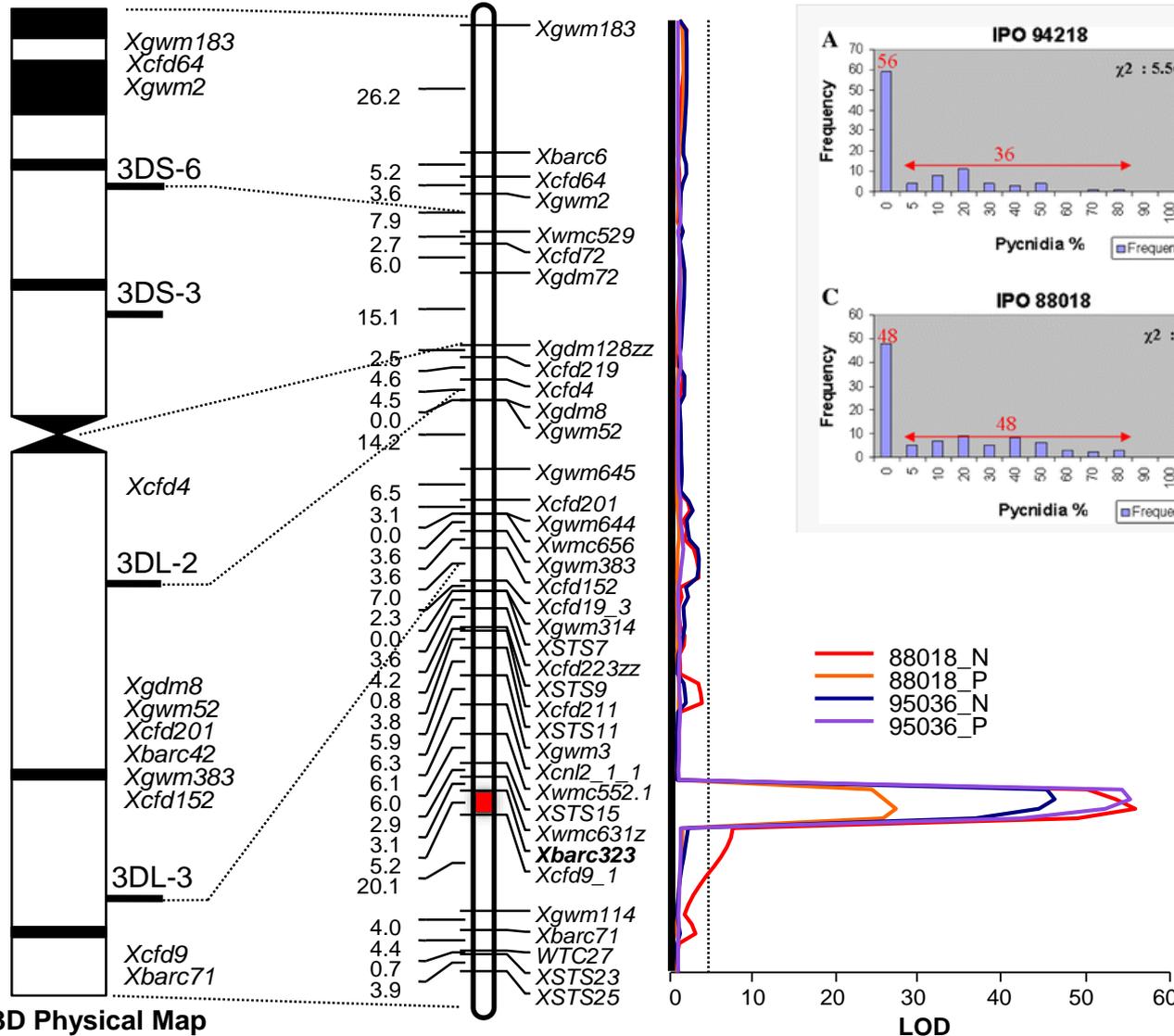


COMMENT AVONS NOUS IDENTIFIÉ STB16Q ?



INTRODUCTION: *STB16Q*, PROJET FSOV2008B, (TABIB GHAFFARY ET AL. 2011)

Population M3 x Kulm

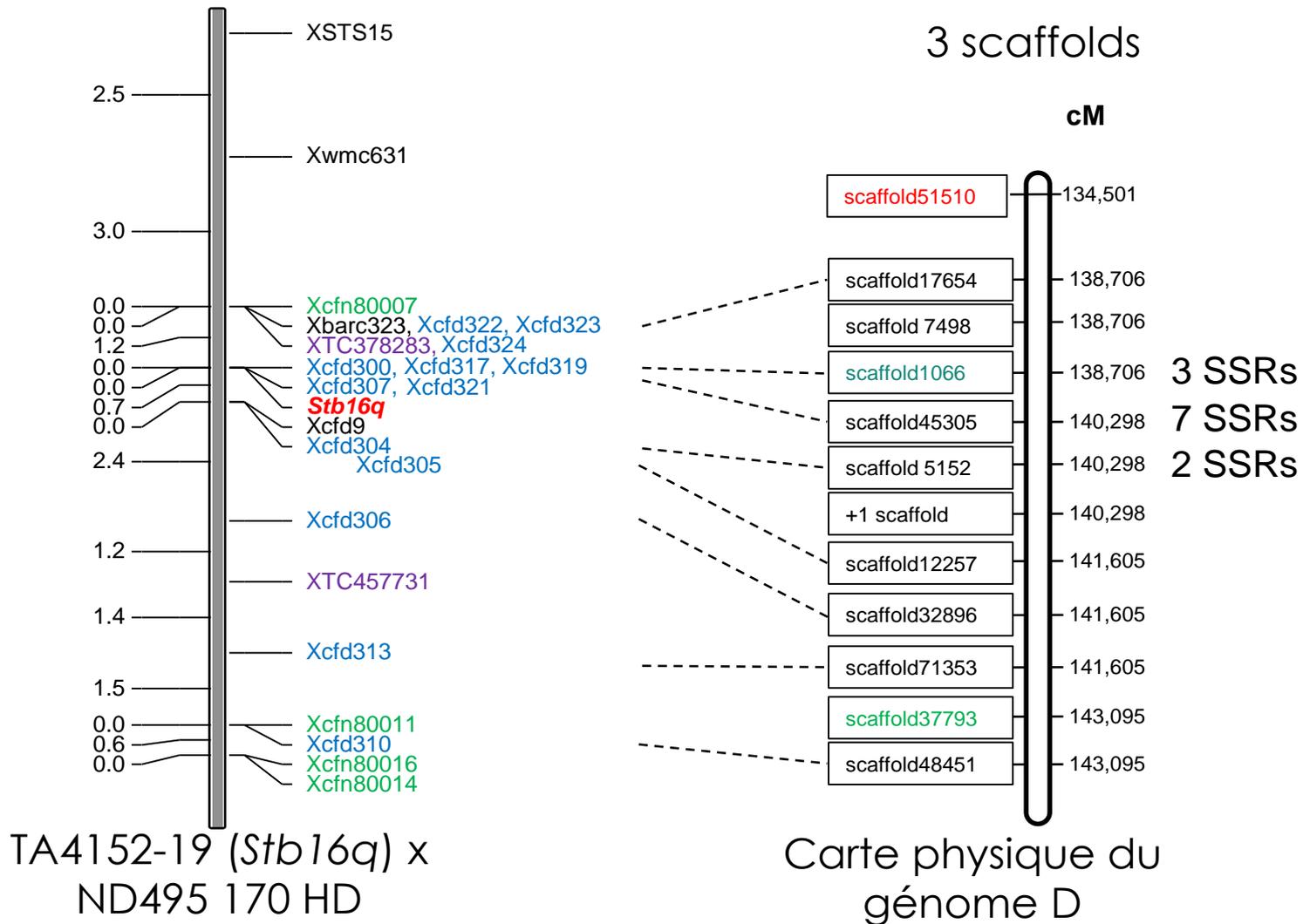


Intervalle de 5,2 cM



***Stb16q* explique de 41 to 71% de la variation phénotypique au stade plantule**

DENSIFICATION DU LOCUS *Stb16q* EN MARQUEURS

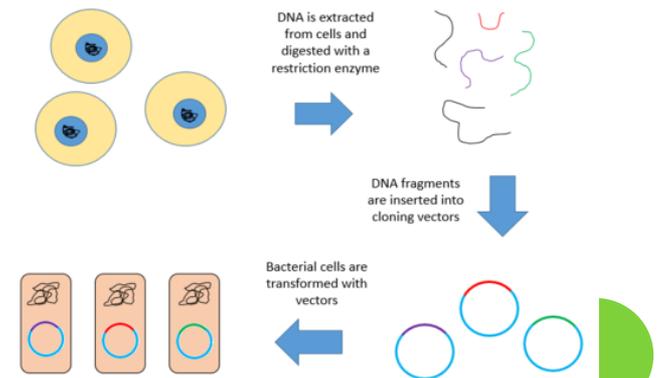


- *Stb16q* est cartographié dans un intervalle de 1,9 cM
- 5 marqueurs SSRs totalement liés au gène *Stb16q*



CARTOGRAPHIE FINE DU GÈNE *STB16Q*

- Population F2 issue du croisement entre le parent résistant TA4152-19 (*Stb16q*) et une variété sensible ND495
- 9100 F2 ont été phénotypées
- 2170 F2 ont été sélectionnées et génotypées avec les marqueurs *barc323* et *cf306*
- 20 à 100 plantes F3 / famille F2 d'intérêt ont été phénotypées (~6000 plantes F3)
- Construction d'une banque BAC à partir de l'accèsion TA4152-19

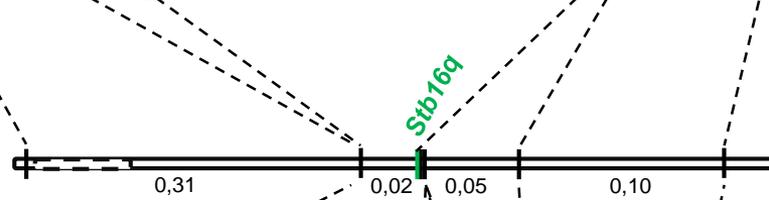


CARTOGRAPHIE FINE DU GÈNE *STB16Q*

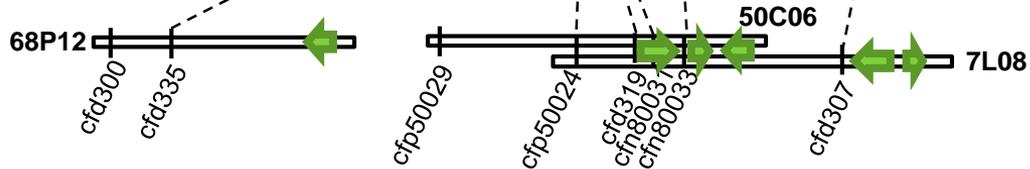
Carte physique
génomique D (Jia et
al. 2013)



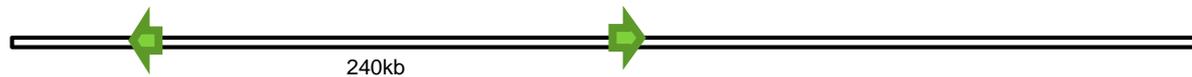
Carte génétique
(2170 F2 TA4152-19
x ND495)



Carte physique
TA4152-19

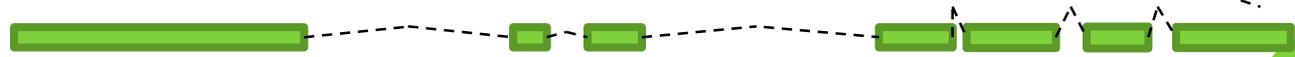


Séquence de
référence issue de
Chinese Spring



CRK6

Structure du gène *Crk6*



Deux gènes candidats situés dans l'intervalle *Stb16q*

CRK6 EST PRÉSENT CHEZ D'AUTRES BLÉS SYNTHÉTIQUES RÉSISTANTS A PLUSIEURS SOUCHES DE *Z. TRITICI*

- Ré-sequencage de *Crk6* (exon1, 852 bp) chez 96 blés synthétiques, 13 haplotypes
- 15 blés synthétiques ont le même haplotype que TA4152-19 (*Stb16q*)
- 21 blés synthétiques présentent seulement un SNP avec l'haplotype présent chez TA4152-19



Phénotypage avec 4 souches de *Z. tritici* virulentes

- Parmi les 15 blés ayant le même haplotype que TA4152-19, 13 sont résistants et 2 sont sensibles (hétérogénéité des graines, SNP présent dans les autres exons ?)



UNE MUTATION DANS *CRK6* CO-SÉGRÈGE AVEC UN PHÉNOTYPE DE SENSIBILITÉ

- Création d'une population de mutants EMS à partir de l'accession TA4152-19 (*Stb16q*)
- 310 familles M2 (20 plants) ont été phénotypées avec l'isolat IPO88018
- 9 familles identifiées comme sensibles
- Re-séquencage de *Crk6* chez ces 9 familles :
 - 5 familles seraient des contaminations (95% similarité)
 - Une famille (236, plantes 1 et 2) contiennent une mutation ponctuelle dans le 5^{ème} exon de *Crk6* (Ser to Phe). PROVEAN = **délétère**

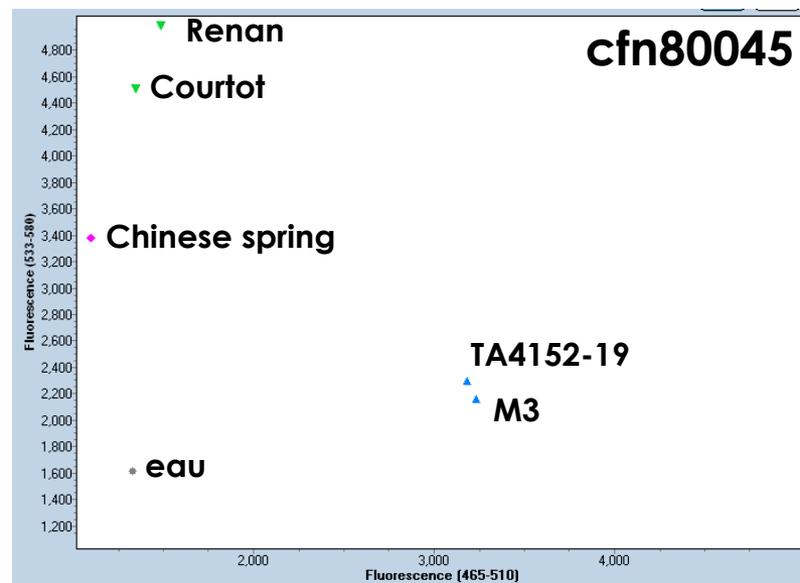
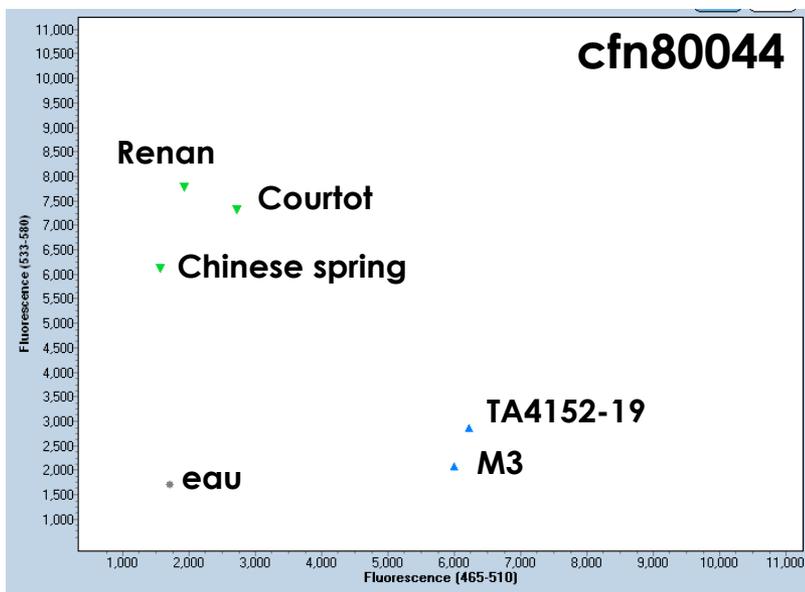
- 10 M2s de la famille 236 ont été phénotypées

	%Necrosis	%Pycnidia	Allele
EMS236S1	Susceptible	Susceptible	T
EMS236S2	Susceptible	Susceptible	T
EMS236A	60	40	H?
EMS236B	30	5	C
EMS236C	30	10	H?
EMS236R1	0	0	C
EMS236R2	0	0	C
EMS236R3	0	0	C
EMS236R4	0	0	C
Ta4152-19	0	0	C

COMMENT AVONS-NOUS DÉFINI DES MARQUEURS « PARFAITS » DE *STB16Q* ?

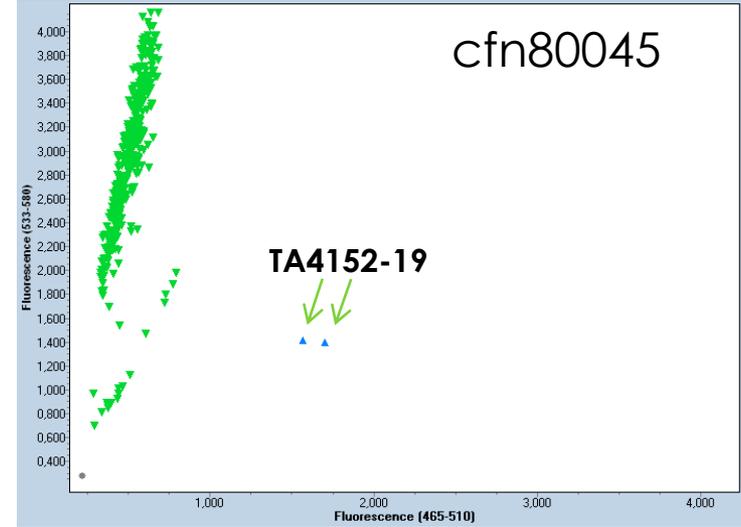
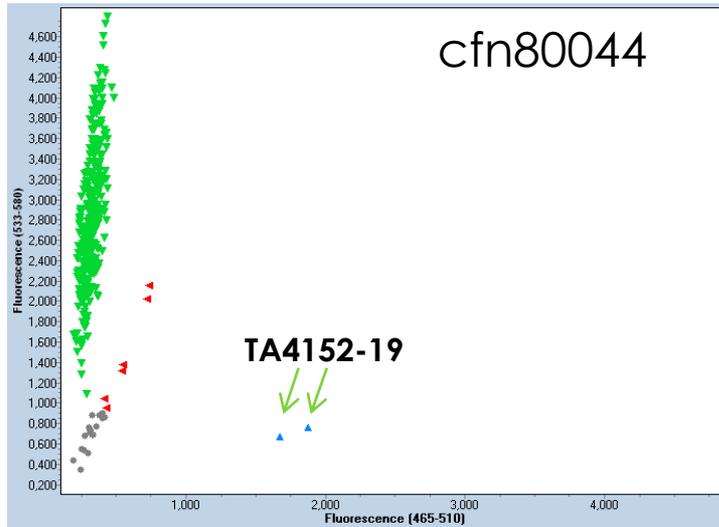
IDENTIFICATION DE MARQUEURS DIAGNOSTICS POUR *STB16Q*

- Re-séquençage de *Crk6* (exon1, 852 bp) chez 88 accessions de blé tendre (variétés de pays, blés cultivés et diversité mondiale, 48 accessions de la mini core collection)
- Trois haplotypes: TA4152-19, Land23 et Tous les autres
- Identification de marqueurs PCR et SNP diagnostic de *Crk6*

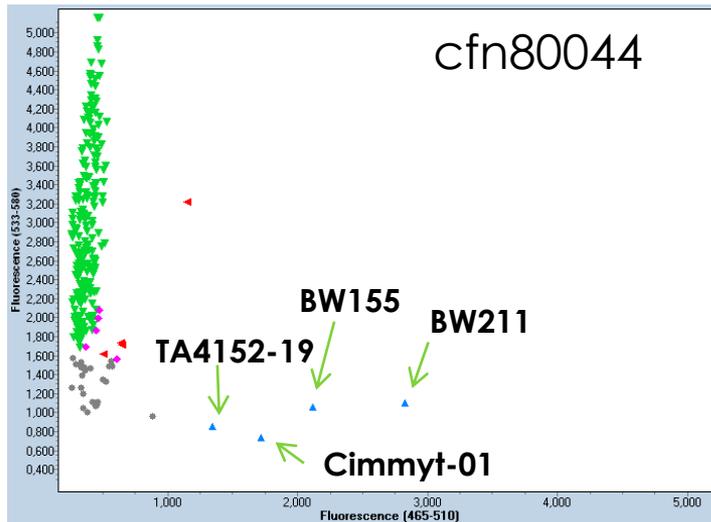


DISTRIBUTION DU GÈNE *STB16Q* AU SEIN DES BLÉS

372
individus
maximisant
la diversité
mondiale



Collection
Breadwheat
(220 variétés
dont 73% de
variétés
cultivées
Françaises)



- *Crk6* n'est pas retrouvé au sein de la diversité mondiale
- *Crk6* n'est présent que chez deux variétés de blé cultivés



QUE RESTE-T-IL À FAIRE ?

CONCLUSIONS / PERSPECTIVES

- Le gène *Stb16q* a été identifié et code pour un récepteur à activité kinase
- Une mutation dans ce gène entraîne une sensibilité à *Z. tritici*
- Deux marqueurs diagnostics du gène *Stb16q* ont été développés pour suivre ce gène facilement dans les programmes de sélection
- *Stb16q* est présent dans le matériel cultivé et a été introduit vraisemblablement par l'utilisation de blés synthétiques
- **Il reste à publier ces résultats**



QUELLES SONT LES APPLICATIONS ?

LES APPLICATIONS

○ Pour le sélectionneur

- Il va pouvoir utiliser les marqueurs de *Stb16q* pour :
 - identifier le gène *Stb16q* dans tout son matériel de sélection
 - cumuler *Stb16q* avec d'autres sources de résistance à la septoriose pour obtenir du matériel avec une résistance efficace et durable

○ Pour le chercheur

- Il va utiliser la séquence de *Stb16q* comme référence pour identifier rapidement d'autres séquences de gènes de résistance à la septoriose
→ Programme FSOV 2016 A RenKSeq



REMERCIEMENTS



Florence Cambon
Olivier Soudière
Pauline Lasserre Zuber
Thierry Langin

GENTYANE
CRB
VALFON
CPCC

Arvalis

Delphine Hourcade



Florimond-Desprez

Valerie Laurent
Olivier Robert



PRI

Mahmod Tabib Ghaffary
Lamia Aouini
Gert H.J. Kema



USDA

Justin Faris



INRA BIOGER

Marc-Henri Lebrun



INRA CNRGV

William Marande
Hélène Berges



RAGT

Laure Duchalais

