

N° du projet : N° SIREPA : 3042

Titre du projet : PoTStaR – Stabilité des résistances au mildiou de la pomme de terre et identification de marqueurs associés

COMPTE RENDU FINAL DU PROJET

Période du projet : 2017 - 2020

Date d'élaboration du compte rendu : 24 mars 2021

Organisme chef de file : INRAE UMR IGEPP

Nom et organisme du chef de projet : ESNAULT Florence, INRAE, UMR IGEPP

Site internet sur lequel les résultats du projet peuvent être consultés :

<https://www6.rennes.inrae.fr/igepp/Equipes-de-recherche/Biodiversite-et-Polyploidie/Projets/PoTStaR>

A – Format du PEI-AGRI sous format électronique (*fiche modèle jointe*)

B – Compte rendu technique détaillé (*à transmettre par courrier accompagné des annexes*)

Sommaire

I – Les modalités d'organisation.....	p 2
II – Les partenariats.....	p 5
III – Le déroulement du projet.....	p 6
WP1 : Phénotypage pour la résistance au mildiou de la collection de géniteurs.....	p 6
WP2 : Analyses de génétique d'association.....	p 17
WP3 : Analyses des données climatologiques et des souches de mildiou.....	p 28
Indicateurs de suivi et d'évaluation.....	p 44
Bibliographie.....	p 46
IV – Les modalités de valorisation du projet.....	p 47
V – Les perspectives.....	p 49
Annexes.....	p 52
Annexe 1 : Graphiques / Evaluation de la stabilité des résistances dans le temps... p	53
Annexe 2 : Niveau de résistance et stabilité des géniteurs.....	p 56
Annexe 3 : Manhattan plots / SNP significatifs en GWAS.....	p 59
Annexe 4 : Box plots / SNPs les plus significatifs.....	p 62
Annexe 5 : Heatmaps / Déséquilibre de liaison.....	p 65
Annexes 6 à 8 : Posters.....	p 67
Annexes 9 à 13 : Compte-rendus des comités de pilotage.....	p 70
Annexe 14 : Courrier de demande de prolongation.....	p 100

I – Les modalités d’organisation

Modalités de pilotage :

Le projet était structuré en 4 workpackages (3 workpackages scientifiques et 1 workpackage coordination), subdivisés en actions. Un pilote a été désigné pour chaque action. Une réunion de démarrage a été organisée au début du projet (10 mars 2017), puis des réunions de suivi annuelles auxquelles ont participé tous les partenaires. Ces réunions annuelles ont fait office de comités de pilotage. Ces réunions ont été organisées sur le site INRAE Le Rheu, lieu convenant mieux à tous les partenaires ou en visioconférence pour la réunion finale. Des réunions intermédiaires à contour plus restreint ont pu être organisées par les pilotes d’action pour le suivi de certaines actions.

- Conventions avec les partenaires recevant des financements du CASDAR

Une convention a été signée entre INRAE et AFB. Puis, des conventions de reversement ont été signées entre INRAE et chaque partenaire du projet.

- Accords de propriété intellectuelle :

Néant

- Accords spécifiques au projet (ex : relations avec des entreprises, des organisations professionnelles) :

Néant

- Comités de pilotage : dates, participants, teneur des discussions et accords obtenus sur les réorientations éventuelles du projet

Réunion de démarrage : 10 mars 2017

Participants : INRAE, SIPRE/Comité Nord, Bretagne Plants Innovation, Germicopa, Arvalis-Institut du Végétal, FN3PT (12 personnes en présentiel et 2 personnes en visio)
Concertation sur les actions à conduire et leur calendrier (Compte-rendu en Annexe 9).

Réunion d’étape 1 : 23 janvier 2018

Participants : INRAE, SIPRE/Comité Nord, Bretagne Plants Innovation, Germicopa, Arvalis-Institut du Végétal, FN3PT (15 personnes en présentiel et 2 personnes en visio)
Point d’avancement des actions et résultats obtenus.

Les résultats des expérimentations mises en place au cours de la 1^{ère} année du projet devaient nous permettre de choisir deux génotypes sur lesquels devait être conduite l’action 3.3 au cours de l’année 2 du projet. Nous avons décidé, au cours de cette réunion, de réaliser l’action 3.3 plutôt au cours de l’année 3 afin de bénéficier de 2 années d’expérimentation pour faire le choix des 2 génotypes. Nous avons donc sollicité une prolongation du projet de 6 mois sans demande de financement complémentaire. (Compte-rendu en Annexe 10 et Courrier de demande de prolongation en Annexe 14)

Réunion d’étape 2 : 17 janvier 2019

Participants : INRAE, SIPRE/Comité Nord, Bretagne Plants Innovation, Germicopa, Arvalis-Institut du Végétal, FN3PT, GEVES (19 personnes en présentiel et 4 personnes en visio)
Point d’avancement des actions et résultats obtenus.
Point administratif : quels interlocuteurs à l’AFB et au Ministère. Modalités du rapport intermédiaire. (Compte-rendu en Annexe 11).

Réunion d'étape 3 : 06 février 2020

Participants : INRAE, SIPRE/Comité Nord, Bretagne Plants Innovation, Germicopa, Grocep, Arvalis-Institut du Végétal, FN3PT (19 personnes en présentiel et 11 personnes en visio)
Point d'avancement des actions et résultats obtenus. (Compte-rendu en Annexe 12).

Réunion finale : 17 février 2021 (en visio)

Participants : INRAE, SIPRE/Comité Nord, Bretagne Plants Innovation, Germicopa, Grocep, Arvalis-Institut du Végétal, FN3PT/Inov3PT (31 personnes)
Bilan des résultats obtenus et Perspectives (Compte-rendu en Annexe 13).

- avenants obtenus : motifs et modalités

Prolongation du projet de 6 mois sans demande de financement complémentaire.

Motifs : Les résultats des expérimentations mises en place au cours de la 1^{ère} année du projet devaient nous permettre de choisir deux génotypes sur lesquels devait être conduite l'action 3.3 au cours de l'année 2 du projet. Nous avons réalisé qu'il était préférable de baser ce choix sur 2 années d'expérimentation plutôt que sur une seule. Ainsi, nous avons souhaité réaliser l'action 3.3 au cours de l'année 3 et non au cours de l'année 2. (Courrier de demande de prolongation en Annexe 14)

Ces motifs ont été validés par l'administration référente du projet.

L'avenant a pour but de modifier la durée du projet et de la Convention, modifier les modalités de versement de la subvention par l'AFB, mettre à jour le contenu de l'annexe technique de la Convention.

- autres modalités de pilotage (groupe de travail, comité technique...) :

Néant

- Calendrier comparatif prévu/réalisé et analyse des écarts

Voir tableau page 4

- Tableau de bord de suivi des moyens mis en œuvre

Voir bilan financier

- Les modalités d'évaluation

Voir le tableau des indicateurs de suivi et des indicateurs d'évaluation (Partie III, p 44-45)

▪ Calendrier comparatif prévu/réalisé et analyse des écarts

		2017				2018				2019				2020				Analyse des écarts
		T1	T2	T3	T4													
WP 1.1 et 1.2 Phénotypage	prévu																	
	réalisé																	
WP 1.3 Recensement et analyse des données antérieures de phénotypage mildiou	prévu																	
	réalisé																	L'analyse des essais 2017 et 2018 a pris plus de temps que prévu, laissant moins de temps pour traiter ces données. Mais ce décalage n'a pas impacté la réalisation des autres actions.
WP 2.1 Analyses de génétique d'association	prévu																	
	réalisé																	Une nouvelle analyse des données de génotypage, permettant d'améliorer l'assignation des génotypes, a été réalisée avant de commencer les analyses d'association. Ce qui a décalé le début des analyses GWAS. Toutefois elles ont pu être réalisées dans le pas de temps du projet, permettant l'obtention de nombreux résultats.
WP 2.2 Comparaison des zones identifiées	prévu																	
	réalisé																	Le décalage de l'action 2.1 s'est répercuté sur cette action. Toutefois elle a pu être réalisée dans le pas de temps du projet.
WP 3.1 Analyse des données climatologiques	prévu																	
	réalisé																	Le MFE a été réalisé finalement en 2018, faute de candidat en 2017. Le travail a été le même que prévu.
WP 3.2 Caractérisation des souches actuelles de mildiou et comparaison avec les populations antérieures	prévu																	
	réalisé																	
WP 3.3 Adaptation locale des souches de mildiou à des sources de résistance partielle	prévu																	
	réalisé																	Décalage d'un an de cette action pour bénéficier des résultats de 2 années d'expérimentation pour réaliser le choix des 2 génotypes sur lesquels est conduit cette action.
WP 4 Coordination	prévu																	
	réalisé																	Décalage de la dernière réunion d'étape du fait de la prolongation de 6 mois du projet.

II - Les partenariats :

- le rôle et l'apport de chaque partenaire

INRAE UMR IGEPP : porteur du projet

Coordination du projet

Fourniture du matériel végétal pour les 5 essais, 2 années

Suivi d'un essai phénotypage avec réalisation des notations mildiou, 2 années

Analyse statistique des données de phénotypage acquises sur les 5 sites et des données antérieures

Prélèvements des souches de mildiou sur 2 sites, 2 années

Génotypage et phénotypage des souches de mildiou prélevées sur les 5 sites

Analyse des données historiques de souches de mildiou

Mise en place d'un essai spécifique pour l'action 3.3

Analyse des données de génotypage (assignation des génotypes, structuration)

Analyses de génétique d'association

Compétences en génétique de la pomme de terre, en expérimentation et phénotypage pour la résistance au mildiou, en génotypage, en génétique d'association.

Compétences en pathologie, en épidémiologie, en génotypage et phénotypage de *Phytophthora infestans* (agent du mildiou).

INRAE UE RGCO : partenaire

Mise à disposition et préparation des terrains pour la multiplication du matériel végétal et l'accueil d'un essai, 2 années

Compétences en expérimentation au champ

ACVNPT : partenaire

Mise en place, suivi, réalisation des notations mildiou sur 3 sites, 2 années

Prélèvement des souches de mildiou sur 2 sites

Compétences en sélection variétale Pomme de terre

Arvalis-Institut du végétal : partenaire

Mise en place, suivi, réalisation des notations mildiou d'un essai, 2 années

Prélèvement des souches de mildiou sur l'essai suivi

Analyse des données climatologiques des 5 essais et des données historiques avec l'outil d'aide à la décision Mileos®

Paramétrage de Mileos®

Compétences en expérimentation Pomme de terre. Développement de l'outil d'aide à la décision Mileos®

FN3PT : partenaire

Participation à la conception du plan d'analyse des données de phénotypage et à l'interprétation des résultats

Participation à la conception du plan d'analyse de génétique d'association et à l'interprétation des résultats

Identification de marqueurs SNP associés à la résistance, portables dans différents fonds génétiques

Compétences en génétique de la pomme de terre, en expérimentation et phénotypage pour la résistance au mildiou, en génotypage, en sélection assistée par marqueurs, en génétique d'association et de liaison.

- bilan du fonctionnement des partenariats : aspects positifs, difficultés rencontrées et points à améliorer

Le réseau de partenaires a permis de mettre en place une expérimentation multi-sites, représentant différentes conditions d'infection. Les partenaires avaient des compétences complémentaires. Chaque partenaire a bien contribué aux actions prévues et a participé aux différents points d'étape organisés. Aucune difficulté particulière n'a été rencontrée dans le fonctionnement du partenariat.

III – Le déroulement du projet

- Action par action :
 - rappel des objectifs attendus figurant dans le dossier déposé et accepté par le jury
 - méthodes de travail utilisées
 - organisation mise en place, pour le chef de file et chaque réalisateur : travail réalisé, moyens humains, matériels et financiers mobilisés
 - étapes/actions et calendrier comparatif prévu/réalisé et analyse des écarts
 - résultats obtenus

WP1 : Phénotypage pour la résistance au mildiou de la collection de géniteurs

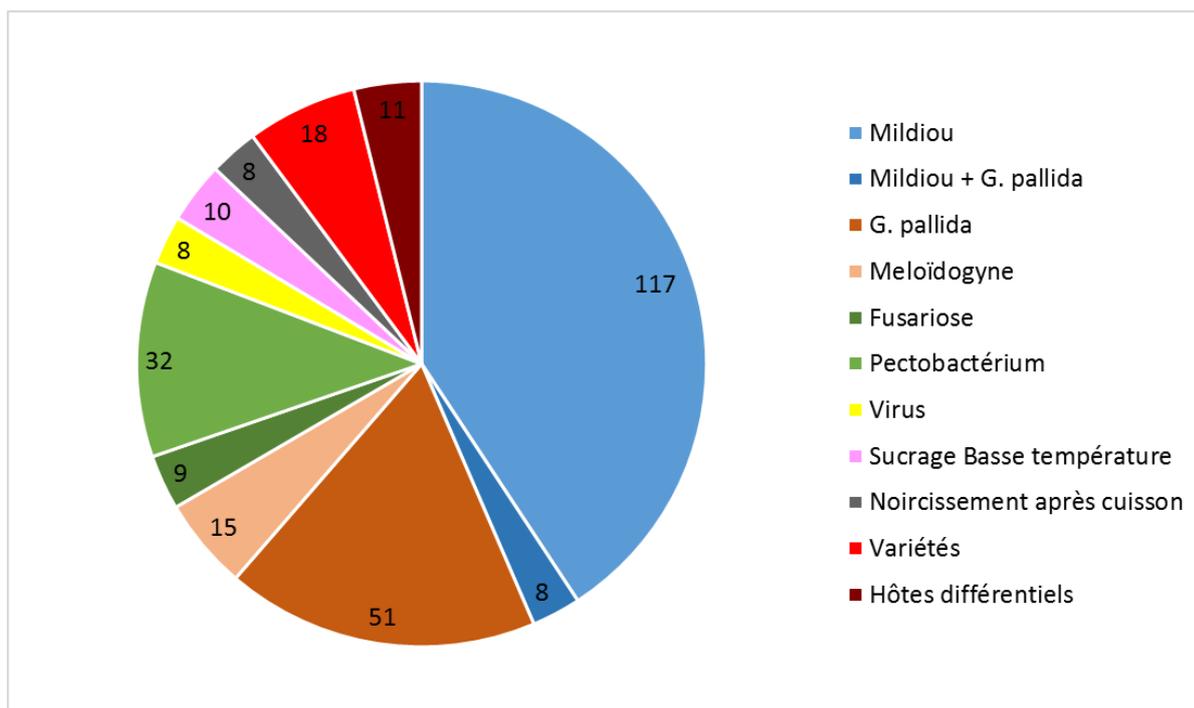
Actions 1.1 et 1.2 : Phénotypage multi-sites de la collection de géniteurs améliorés

Ces actions ont pour objectif d'évaluer le comportement de la collection de géniteurs INRAE vis-à-vis des souches actuelles de mildiou, et dans différents bassins de production présentant des conditions climatiques contrastées. Elles permettent ainsi d'identifier des géniteurs qui présentent une résistance stable dans l'espace.

Un panel de 258 géniteurs représentatifs de la diversité génétique exploitée dans les programmes de recherche INRAE Ploudaniel et maintenus au sein du Centre de Ressources Biologiques (CRB) BrACySol a été sélectionné. Ces géniteurs sont améliorés pour des caractères de résistance à différents bioagresseurs ou pour des caractères de qualité (Figure 1) et sont utilisés par les sélectionneurs français dans leurs programmes de création variétale.

D'autre part, 16 variétés résistantes à différents bioagresseurs, 11 hôtes différentiels et 2 variétés témoins de sensibilité ont également été intégrés dans les expérimentations.

Figure 1 : Répartition des géniteurs selon le programme d'origine



Les expérimentations ont été conduites sur les sites suivants (Figure 2) : à Ploudaniel (Finistère Nord) par INRAE et ACVNPT/Bretagne Plants (2 essais), à Villers-Saint-Christophe (Aisne) par Arvalis-Institut du végétal, à Auchy-les-Mines (Pas de Calais) par ACVNPT /Comité Nord et à Birac-sur-Trec (Lot et Garonne) par ACVNPT/Germicopa. Elles ont été conduites sur deux années consécutives 2017 et 2018.

Figure 2 : Répartition territoriale des 5 lieux d'essai



Le plan d'expérimentation est un dispositif à deux répétitions avec des rangs infecteurs (variété Bintje, sensible) pour favoriser l'épidémie. Les parcelles élémentaires comprennent 2 plantes. Un plan d'expérimentation détaillé a été envoyé à chaque partenaire par INRAE.

Le protocole expérimental prévoyait que la contamination des essais soit naturelle. Toutefois, les conditions météorologiques de 2017 n'ont pas été favorables à l'épidémie dans tous les essais. Ainsi, en 2017, les essais conduits à Villers-Saint-Christophe, Auchy-les-Mines et Birac-sur-Trec ont été inoculés artificiellement avec des souches présentes localement au cours de la saison précédente.

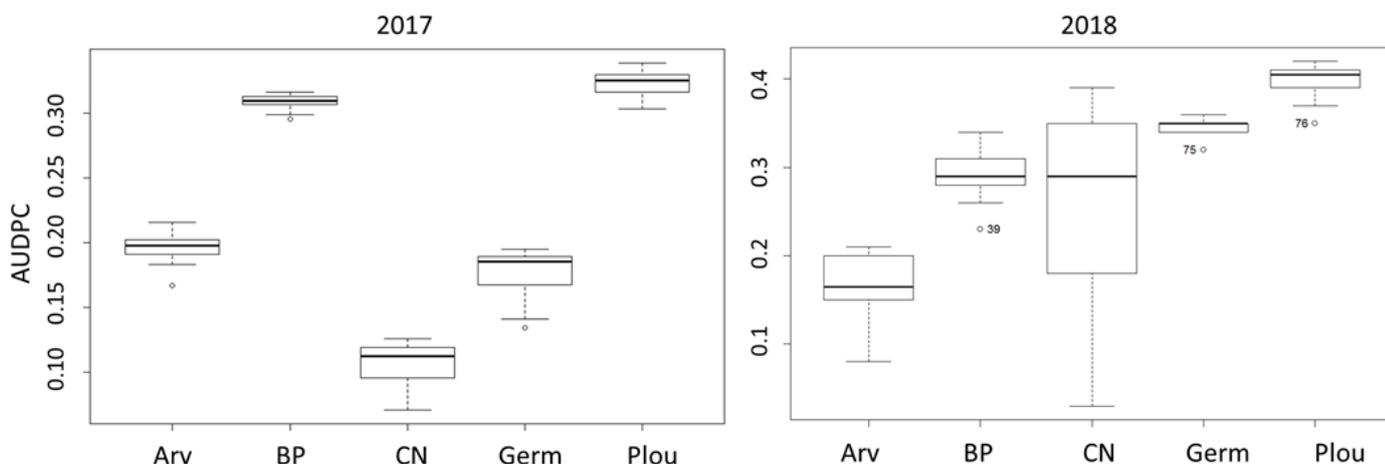
Le protocole expérimental prévoyait également une couverture fongicide partielle de l'essai conduit à Ploudaniel par ACVNPT/Bretagne Plants afin d'évaluer les génotypes dans des conditions de pression d'inoculum plus faible. Ainsi, deux applications de fongicide ont été appliquées sur cet essai en 2017 et en 2018. Aucun traitement fongicide n'a été appliqué sur les autres essais.

Au cours des essais, le pourcentage de destruction du feuillage a été noté chaque semaine à partir de l'apparition des premiers symptômes, selon une échelle visuelle (Dowley *et al.*, 1999), sur tous les génotypes, y compris les infecteurs. Une courbe de progression de la maladie (DPC) est ensuite tracée pour chaque génotype. A partir de ces notations, trois variables permettant de déduire les niveaux, mais aussi les types de résistance présents dans les génotypes évalués, ont été calculées (Andrivon *et al.*, 2006) par INRAE : AUDPCr (aire relative sous la courbe de maladie, qui augmente avec le niveau de sensibilité du clone évalué), Δt (décalage de la date d'apparition des symptômes par rapport à un génotype sensible de référence ; indicatif de la présence de gènes de résistance spécifique) et Δa (variation de la pente de la courbe de progression de maladie après transformation logistique ; indicatif du niveau de résistance partielle). L'AUDPCr est un bon estimateur du niveau de résistance au mildiou d'un individu et est comprise entre 0 et 1 ; plus sa valeur est proche de 0, plus le génotype montre de la résistance à la maladie, et inversement plus cette valeur tend vers 1 et plus le génotype est sensible. L'essai conduit sur le site de Birac en 2018 a fait l'objet du stage de DUT d'Arthur Jarjanette : 'Etude de la résistance génétique de variétés de pommes de terre face au mildiou (*Phytophthora infestans*)' (IUT de Périgueux, Génie Biologique, Option Agronomie).

Des analyses statistiques à l'aide du logiciel R ont ensuite été réalisées sur ces 3 variables par INRAE, avec la contribution de FN3PT à la conception du plan d'analyse et à l'interprétation des résultats. Les données 2017 ont été analysées dans le cadre du stage de Master 1 de Marion Le Bot en 2018 : 'Evaluation multi-sites d'une collection de géniteurs améliorés de pomme de terre pour la résistance au mildiou' (Université d'Angers, Mention Biologie Végétale). Les résultats ont été présentés sous forme de poster au congrès EAPR en Allemagne en 2018 : Esnault F, Le Bot M, Pellé R, Kermarrec MP, Abiven JM, Aurousseau F, Chatot C, Gravouelle JM, Dubreuil H, Marhadour S, Chauvin JE (2018) Multi-site evaluation for resistance to late blight of a collection of INRA improved breeding lines. 19th joint Meeting EAPR Breeding and Varietal Assessment and EUCARPIA Section Potatoes, Rostock-Warnemünde, Germany, December 3rd – 6th.

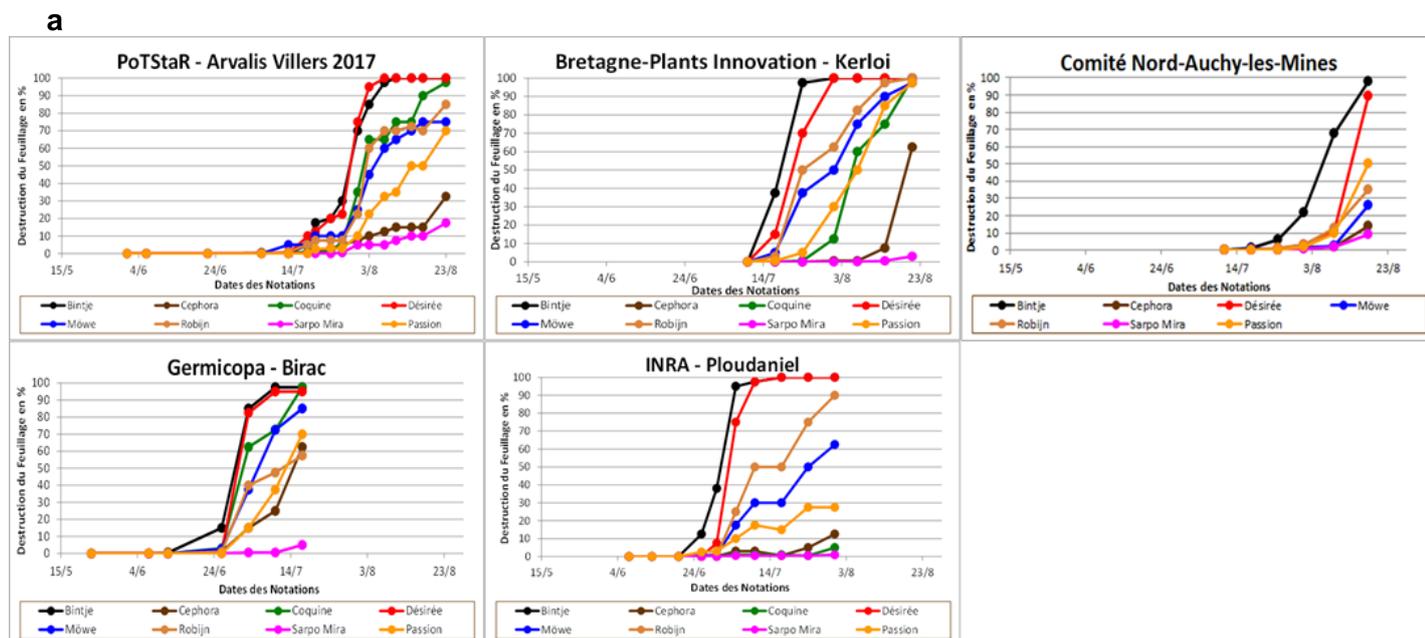
Des analyses de variance ont été réalisées sur les infecteurs pour chacun des essais afin d'évaluer l'homogénéité de l'infection. Les résultats ont montré qu'il n'y avait globalement pas de forte hétérogénéité (sauf dans le cas de l'essai conduit en 2018 à Auchy-les-Mines) ou que le dispositif expérimental utilisé permettait de bien la prendre en compte (Figure 3).

Figure 3 : Analyse des infecteurs. Dispersion des valeurs d'AUDPCr des infecteurs en 2017 et 2018 dans les 5 lieux d'évaluation (Arv = Villers-Saint-Christophe ; BP = Ploudaniel-BPI ; CN = Auchy-les-Mines ; Germ = Birac ; Plou = Ploudaniel-INRAE).

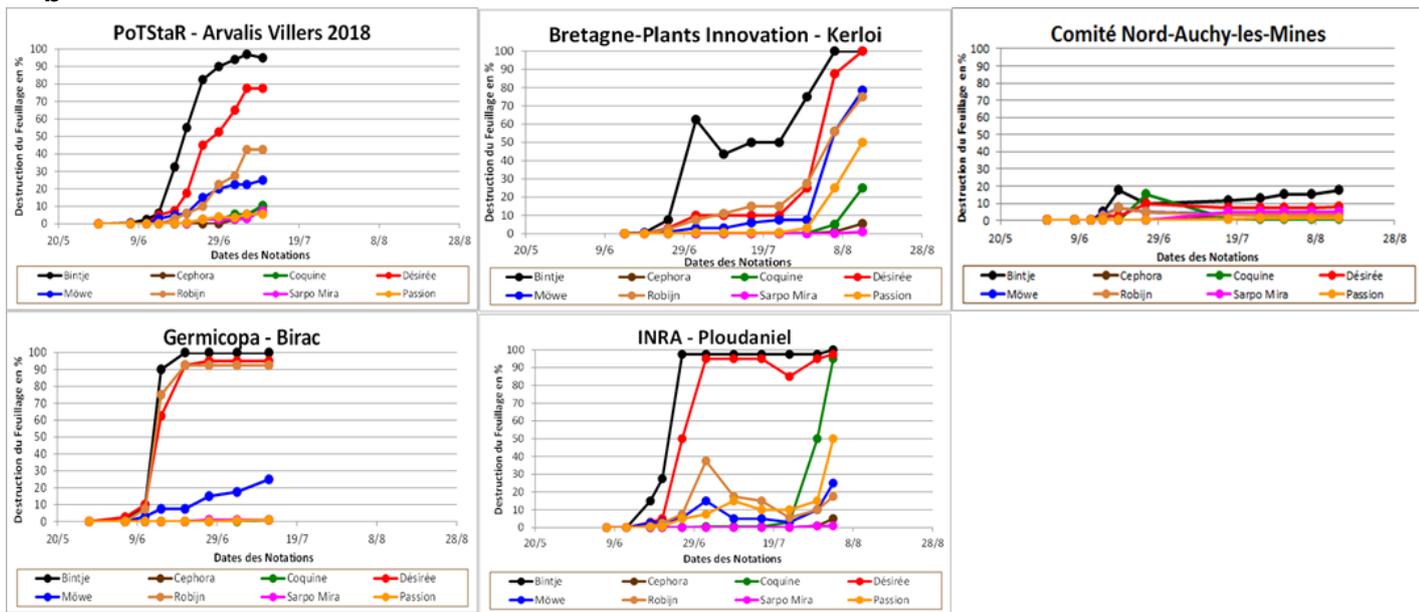


Des analyses (analyse de variance, analyse factorielle multiple, classification) ont ensuite été réalisées sur les variétés témoins pour chacun des essais afin de comparer leur comportement entre les essais. Les résultats ont montré que les variétés se comportent globalement comme attendu dans chacun des essais et que leur classement est respecté (Figure 4). D'autre part, les 3 variables étudiées sont bien corrélées entre les essais. Ainsi tous les essais ont été validés. Toutefois, l'essai conduit en 2018 à Auchy-les-Mines est peu discriminant du fait de conditions météorologiques très peu favorables au mildiou. Il a alors été décidé de ne pas intégrer les données de cet essai dans les analyses suivantes.

Figure 4 : Analyse des témoins. Courbes de progression du mildiou en 2017 (a) et en 2018 (b), dans les 5 lieux d'évaluation (Villers-Saint-Christophe (02), Ploudaniel- BPI (29) (Kerloi), Auchy-les-Mines (62), Birac (47) et Ploudaniel-INRAE (29)) chez quelques témoins : Bintje (noir), Cephora (marron foncé), Coquine (vert), Désirée (rouge), Möwe (bleu), Robijn (marron clair), Sarpo Mira (rose), Passion (orange).

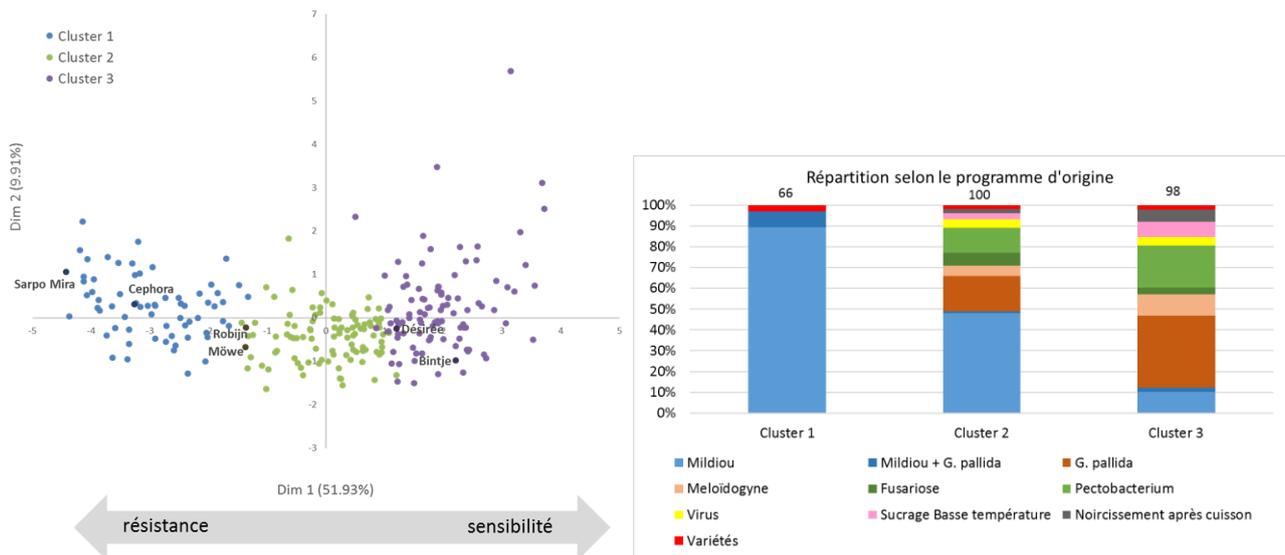


b



Les analyses ont ensuite été réalisées pour chacune des années sur l'ensemble des géniteurs : analyse factorielle multiple et classification (Figure 5). Une classification en 3 clusters a été obtenue, selon le niveau de résistance des géniteurs.

Figure 5 : Analyse des géniteurs (données 2017). Classification des géniteurs en fonction de leur résistance/sensibilité, et répartition dans les clusters en fonction de leur programme de sélection d'origine.



Ainsi, le cluster 1 comprend les géniteurs les plus résistants, qui proviennent exclusivement du programme Résistance au Mildiou. Le cluster 2 comprend les géniteurs moyennement résistants qui sont issus pour moitié du programme Mildiou, mais également d'autres programmes, permettant ainsi d'identifier de nouvelles sources de résistance. Enfin, le cluster 3 qui comprend

les géniteurs sensibles, comprend quelques géniteurs issus du programme Mildiou, indiquant que la résistance de ces géniteurs n'est plus efficace.

Action 1.3 : Analyse de données de phénotypage acquises antérieurement

Cette action a pour objectif d'identifier, au sein de la collection de géniteurs INRAE, ceux qui présentent une résistance stable dans le temps.

Dans le panel des 258 géniteurs du projet, 122 provenaient des programmes de résistance au mildiou conduits par INRAE-Ploudaniel de 1989 à 2007 (6 de ces géniteurs cumulent de la résistance au mildiou avec de la résistance au nématode *Globodera pallida*).

Ces géniteurs sont issus de différents programmes de croisement exploitant des origines génétiques différentes dans des objectifs différents. Ils peuvent être regroupés en 5 groupes :

- MLD RNS : Géniteurs n'ayant pas de gènes R dans leur généalogie
- MLD Ecopapa : Géniteurs ne possédant pas, a priori, de gènes R
- MLD GR : Géniteurs issus de croisements avec des géniteurs possédant un ou des gènes R identifiés
- MLD PopA1 : Géniteurs issus d'une première série de croisements avec des individus appartenant à la Population A du CIP (Centre International de la Pomme de Terre, Pérou)
- MLD PopA2 : Géniteurs issus de croisements à partir d'individus appartenant au groupe MLD PopA1 (soit des résistants entre eux, soit un résistant avec un individu sensible, y compris avec des résistants au nématode *Globodera pallida*).

Ces 122 géniteurs ont chacun été évalués vis-à-vis de la résistance au mildiou sur le site INRAE-Ploudaniel pendant 2 années consécutives (A_Identification et A_confirmation) durant la période 1992/2011 (Tableau 1), puis toujours sur le site de Ploudaniel, en 2017 et 2018 dans le cadre de ce projet (Action 1.1). Ces essais ont été menés dans des conditions de contamination naturelle sans application de fongicides ; un maillage très serré avec la variété Bintje assurait l'homogénéité de la contamination par la maladie.

Tableau 1 : Effectif et répartition des géniteurs en fonction de l'année d'évaluation vis-à-vis du mildiou, et du type de programme de croisement.

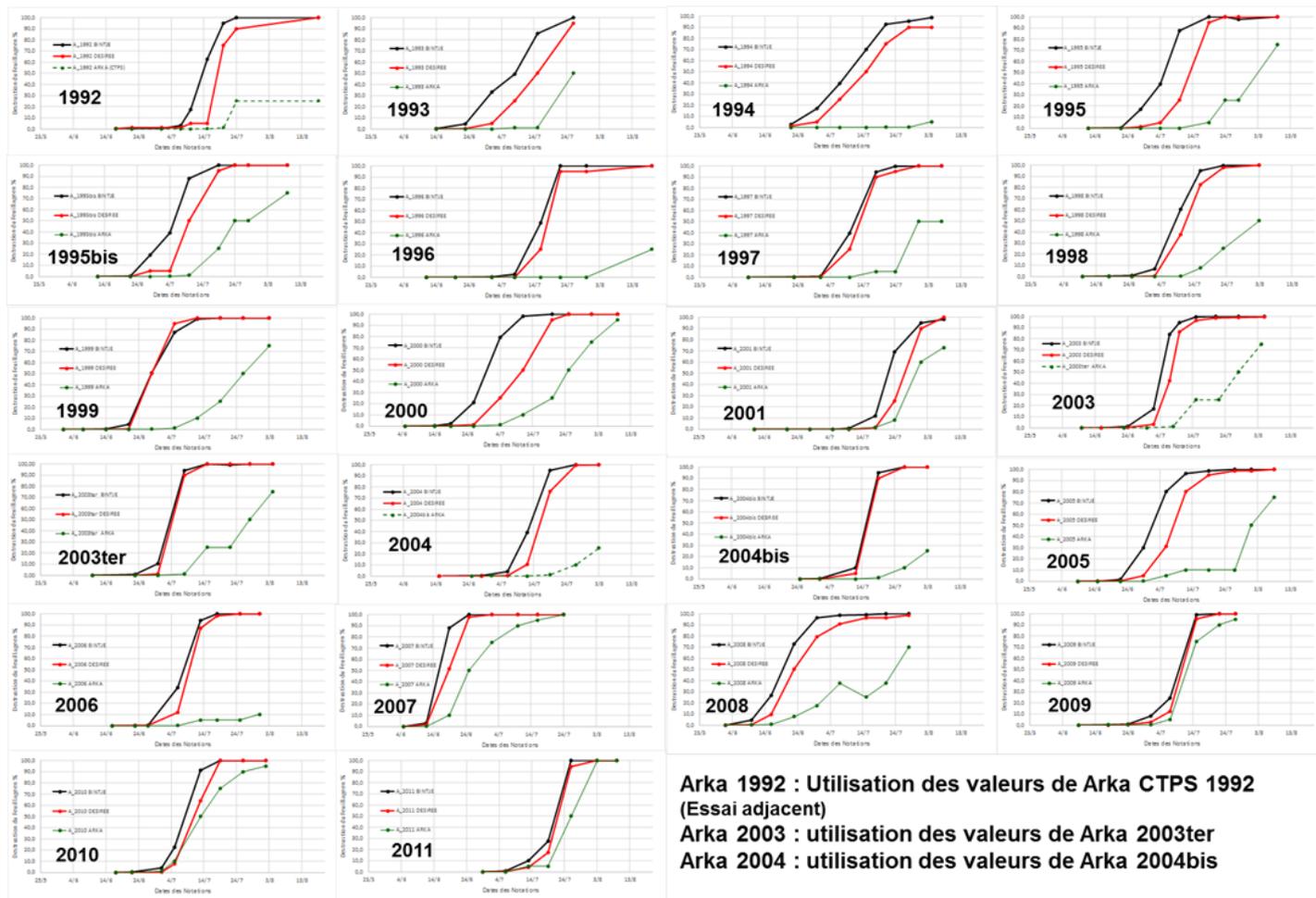
	Années de la Première évaluation de la résistance																				Groupes de résistance					
	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	MLD RNS	MLD Ecopapa	MLD GR	MLD PopA1	MLD PopA2	
89T	11	11																						11		
92T			10	10																				10		
93T			5	5																						
95T						13	13																	13		
97T								12	12																	
98T									13	13															12	
99T										3															13	
00T											7	4											4		2	
01T											6	6											4		2	
01T												9	9													
03T															7	7							7			
03P																3	3						3			
04T																15	15								4	
05T																	7	10							10	
07T																				1	1				1	
																							18		44	
																							RNS		78	
																							29	15	78	
																									Total :	122

La première étape a consisté à rassembler les données historiques de ces géniteurs dans des fichiers homogènes, à calculer ou recalculer au besoin les variables AUDPCr (Area Under Disease Progress Curve relative), Δt et Δa à partir des données initiales de destruction du feuillage, en particulier pour les plus anciennes séries de géniteurs. Ce travail a été réalisé dans le cadre du stage de Morgan Jégou en 2017 : 'Suivi de la résistance d'anciens génotypes de pomme de terre

résistants au Mildiou et évaluation de la résistance de génotypes non sélectionnés pour la résistance à ce pathogène' (DUT Génie Biologique/option Agronomie, IUT de Brest).

Puis, les données historiques ont été compilées dans un même fichier avec les données des expérimentations réalisées à Ploudaniel en 2017 et 2018. Afin de prendre en compte la variabilité inter-annuelle, les variables ont été corrigées en tenant compte de la réponse de 3 témoins (Bintje, Désirée et Arka) qui étaient présents dans la grande majorité des essais (Figure 6). Il manquait le témoin Arka pour les années 1992, 2003 et 2004, pour lesquelles il a été décidé d'utiliser les données de ce témoin présent dans des essais concomitants aux expérimentations de ces années-là.

Figure 6 : Courbes de progression de la maladie au cours des 22 années/essais de la période 1992/2011 chez les 3 témoins : Bintje (noir), Désirée (rouge) et Arka(vert).



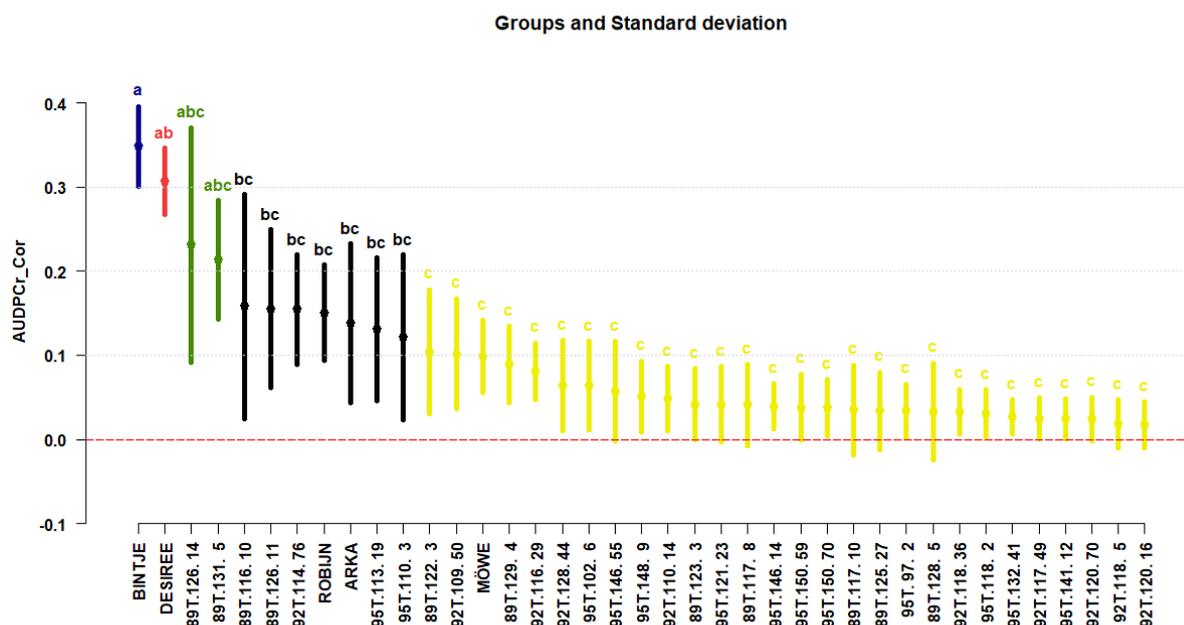
Les corrections ont été calculées en utilisant un dispositif expérimental « Augmented design » proposé par Petersen (1985) : les n années d'expérimentation constituent les n blocs du dispositif expérimental, dans lesquels sont présents les 3 témoins et les génotypes évalués l'année n. A l'issue des corrections, les valeurs négatives d'AUDPCr ont été arbitrairement ramenées à 0 (pas de symptôme de mildiou).

L'analyse de la stabilité dans le temps a été réalisée en comparant les AUDPCr corrigées calculées à partir des évaluations antérieures (= valeurs historiques) avec celles obtenues lors de la ré-évaluation de ces génotypes en 2017 et 2018. Les analyses ont été réalisées séparément pour

chacun des 5 groupes de géniteurs. Ce travail a été réalisé dans le cadre du stage de Corentin Picard en 2019 : 'Etude de la durabilité dans le temps de la résistance de la pomme de terre à *Phytophthora infestans*' (DUT Génie Biologique/option Agronomie, IUT de Brest).

Dans un premier temps, des analyses de variance ont été faites pour chacun des groupes de géniteurs à partir des valeurs AUDPCr des 4 années d'évaluation (A_identification, A_confirmation, A_2017 et A_2018) suivi d'un test de comparaison de moyenne SNK (Student-Newman-Keuls) (Figure 7).

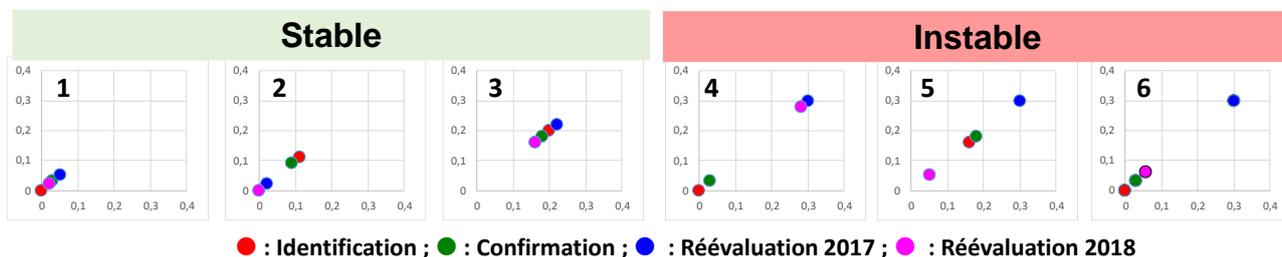
Figure 7 : Comparaison de moyenne (Test SNK) des géniteurs du groupe MLD_PopA1



Ces analyses nous renseignent sur le niveau moyen de résistance avec une représentation de la variation. Cependant cela ne nous permet pas de caractériser cette variation. Ainsi, dans un deuxième temps, pour chaque géniteur, un graphique XY a été tracé en utilisant les valeurs AUDPCr de chaque année d'évaluation. Les points représentant ces 4 années d'évaluation sont positionnés sur la bissectrice du graphique (la même valeur AUDPCr est utilisée en abscisse et en ordonnée). La position des points permet de caractériser la stabilité dans le temps de la résistance de chaque géniteur. Différents cas sont observés (Figure 8) :

- les points sont regroupés, quel que soit le niveau de résistance = Stabilité (Cas 1 et 3)
- les valeurs AUDPCr des essais de ré-évaluation sont inférieures à celles des essais antérieurs = Stabilité (Cas 2)
- les valeurs AUDPCr des essais de ré-évaluation sont largement supérieures à celles des essais antérieurs = Instabilité (Cas 4) ;
- les valeurs AUDPCr des essais de ré-évaluation présentent une forte variabilité par rapport à celles des essais antérieurs = Instabilité (Cas 5 et 6).

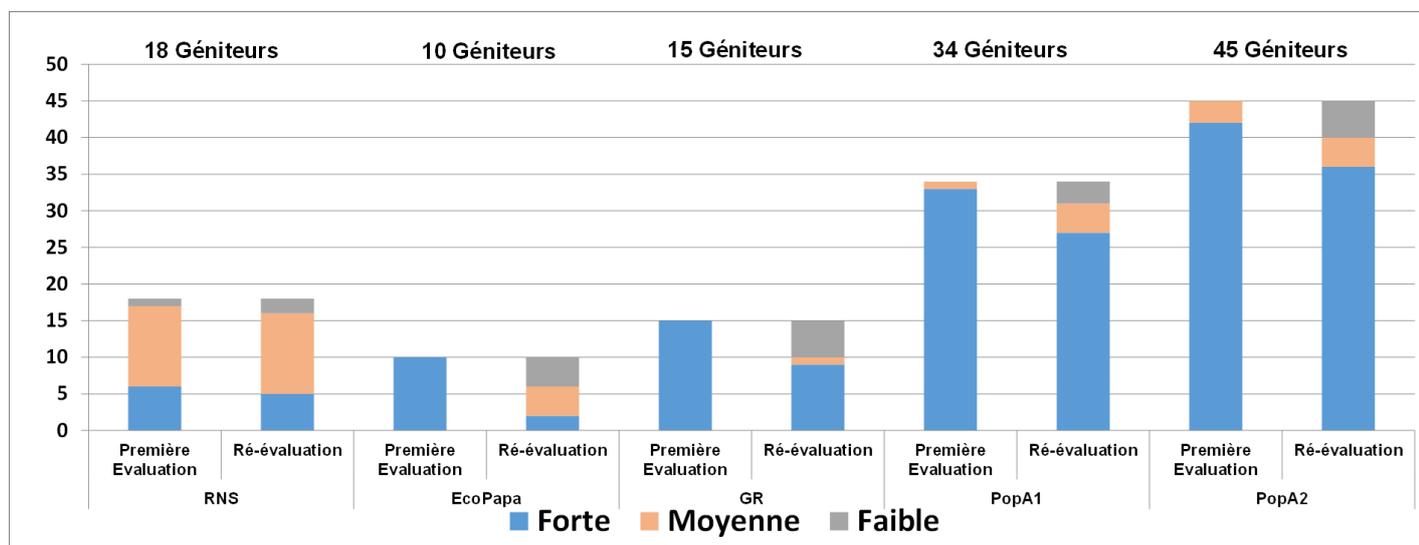
Figure 8 : Exemples de graphiques XY tracés pour chaque géniteur avec les valeurs AUDPCr des 4 années d'évaluation (Identification, Confirmation, 2017 et 2018). Cas de 3 géniteurs présentant une résistance stable et de 3 géniteurs présentant une résistance instable.



Le niveau de stabilité dans le temps du comportement de chaque géniteur vis-à-vis du mildiou a été évalué. Les graphiques de chacun des géniteurs sont présentés en Annexe 1.

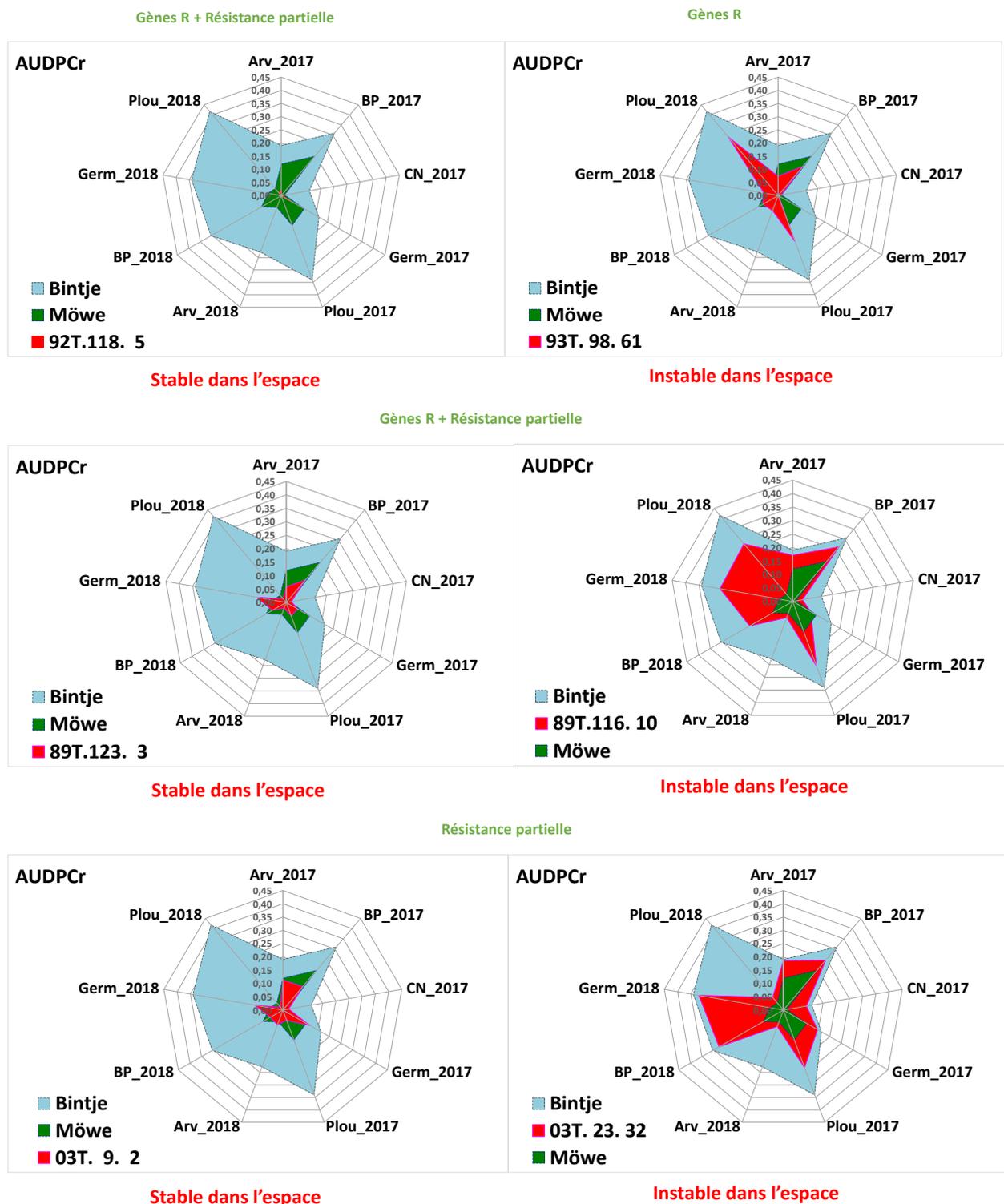
Parallèlement, leur niveau de résistance a également été estimé à chacune des époques d'évaluation. Trois classes de résistance ont été définies: Forte, Moyenne et Faible. Leur répartition pour chaque groupe de géniteurs est représentée Figure 9.

Figure 9 : Répartition des géniteurs dans les classes de résistance pour chaque groupe de géniteurs aux 2 époques d'évaluation



D'autre part, le niveau de stabilité dans l'espace du comportement de chaque géniteur a également été évalué en analysant les valeurs moyennes des AUDPCr obtenues dans chaque essai (5 lieux d'expérimentation en 2017 et des 4 lieux en 2018) à l'aide de graphiques en radar (Figure 10). Le comportement de chaque géniteur a été comparé à celui des témoins Bintje (variété sensible) et Möwe (résistance partielle élevée). Ainsi, les géniteurs 92T.118. 5, 89T.123. 3 et 03T. 9. 2 montrent en 2017 et 2018 un niveau de résistance toujours satisfaisant et ce quel que soit le lieu d'essai, alors que 93T. 98. 61, 89T.116. 10 et 03T. 23. 32 montrent quant à eux des variations de réponses importantes en fonction des lieux d'expérimentation.

Figure 10 : Graphiques en radar illustrant la stabilité dans l'espace de quelques géniteurs, en comparaison des témoins Bintje et Möwe. Valeur moyenne d'AUDPCr dans 5 lieux d'essai en 2017 et 4 lieux d'essai en 2018



Ainsi, chaque géniteur a été caractérisé pour son niveau de résistance dans le temps et pour la stabilité de cette résistance dans le temps et dans l'espace. Les effectifs dans chaque catégorie sont présentés dans le tableau 2.

Tableau 2 : Répartition des géniteurs dans les classes de résistance en fonction du temps et effectifs de géniteurs stables ou instables selon le type de stabilité pour chaque groupe de géniteurs.

Prog	Evolution du niveau de résistance dans le temps (site de Ploudaniel)						Stabilité de la résistance						n
	Historique			Actuelle			Dans le temps (site de Ploudaniel)		Dans l'espace (5 sites 2017 - 4 sites 2018)		Stabilité dans le temps + l'espace		
	Forte	Moyenne	Faible	Forte	Moyenne	Faible	Stable	Instable	Stable	Instable	Stable	Instable	
MLD RNS	6	11	1	5	11	2	7	11	2	16	2	16	18
MLD EcoPapa	10	0	0	2	4	4	2	8	1	9	1	9	10
MLD GR	15	0	0	9	1	5	9	6	7	8	7	8	15
MLD PopA1	33	1	0	27	4	3	27	7	22	12	22	12	34
MLD PopA2	42	3	0	36	4	5	35	10	28	17	28	17	45
Totaux	106	15	1	79	24	19	80	42	60	62	60	62	122

Le niveau de résistance et le niveau de stabilité de cette résistance sont présentés pour chaque géniteur en Annexe 2.

Conclusions et Perspectives

Malgré des conditions climatologiques pas toujours favorables au développement des épidémies, les expérimentations mises en place dans ce réseau d'essais ont permis d'acquérir des données de phénotypage d'un grand intérêt. Ces données ont été utilisées pour évaluer la stabilité dans le temps et dans l'espace de la résistance des géniteurs inclus dans l'étude et pour réaliser les analyses de génétique d'association du WP2.

Ce projet a permis de confirmer l'intérêt du site de Ploudaniel pour évaluer les variétés candidates à l'inscription au catalogue du fait de son climat favorable au développement des épidémies et de la présence d'une diversité naturelle de souches de mildiou. Le classement d'une gamme de variétés connues étant respecté entre les différents sites, l'évaluation réalisée sur le site de Ploudaniel serait donc bien représentative du comportement des variétés.

Les analyses réalisées dans ce Workpackage ont montré que des géniteurs présentant une résistance stable dans le temps (sur le site de Ploudaniel) n'auront pas forcément une résistance stable dans l'espace. L'absence de stabilité dans le temps des résistances correspond à une érosion de ces facteurs de résistance face à des populations de mildiou qui évoluent. L'analyse de la stabilité dans l'espace conduit à évaluer les résistances face à un inoculum naturel de composition différente entre les sites expérimentaux et dans des conditions différentes d'expression de la maladie résultant de la climatologie des régions. Ce ne sont donc pas les mêmes mécanismes en jeu.

D'autre part, les données de phénotypage acquises sur les essais conduits à Ploudaniel par ACVNPT/Bretagne Plants vont être analysées afin d'étudier plus précisément le comportement des géniteurs en conditions de couverture fongicide partielle : L'expression de certaines résistances partielles est-elle plus forte dans ces conditions ? Ces conditions permettent-elles l'expression de résistances partielles qui seraient masquées en conditions d'épidémie plus forte ? Enfin, les données de phénotypage acquises dans ce projet ainsi que les données de phénotypage historiques acquises sur le site de Ploudaniel constituent un jeu de données qui a commencé à être exploité pour réaliser des études de modélisation des épidémies (voir Perspectives).

WP2 : Analyses de génétique d'association

Action 2.1 : Identification de marqueurs associés à une résistance stable au mildiou

Cette action, réalisée par INRAE, a pour objectifs d'identifier les régions génomiques impliquées dans une résistance stable (dans l'espace) au mildiou, et d'identifier des marqueurs moléculaires associés à cette résistance.

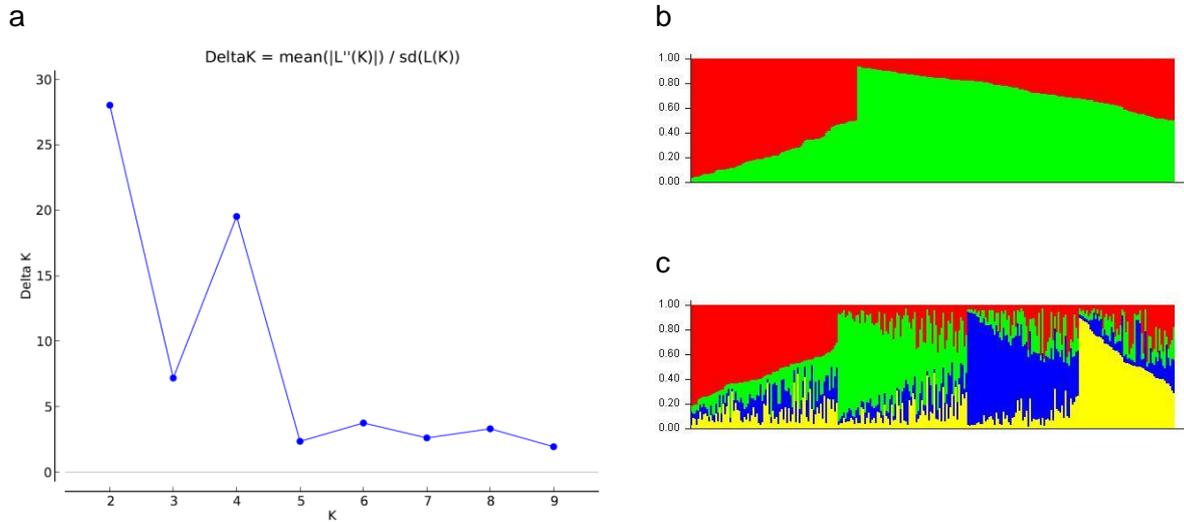
Le panel de géniteurs améliorés avait été génotypé avec la puce SNP SolCAP 8K dans le cadre du projet SelGen LDPot. Les données ont été analysées en utilisant le cluster file développé par Douches et al. (http://solcap.msu.edu/potato_infinium.shtml) et le package fitTetra de R (Voorrips et al., 2011). Ainsi, l'assignation des génotypes aux 5 classes génotypiques (AAAA, AAAB, AABB, ABBB, BBBB) a pu être réalisée pour 7812 SNP. Les données ont ensuite été filtrées sur la base des critères suivants : répétabilité entre les témoins répliqués, concordance de l'assignation entre les 2 méthodes d'analyse, cartographie à un seul locus (Sharma et al., 2013), moins de 20% de données manquantes. Un deuxième filtre a été appliqué pour les analyses de génétique d'association : fréquence de l'allèle mineur supérieure à 0.05 et fréquence des classes génotypiques inférieure à 0.95. Ainsi, **les analyses d'association ont été réalisées à partir de 4504 SNP.**

Cette action a fait l'objet du stage de Master 2 de Nadège Le Garrec intitulé 'Identification de marqueurs associés à une résistance stable au mildiou de la pomme de terre par génétique d'association' (Master Biologie, Agrosiences, Agrocampus Ouest).

Analyse de structuration génétique

La structuration génétique du panel des 258 géniteurs améliorés avec les 16 variétés résistantes a tout d'abord été analysée en utilisant les données de génotypage d'une sélection, sur chacun des chromosomes, de dix SNP bien répartis le long du chromosome. Cette analyse a été réalisée à l'aide du logiciel Structure 2.3.4® (Pritchard, Stephens, Donnelly 2000). Les paramètres suivants ont été choisis : modèle avec admixture, fréquences alléliques corrélées entre les populations, burn-in de 50 000 suivi de 100 000 répétitions de MCMC (Markov Chain Monte Carlo). Le nombre K de sous-populations testé a été de 1 à 10. Pour chaque test de K sous-populations, cinq répétitions ont été effectuées. Ensuite, le nombre de sous-populations K a été déterminé en utilisant la méthode Evanno et al. (2005). Ainsi, cette analyse a montré que le nombre de sous-populations le plus probable était 2 ou 4 (Figure 11 a). Dans chaque cas (K=2 ou K=4), chaque génotype a été assigné à l'une des 2 ou 4 sous-populations (Figure 11 b et c). Une analyse de variance a montré dans les 2 cas que les sous-populations présentent un comportement vis-à-vis du mildiou significativement différent.

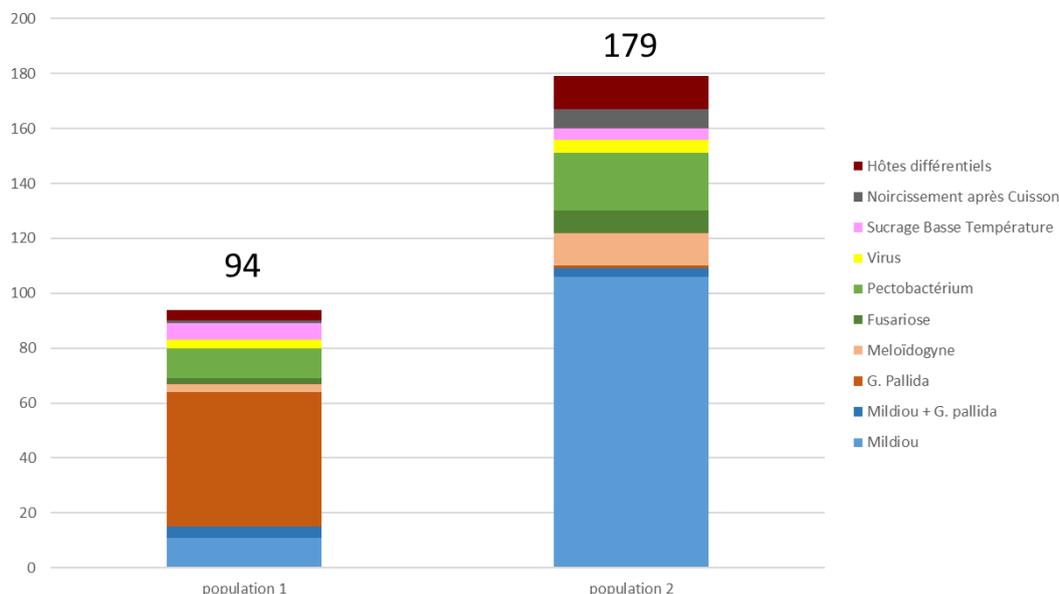
Figure 11: a. Diagramme du deltaK en fonction de K (Evanno et al, 2005) b. et c. Graphiques de répartition des génotypes dans les sous-populations quand K=2 ou K=4, respectivement.



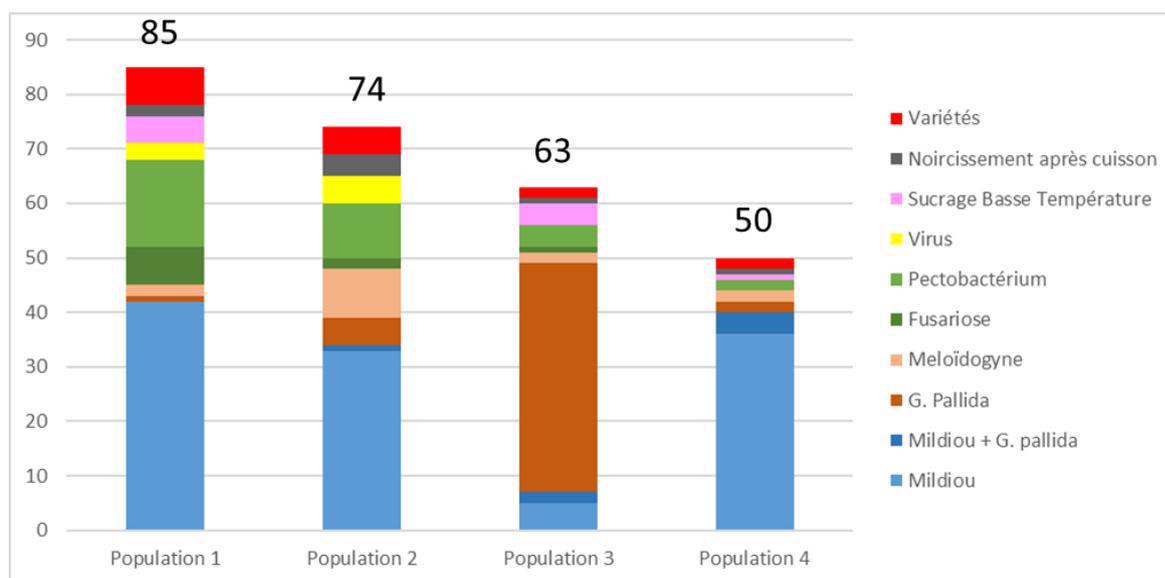
De même, pour chacune des 2 structurations, la répartition des géniteurs dans les différentes sous-populations peut être expliquée par le programme de recherche dont ils sont issus (Figure 12) : une sous-population est majoritairement composée de géniteurs issus du programme *G. pallida*, les autres sous-populations de géniteurs issus du programme Mildiou. Ces analyses indiquent donc que le panel étudié présente une structuration génétique qui peut être expliquée par l'origine génétique des génotypes et que deux structurations différentes expliquent significativement la variation du caractère résistance au mildiou. Ainsi, les analyses d'association ont été réalisées en intégrant dans le modèle l'une ou l'autre des 2 structurations.

Figure 12 : Répartition du nombre de géotypes dans les sous-populations en fonction de leur programme de recherche d'origine. a. K=2, b. K=4

a.



b.



Différentes séries d'analyses d'association ont été réalisées avec la variable AUDPCr : soit site par site (9 jeux de données), soit à partir de BLUPs (Best linear unbiased predictors) calculés pour chaque année ou calculés sur l'ensemble des 2 années (Données générées dans les actions 1.1 et 1.2).

Analyses site par site : pour chaque site, une valeur unique de AUDPCr par géotype a été calculée à partir des résultats d'une analyse de variance ayant pour modèle :

$$Y_i = \mu + G + R + e$$

Avec Y_i : valeur de AUDPCr de l'individu i , μ : moyenne, G : effet du géotype, R : effet de la répétition, e : résidus.

Analyses à partir de BLUPs : un estimateur par génotype a été calculé pour chaque année d'essai et pour l'ensemble des 2 années en utilisant le package lme4 du logiciel R®. Les modèles suivants ont été utilisés :

$$\text{BLUPs par année : } Y_i = \mu + 1I G + 1IS + 1IG*S + 1I R\%in\%S + e$$

$$\text{BLUPs général : } Y_i = \mu + 1I G + 1IS + 1IA + 1IG*S + 1IG*A + 1I R\%in\%S*A + e$$

Avec Y_i : valeur de AUDPCr de l'individu i , μ : moyenne, G : effet du génotype, S : effet du site, A : effet de l'année, $G*S$: effet de l'interaction entre le génotype et le site, $G*A$: effet de l'interaction entre le génotype et l'année, $R\%in\%S$: effet de la répétition niché dans l'effet site, $R\%in\%S*A$: effet de la répétition niché dans l'interaction site * année, e : résidu.

Les analyses d'association ont été réalisées avec le package GWASpoly du logiciel R® (version 3.4.4) (Rosyara et al. 2016) adapté aux tétraploïdes. Un modèle linéaire mixte a été utilisé en prenant en compte l'apparentement par le calcul d'une matrice de parenté (realized relationship matrix) et l'une ou l'autre des 2 structurations de la population obtenues avec le logiciel Structure. Des analyses sans prendre en compte de structuration ont aussi été réalisées. Tous les modèles proposés par GWASpoly pour analyser les effets des marqueurs ont été testés (général, additif, simplex ou duplex dominant, diplo-additif ou -general, général). La plupart des analyses ont été faites avec les paramètres par défaut qui considèrent que la fréquence de l'allèle mineur doit être supérieure à 0.05 et que la fréquence maximale d'une classe génotypique ne doit pas être supérieure à 0.95. Toutefois, quelques analyses ont aussi été réalisées en considérant une fréquence de l'allèle mineur supérieure à 0.0125 (Données AUDPCr site par site sans structuration et BLUPs général avec $K=4$). Une correction de type FDR (False Discovery Rate) a été appliquée comme correction de tests multiples pour éviter la détection de faux positifs. Le seuil de significativité fixé était de 0.05.

Une première série d'analyses ayant conduit à l'identification de 2 SNP du chromosome 9 fortement associés à la résistance au mildiou, une deuxième série d'analyses a été réalisée soit en intégrant dans le modèle ces 2 SNP en covariables, soit à partir d'un panel réduit de géniteurs. Ce panel réduit a été constitué en éliminant les 93 géniteurs qui portent ces 2 SNP fortement associés à la résistance.

L'ensemble de ces analyses a conduit à identifier 48 SNPs significativement associés à la variation de l'AUDPCr, répartis sur tous les chromosomes (Tableau 3). Les Manhattan plots sont présentés en Annexe 3. Afin d'étudier plus précisément l'effet de ces SNPs, une analyse de variance a été réalisée pour chacun d'entre eux selon le modèle suivant :

$$Y_i = \mu + M + e$$

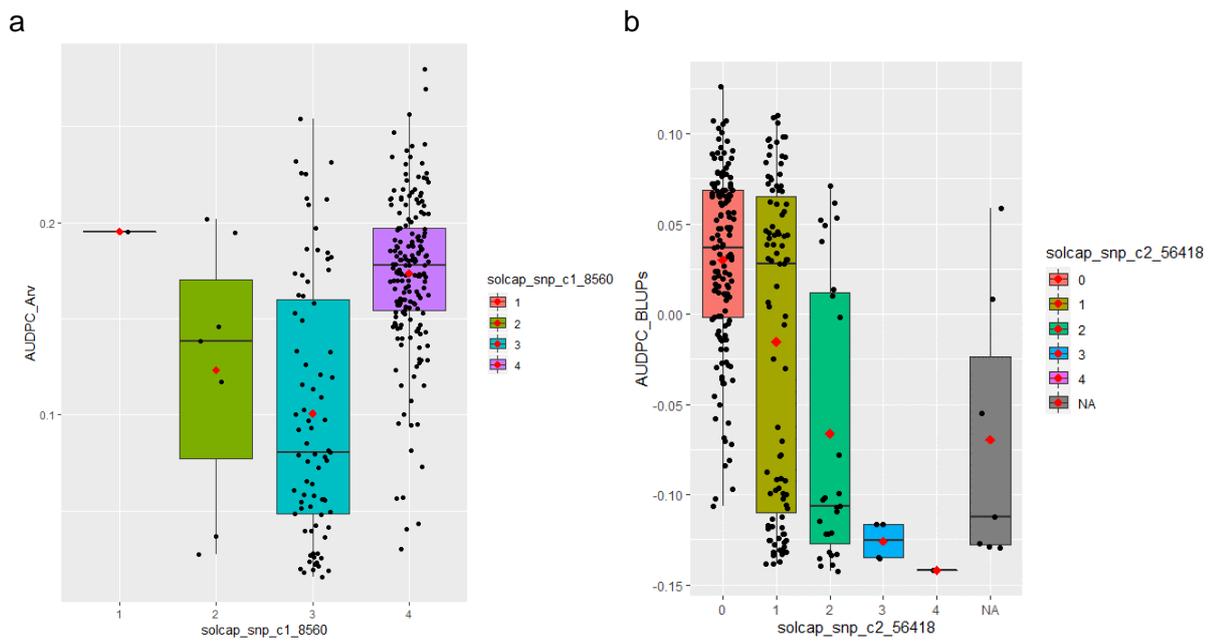
Avec Y_i : valeur de AUDPCr de l'individu i , μ : moyenne, M : effet du marqueur, e : résidus. Des box plots ont été construits. Ces analyses ont été réalisées en utilisant les packages FactoMineR, Agricolae et ggplot2 de R.

Tableau 3: Nombre de SNPs identifiés et retenus par chromosome et leur position sur la carte physique (Sharma et al. 2013).

Chromosome	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Total
Nb SNPs identifiés en GWAS	3	4	2	4	7	1	1	4	14	3	1	4	48
Nb SNPs retenus après ANOVA	1	2	1	4	5	0	0	0	13	0	1	1	28
Positions sur la carte physique (Mpb)	88	23-25	32	58	4-6				54 à 61		40	0.4	
				67-68	11								

Ainsi, **28 SNPs (Tableau 3) présentent des analyses de variance significatives avec des classes génotypiques contrastées pour la variable AUDPCr** et nécessitent d'être étudiés de manière plus approfondie afin d'être validés. Les SNPs présentant les effets les plus forts sont c1_8560 et c2_56418 et sont situés sur le chromosome 9. Des exemples de box plots obtenus pour ces 2 SNPs sont présentés en figure 13. Les box plots obtenus pour l'ensemble des 28 SNPs sont présentés en Annexe 4. Le tableau 4 récapitule la liste de ces 28 SNPs et indique avec quel jeu de données ils ont été identifiés.

Figure 13 : Box plots des SNPs présentant le plus fort pouvoir explicatif sur la variable AUDPCr. a. Box plot du SNP c1_8560 construit à partir des AUDPCr obtenus en 2017 sur le site Arvalis. b. Box plot du SNP c2_56418 construit à partir des BLUPs globaux.



Analyses sur le caractère de maturité du feuillage

La résistance quantitative au mildiou est corrélée avec une maturité tardive des plantes de pomme de terre, caractère qui n'est pas souhaité. Afin de vérifier si les QTLs identifiés ne sont pas des QTLs associés à la tardivité, une analyse d'association a été réalisée en utilisant les données de maturité disponibles pour 247 génoteurs et variétés du panel. Ces données sont des notes, allant de 1 pour les génotypes très précoces à 5 pour les génotypes très tardifs. Cette analyse a permis d'identifier **6 SNPs associés au caractère de maturité du feuillage** (Tableau 5), **correspondant à 2 QTLs localisés sur les chromosomes 5 et 10 respectivement.**

Tableau 5 : SNPs identifiés dans l'analyse d'association réalisée avec les données de maturité du feuillage.

SNP	Modèle	Chrom	Position
solcap_snp_c2_11829	additive	5	4041510
solcap_snp_c2_22957	additive	5	4418403
solcap_snp_c2_23049	1-dom-ref	5	4800417
solcap_snp_c2_40833	1-dom-ref	10	45898747
solcap_snp_c2_56515	1-dom-alt	10	46704551
solcap_snp_c2_56514	1-dom-alt	10	46705264

Le SNP c2_23049 identifié sur le chromosome 5 a aussi été identifié dans les analyses avec la variable AUDPCr. Le QTL identifié sur le chromosome 5 est donc commun aux deux analyses. Ainsi, **les SNP identifiés dans cette région du chromosome 5 sont associés à un QTL de maturité des plantes et non à de la résistance au mildiou.**

Analyse du déséquilibre de liaison des régions génomiques identifiées

Afin d'exploiter les données de dosage allélique et ainsi prendre en compte les 3 classes d'hétérozygotes de manière indépendante, le déséquilibre de liaison entre paires de SNP d'un même chromosome identifiés dans les analyses d'association a été évalué à partir du coefficient de corrélation de Pearson. Le package Hmisc de R a été utilisé. Ensuite les p-values obtenues avec les tests de Pearson ont été corrigés pour tests multiples par le calcul de q-value avec le package qvalue de R (Storey et al. 2003). Le seuil de significativité retenu pour le DL est de 0.01. Les résultats montrent que les SNPs identifiés sur un même chromosome sont significativement en déséquilibre de liaison (Annexe 5). Toutefois, sur les chromosomes 4 et 9, on peut distinguer 2 groupes de marqueurs, indiquant que ces marqueurs pourraient être associés à des QTLs différents ou pourraient correspondre à des haplotypes différents. Dans le cas du chromosome 9, les marqueurs situés à 56 Mpb ont été identifiés en réalisant l'analyse d'association sur le panel réduit, donc à partir des génotypes qui ne présentent pas le QTL à effet fort (autour de 60 Mpb) identifié à partir du panel complet. De plus, Sharma et al. (2018) ont montré que le déséquilibre de liaison, dans un panel composé de variétés et de matériel de sélection, diminuait de moitié à partir de 860 000pb dans cette région du chromosome 9. **Ces éléments viendraient conforter l'hypothèse que les SNPs identifiés sur le chromosome 9 seraient associés à deux QTLs différents.**

Identification de tous les facteurs de résistance présents au sein du panel étudié ?

Les SNPs qui ont le plus fort pouvoir explicatif sont ceux identifiés sur le chromosome 9 (c1_8560 et c2_56418) vers 60 Mpb. Toutefois, nous avons pu identifier 11 génotypes (Tableau 6) qui ne présentent pas ces 2 SNPs à effet fort mais qui montrent un très bon niveau de résistance, peu expliqué par les autres SNPs identifiés. Ainsi, ce sous-ensemble de géniteurs possède des facteurs de résistance qui n'ont pas été mis en évidence dans cette analyse. Ces géniteurs devront donc faire l'objet de nouvelles études.

Tableau 6 : Liste des génotypes ne possédant pas les 2 SNPs à effet fort du chromosome 9 et présentant un bon niveau de résistance, leur généalogie et l'origine de leur résistance. Le parent qui apporte la résistance est indiqué en gras.

Génotype	Généalogie		Source de résistance
	Mère	Père	
89T.123. 3	65 Z A5	INRA 74. 5. 48	65 Z A5
98T.112. 1	89T.123. 3	CAESAR	65 Z A5
98T.112. 42	89T.123. 3	CAESAR	65 Z A5
05T. 49. 79	89T.123. 3	Joséphine	65 Z A5
05T. 51. 7	89T.123. 3	Picasso	65 Z A5
93T. 98. 61	73. 44.127	ESCORT	Pentland Dell, Escort
93T.100. 38	73. 44.127	HERTHA	Pentland Dell, Hertha
03T. 9. 8	Cruza 148	Möwe	Cruza 148, Möwe
95T.118. 2	AGRIA	AND 69.1	AND 69.1
Cephora	Impala	95T.118. 2	AND 69.1
92T.128. 44	VAN GOGH	CGN 69.1	CGN 69.1

Analyse des résultats en regard des données de la bibliographie

Les SNP identifiés qui présentent le pouvoir explicatif le plus fort sont situés à l'extrémité du bras long du chromosome 9. Ils sont détectés sur plusieurs sites, donc dans des conditions épidémiologiques différentes. Deux de ces marqueurs (c2_56418 et c2_27763) ont déjà été identifiés par Lindqvist-Kreuze et al. (2014) dans une étude de la résistance au mildiou dans une population de clones tétraploïdes d'Amérique latine. Cette résistance, dans leur population, proviendrait d'un géniteur qui porte des gènes R non connus. Toutefois, ils mentionnent que la résistance exprimée dans leur matériel pourrait provenir du gène R8 qui a été cartographié dans cette région génomique.

Le bras long du chromosome 9 porte plusieurs clusters de gènes de résistance (Jo et al. 2011 ; Jupe et al. 2013). Un de ces clusters, situé vers 59.6 Mpb, contient différentes copies d'un gène R provenant de l'espèce sauvage *S. venturii* : *Rpi-vnt1*. Le marqueur solcap_snp_c2_56418 est en position plus télomérique que le gène *Rpi-vnt1* mais sa position (60.2 Mpb) reste de proche de ce gène (Lindqvist-Kreuze et al. 2014). Les gènes de résistance *R8* et *R9a*, issus de *S. demissum* sont aussi cartographiés sur cette partie du chromosome 9 (Jo et al. 2011 ; 2015). Cette région du chromosome a aussi été identifiée comme porteuse d'un facteur de résistance au mildiou dans plusieurs géniteurs INRAE (Marhadour et al EAPR 2011) ainsi que sur un panel de GWAS (Marhadour et al EAPR 2014). Il y a donc plusieurs gènes situés dans cette extrémité du chromosome 9 qui pourraient contribuer à la résistance au mildiou observée dans notre panel. Cette résistance serait indépendante de la maturité des plantes (Mosquera et al. 2016). Toutefois,

il semblerait que nous ayons identifié deux QTLs différents dans cette région du chromosome 9. Ainsi, il est possible que différents facteurs génétiques contribuent à cette résistance.

Les SNP détectés sur le chromosome 5 se situent sur le bras court, connu pour porter le gène *R1* et des QTL de maturité (Leonards-Schippers et al. 1992 ; Visker et al. 2003 ; Mosquera et al. 2016). Toutefois le gène *R1* est contourné (Fry 2008) et l'hôte différentiel portant *R1* s'est montré très sensible dans nos essais. D'autre part, l'analyse d'association réalisée avec les données de maturité du feuillage a identifié la même région génomique. Ainsi, les SNPs identifiés ici sont associés au caractère de maturité du feuillage et non à la résistance.

Les SNP détectés sur le chromosome 4 sont présents sur le bras long du chromosome, dans deux régions distantes de 8.5 Mpb. Ils pourraient être associés à deux QTLs différents. Le chromosome 4 est porteur de plusieurs gènes R (*Rpi-blb3*, *R2*...) mais qui sont cartographiés sur le bras court du chromosome (Park et al. 2005). Mosquera et al (2016) ont identifié un QTL associé à la résistance au mildiou entre 71.0 et 72.5 Mpb sur le bras long, en région plus télomérique que les régions que nous avons identifiées. Par contre Draffehn et al (2013) ont identifié des SNP associés à la résistance au mildiou dans les deux régions que nous avons identifiées dans cette étude.

Le SNP détecté sur le chromosome 11 se situe à l'extrémité du bras court du chromosome. Dans cette région un cluster de gènes R issus de *S. demissum* a été cartographié. Ce locus est constitué de plusieurs gènes dont *R3a*, *R3b*, *Rpi-Smira1*, *R10* et *R11* (El-Kharbotly et al. 1994 ; Bradshaw et al. 2006 ; Huang et al. 2004 ; Tomczyńska et al. 2014). La résistance identifiée dans notre panel peut être conférée par l'un de ces gènes ou d'autres gènes non encore identifiés. Les gènes *R3*, *R10* et *R11* sont contournés et nous avons bien observé des symptômes importants sur les hôtes différentiels porteurs des gènes *R3* et *R11*. Par contre l'hôte différentiel porteur du gène *R10* a été moins attaqué. De plus il a été rapporté que le comportement de ce gène R était proche de l'expression d'un QTL (Bradshaw et al. 2006).

Le SNP détecté sur le chromosome 1 se situe dans une région dans laquelle Mosquera et al (2016) ont identifié un QTL de résistance au mildiou (88 – 89 Mpb). Un gène proche de cette région (PGSC0003DMG400006186, 87.6 Mpb) a aussi été détecté comme associé à la résistance dans une autre étude (Mukhtar et al ; 2015). Ce gène code pour une hydroxyde pyruvate impliquée dans la photorespiration.

Sur le chromosome 2, Mosquera et al (2016) ont identifié un QTL de résistance au mildiou dans une région proche (27-31 Mpb) des SNP que nous avons identifiés. Les SNPs identifiés sur les chromosomes 3 et 12 ne semblent pas correspondre à des régions dans lesquelles des QTLs de résistance au mildiou ont été détectés.

Action 2.2 : Comparaison avec un autre jeu de données phénotypiques et moléculaires

Cette action, réalisée par FN3PT, a pour objectif d'évaluer la portabilité des marqueurs identifiés sur du matériel INRAE dans un fonds génétique plus représentatif des variétés modernes que le panel INRAE.

Le panel FN3PT/OP est composé de 284 génotypes comprenant des variétés, du matériel de sélection de Bretagne Plants Innovation, Sipre/Comité Nord et Grocep, et de 17 géniteurs améliorés INRAE. Ce panel a été génotypé avec la puce SolCAP 12K qui comprend les marqueurs de la puce 8K (Hamilton *et al.*, 2011) ainsi que ceux de la puce 4K, enrichie dans les régions de clusters de gènes de résistance. L'assignation des données de la puce a été faite en utilisant le package R ClusterCall, développé par Schmitz Carley *et al.*, 2017. Ce panel a également été génotypé avec des marqueurs de différents types tels que des CAPS, SSRs ou KASP. Au total, les

données de génotypage comprennent 6798 marqueurs de la puce SolCAP et 329 marqueurs d'autres types.

Le panel a été phénotypé au champ en 2013, 2014 et 2015 en un seul lieu (champ mildiou de la station de création variétale de Bretagne Plants Innovation, Finistère). Les GWAS ont été effectuées sur les AUDPCr évaluées chaque année.

Le package R GWASpoly (version 1.3) a été utilisé pour faire les analyses GWAS. Au total, 7013 marqueurs sont polymorphes dans le panel. Les marqueurs ayant une MAF (Minor Allele Frequency) inférieure à 1,25% n'ont pas été pris en compte dans les analyses. Tous les modèles proposés par GWASpoly concernant les effets des marqueurs ont été testés (modèle général, additif, simplex dominant, duplex dominant, diplo-général et diplo-additif ; Rosyara *et al.*, 2016). L'analyse de la matrice d'apparentement K calculée par GWASpoly n'ayant pas révélé de structuration de la population, seule une correction incluant la matrice K a été appliquée dans les modèles de GWAS (pas de correction pour la structuration). La méthode du FDR, avec $q=0,05$, a été utilisée pour la définition du seuil de significativité des différentes analyses GWAS.

Afin d'évaluer la portabilité des marqueurs identifiés sur le panel INRAE, nous avons cherché à déterminer s'ils étaient également significatifs dans les GWAS effectuées sur le panel FN3PT/OP. Dans le cas où l'assignation d'un des marqueurs n'aurait pas fonctionné avec ClusterCall dans le panel FN3PT/OP, nous avons soit développé un marqueur KASP que nous avons screené dans le panel FN3PT/OP, soit réalisé une réassignation manuelle des données de la puce lorsque cela était possible. Les données des marqueurs KASP ont été incluses dans les analyses de GWAS. Pour les SNPs réassignés manuellement, nous avons effectué des ANOVAs à simple facteur pour tester leur association avec les AUDPCr dans ce panel.

Les résultats de ces comparaisons ont été synthétisés dans le tableau 7.

Tableau 7 : Significativité des SNPs du panel INRAE dans le panel FN3PT/OP.

Marqueur	Chr	Position	Assignment FN3PT/OP ^a	Significativité GWAS FN3PT/OP ^b	Significativité ANOVA FN3PT/OP ^c
solcap_snp_c2_30956	1	88451932	ClusterCall	non	-
solcap_snp_c2_37254	2	23798841	Manuelle	-	oui (2013)
solcap_snp_c2_21717	2	25423284	impossible	-	-
solcap_snp_c2_41055	3	32856641	impossible	-	-
solcap_snp_c1_10762	4	58875538	ClusterCall	non	-
solcap_snp_c2_32099	4	67342310	ClusterCall	non	-
solcap_snp_c2_34867	4	67982950	ClusterCall	non	-
solcap_snp_c2_56837	4	68481475	KASP	non	-
solcap_snp_c2_22986	5	4279075	ClusterCall	non	-
solcap_snp_c2_23049	5	4800417	Manuelle	-	oui (2013, 2014, 2015) mais associé à précocité
solcap_snp_c2_50301	5	5055948	ClusterCall	non	-
solcap_snp_c1_14836	5	5683864	Manuelle	-	non
solcap_snp_c2_43663	5	11157517	impossible	-	-
solcap_snp_c2_22073	9	54572501	impossible	-	-
solcap_snp_c2_29919	9	56100752	impossible	-	-
solcap_snp_c2_30008	9	56184931	ClusterCall	oui (2014, 2015)	-
solcap_snp_c2_3079	9	58240294	ClusterCall	oui (2013, 2014, 2015)	-
solcap_snp_c2_48042	9	59139277	Manuelle	-	oui (2013, 2014, 2015)
solcap_snp_c2_56418	9	60182931	ClusterCall	oui (2014)	-
solcap_snp_c2_27757	9	60829989	ClusterCall	oui (2014, 2015)	-
solcap_snp_c1_11509	9	60913544	ClusterCall	oui (2013)	-
solcap_snp_c1_8560	9	61075452	ClusterCall	oui (2013, 2014, 2015)	-
solcap_snp_c2_27716	9	61157938	ClusterCall	oui (2013, 2014)	-
solcap_snp_c2_27692	9	61352957	ClusterCall	oui (2013, 2014, 2015)	-
solcap_snp_c2_27763	9	61466237	KASP	oui (2013, 2014, 2015)	-
solcap_snp_c2_27761	9	61470614	Manuelle	-	non
solcap_snp_c2_22184	11	40775587	ClusterCall	non	-
solcap_snp_c2_24454	12	459354	ClusterCall	non	-

^a Méthode d'assignation du SNP dans le panel FN3PT/OP. ClusterCall : l'assignation des données de la puce a fonctionné avec le package ClusterCall. Manuelle : l'assignation n'a pas fonctionné avec ClusterCall mais une assignation manuelle était possible. KASP : un marqueur KASP a été développé pour le SNP et screené dans le panel FN3PT/OP. Impossible : les assignations par ClusterCall et manuelles n'ont pas fonctionné.

^b Significativité de l'association du SNP avec les AUDPCr dans les GWAS effectuées sur le panel FN3PT/OP, lorsque l'assignation ClusterCall a fonctionné ou qu'un marqueur KASP a été développé.

^c Significativité de l'association du SNP avec les AUDPCr dans les ANOVAs effectuées sur le panel FN3PT/OP, lorsque l'assignation manuelle a fonctionné (p-value < 0,05).

La région du sud du chromosome 9 identifiée dans le panel INRAE a également été identifiée dans les GWAS effectuées sur le panel FN3PT/OP. Les marqueurs c2_3079, c2_48042, c1_8560, c2_27692 et c2_27763 sont significatifs dans les GWAS effectuées sur les trois années d'essai. Seul le marqueur c2_37254 du chromosome 2 est également significativement associé avec la résistance au champ évaluée en 2013 dans la collection FN3PT/OP. Un marqueur du nord du chromosome 5, le c2_23049, est significativement associé à la résistance évaluée sur les trois années dans le panel FN3PT/OP, mais il s'agit d'un des marqueurs associés à la précocité.

Conclusions et Perspectives

Les analyses réalisées dans ce Workpackage ont ainsi permis d'identifier, dans le panel INRAE, 28 SNPs, répartis sur les chromosomes 1, 2, 3, 4, 5, 9, 11 et 12. L'analyse de ces SNPs sur le panel FN3PT/OP a montré que 10 SNPs du chromosome 9 et un SNP du chromosome 2 sont aussi significativement associés à la résistance dans ce panel.

Les SNPs présentant les effets les plus forts sont ceux situés sur le chromosome 9. Les différentes analyses réalisées sur le panel INRAE semblent indiquer que 2 QTLs différents pourraient être impliqués dans cette région du chromosome 9. Le(s) QTL(s) identifié(s) sur le chromosome 9 est(sont) aussi présent(s) et fonctionnel(s) dans un panel plus représentatif du matériel de sélection que le panel INRAE.

D'autre part, les SNPs identifiés sur le chromosome 5 (dont un est commun aux deux panels) sont plutôt associés à la maturité du feuillage, dans les deux panels.

Tous les SNPs identifiés dans le panel INRAE ne ressortent pas dans l'analyse sur le panel FN3PT/OP. Plusieurs raisons peuvent expliquer ce résultat : ce sont des SNPs non spécifiques de l'haplotype résistant (ascertainment bias), ou il y a eu perte de liaison entre le SNP et le facteur de résistance dans le matériel sélectionné, ou du fait de populations de mildiou différentes entre les essais, ou du fait d'autres sources de variation (lieu, année, dispositif expérimental, données de génotypage, paramètres GWAS,...), ou ce sont de faux positifs (inhérents à la GWAS).

La validation des SNPs identifiés dans cette analyse doit être poursuivie en complétant les analyses de variance et en les testant dans des populations de cartographie ou sur d'autres géniteurs. Les SNPs identifiés peuvent être utilisés pour caractériser le matériel INRAE et connaître la fréquence du(des) facteur(s) identifié(s) sur le chromosome 9 dans le matériel proposé aux obtenteurs et réduire ainsi les risques d'homogénéisation des résistances utilisées dans les programmes de sélection.

Toutefois, les facteurs de résistance présents dans le panel INRAE n'ont pas tous été identifiés. En effet, la résistance d'au moins 10 géniteurs n'est pas expliquée par les SNPs identifiés dans ces analyses. Ce résultat peut s'expliquer par : 1. la fréquence des SNPs associés à ces facteurs de résistance est plus faible que la Minor Allele Frequency utilisée ; 2. les haplotypes associés à ces facteurs de résistance ne sont pas couverts par les SNPs de la puce SolCAP 8K.

De nouvelles données de génotypage en cours d'acquisition sur le panel INRAE dans le cadre d'un autre projet (H2020 G2P-Sol) permettront de poursuivre ces analyses en apportant des informations complémentaires : plus de précisions sur les régions génomiques identifiées, des SNPs haplotype spécifiques, identification de nouvelles régions génomiques impliquées dans la résistance.

WP3 : Analyse de la stabilité des résistances

Action 3.1 : Analyse des données climatologiques

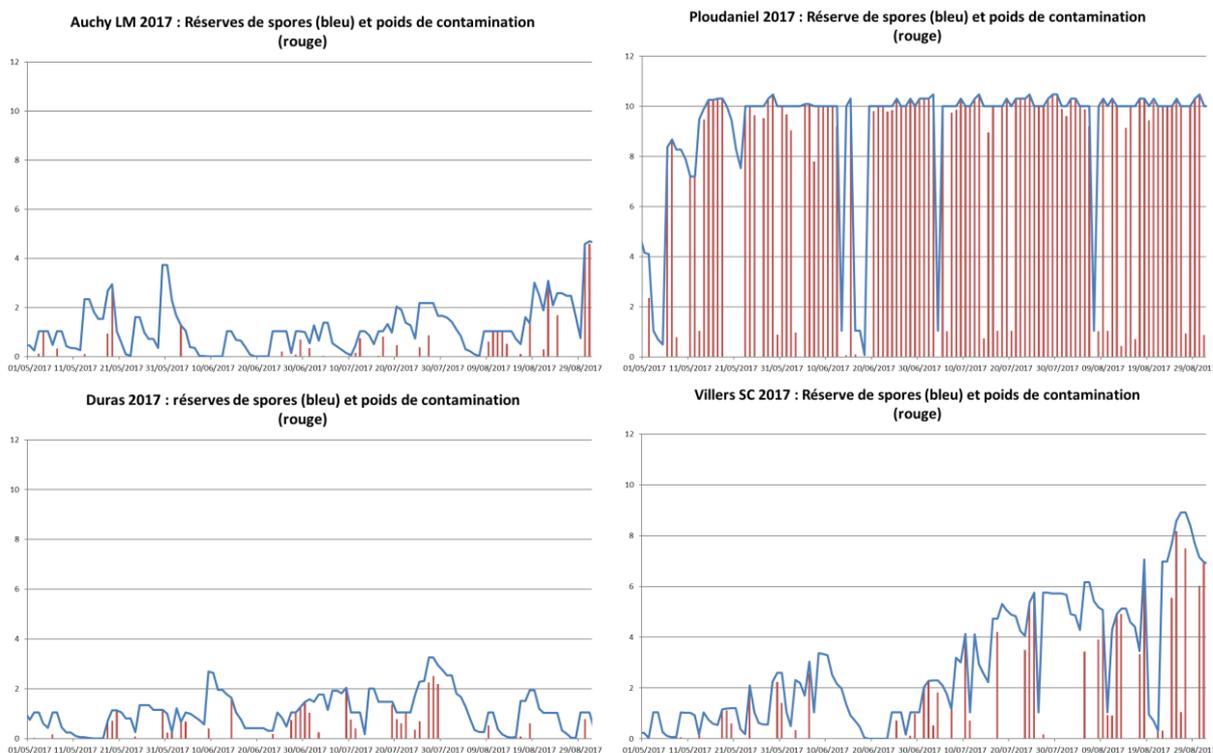
Cette tâche, conduite par Arvalis-Institut du Végétal, comprenait 2 sous-tâches qui ont été réalisées conformément au projet. Leur but était de mettre en relation la destruction par le mildiou des différentes variétés et le profil épidémiologique des différentes années afin de tenter de définir des seuils de traitement par niveau de résistance variétale.

Analyse des profils épidémiques des sites expérimentaux pendant le projet

Quatre sites expérimentaux ont été caractérisés les 2 années où les essais ont été mis en place (2017 et 2018) : Auchy-les-Mines (62), Birac-sur-Trec (47), Ploudaniel (29) et Villers-Saint-Christophe (02). Tous les sites étaient pourvus de stations météorologiques automatiques sur place. Cependant, la station de Birac-sur-Trec était défectueuse (capteur d'humidité relative non contrôlé et produisant des valeurs manifestement sous-estimées) et ce sont donc les données de Duras, station située à 20kms à vol d'oiseau mais dans un environnement comparable, qui ont été utilisées les 2 années.

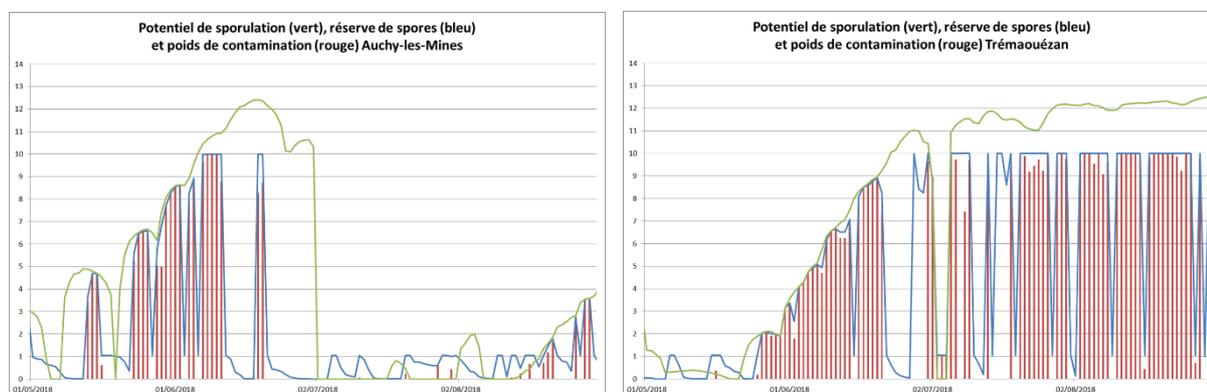
Les profils épidémiques ont été établis à l'aide de Mileos® pour les 4 sites en 2017 (Figure 14) et 2018 (Figure 15) de mai à août.

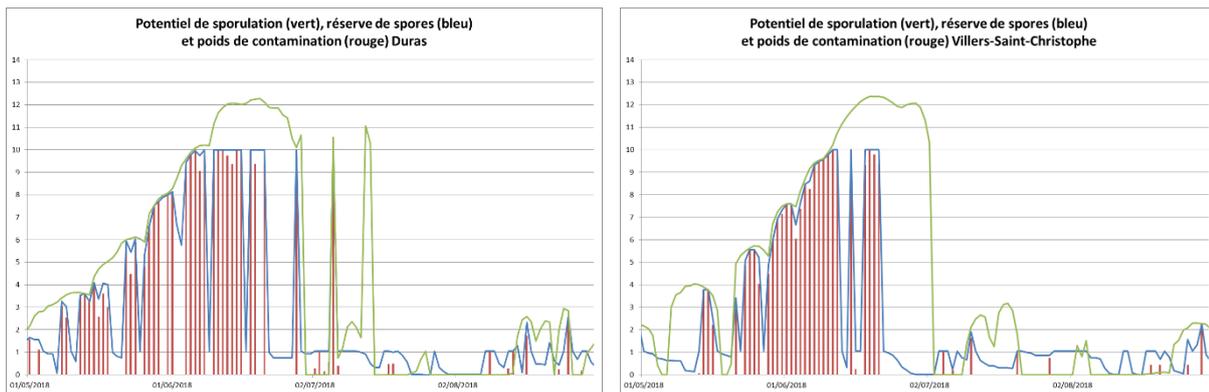
Figure 14 : Profils épidémiques, établis à l'aide de Mileos®, des sites Auchy-les-Mines (62), Duras (47), Ploudaniel (29) et Villers-Saint-Christophe (02) en 2017. Bleu : Réserve de spores ; Rouge : Poids de contamination.



En 2017, pour les sites de Duras et Auchy-les-Mines, les pressions de maladie sont vraiment très faibles, voire inexistantes. A Villers-Saint-Christophe, la pression est très modérée et avec de nombreuses interruptions ce qui ne favorise pas l'emballlement de l'épidémie et la réalisation des essais. Enfin, la pression est donnée très forte et relativement continue à Ploudaniel.

Figure 15 : Profils épidémiques, établis à l'aide de Mileos®, des sites Auchy-les-Mines (62), Duras (47), Trémaouézan (29) et Villers-Saint-Christophe (02) en 2018. Vert : Potentiel de sporulation ; Bleu : Réserve de spores ; Rouge : Poids de contamination.





En 2018, les pressions de maladie sont nettement plus fortes qu'en 2017, particulièrement en début d'essai (jusqu'au 20 à 30 juin environ). Elles sont, de plus, assez comparables entre les sites, y compris à Ploudaniel (données de Trémaouezan), très fortes entre le 20 mai et le 20 juin environ et ensuite une interruption plus ou moins longue et forte suivant les sites.

Ces profils épidémiques ont pu être mis en relation avec la destruction du feuillage des différentes variétés dans les essais. Malheureusement, les faibles risques et/ou l'absence de variabilité dans les épidémies sur les différents sites n'ont pas permis de valider de nouveaux seuils de déclenchement en fonction de la résistance variétale mais ces données seront valorisées par la suite avec d'autres données complémentaires.

Valorisation de la base de données historiques INRAE Ploudaniel sur la cinétique de destruction par le mildiou des différentes variétés

Dans cette sous-tâche, il s'agissait de mettre en relation les profils de destruction par le mildiou de 5 variétés représentatives de types de résistance différents avec des données de profils épidémiques fournis par Mileos® à partir des données météorologiques relevées de 1995 à 2017 sur le site de Ploudaniel soit 23 campagnes d'essais. Ce sujet a fait l'objet d'un travail de mémoire de Master 2 de Boubacar DIOUF en 2018: 'Contribution à la proposition de nouveaux seuils de déclenchement des traitements permettant la valorisation des résistances variétales au mildiou de la pomme de terre par l'OAD Mileos®' (Master 2 Production des agro-ressources et développement durable, Université de Reims-Champagne-Ardennes).

Dans le cadre de ce travail, les données climatiques utilisées pour faire fonctionner le modèle furent celles mesurées par la station de Ploudaniel (29) obtenues de 1995 à 2017 pour une période du 1^{er} Mars au 30 Septembre correspondant à une saison culturale. Elles comprenaient les températures (en °C), l'hygrométrie horaire (en %) et les précipitations horaires (en mm) qui furent récupérées sous forme de 23 fichiers climatiques.

L'étude a porté sur 5 variétés témoins (Tableau 8) présentes tous les ans et de niveaux de résistance au mildiou différents et pour lesquelles il existe des données d'évolution de l'épidémie notée chaque année dans les essais de Ploudaniel.

Tableau 8 : Liste des variétés témoins utilisées pour l'analyse des données historiques et leur niveau de résistance.

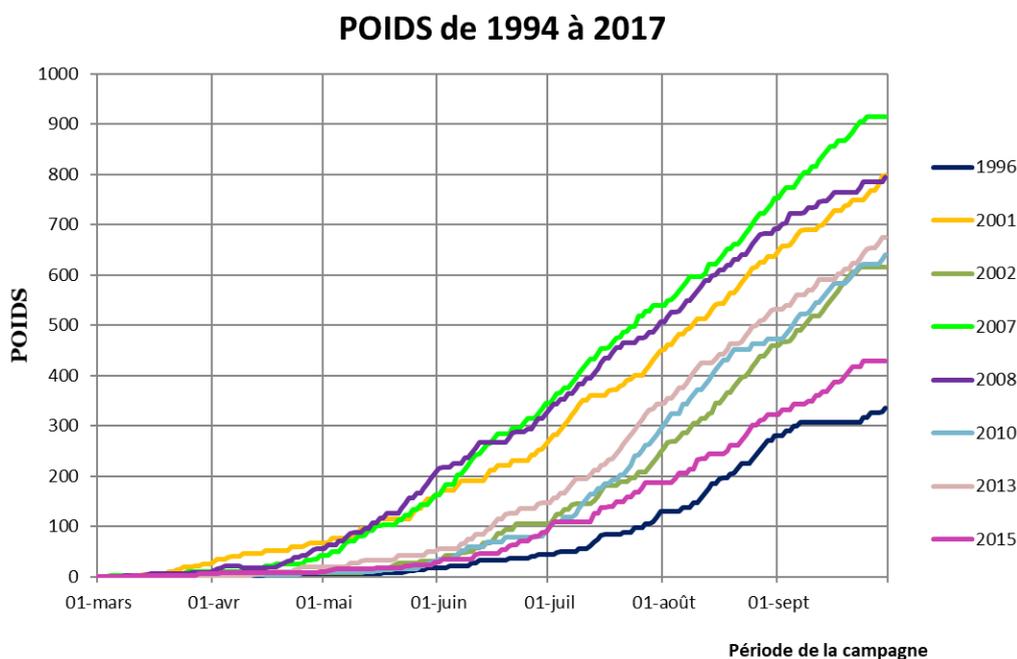
Variétés	Types de résistance	Niveau de résistance
Bintje Désirée Arka Robijn Escort	Aucune Partielle Spécifique (R1 et R3) et partielle Partielle Spécifique (R2)	Faible Faible à moyen Modéré à élevé Modéré à élevé Elevé

Les données météorologiques sont insérées dans Mileos® afin d'obtenir pour chaque année les résultats des calculs de profils épidémiologiques. Les critères utilisés par la suite seront essentiellement les poids de contamination journaliers et les cumuls sur des périodes bien définies de ces poids de contamination journaliers depuis le 01/03.

Résultats les plus marquants

- a) Le traitement des données météorologiques avec Mileos® a permis de montrer une certaine variabilité d'épidémies sur ces 23 ans (Figure 16). Trois groupes d'années se distinguent avec des années type pour chacun :
- Années à fort risque représentées par les années 2007, 2001 et 2008.
 - Années médianes représentées par les années 2013, 2010 et 2002.
 - Années à faible risque représentées par les années 2015 et surtout 1996.

Figure 16 : Courbes annuelles d'évolution du poids de contamination calculé avec Mileos® au cours de la période 1994 à 2017



- b) Il a été essayé de remplacer, pour la variété Bintje dans un premier temps, l'échelle de l'axe des abscisses habituellement en jours après plantation (NPA) par une échelle en cumul de poids de contamination après plantation en espérant avoir un rapprochement des différentes années (Figure 17).

Il ne semble pas que le changement d'échelle des abscisses tel qu'il a été testé en 2018 améliore le graphique et permette une meilleure comparaison des années et de faire ressortir un seuil unique avant l'arrivée des premiers symptômes. Cette étude pourra être reprise à la faveur d'améliorations apportées à Mileos® depuis cette date, en particulier sur la prise en compte des basses températures (<14°) en début de saison. D'autre part, la date de démarrage du cumul des poids de contamination pourrait sans doute être optimisée (date de levée par exemple).

Figure 17 : Courbes d'évolution du pourcentage de destruction du feuillage de la variété Bintje en fonction du nombre de jours après plantation (courbes du haut) ou du cumul de poids de contamination (courbes du bas) de 2003 à 2017.

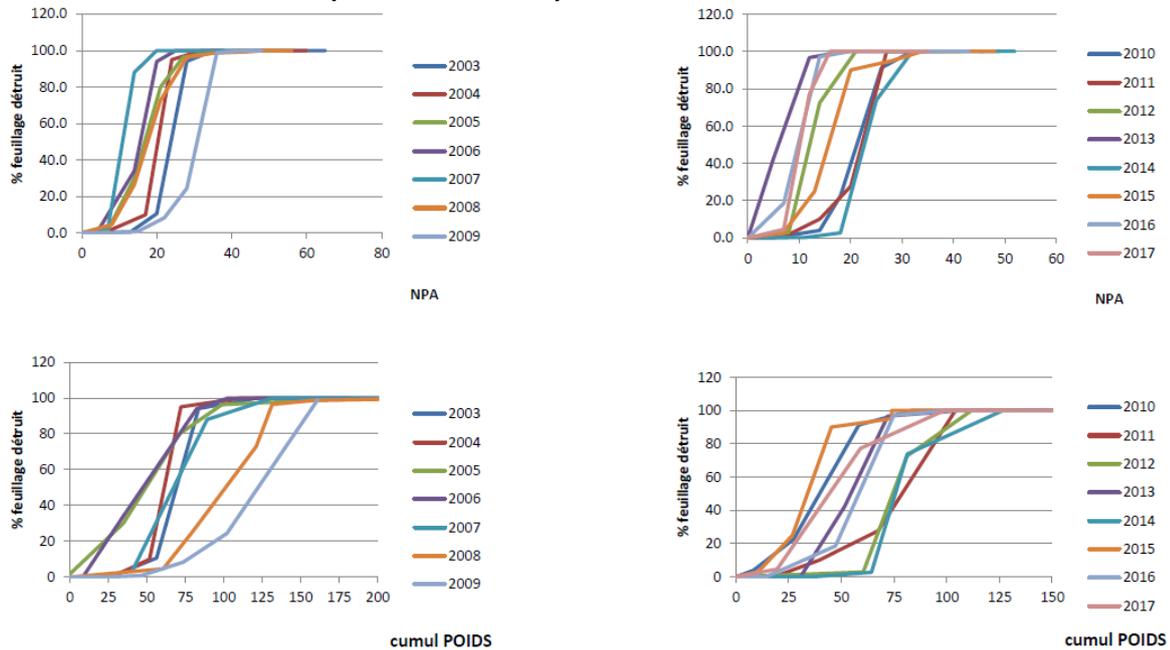


Figure 6: Estimation du pourcentage de feuillage détruit en fonction du nombre de jour après plantation (NPA) ou du cumul total POIDS de contamination de 2003 en 2017 chez Bintje

c) Enfin, nous avons observé le comportement des variétés dans le temps, de manière à tenter de définir un seuil de déclenchement selon les groupes variétaux.

Pour la variété sensible Bintje (Figure 18), nous observons une bonne stabilité des courbes d'évolution du pourcentage de destruction du feuillage au cours des années.

A l'opposé, la variété Escort (Figure 19) a vu sa résistance diminuer au fil des années et particulièrement à partir de l'année 2007 où le mildiou arrive presque aussi tôt sur Escort que sur Bintje.

Figure 18 : Courbes d'évolution du pourcentage de destruction du feuillage de la variété sensible Bintje au cours des années.

Bintje :

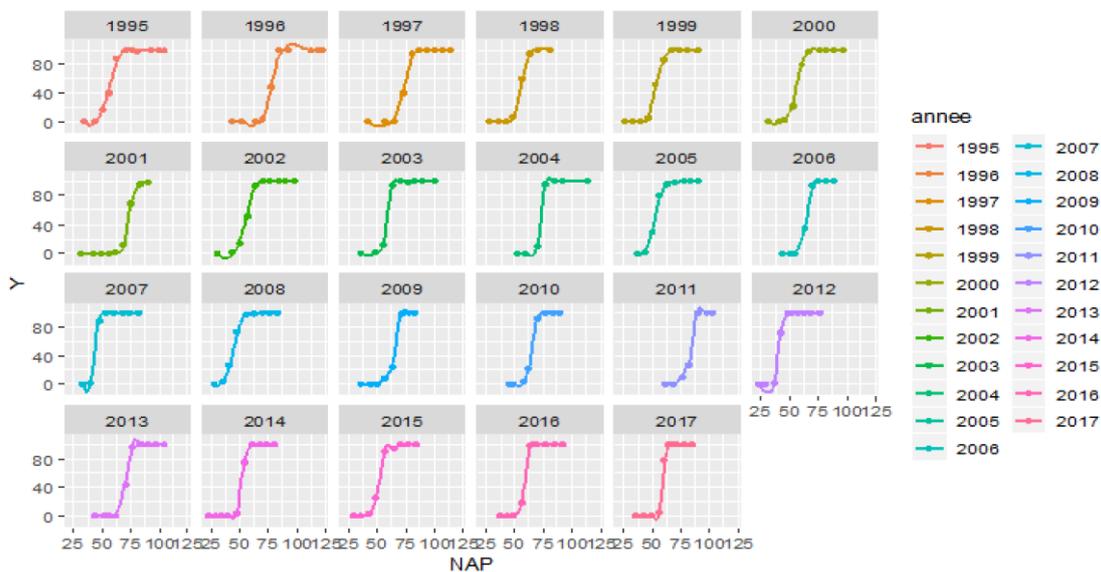
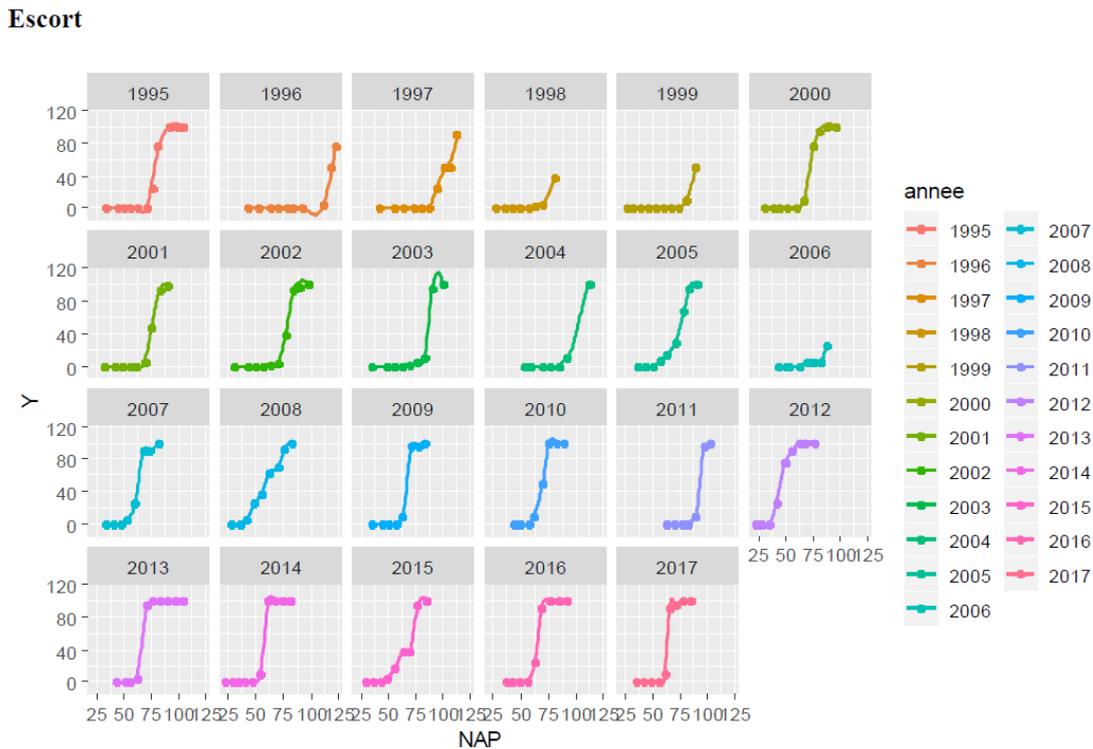
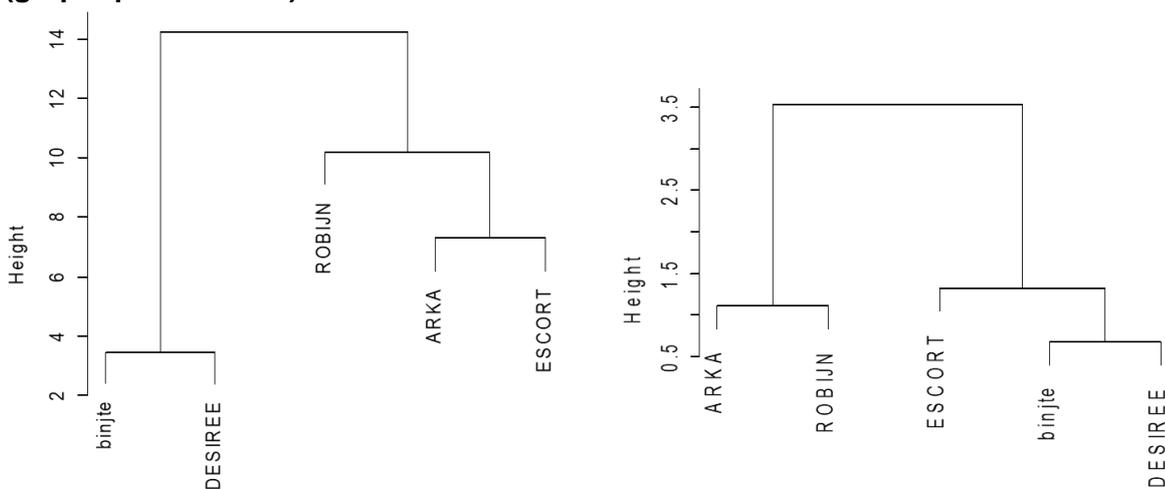


Figure 19 : Courbes d'évolution du pourcentage de destruction du feuillage de la variété Escort au cours des années.



Ce constat est confirmé par une analyse factorielle multiple qui classe Escort dans le même groupe que les variétés résistantes (Arka et Robijn) sur les années 1994-2006 alors qu'elle la rapproche des variétés sensibles (Bintje et Désirée) pour les années 2007-2017 (Figure 20). Cette analyse donne les mêmes résultats si elle est réalisée avec les jours après plantation ou avec les cumuls de poids de contamination.

Figure 20 : Classification des variétés obtenues à partir des données moyennes des paramètres sur les années 1994-2017 (graphique de gauche), sur les années 2007-2017 (graphique de droite).



Groupement global des variétés, toutes les années et sur données moyennes des paramètres

Groupement des années 2007 à 2017 : sur les données moyennes des paramètres

En **conclusion** de cette tâche, les résultats attendus ont été obtenus en totalité ou en partie :

- La comparaison de la pression d'inoculum des différents sites d'expérimentation du projet a été réalisée pour les 2 années d'expérimentation au champ.
- L'analyse sur 23 ans des profils épidémiques du site de Ploudaniel a été réalisée et a permis de définir une typologie d'année selon la pression de maladie.
- Sur l'ensemble de ces données, la mise en relation des profils épidémiques avec les niveaux de résistance a été réalisée. Malheureusement, elle n'a, à la fin du projet, pas permis de définir avec précision et certitude un seuil de poids de contamination pour le déclenchement du 1^{er} traitement selon les différents niveaux de résistance. Cette étape demandera de disposer de données plus nombreuses et d'affiner la méthodologie de calcul du cumul du poids de contamination pour cet usage. Enfin, les améliorations récentes de la prise en compte des températures fraîches dans Mileos® permettraient peut-être d'avoir des résultats plus intéressants. Compte tenu de sa durée courte et des années à faible risque, le projet n'a pas permis d'aboutir à des résultats complets. Cependant, les données générées dans ce projet pourront être intégrées à des données complémentaires issues d'études à venir pour améliorer la prise en compte de la résistance variétale au mildiou dans l'OAD Mileos®.

Action 3.2 : Caractérisation des souches actuelles de mildiou et comparaison avec les populations antérieures

Cette action, réalisée par INRAE, avait pour objectifs de comparer les populations de mildiou entre les différents sites expérimentaux et donc d'évaluer si les sources de résistance identifiées expriment une résistance à large spectre du pathogène, et d'analyser l'évolution des populations de mildiou présentes sur le site de Ploudaniel en termes d'agressivité.

Les travaux ont donc porté sur une caractérisation génétique (marqueurs microsatellites standardisés au niveau européen par le réseau EuroBlight) et phénotypique d'isolats prélevés dans les essais des différents sites d'expérimentation mis en place durant le projet, en comparaison avec les données collectées dans les mêmes régions et plus généralement à l'échelle nationale dans le réseau d'épidémiosurveillance mildiou.

Collecte et typage des populations et souches présentes dans les essais

En 2017, les souches suivantes ont été prélevées dans les essais :

- Auchy les Mines (Pas de Calais). Cet essai a été inoculé artificiellement avec un isolat collecté en 2016 et appartenant à la lignée clonale EU_13_A2. Deux isolats ont été prélevés dans cet essai (isolats vivants + cartes FTA) et génotypés. L'un des isolats appartenait à la lignée EU_13_A2, l'autre à la lignée clonale EU_1_A1, révélant la présence de sources d'inoculum autres que celui introduit dans la parcelle lors de l'inoculation artificielle.

- Villers Saint Christophe (Somme). Cet essai a été inoculé artificiellement avec un inoculum de 2017 non génotypé (collecté localement et issu de parcelles et de tas de déchets). Cinq échantillons ont été prélevés dans cet essai sous forme de cartes FTA, puis génotypés. Trois échantillons se sont révélés appartenir à la lignée EU_13_A2, un à la lignée EU_37_A2, et un n'a pas livré de profil exploitable.

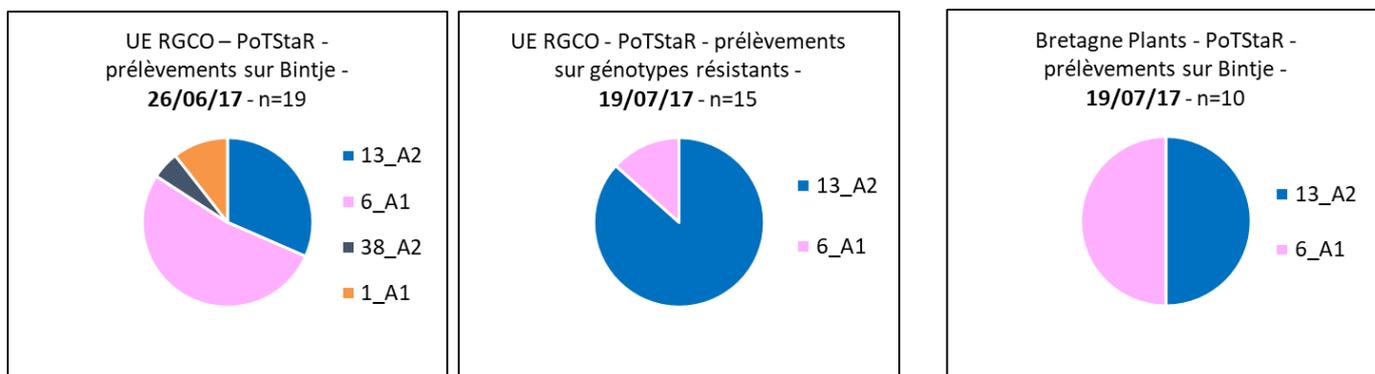
- Birac sur Trec (Lot et Garonne). Cet essai a été inoculé artificiellement avec un inoculum de 2016, constitué d'un mélange d'isolats appartenant aux lignées clonales EU_6_A1 et EU_13_A2. Huit échantillons ont été prélevés (7 cartes FTA + 1 isolat vivant), dont le génotypage a fourni

quatre isolats EU_6_A1 et quatre isolats EU_13_A2.

- Ploudaniel (Finistère). Ces essais ont été conduits en inoculation naturelle, sur deux sites distants de quelques centaines de mètres – Keraiber (INRAE) et Kerloi (Bretagne Plant Innovation). Des prélèvements ont été faits :

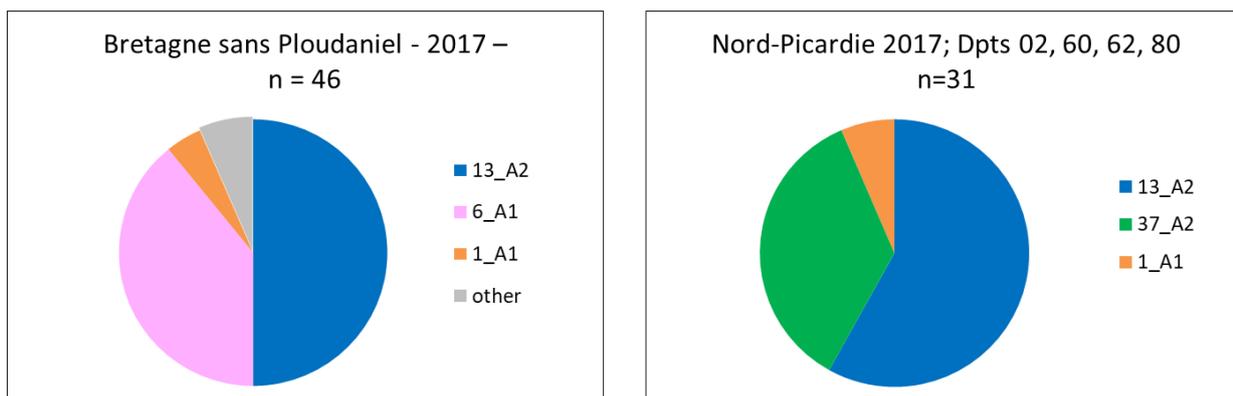
- dans l'essai de Keraiber (non traité) les 26 juin (19 isolats prélevés sur la variété sensible Bintje) et 19 Juillet (15 isolats sur des génotypes partiellement résistants). Le génotypage a montré une prédominance de la lignée EU_6_A1 (50% des isolats) lors du premier prélèvement, et de la lignée EU_13_A2 (85 % des échantillons) lors du deuxième (Figure 21).
- dans l'essai de Kerloi (quelques applications fongicides) le 19 Juillet. Les 10 isolats, prélevés sur Bintje, se sont répartis équitablement entre les lignées EU_6_A1 et EU_13_A2 (Figure 21).

Figure 21 : distribution des lignées clonales de *P. infestans* selon les génotypes hôtes et les dates de prélèvements sur les sites de Ploudaniel-Keraiber et Ploudaniel-Kerloi en 2017



Des isolats ont par ailleurs été prélevés en Bretagne et dans les Hauts de France, hors de l'essai PoTStaR, dans le cadre du projet IPMBlight 2.0. La population collectée en Bretagne était composée majoritairement des lignées EU_13_A2 (~ 50%) et EU_6_A1 (~ 40 %), le reste étant composée de lignées très minoritaires. La lignée EU_37_A2 était absente de ces échantillons. Par contre, dans les Hauts de France, la population était composée majoritairement des lignées EU_13_A2 (60 %) et EU_37_A2 (~ 35 %). La lignée EU_6_A1 n'était pas présente (Figure 22).

Figure 22 : Fréquence des principales lignées clonales de *P. infestans* en Bretagne et dans les Hauts de France en 2017 (données épidémiosurveillance, projet IPMBlight2.0).



En 2018, une nouvelle série de prélèvements a été faite dans les mêmes sites.

- Auchy les Mines : 30 cartes FTA (dont 25 ont permis un génotypage complet) ont été prélevées entre le 12 juin et le 5 septembre. Sur Bintje, les isolats 37_A2 sont majoritaires alors que la lignée EU_13_A2 est absente. Par contre, sur les hôtes résistants, on ne détecte que des isolats EU_13_A2, sauf pour 03T.9.8 qui héberge aussi des isolats EU_37_A2 et EU_6_A1.

- Villers-Saint-Christophe : 21 cartes ont donné des résultats exploitables en génotypage, à savoir 18 prélevées sur Bintje en début d'épidémie (21 juin) et trois prélevées en fin d'épidémie (10 juillet) sur le génotype 89T.122.3, (au lieu de 89T.123.3). Tous les isolats appartenaient à la lignée EU_13_A2, quel que soit le génotype hôte et la date de prélèvement. Il peut paraître surprenant de ne pas trouver d'isolats EU_37_A2 en début d'épidémie cette lignée étant présente dans la région, toutefois, 17 des 21 isolats présentaient un profil génétique strictement identique (génotype multilocus MLG_033), suggérant une source unique de contamination.

- Birac sur Trec : les 10 cartes FTA prélevées sur Bintje et les deux cartes collectées sur les génotypes résistants ont révélé la présence uniquement de la lignée EU_13_A2, et d'un seul profil génétique (MLG_039).

- Ploudaniel Kerloj: 30 cartes FTA ont été prélevées, réparties en :

- 15 sur Bintje, avec majorité de EU_13_A2, quelques EU_1_A1 et un isolat EU_39_A1. Il est étonnant de ne pas trouver de EU_6_A1 ;
- 15 sur les génotypes résistants, appartenant toutes à la lignée EU_13_A2 sauf une carte EU_6_A1 provenant du clone 03T.9.8

Onze des 25 isolats EU_13_A2 appartiennent au MLG_043.

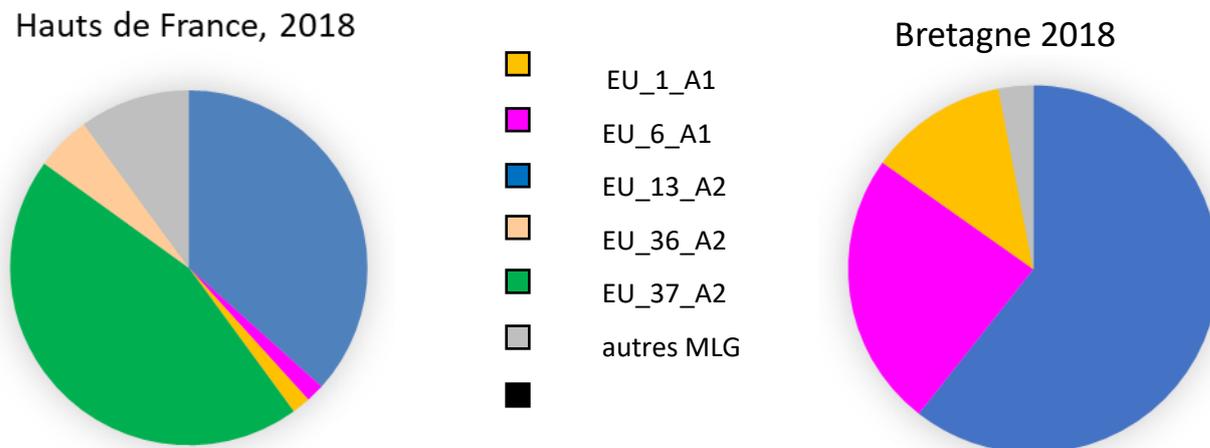
- Ploudaniel Keraiber: 56 cartes FTA ont été collectées, soit :

- 19 sur Bintje en début d'infection: 9 isolats appartenaient à la lignée clonale EU_6_A1, neuf autres à la lignée EU_13_A2, et un à la lignée EU_1_A1 ;
- 27 sur les génotypes résistants: toutes appartenaient à la lignée EU_13_A2, sauf quelques isolats EU_6_A1 provenant uniquement de l'hôte 03T.9.8 ;
- 10 sur d'autres génotypes en fin d'épidémie, avec une majorité d'isolats EU_13_A2, sauf sur Bintje, R5 et 99P.901.1 qui présentent aussi quelques isolats EU_6_A1.

Les isolats EU_13_A2 appartiennent à 13 MLGs différents, le MLG_053 étant majoritaire.

Comme en 2017, des prélèvements réalisés dans les régions où étaient implantés les essais dans le cadre du dispositif national d'épidémiologie mildiou ont montré que la population de Ploudaniel était globalement représentative de celle présente sur l'ensemble de la Bretagne, alors que celles collectées dans chacun des essais (inoculés) des Hauts de France ne reflétait que partiellement la distribution des génotypes majoritaires dans la région, même si elle comportait à chaque fois un des deux génotypes principaux (EU_37_A2 ou EU_13_A2) (Figure 23).

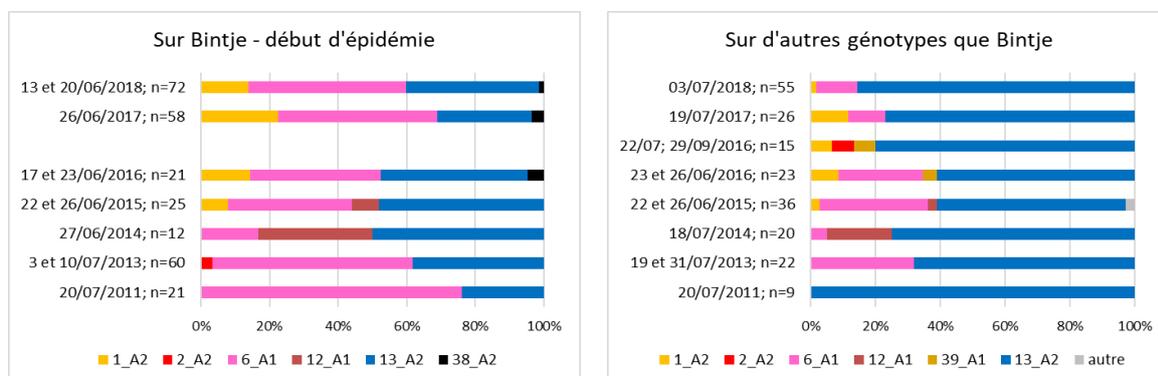
Figure 23 : Fréquence des principales lignées clonales de *P. infestans* en Bretagne et dans les Hauts de France en 2018 (données épidémiosurveillance, projet IPMBlight 2.0).



Pour résumer, les résultats de ces deux campagnes d'échantillonnage montrent donc deux résultats principaux :

- les génotypes inclus dans les essais ont bien été en contact avec toutes les principales lignées clonales présentes en France : EU_13_A2, EU_6_A1, EU_1_A1, et EU_37_A2.
- En fin d'épidémie, la lignée EU_13_A2 est majoritaire sur les génotypes résistants, sauf sur le génotype 03T.9.8 qui est aussi infecté par les lignées EU_37_A2 et EU_6_A1. Ce dernier résultat confirme une tendance observable depuis 2011 au moins sur le site de Ploudaniel (Figure 24), où la lignée EU_13_A2 est majoritaire en fin d'épidémie et sur génotypes résistants, alors que la population présente sur Bintje en début d'épidémie comporte un mélange de lignées clonales, dont EU_1_A1 et EU_6_A1 en plus de EU_13_A2.

Figure 24. Dynamique des lignées clonales sur le site de Ploudaniel au cours d'années successives (2011 à 2018), reflétant l'évolution entre la composition sur un génotype sensible (Bintje) en début d'épidémie et celle sur génotypes (souvent plus résistants) en milieu/fin d'épidémie.



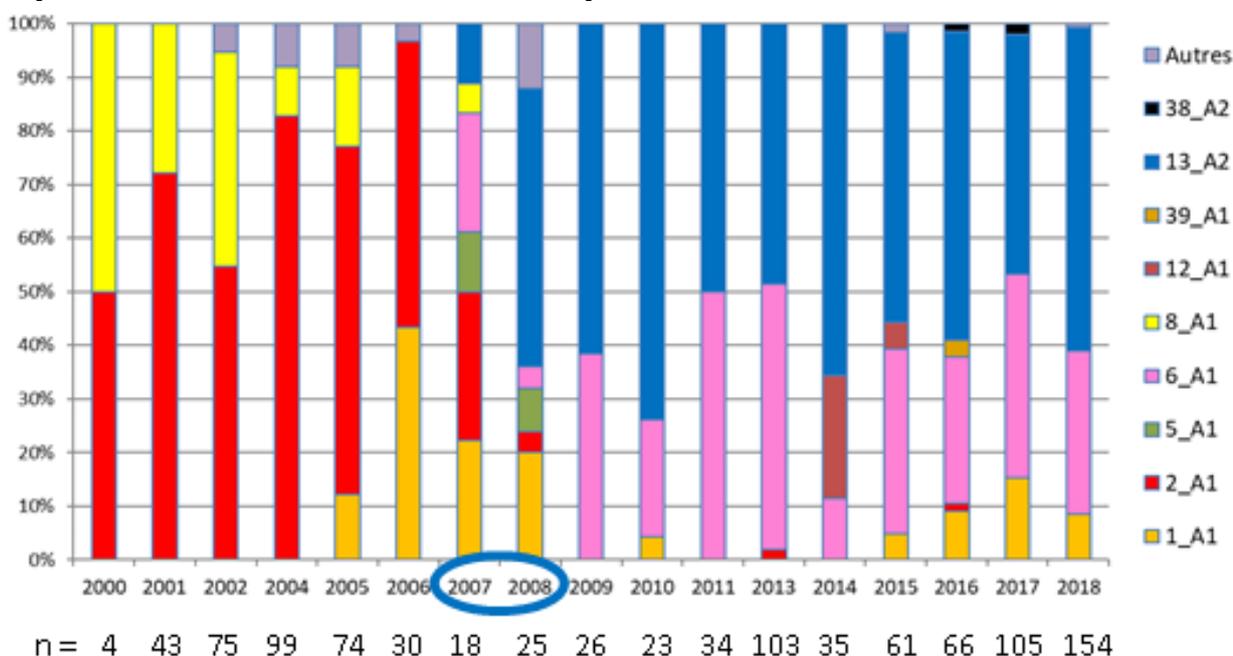
Comparaison avec les populations antérieures sur le site de Ploudaniel

Le site de Ploudaniel est celui qui est utilisé depuis de très nombreuses années pour l'évaluation des variétés de pomme de terre au catalogue variétal français. C'est donc là qu'ont été testés

historiquement les génotypes et variétés utilisés dans PotStaR. Par suite, la connaissance des populations présentes actuellement sur le site, en comparaison à celles rencontrées historiquement, est un facteur important à prendre en compte pour l'évaluation de la stabilité des résistances.

Des données de génotypage sont disponibles pour les échantillons prélevés sur ce site depuis le début des années 2000. Elles montrent un changement majeur dans la composition des populations en 2007/2008, avec la disparition rapide des lignées antérieurement dominantes (EU_1_A1 et surtout EU_2_A1, aujourd'hui totalement absente) au profit des deux lignées encore aujourd'hui majoritaires, EU_6_A1 et EU_13_A2 (Figure 25). Il est probable que ce changement rapide et durable ait eu un impact majeur sur l'évaluation variétale, en particulier du fait du grand nombre de gènes de résistance surmonté par EU_13_A2.

Figure 25. Fréquence des lignées clonales de *P. infestans* sur le site de Ploudaniel au cours d'années successives (2000 à 2018). Les prélèvements analysés proviennent majoritairement de la variété sensible Bintje.



Phénotypage des souches collectées

Les prélèvements ont été réalisés uniquement sur les essais non inoculés artificiellement (Ploudaniel Kerloï et Keraiber). Pour compléter ces prélèvements, divers isolats supplémentaires, prélevés dans les régions des essais sur plusieurs variétés de pomme de terre, ont été ajoutés à la collection. Ceci a permis en particulier de caractériser les isolats de la nouvelle lignée EU_37_A2, absents à Ploudaniel mais présents dans d'autres régions françaises. Au total, ce sont 51 isolats, choisis en fonction de leur MLG, qui ont été phénotypés : EU_1_A1 : 6 isolats; EU_6_A1 : 16 isolats; EU_13_A2 : 20 isolats; EU_37_A2 : 9 isolats ; Tableau 9).

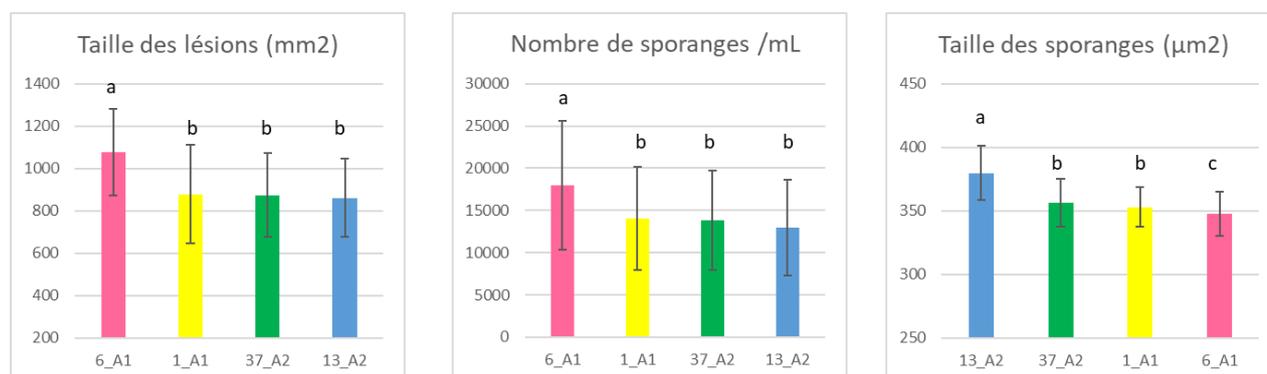
Tableau 9. Collection d'isolats retenue pour les tests de phénotypage

Lignée clonale	Multi-locus génotype	Nombre d'isolats	Origine	Total
1_A1	MLG 008	6	3 de Ploudaniel 1 ouest, 2 nord de France	6
6_A1	MLG 002 MLG 003	4 12	Ploudaniel 6 de Ploudaniel	16
13_A2	MLG 006 MLG 009 MLG 010 MLG 011 MLG 014	4 4 6 1 5	2 Bretagne, 2 dépt 91 Dépt 62 (tas de déchets) Ploudaniel Dépt 62 Ploudaniel	20
37_A2	MLG 005 MLG 025	8 1	Dépts 08, 27, 60, 62 Dépt 91	9
				51

Ces tests visent à comparer les niveaux de pouvoir pathogène (quantité de symptômes) produits par les différentes lignées et MLG sur une même variété sensible de référence. Ils sont réalisés en conditions contrôlées et calibrées, sur folioles détachés de la variété Bintje.

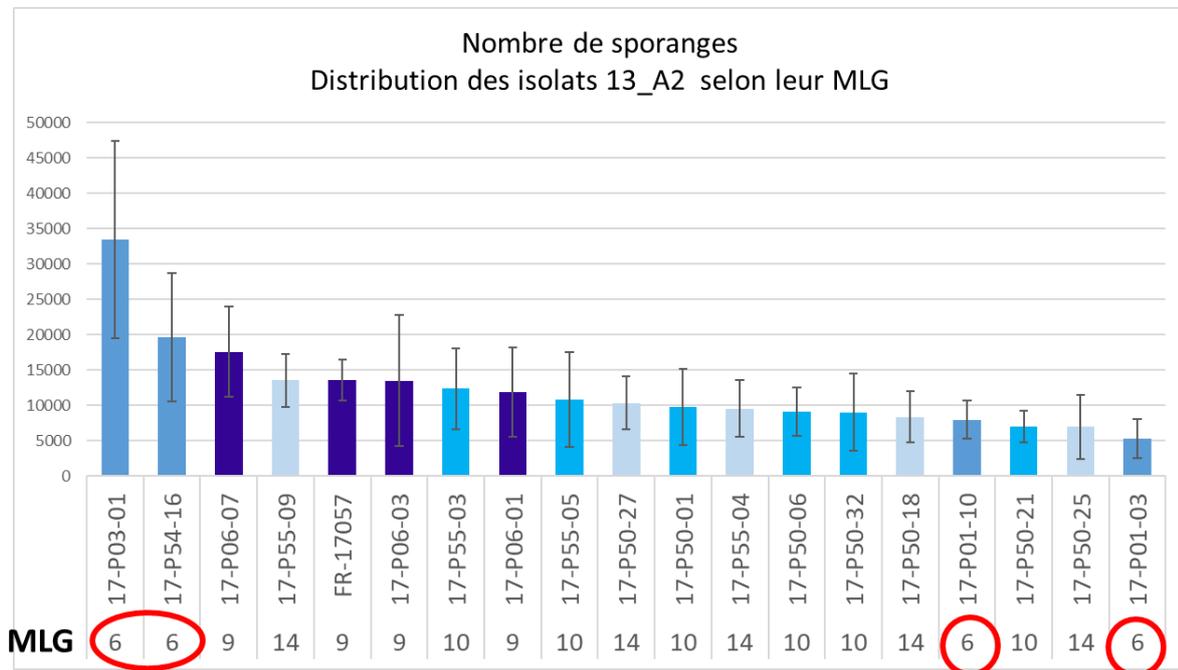
Les résultats montrent qu'en moyenne, les isolats de la lignée EU_6_A1 sont les plus agressifs (taille des lésions et nombre de sporanges plus importants). Par contre, on ne note pas de différences significatives d'agressivité entre les 3 lignées EU_1_A1, EU_13_A2 et EU_37_A2 ; toutefois, les isolats 13_A2 ont les plus gros sporanges (Figure 26).

Figure 26. Paramètres d'agressivité sur la variété sensible Bintje selon les lignées clonales de *P. infestans*. Les différences significatives entre moyennes au seuil de 5% sont signalées par des lettres différentes au-dessus des barres d'histogrammes.



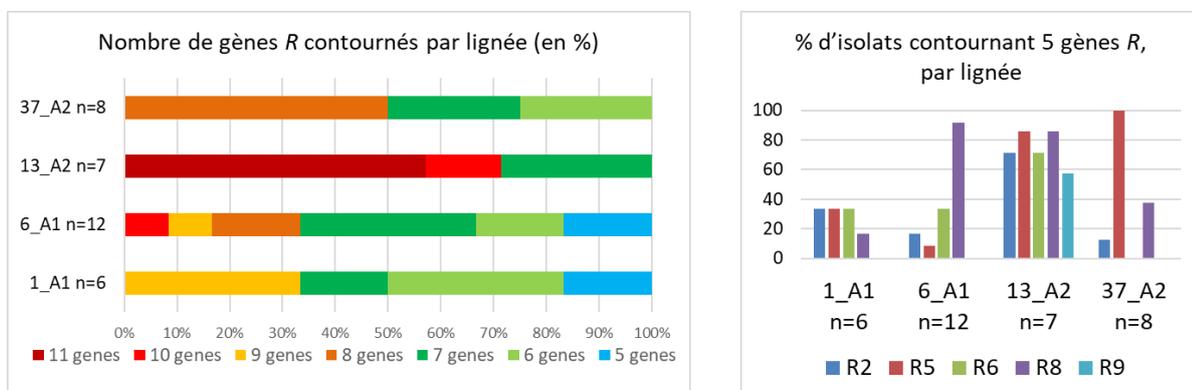
Ces effets moyens cachent toutefois une variabilité intra clonale importante entre les isolats, y compris au sein d'un même MLG (Figure 27). Par suite, l'identification génotypique ne permet pas de prédire de manière fiable le niveau d'agressivité d'un isolat donné.

Figure 27. Exemple de distribution d'un caractère d'agressivité (ici, la taille des sporanges) entre individus et groupes génotypiques d'une même lignée clonale de *P. infestans*.



Ce test vise à évaluer la capacité d'un isolat donné à surmonter ou non chacun des gènes de résistance (dits gènes R) inclus dans une gamme différentielle de clones de pomme de terre. Le protocole est voisin de celui utilisé pour le test d'agressivité, mais inclut plusieurs génotypes hôtes sur lesquels on note la présence/absence de symptôme et de reproduction du parasite. Plus de 50% des isolats EU_13_A2 contournent les 11 gènes R inclus dans la gamme différentielle. Ils sont les seuls du panel à être capables de surmonter le gène R9. Les autres lignées sont globalement moins virulentes : plus de 50% des isolats EU_37_A2 contournent 8 gènes R, alors que la majorité des isolats EU_1_A1 et EU_6_A1 contournent seulement 6 à 7 gènes R (Figure 28).

Figure 28. Nombre de gènes R contournés et fréquence de contournement de cinq gènes spécifiques selon les lignées clonales de *P. infestans*.



Toutefois, comme pour l'agressivité, il existe une variation intra-clonale et intra MLG pour les profils de virulence, qui ne peuvent donc pas être inférés de manière individuelle et non équivoque sur la seule base du génotypage SSR.

Action 3.3 : Adaptation locale des souches de mildiou à des sources de résistance partielle

Cette action, réalisée par INRAE, a pour objectif d'évaluer si les populations de mildiou peuvent s'adapter à des sources de résistance stables qui auront été identifiées au champ.

Choix des géniteurs

Suite aux résultats de caractérisation du matériel végétal inclus dans les essais (actions 1.1 et 1.2), il a été décidé de choisir des génotypes présentant une résistance stable et appartenant à chacun des deux grands clusters identifiés. Après observation des résultats des essais de 2017 et 2018, le choix s'est porté sur les génotypes partiellement résistants 89T.123. 3 (cluster 1) et 03T. 9. 8 (cluster 2). L'analyse génétique réalisée sur les géniteurs (WP2) a ensuite montré que ces deux géniteurs ne présentent pas le facteur de résistance identifié sur le chromosome 9 (Tableau 6, p24).

Composition des populations échantillonnées sur ces génotypes

Les échantillons collectés en 2018 dans les différents essais, et en 2019 sur des parcelles des deux génotypes résistants implantées à Ploudaniel (Keraiber) montrent la même tendance :

- Sur 89T.123. 3, tous les isolats prélevés appartiennent à la lignée clonale EU_13_A2 ;
- Sur 03T. 9. 8, ont été collectés des isolats EU_13_A2, EU_6_A1 et quelques EU_37_A2 (uniquement en 2018 dans les Hauts de France, cette lignée n'étant jusqu'ici pas présente en Bretagne).

Compte tenu du fort potentiel de virulence de la lignée EU_13_A2 par rapport aux autres lignées présentes en France (cf. action 3.2 ci-dessus), il est possible de supposer que le génotype 89.T.123. 3 possède un ou des gènes R supplémentaires, non surmontés par les lignées EU_6_A1 et EU_37_A2 mais contournés par des isolats EU_13_A2, par rapport au génotype 03T. 9. 8.

Caractéristiques biologiques comparées des lignées clonales sur ces 2 génotypes résistants et sur Bintje

Six lignées clonales ont été testées : EU_1_A1, EU_6_A1, EU_13_A2 (2), EU_36_A2, EU_37_A2 et EU_41_A2, à raison d'un isolat par lignée sauf pour EU_13_A2. Ont été incluses dans le panel d'isolats des représentants des lignées EU_36_A2 (émergente en France et en Europe de l'Ouest depuis 2016 / 2017) et EU_41_A2, émergente en Europe du Nord mais non présente en France à ce jour. Chaque isolat a été inoculé sur 6 folioles de chacun des 3 génotypes. La période de latence (temps entre l'inoculation et l'apparition des premiers sporanges) a été observée, puis la taille de la lésion et la sporulation (nombre total de sporanges) ont été mesurées 5 jours après inoculation. La capacité de sporulation (nombre de spores par mm² de lésion) a alors pu être calculée.

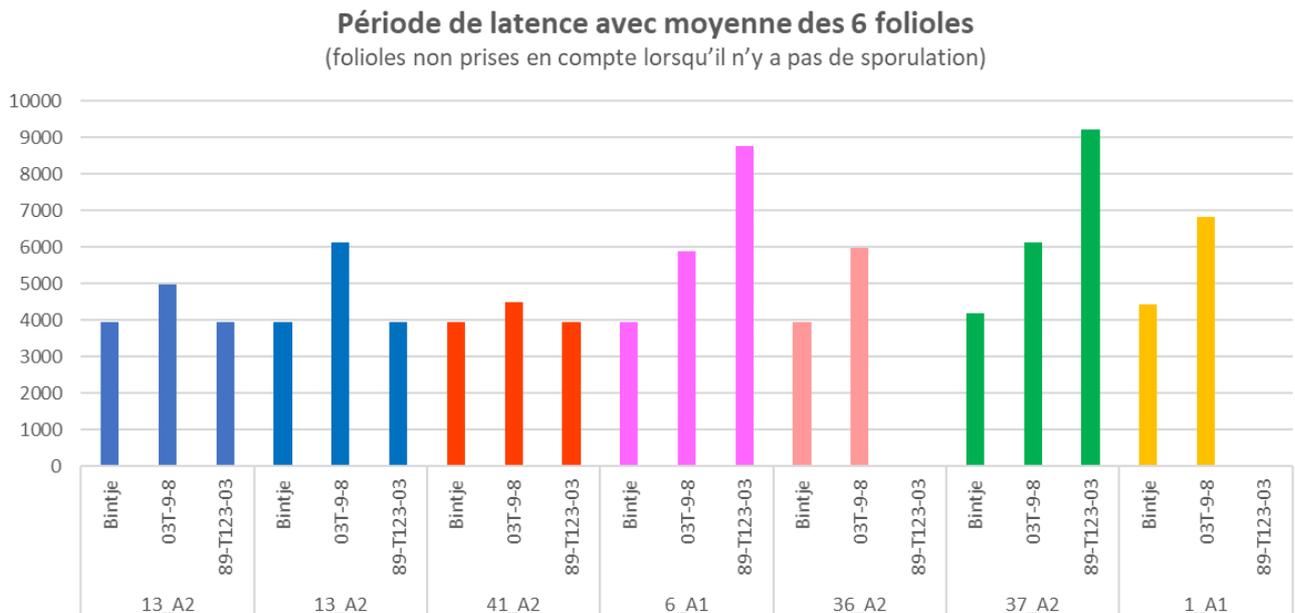
Tous les isolats ont une période de latence identique sur Bintje. Par contre, leur comportement pour ce caractère est différent sur les 2 génotypes résistants (Figure 29) :

- Sur 03T. 9. 8, la sporulation est retardée par rapport à celle sur Bintje pour l'ensemble des isolats, avec des retards plus ou moins importants selon les lignées.

- Sur 89T.123. 3, on observe 3 types de comportements:

- soit une période de latence identique à celle sur Bintje (lignées EU_13_A2 et EU_41_A2) ;
- soit un début de sporulation très retardé (lignées EU_6_A1 et EU_37_A2) ;
- soit une absence totale de sporulation 7 jours après inoculation (lignées EU_1_A1 et EU_36_A2).

Figure 29. Période de latence moyenne d'isolats de différentes lignées clones de *P. infestans* sur trois génotypes de pomme de terre : Bintje (sensible), 03T. 9. 8 et 89T.123. 03 (partiellement résistants).

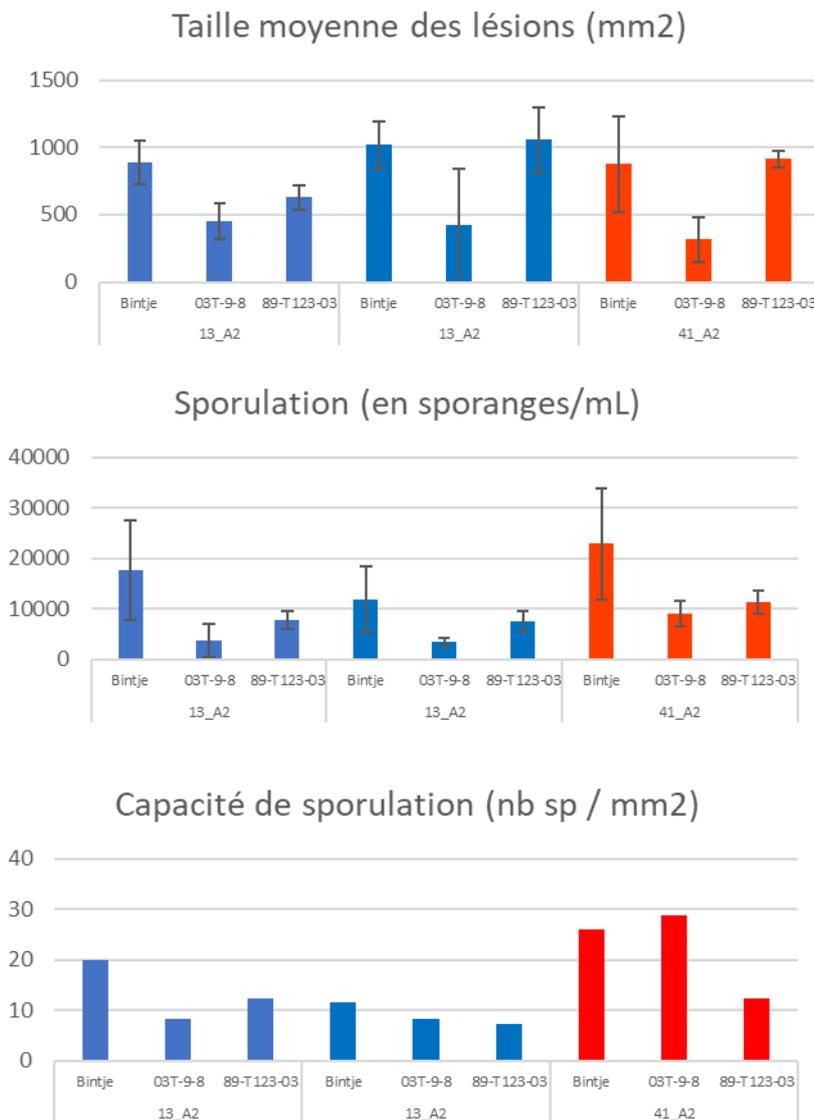


L'analyse des tailles de lésions et de sporulations n'ont pu être réalisées que sur les lignées EU_13_A2 et EU_41_A2 (Figure 30), le retard ou l'absence de développement des autres lignées ne permettant pas d'obtenir des résultats exploitables.

- Sur 03T. 9. 8, on observe une diminution de la taille des lésions et de la sporulation totale, par rapport à Bintje, pour les 2 lignées. Mais ces résultats sont sans doute biaisés par la différence de période de latence.

- Sur 89T.123. 3, la taille des lésions est équivalente à celle sur Bintje, mais la sporulation et la capacité de sporulation sont moins importantes. La lignée EU_41_A2 semble plus sporulante que la lignée EU_13_A2.

Figure 30. Comparaison de paramètres d'agressivité sur trois génotypes de pomme de terre (Bintje, sensible ; 03T. 9. 8 et 89T.123. 03, partiellement résistants), d'isolats de *P. infestans* appartenant aux lignées clonales EU_13_A2 (bleu) ou EU_41_A2 (rouge). Sont figurées les valeurs moyennes (6 répétitions par isolat) des tailles de lésion à 5 jours, nombre de sporanges produits, et capacité de sporulation (nombre de sporange par cm² de lésion).



En conclusion, l'ensemble de ces résultats suggère donc :

- Des différences majeures des modes d'action des résistances, entre génotypes et entre lignées ;
- Des comportements différentiels en termes de potentiel d'adaptation, qu'il conviendrait à l'avenir d'approfondir avec un échantillonnage plus important de souches.

Conclusions et Perspectives

Le profil épidémique des différents essais réalisés dans le cadre du projet a pu être déterminé, ainsi que ceux des essais réalisés antérieurement sur le site de Ploudaniel. La mise en relation de ces profils épidémiques avec les niveaux de résistance n'a pas permis de définir des seuils de

pois de contamination pour le déclenchement du premier traitement selon les différents niveaux de résistance. Cependant, les données générées dans ce projet pourront être intégrées à des données complémentaires issues d'études à venir et ré-analysées avec la nouvelle version de Mileos®, qui permet de mieux évaluer les risques épidémiques en conditions océaniques, dans un objectif d'amélioration de la prise en compte de la résistance variétale au mildiou dans cet OAD.

D'autre part, les résultats de ce projet montrent que le dispositif mis en place a permis d'exposer au champ les géniteurs du panel INRAE aux lignées clonales actuelles majeures et a permis une caractérisation approfondie des traits phénotypiques des différentes lignées clonales. Des différences nettes de modes d'action des résistances ont été mises en évidence entre les géniteurs et entre les lignées clonales de mildiou et les lignées clonales présentent des comportements différentiels en termes de potentiel d'adaptation. Ainsi, nous disposons des outils pour évaluer la stabilité des résistances et avons identifié différents types de profils de ces résistances stables. Ces études doivent être poursuivies pour comprendre l'impact de certains traits d'histoire de vie du pathogène et approfondir les dynamiques d'adaptation des isolats face à ces différents types de résistance.

- indicateurs de suivi
- indicateurs de résultats
- indiquer le pourcentage de réalisation des actions

	Indicateurs de suivi	Réalisation	Indicateurs d'évaluation	Réalisation
WP 1.1 et 1.2 Phénotypage	- Tableau de données de phénotypage	100% Les expérimentations ont bien été réalisées sur tous les sites prévus au cours des 2 années.	- Présence de génotypes résistants et sensibles	100% Les essais ont permis d'identifier des génotypes résistants et des génotypes sensibles.
	- Fichiers de sortie des analyses statistiques	100% Les données de phénotypage ont été analysées année par année. Une analyse globale pourrait encore être réalisée.	- Variabilité des caractères mesurés	100% Les génotypes présentent une grande variabilité pour les variables calculées à partir des notations de sévérité de la maladie.
WP 1.3 Recensement et analyse des données antérieures de phénotypage mildiou	- Tableau de données de phénotypage	100% Les données de phénotypage antérieur ont bien été collectées et compilées dans un tableau commun.	- Présence de données de sévérité de maladie sur au moins deux ans	100% Les génotypes issus du programme de résistance au mildiou présentent bien des données de sévérité de maladie sur au moins 2 ans.
WP 2.1 Analyses de génétique d'association	- Fichiers de sortie d'analyse de structuration	100% L'analyse de structuration de la collection de géniteurs étudiée a bien été réalisée.	- Significativité des marqueurs	100% Des marqueurs significativement associés à la résistance au mildiou ont bien été identifiés.
	- Liste de marqueurs associés à la résistance selon les sites	100% Une analyse GWAS a été réalisée site par site, permettant d'identifier des marqueurs associés à la résistance sur chaque site.		
	- Liste de zones communes impliquées dans la résistance au mildiou	100% Les zones communes impliquées dans la résistance ont été identifiées d'une part en comparant les résultats des analyses GWAS site par site et d'autre part en réalisant une analyse GWAS à partir de BLUPs.		
WP 2.2 Comparaison des zones identifiées	- Liste de zones communes	100% Des marqueurs communs ont été identifiés entre les deux panels d'association	- Significativité des marqueurs	100% Des marqueurs communs, significativement associés à la résistance au mildiou ont bien été identifiés.

	Indicateurs de suivi	Réalisation	Indicateurs d'évaluation	Réalisation
WP 3.1 Analyse des données climatologiques	- Tableau de données climatologiques - Valeurs de risques infectieux	100% Les données climatologiques des différents sites expérimentaux ont bien été collectées 100% Les données climatologiques étaient bien disponibles sur 24 ans mais les données biologiques sur 23 ans pour l'ensemble des 5 variétés d'où l'analyse sur 23 ans au final.	- Variabilité selon les sites	100% Les données météorologiques ont bien permis de caractériser la variabilité entre les différents sites ainsi, qu'entre les 2 années.
WP 3.2 Caractérisation des souches actuelles de mildiou et comparaison avec les populations antérieures	- Isolats collectés - Profils SSR disponibles - Mesure des variables biologiques effective sur Bintje - Données de phénotypage antérieur	100% Dans le projet, il était prévu de réaliser cette collecte d'isolats uniquement la 1ère année. Des isolats vivants n'ont été collectés que dans les essais dans lesquels l'inoculation était naturelle (2 essais sur 5). Toutefois, dans les essais qui ont été inoculés artificiellement, des isolats ont été prélevés sous forme de cartes FTA. De plus, des prélèvements d'isolats sous forme de cartes FTA ont aussi été réalisés dans les essais de la 2ème année. 100% Les profils SSR ont été réalisés sur les isolats collectés. 100% Les isolats vivants prélevés dans les essais ont été phénotypés, ainsi que des isolats prélevés hors essai mais dans les régions dans lesquelles ces essais ont été conduits. 100% L'évolution de la fréquence des lignées clonales prélevées sur le site de Ploudaniel a été analysée.	- Polymorphisme entre les isolats	100% Du polymorphisme génotypique et phénotypique a été observé entre les différents isolats collectés sur les différents sites et selon le génotype sur lequel ces isolats ont été prélevés.
WP 3.3 Adaptation locale des souches de mildiou à des sources de résistance partielle	- Deux clones résistants choisis - Isolats collectés - Profils SSR disponibles - Mesure des variables biologiques effective sur Bintje et deux génotypes à résistance partielle	100% Les deux clones ont été choisis en tenant compte des données de phénotypage des 2 années d'essai. 100% Des isolats ont bien été prélevés sur les 2 génotypes résistants et sur Bintje. 100% Le génotypage des isolats collectés a bien été réalisé. 100% Le phénotypage d'isolats représentatifs des principales lignées clonales sur les trois génotypes a bien été réalisé.	- Tests des hypothèses d'adaptation locale	100% Des différences significatives entre isolats et variétés pour différents traits de pouvoir pathogène (en particulier la période de latence, la taille des lésions et la production de spores) ont été observées et reliées (au moins pour certaines d'entre elles) au développement épidémique au champ.
WP 4 Coordination	- Compte-rendus de réunion - Rédaction de rapports	100% Un compte-rendu de chaque réunion a été rédigé. 100% Un rapport intermédiaire et un rapport final ont été rédigés.	- Projets de publications et de communication	100% Les résultats obtenus ont été présentés sous forme de communications orales ou de posters

Bibliographie

- Andrivon *et al.*, 2006, American Journal of Potato Research. 2006. Vol. 83, n° 6, pp. 455-461
- Bradshaw *et al.*, 2006 ; Theoretical and Applied Genetics. Vol. 112, n° 4, pp. 744-751
- Dowley *et al.*, 1999, Potato research, Vol 42, N°1, pp 107-111.
- Draffehn *et al.* , 2013, Frontiers in Plant Science. Vol. 4.
- El-Kharbotly *et al.*, 1994 ; MGG Molecular & General Genetics. Vol. 242, n° 6
- Evanno *et al.* , 2005, Molecular Ecology. 2005. Vol. 14, n° 8, pp. 2611-2620
- Fry, 2008, Molecular Plant Pathology. 2008. Vol. 9, n° 3, pp. 385-402
- Hamilton *et al.*, 2011, BMC Genomics. 2011. Vol. 12, n° 1
- Huang *et al.* 2004 ; Molecular Plant-Microbe Interactions. Vol. 17, n° 4, pp. 428-435
- Jo *et al.* 2011 ; Theoretical and Applied Genetics. Vol. 123, n° 8, pp. 1331-1340
- Jo *et al.*, 2015, Theoretical and Applied Genetics. Vol. 128, n° 5, pp. 931-941
- Jupe *et al.*, 2013, Plant journal, Vol 76, N°3, pp 530-544
- Leonards-Schippers *et al.*, 1992; MGG Molecular & General Genetics. Vol. 233, n° 1-2, pp. 278-283
- Lindqvist-Kreuze *et al.*, 2014, Phytopathology. Vol. 104, n° 6, pp. 624-633
- Marhadour *et al.*, 2011, 18th Triennial EAPR Conference, Finlande
- Marhadour *et al.*, 2014, 19th Triennial EAPR Conference, Belgique
- Mosquera *et al.*, 2016, PLOS ONE. 2016. Vol. 11, n° 6
- Muktar *et al.* ; 2015, Frontiers in Genetics. Vol. 6
- Park *et al.*, 2005, Molecular Plant-Microbe Interactions. Vol. 18, n° 7, pp. 722-729
- Petersen R. G., 1985, Rachis, Vol. 4, pp 27-32
- Pritchard *et al.*, 2000, Genotype Data. pp. 15
- Rosyara *et al.*, 2016, The Plant Genome. Vol. 9, n° 2
- Schmitz Carley *et al.*, 2017, Theoretical and Applied Genetics. Vol. 130, n° 4, pp. 717-726
- Sharma *et al.*, 2013, G3 Genes|Genomes|Genetics. Vol. 3, n° 11, pp. 2031-2047
- Sharma *et al.*, 2018, G3 Genes|Genomes|Genetics. Vol. 8, n° 10, pp. 3185-3202
- Storey *et al.*, 2003, PNAS, Vol. 100, n° 16, pp. 9440-9445
- Tomczyńska *et al.*, 2014, Theoretical and Applied Genetics. Vol. 127, n° 3, pp. 647-657
- Visker *et al.*, 2003 ; Theoretical and Applied Genetics. Vol. 106, n° 2, pp. 317-325
- Voorrips *et al.*, 2011, BMC Bioinformatics. Vol. 12, n° 1

IV - Les modalités de valorisation du projet

- les différents modes de diffusions, les diffusions, le public concerné (données chiffrées si possible)
- exploitation et valorisation des résultats, de l'expérience acquise
- les transferts prévus
- indiquer si un site Internet ou une base de données a été réalisé nom, modalités d'accès, et perspectives de développement et maintien
- modules de formations éventuels et OAD : préciser les conditions dans lesquelles ces transferts pourront être réalisés (dates, publics, modèle économique, gratuité...)
- valorisation européenne ou internationale

Les résultats de ce projet sont consultables sur le site de l'UMR IGEPP :
<https://www6.rennes.inrae.fr/igepp/Equipes-de-recherche/Biodiversite-et-Polyploidie/Projets/PoTStaR>

Actions de communication :

Le projet a été présenté sous forme d'un poster par Arvalis lors des 4e Rendez-vous techniques de Villers en 2018 : Projet PoTStaR – Stabilité des résistances au mildiou de la pomme de terre et identification de marqueurs associés. (Poster en Annexe 6) Ces journées, à destination des producteurs et de tous les acteurs de la filière pomme de terre, sont l'occasion de présenter les avancées techniques en matière de culture de la pomme de terre.

Les résultats du projet ont fait l'objet de présentations sous forme de posters lors de deux congrès internationaux :

- Esnault F, Le Bot M, Pellé R, Kermarrec MP, Abiven JM, Aurousseau F, Chatot C, Gravouille JM, Dubreuil H, Marhadour S, Chauvin JE (2018) Multi-site evaluation for resistance to late blight of a collection of INRA improved breeding lines. 19th joint Meeting EAPR Breeding and Varietal Assessment and EUCARPIA Section Potatoes, Rostock-Warnemünde, Germany, December 3rd – 6th. (Poster en Annexe 7)

- Mabon R., Guibert M., Esnault F., Pellé R., Chatot C., Saubeau G., Aurousseau F., Dewaegeneire P., Corbière R., Andrivon D., 2019. Structure and dynamics of *Phytophthora infestans* clonal populations as related to potato resistance. 17th EuroBlight Workshop, York, UK, 12-15 May 2019 (Poster en Annexe 8)

Certains résultats ont également été présentés sous forme d'une communication orale lors du 3ème Carrefour Plants de Pomme de terre organisé par l'Unité Mixte Technologique (UMT) InnoPlant² à Paris et en visioconférence en octobre 2020 (<https://www.umd-innoplant.fr/Communication-Diffusion/Carrefour-2020>) :

- Pellé R, Kermarrec MP, Bousseau M, Cann MP, Abiven JM, Aurousseau F, Chatot C, Gravouille JM, Dubreuil H, Marhadour S, Chauvin JE, Esnault F (2020) Stabilité des résistances au mildiou de la pomme de terre (Projet PoTStaR). 3ème Carrefour Plants de Pomme de terre 'Vers une pomme de terre sans phyto?', 14-15 octobre 2020, Paris.

Ce Carrefour a permis de réunir (en présence ou en visioconférence) les différents acteurs de la filière: pouvoirs publics, chercheurs, sélectionneurs, prescripteurs, collecteurs, producteurs de plants, producteurs de pomme de terre de consommation, transformateurs, consommateurs. Ce Carrefour a été suivi par plus de 160 personnes.

Les résultats présentés à ce Carrefour ont fait l'objet d'un article rédigé par Dorothée Bourget (2021) : Projet PoTStaR : stabilité des résistances variétales au mildiou. Potato Planet, N°86, p60-61.

Une communication orale a également été réalisée lors d'un Euroblight Zoom technical meeting en 2021 :

- Mabon R, Guibert M., Corbière R., Esnault F., Pellé R., Andrivon D., 2021. *Phytophthora* clones and resistant cultivars : phenotypes and selection. EuroBlight Zoom technical meetings, 16 March 2021.

Il est également prévu de présenter les résultats de l'analyse de stabilité de la résistance sous forme de poster lors du 21st triennial EAPR conference en Juillet 2021 en Pologne (un résumé a été soumis) :

- Pellé R, Picard C, Kermarrec MP, Bousseau M, Cann MP, Mabon R, Corbière R, Abiven JM, Aourousseau F, Chatot C, Gravoueille JM, Dubreuil H, Marhadour S, Andrivon D, Esnault F, 2021. Phenotypic stability of late blight resistance in potato advanced genotypes. 21st EAPR Triennial Conference, July 2021, Poland.

Formation de stagiaires:

Morgan Jegou (2017) Suivi de la résistance d'anciens génotypes de pomme de terre résistants au Mildiou et évaluation de la résistance de génotypes non sélectionnés pour la résistance à ce pathogène. DUT Génie Biologique/option Agronomie (IUT de Brest)

Arthur Jarjanette (2018) Etude de la résistance génétique de variétés de pommes de terre face au mildiou (*Phytophthora infestans*)' DUT, Génie Biologique/option Agronomie (IUT de Périgueux)

Boubacar Diouf (2018) Contribution à la proposition de nouveaux seuils de déclenchement des traitements permettant la valorisation des résistances variétales au mildiou de la pomme de terre par l'OAD Mileos®. Master 2 Production des agro-ressources et développement durable (Université de Reims-Champagne-Ardennes)

Marion Le Bot (2018) Evaluation multi-sites d'une collection de géniteurs améliorés de pomme de terre pour la résistance au mildiou. Master 1 (Université d'Angers, Mention Biologie Végétale)

Corentin Picard (2019) Etude de la durabilité dans le temps de la résistance de la pomme de terre à *Phytophthora infestans*. DUT Génie Biologique/option Agronomie (IUT de Brest)

Nadège Le Garrec (2019) Identification de marqueurs associés à une résistance stable au mildiou de la pomme de terre par génétique d'association. Master 2 (Master Biologie, Agrosiences, Agrocampus Ouest).

Valorisation des résultats :

Ce projet a permis d'identifier des géniteurs améliorés qui présentent un bon niveau de résistance au mildiou, et une résistance stable dans l'espace et dans le temps. Ces géniteurs ont déjà été proposés aux sélectionneurs français de variétés de pomme de terre, réunis au sein de l'Association des Créateurs de Variétés Nouvelles de Pomme de Terre (ACVNPT). Intégrés dans leurs programmes de création variétale, ces géniteurs pourront être à l'origine de variétés présentant un bon niveau de résistance stable au mildiou, permettant ainsi aux agriculteurs de réduire l'application de fongicides sur les cultures de pomme de terre.

De plus, ce projet a permis d'identifier des marqueurs moléculaires associés à plusieurs facteurs génétiques de résistance au mildiou. Certains de ces marqueurs peuvent déjà être utilisés par les sélectionneurs pour accélérer la sélection des génotypes porteurs de ces résistances car ils se sont révélés pertinents dans leur matériel de sélection. D'autres marqueurs demandent à être validés en réalisant des analyses statistiques complémentaires ou en les testant sur d'autre matériel végétal (populations de cartographie disponibles, collection de géniteurs améliorés). Nous

avons aussi caractérisé la présence de facteurs de résistance différents de ceux localisé(s) sur le chromosome 9 dans le panel INRAE. Ceci permet d'envisager un certain niveau de diversification des sources de résistance au mildiou.

Les données acquises dans ce projet sur les géniteurs, sur les souches de mildiou et sur la climatologie des essais constituent un jeu de données d'un grand intérêt sur lequel pourront s'appuyer de futurs projets de recherche.

D'autre part, des valorisations sous forme de publications dans des revues à comité de lecture sont envisagées :

- une publication qui ferait le lien entre les données de phénotypage au champ avec les données épidémiques des populations de mildiou. Cet article pourrait également présenter les résultats des inoculations réalisées en conditions contrôlées sur les 2 géotypes partiellement résistants et sur Bintje avec la gamme des isolats.

- une publication présentant les résultats de l'analyse d'association

Ces deux projets de publication doivent encore être discutés entre les partenaires afin de préciser leur contenu et de s'organiser sur leur rédaction.

V – Les perspectives

- les points forts et les points faibles du projet
- les difficultés rencontrées
- les suites envisagées
- les modalités envisagées pour pouvoir analyser l'impact du projet sur les différents publics cibles à court et moyen terme

Les points forts de ce projet sont :

- l'appui d'un réseau de partenaires permettant de réaliser une expérimentation multi-sites
- l'association de deux approches complémentaires : une démarche de génétique d'association exploitant des données de phénotypage et des données de génotypage côté plante ; une analyse de la structure génétique et phénotypique des populations de mildiou côté pathogène
- la production d'un jeu de données plante / pathogène / climatologie très intéressant, qui pourra être exploité dans d'autres projets
- les expérimentations ont porté sur un panel de géniteurs améliorés qui ont déjà été proposés aux sélectionneurs français et donc déjà intégrés dans leurs programmes de croisement. Ils pourront ainsi exploiter plus rapidement les résultats de ce projet.
- l'intérêt des marqueurs associés à la résistance identifiés dans le panel INRAE a pu être analysé dans un panel plus représentatif du matériel moderne de sélection

Les points faibles de ce projet sont :

- une climatologie pas toujours favorable au développement du mildiou, alors que le projet ne prévoit que 2 années d'expérimentation
- durée trop courte pour pouvoir valider les marqueurs identifiés

Les difficultés rencontrées ont été les suivantes :

- les conditions météorologiques de 2017 (première année d'essai) n'ont pas été favorables à l'épidémie. Toutefois les deux essais conduits en Bretagne ont présenté une bonne progression de la maladie, en conditions d'inoculation naturelle, et avec irrigation pour l'essai conduit à INRAE. Par contre les essais conduits à Villers-Saint-Christophe, Auchy-les-Mines et Birac-sur-Trec ont dû être inoculés artificiellement avec des souches présentes localement au cours de la saison

précédente et apport d'irrigation pour deux d'entre eux. Ainsi, le prélèvement de souches de mildiou initialement prévu sur les essais n'a pas été réalisé sur les essais inoculés artificiellement.

- Les résultats de la première année d'essai devaient nous permettre de choisir deux génotypes présentant une résistance stable sur lesquels conduire une analyse de l'adaptation des souches de mildiou à ces résistances. Du fait des conditions climatiques particulières de cette première année d'essai, nous avons réalisé qu'il était préférable de baser ce choix sur 2 années d'expérimentation plutôt que sur une seule. Nous avons donc souhaité décaler d'une année cette action et avons demandé une prolongation du projet de 6 mois.

- les conditions météorologiques de 2018 (deuxième année d'essai) ont permis un très bon démarrage de l'épidémie. Mais la pression du mildiou a ensuite fortement chuté en raison de températures élevées, surtout dans les essais hors Bretagne, conduisant à un arrêt précoce de la progression de la maladie. Ainsi, l'essai conduit à Auchy-les-Mines a été peu discriminant.

- les résultats d'évaluation de la taille des lésions et du niveau de sporulation des différentes lignées clonales de mildiou doivent être analysés avec précaution car ils doivent tenir compte de la différence de la période de latence observée selon le génotype sur lequel est réalisé l'inoculation.

- les tests d'agressivité des isolats prélevés en 2019 sur les 2 génotypes partiellement résistants, initialement prévus en 2020, n'ont pas pu être réalisés en raison de la crise sanitaire. Toutefois, en 2019, des tests d'agressivité sur Bintje et sur les 2 génotypes partiellement résistants d'une gamme d'isolats a été réalisée (non prévue initialement dans le projet), permettant de mettre en évidence des différences de comportement de ces deux géniteurs.

- la présence d'un facteur génétique à effet fort sur le chromosome 9 a probablement masqué d'autres facteurs génétiques à effet plus faible. Cette difficulté a été contournée en partie en mettant ces facteurs à effet fort en covariable dans les modèles d'analyse d'association ou en réalisant de nouvelles analyses sur un panel excluant les génotypes qui possèdent ces facteurs génétiques.

- les données de génotypage proviennent de l'utilisation d'une puce SNP qui a été définie à partir de données RNAseq de 3 variétés américaines (Atlantic, Premier Russet et Snowden) et de séquençage d'ESTs de 3 autres variétés (Bintje, Kennebec et Shepody). Ce sont 6 variétés sensibles au mildiou. Les SNPs identifiés dans ce projet ne sont donc pas spécifiques des haplotypes résistants (ascertainment bias) et la puce ne couvre sans doute pas la diversité haplotypique de tous les facteurs de résistance présents dans le panel INRAE.

Les suites envisagées

Les données acquises dans ce projet sur les géniteurs, sur les souches de mildiou et sur la climatologie des essais constituent un jeu de données sur lequel de futurs projets de recherche pourront s'appuyer.

Ainsi, les analyses de génétique d'association seront poursuivies afin de valider les SNPs identifiés et développer des marqueurs utilisables en Sélection Assistée par Marqueurs. Nous disposons de descendances de cartographie et d'autres panels de géniteurs qui constituent un matériel intéressant pour ce travail. D'autre part, dans le cadre du projet européen G2P-Sol, des données de génotypage par séquençage sont en cours d'acquisition sur le panel étudié dans ce projet. Ce nouveau jeu de données permettra d'affiner les régions génomiques identifiées, d'identifier des SNPs haplotype spécifiques et/ou des haplotypes, d'identifier de nouveaux facteurs de résistance. Il est envisagé de poursuivre ces travaux via une thèse qui pourrait être financée par un des partenaires de ce projet, l'ACVNPT. Une réflexion sera conduite prochainement pour définir précisément le sujet de cette thèse.

Une réflexion sera également conduite sur la possibilité d'utiliser les données historiques de phénotypage dans une analyse d'association afin d'identifier les facteurs associés à une résistance stable dans le temps.

D'autre part, l'analyse des données de phénotypage va être poursuivie afin de comparer le comportement des géniteurs entre les essais conduits sans traitement fongicide et ceux en conditions de couverture fongicide partielle : Ces analyses permettront de déterminer si l'expression de certaines résistances partielles est plus forte ou si de nouvelles résistances partielles s'expriment lorsque la pression de l'épidémie est moins forte.

Un des intérêts de ce projet était la mise en œuvre de phénotypage et génotypage de la plante et du pathogène conjointement. Nous devons maintenant faire le lien entre ces deux jeux de données afin d'analyser l'instabilité des résistances et l'efficacité du locus majeur mis en évidence sur le chromosome 9 face aux caractéristiques des souches de mildiou en présence dans les différents lieux d'essai.

La mise en évidence de différents modes d'action des résistances et de comportements différents des lignées clonales en termes d'adaptation sont des premiers résultats qu'il faut approfondir pour comprendre l'impact de certains traits d'histoire de vie du pathogène et les dynamiques d'adaptation des isolats face à ces différents types de résistance. Nous devons répondre à de nouveaux appels d'offre pour financer ces travaux.

Par ailleurs, les données de phénotypage disponibles sur le panel de géniteurs INRAE (données historiques et données acquises au cours du projet) ont commencé à être exploitées dans le cadre du projet européen Organic Plus pour analyser les dynamiques épidémiques sur les différents géniteurs et témoins.

Ce travail a été réalisé dans le cadre du stage de Hugo Hervé (3^{ème} année ENSAI, avril à septembre 2020) encadré par Melen Leclerc. Des modèles de régression non-linéaires mixtes ont été développés pour décrire les épidémies de mildiou et quantifier la variabilité interannuelle. Le modèle de croissance épidémique utilisé correspond à un modèle logistique à trois paramètres qui caractérisent : le niveau de destruction du feuillage maximal (asymptote), la date à laquelle se trouve le point d'inflexion de la courbe épidémique, et la vitesse/pente de l'épidémie. En ajustant des modèles avec ou sans effets aléatoires, il est ainsi possible de caractériser le comportement des géniteurs/variétés sur plusieurs années mais aussi de calculer une aire sous la courbe (AUDPC) de manière standardisée en intégrant la courbe épidémique ajustée entre deux bornes temporelles. La suite de ce travail consistera à intégrer l'effet du climat et de la composition de l'inoculum sur les paramètres épidémiologiques afin de mieux quantifier l'effet de la plante hôte (résistance qualitative et quantitative). Les paramètres estimés et les AUDPC calculés à partir du modèle de régression peuvent également servir pour nourrir les analyses génétiques. La seconde perspective consistera donc à estimer les paramètres du modèle logistique (sans effet aléatoire) pour chaque géniteur du panel étudié dans le projet PoTStaR. Les paramètres du modèle et les nouvelles AUDPC seront utilisés dans de nouvelles analyses de génétique d'association dont les résultats seront comparés à ceux obtenus par la méthode de phénotypage utilisée dans le projet PoTStaR afin d'évaluer l'apport de la modélisation épidémiologique pour identifier des facteurs de résistance autres que des gènes R.

Il est également envisagé de poursuivre le développement de l'OAD Mileos® dans un objectif d'amélioration de la prise en compte de la résistance variétale au mildiou dans la définition des seuils de déclenchement du premier traitement fongicide.

Enfin, nous effectuerons un criblage des ressources génétiques maintenues au sein du CRB BrACySol avec les marqueurs identifiés dans ce projet (et en particulier ceux du chromosome 9) afin de connaître quels facteurs de résistance sont présents dans nos ressources et à quelle fréquence. Cette information est importante pour évaluer la diversité des facteurs de résistance que nous mettons à disposition des sélectionneurs.

Les modalités envisagées pour pouvoir analyser l'impact du projet sur les différents publics cibles à court et moyen terme

L'impact du projet pourra être analysé en assurant un suivi:

- des variétés résistantes créées à partir des géniteurs du panel INRAE et inscrites au catalogue
- des surfaces cultivées de ces variétés
- de la baisse d'application de produits fongicides sur la culture de ces variétés
- de l'utilisation des marqueurs identifiés dans le projet pour la création de variétés résistantes

Annexes

Les annexes suivantes sont à joindre :

- Compte-rendus des comités de pilotage
- Les principaux livrables
- Publications réalisées dans le cadre du projet (articles scientifiques, articles techniques,...)
- Autres supports de communications mentionnant les résultats des projets

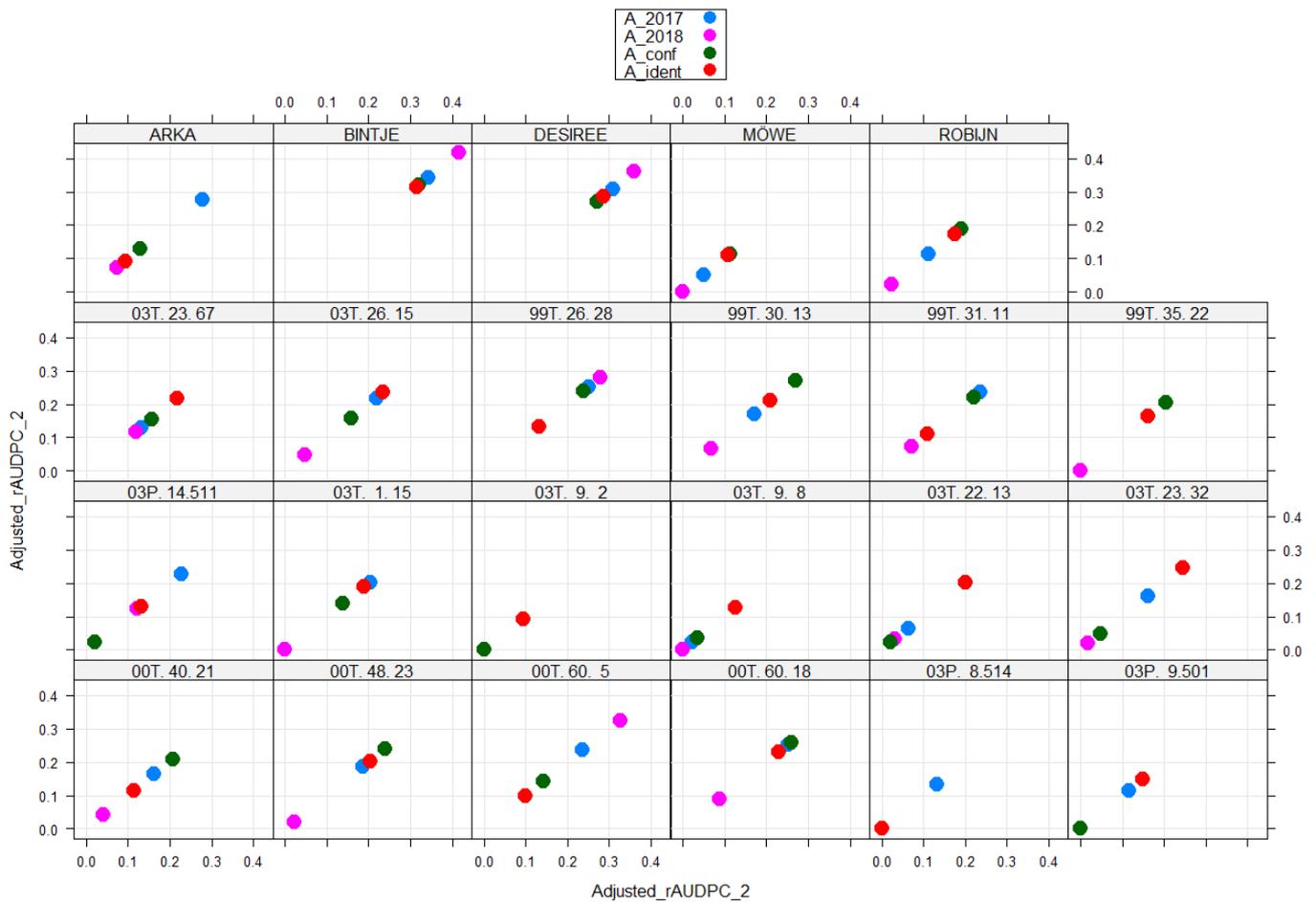
Annexe 1

Evaluation de la stabilité dans le temps. Graphiques XY tracés pour chaque géniteur avec les valeurs AUDPCr des 4 années d'évaluation (Rouge : Identification, Vert : Confirmation, Bleu : 2017 et Rose : 2018).

Les graphiques sont regroupés par catégorie de géniteurs :

- MLD RNS : Géniteurs n'ayant pas de gènes R dans leur généalogie
- MLD Ecopapa : Géniteurs ne possédant pas, a priori, de gènes R
- MLD GR : Géniteurs issus de croisements avec des géniteurs possédant un ou des gènes R identifiés
- MLD PopA1 : Géniteurs issus d'une première série de croisements avec des individus appartenant à la Population A du CIP (Centre International de la Pomme de Terre, Pérou)
- MLD PopA2 : Géniteurs issus de croisements à partir d'individus appartenant au groupe MLD PopA1 (soit des résistants entre eux, soit un résistant avec un individu sensible, y compris avec des résistants au nématode *Globodera pallida*).

Géniteurs du groupe RNS :



Annexe 2

Niveau de résistance et niveau de stabilité dans le temps et dans l'espace de cette résistance pour chaque géniteur

Géniteur	Programme	Evaluation de la résistance historique	Réévaluation de la résistance (Ploudaniel 2017-2018)	Changement	Ecart	Décision de la stabilité/temps	Décision de la stabilité/espace	Décision de la stabilité/temps + espace
89T.117. 8	PopA1	Assez Forte	Forte	Oui	Faible	Oui	Oui	Oui
89T.117. 10	PopA1	Assez Forte	Forte	Oui	Faible	Oui	Oui	Oui
89T.123. 3	PopA1	Assez Forte	Forte	Oui	Faible	Oui	Oui	Oui
89T.125. 27	PopA1	Assez Forte	Forte	Oui	Faible	Oui	Oui	Oui
89T.128. 5	PopA1	Assez Forte	Forte	Oui	Faible	Oui	Oui	Oui
92T.117. 49	PopA1	Forte	Forte	Non	Faible	Oui	Oui	Oui
92T.118. 5	PopA1	Forte	Forte	Non	Faible	Oui	Oui	Oui
92T.118. 36	PopA1	Forte	Forte	Non	Faible	Oui	Oui	Oui
92T.120. 16	PopA1	Forte	Forte	Non	Faible	Oui	Oui	Oui
92T.120. 70	PopA1	Forte	Forte	Non	Faible	Oui	Oui	Oui
92T.128. 44	PopA1	Forte	Forte	Non	Faible	Oui	Oui	Oui
95T. 97. 2	PopA1	Assez Forte	Forte	Oui	Faible	Oui	Oui	Oui
95T.102. 6	PopA1	Assez Forte	Forte	Oui	Faible	Oui	Oui	Oui
95T.118. 2	PopA1	Forte	Forte	Non	Faible	Oui	Oui	Oui
95T.121. 23	PopA1	Assez Forte	Forte	Oui	Faible	Oui	Oui	Oui
95T.132. 41	PopA1	Forte	Forte	Non	Faible	Oui	Oui	Oui
95T.141. 12	PopA1	Forte	Forte	Non	Faible	Oui	Oui	Oui
95T.146. 14	PopA1	Forte	Forte	Non	Faible	Oui	Oui	Oui
95T.146. 55	PopA1	Assez Forte	Forte	Oui	Faible	Oui	Oui	Oui
95T.148. 9	PopA1	Assez Forte	Forte	Oui	Faible	Oui	Oui	Oui
95T.150. 59	PopA1	Assez Forte	Forte	Oui	Faible	Oui	Oui	Oui
95T.150. 70	PopA1	Assez Forte	Forte	Oui	Faible	Oui	Oui	Oui
97T. 20. 36	PopA2	Forte	Forte	Non	Faible	Oui	Oui	Oui
97T. 28. 7	PopA2	Forte	Forte	Non	Faible	Oui	Oui	Oui
97T. 28. 8	PopA2	Forte	Assez Forte	Non	Faible	Oui	Oui	Oui
97T. 28. 57	PopA2	Forte	Forte	Non	Faible	Oui	Oui	Oui
97T. 30. 5	PopA2	Forte	Forte	Non	Faible	Oui	Oui	Oui
97T. 30. 22	PopA2	Forte	Forte	Non	Faible	Oui	Oui	Oui
97T. 30. 24	PopA2	Forte	Forte	Non	Faible	Oui	Oui	Oui
98T. 54. 6	PopA2	Assez Forte	Forte	Oui	Faible	Oui	Oui	Oui
98T. 55. 35	PopA2	Assez Forte	Forte	Oui	Faible	Oui	Oui	Oui
98T. 61. 1	PopA2	Assez Forte	Forte	Oui	Faible	Oui	Oui	Oui
98T. 63. 20	PopA2	Assez Forte	Forte	Oui	Faible	Oui	Oui	Oui
98T. 68. 2	PopA2	Moyenne	Forte	Oui	Fort	Oui	Oui	Oui
98T. 68. 8	PopA2	Assez Forte	Forte	Oui	Faible	Oui	Oui	Oui
98T. 99. 37	PopA2	Assez Forte	Forte	Oui	Faible	Oui	Oui	Oui
98T.104. 37	PopA2	Assez Forte	Forte	Oui	Faible	Oui	Oui	Oui
98T.112. 1	PopA2	Assez Forte	Forte	Oui	Faible	Oui	Oui	Oui
00T. 72. 40	PopA2	Assez Forte	Forte	Oui	Faible	Oui	Oui	Oui
01T.127. 6	GR	Assez Forte	Forte	Oui	Faible	Oui	Oui	Oui
01T.128. 12	GR	Assez Forte	Assez Forte	Non	Faible	Oui	Oui	Oui
01T.138. 2	GR	Assez Forte	Assez Forte	Non	Faible	Oui	Oui	Oui
01T.139. 1	GR	Assez Forte	Forte	Oui	Faible	Oui	Oui	Oui
01T.140. 4	GR	Assez Forte	Forte	Oui	Faible	Oui	Oui	Oui

Généiteur	Programme	Evaluation de la résistance historique	Réévaluation de la résistance (Ploudaniel 2017-2018)	Changement	Ecart	Décision de la stabilité/temps	Décision de la stabilité/espace	Décision de la stabilité/temps + espace
01T.142. 5	GR	Assez Forte	Forte	Oui	Faible	Oui	Oui	Oui
01T.147. 13	GR	Assez Forte	Forte	Oui	Faible	Oui	Oui	Oui
03T. 9. 2	RNS	Assez Forte	Forte	Oui	Faible	Oui	Oui	Oui
03T. 9. 8	RNS	Assez Forte	Forte	Oui	Faible	Oui	Oui	Oui
04T. 4. 21	EcoPapa	Forte	Forte	Non	Faible	Oui	Oui	Oui
04T. 37. 11	PopA2	Forte	Forte	Non	Faible	Oui	Oui	Oui
04T. 39. 9	PopA2	Forte	Forte	Non	Faible	Oui	Oui	Oui
04T. 39. 83	PopA2	Forte	Forte	Non	Faible	Oui	Oui	Oui
05T. 49. 79	PopA2	Forte	Forte	Non	Faible	Oui	Oui	Oui
05T. 51. 7	PopA2	Assez Forte	Assez Forte	Non	Faible	Oui	Oui	Oui
05T. 53. 56	PopA2	Forte	Forte	Non	Faible	Oui	Oui	Oui
05T. 57. 77	PopA2	Forte	Forte	Non	Faible	Oui	Oui	Oui
05T. 65. 53	PopA2	Forte	Forte	Non	Faible	Oui	Oui	Oui
05T. 68. 41	PopA2	Assez Forte	Assez Forte	Non	Faible	Oui	Oui	Oui
05T. 73. 76	PopA2	Forte	Forte	Non	Faible	Oui	Oui	Oui
07T. 10. 26	PopA2	Assez Forte	Assez Forte	Non	Faible	Oui	Oui	Oui
89T.116. 10	PopA1	Assez Forte	Assez Faible	Oui	Fort	Non	Non	Non
89T.122. 3	PopA1	Assez Forte	Assez Forte	Non	Faible	Oui	Non	Non
89T.126. 11	PopA1	Assez Forte	Moyenne	Oui	Fort	Non	Non	Non
89T.126. 14	PopA1	Assez Forte	Faible	Oui	Fort	Non	Non	Non
89T.129. 4	PopA1	Assez Forte	Assez Forte	Non	Faible	Oui	Non	Non
89T.131. 5	PopA1	Moyenne	Assez Faible	Oui	Faible	Non	Non	Non
92T.109. 50	PopA1	Assez Forte	Assez Forte	Non	Faible	Oui	Non	Non
92T.110. 14	PopA1	Assez Forte	Forte	Oui	Faible	Oui	Non	Non
92T.114. 76	PopA1	Assez Forte	Moyenne	Oui	Faible	Non	Non	Non
92T.116. 29	PopA1	Forte	Forte	Non	Faible	Oui	Non	Non
93T. 98. 61	GR	Forte	Assez Faible	Oui	Fort	Non	Non	Non
93T.100. 15	GR	Forte	Assez Faible	Oui	Fort	Non	Non	Non
93T.100. 38	GR	Forte	Assez Forte	Oui	Faible	Oui	Non	Non
93T.112. 28	GR	Forte	Faible	Oui	Fort	Non	Non	Non
93T.119. 9	GR	Forte	Faible	Oui	Fort	Non	Non	Non
95T.110. 3	PopA1	Assez Forte	Moyenne	Oui	Fort	Non	Non	Non
95T.113. 19	PopA1	Assez Forte	Moyenne	Oui	Fort	Non	Non	Non
97T. 19. 38	PopA2	Forte	Assez Forte	Oui	Faible	Oui	Non	Non
97T. 19. 40	PopA2	Forte	Forte	Non	Faible	Oui	Non	Non
97T. 31. 70	PopA2	Forte	Moyenne	Oui	Fort	Non	Non	Non
97T. 40. 30	PopA2	Forte	Assez Faible	Oui	Fort	Non	Non	Non
97T. 41. 14	PopA2	Forte	Faible	Oui	Fort	Non	Non	Non
98T. 54. 2	PopA2	Assez Forte	Forte	Oui	Faible	Oui	Non	Non
98T. 57. 34	PopA2	Moyenne	Assez Faible	Oui	Fort	Non	Non	Non
98T.106. 66	PopA2	Assez Forte	Assez Faible	Oui	Fort	Non	Non	Non
98T.112. 42	PopA2	Assez Forte	Assez Forte	Non	Faible	Oui	Non	Non
99T. 3. 52	PopA2	Assez Forte	Forte	Oui	Faible	Oui	Non	Non
99T. 10. 3	PopA2	Assez Forte	Moyenne	Oui	Fort	Non	Non	Non
99T. 13. 13	GR	Assez Forte	Forte	Oui	Faible	Oui	Non	Non
99T. 26. 28	RNS	Moyenne	Faible	Oui	Fort	Non	Non	Non
99T. 30. 13	RNS	Moyenne	Moyenne	Non	Fort	Non	Non	Non
99T. 31. 11	RNS	Moyenne	Moyenne	Non	Fort	Non	Non	Non
99T. 35. 22	RNS	Moyenne	Moyenne	Non	Fort	Non	Non	Non

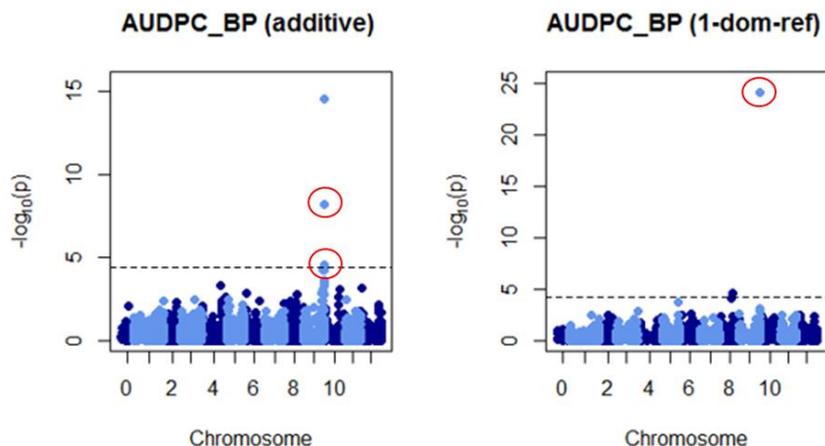
Généiteur	Programme	Evaluation de la résistance historique	Réévaluation de la résistance (Ploudaniel 2017-2018)	Changement	Ecart	Décision de la stabilité/temps	Décision de la stabilité/espace	Décision de la stabilité/temps + espace
00T. 40. 21	RNS	Moyenne	Moyenne	Non	Faible	Oui	Non	Non
00T. 48. 23	RNS	Moyenne	Moyenne	Non	Faible	Oui	Non	Non
00T. 60. 5	RNS	Assez Forte	Faible	Oui	Fort	Non	Non	Non
00T. 60. 18	RNS	Assez Faible	Moyenne	Oui	Fort	Non	Non	Non
00T. 88. 43	PopA2	Moyenne	Faible	Oui	Fort	Non	Non	Non
01T.134. 4	GR	Assez Forte	Assez Faible	Oui	Fort	Non	Non	Non
01T.135. 3	GR	Assez Forte	Moyenne	Oui	Fort	Non	Non	Non
03P. 8.514	RNS	Forte	Assez Forte	Oui	Fort	Non	Non	Non
03P. 9.501	RNS	Assez Forte	Assez Forte	Non	Faible	Oui	Non	Non
03P. 14.511	RNS	Assez Forte	Moyenne	Oui	Fort	Non	Non	Non
03T. 1. 15	RNS	Moyenne	Moyenne	Non	Fort	Non	Non	Non
03T. 22. 13	RNS	Moyenne	Assez Forte	Oui	Faible	Oui	Non	Non
03T. 23. 32	RNS	Moyenne	Moyenne	Non	Fort	Non	Non	Non
03T. 23. 67	RNS	Moyenne	Moyenne	Non	Faible	Oui	Non	Non
03T. 26. 15	RNS	Moyenne	Moyenne	Non	Fort	Non	Non	Non
04P. 40. 35	EcoPapa	Forte	Faible	Oui	Fort	Non	Non	Non
04T. 5. 61	EcoPapa	Forte	Moyenne	Oui	Fort	Non	Non	Non
04T. 7. 22	EcoPapa	Forte	Assez Forte	Oui	Faible	Oui	Non	Non
04T. 7. 84	EcoPapa	Forte	Moyenne	Oui	Fort	Non	Non	Non
04T. 9. 28	EcoPapa	Forte	Moyenne	Oui	Fort	Non	Non	Non
04T. 11. 1	PopA2	Assez Forte	Moyenne	Oui	Fort	Non	Non	Non
04T. 12. 51	EcoPapa	Forte	Assez Faible	Oui	Fort	Non	Non	Non
04T. 13. 32	EcoPapa	Forte	Assez Faible	Oui	Fort	Non	Non	Non
04T. 22. 89	EcoPapa	Assez Forte	Faible	Oui	Fort	Non	Non	Non
04T. 32. 67	EcoPapa	Forte	Moyenne	Oui	Fort	Non	Non	Non
04T. 39. 27	PopA2	Forte	Moyenne	Oui	Fort	Non	Non	Non
05T. 49. 63	PopA2	Assez Forte	Assez Forte	Non	Fort	Oui	Non	Non
05T. 50. 79	PopA2	Assez Forte	Assez Forte	Non	Faible	Oui	Non	Non
05T. 52. 50	PopA2	Forte	Assez Forte	Oui	Fort	Non	Non	Non

Annexe 3

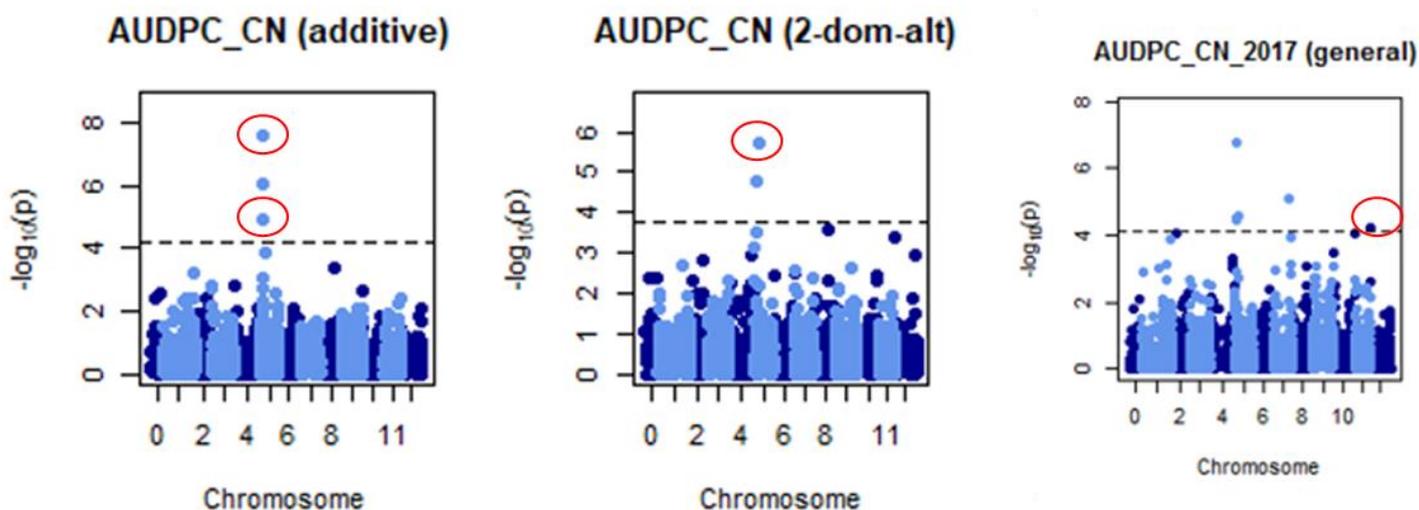
Manhattan plots révélant les SNPs les plus significatifs. Ils sont classés en fonction de la variable étudiée (AUDPCr ou Maturité du feuillage). Le jeu de donnée avec lequel chaque graphique a été obtenu est indiqué.

Variable AUDPCr

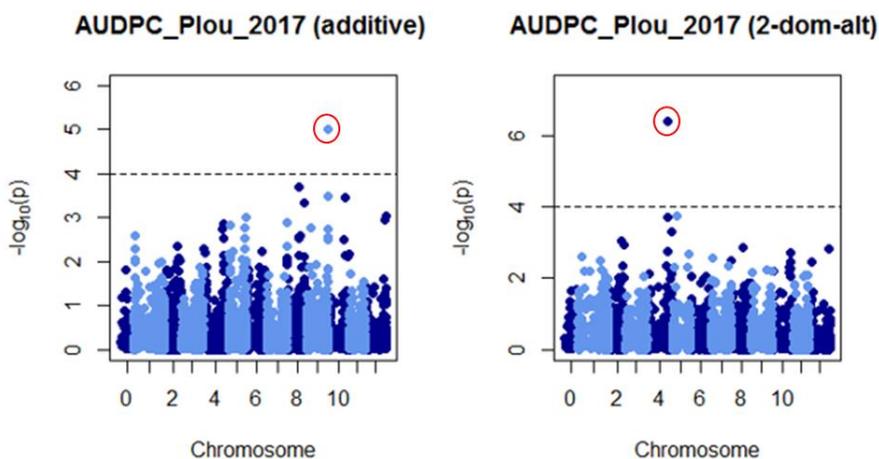
Essai Bretagne Plants 2017 / Panel complet



Essai Comité Nord 2017 / Panel complet / avec covariables pour le 3^{ème} graphique

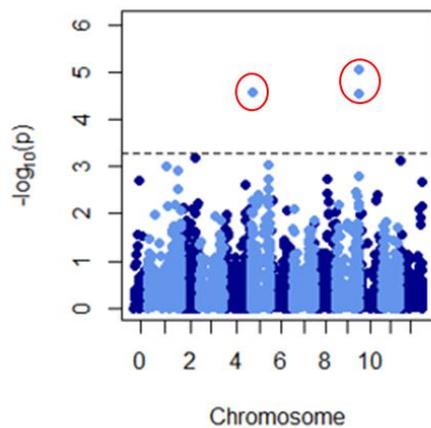


Essai Ploudaniel 2017 / Panel complet / avec covariables



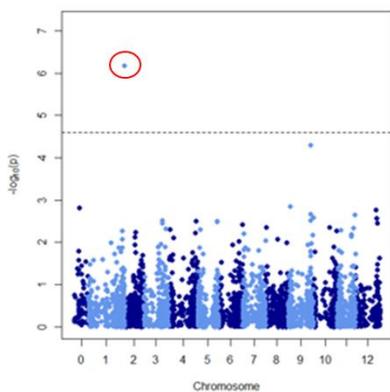
BLUPs 2017+2018 / Panel complet / avec covariables

AUDPC (additive)

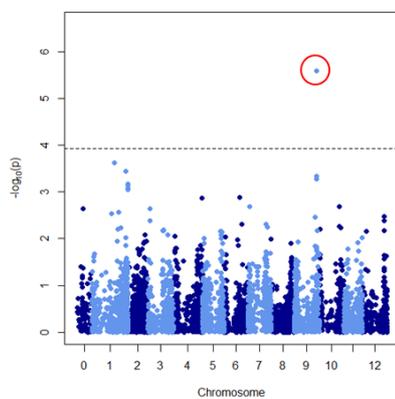


Essai Bretagne Plants 2017 / Panel réduit

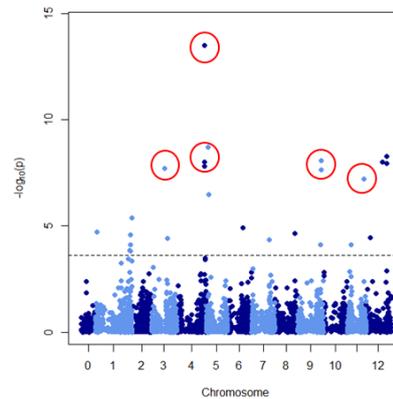
AUDPC (2-dom-ref)



AUDPC (additive)

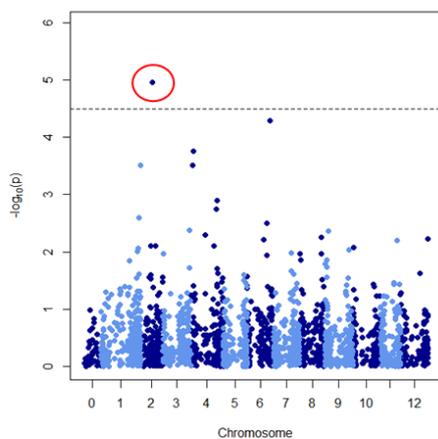


AUDPC (general)

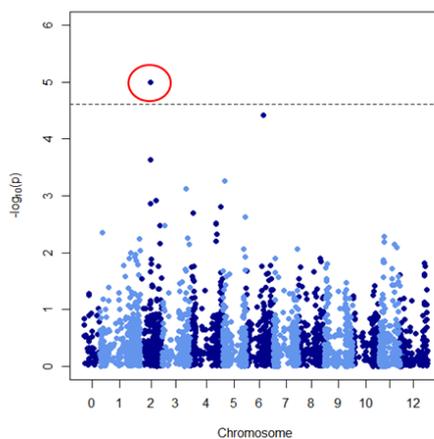


Essai Ploudaniel 2018 / Panel réduit

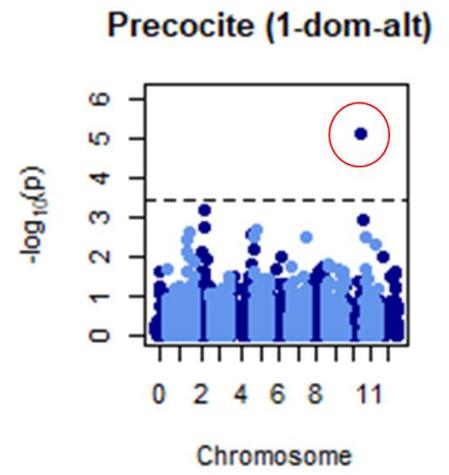
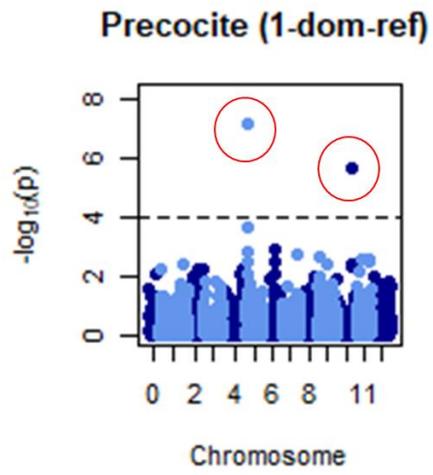
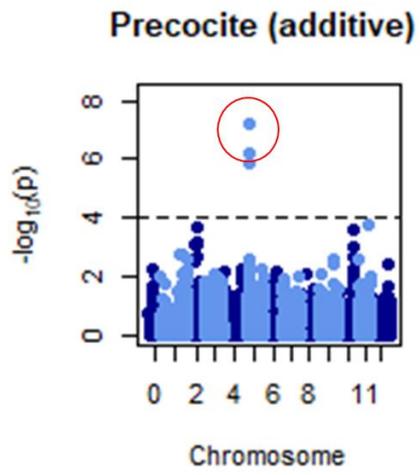
AUDPC (1-dom-alt)



AUDPC (1-dom-ref)

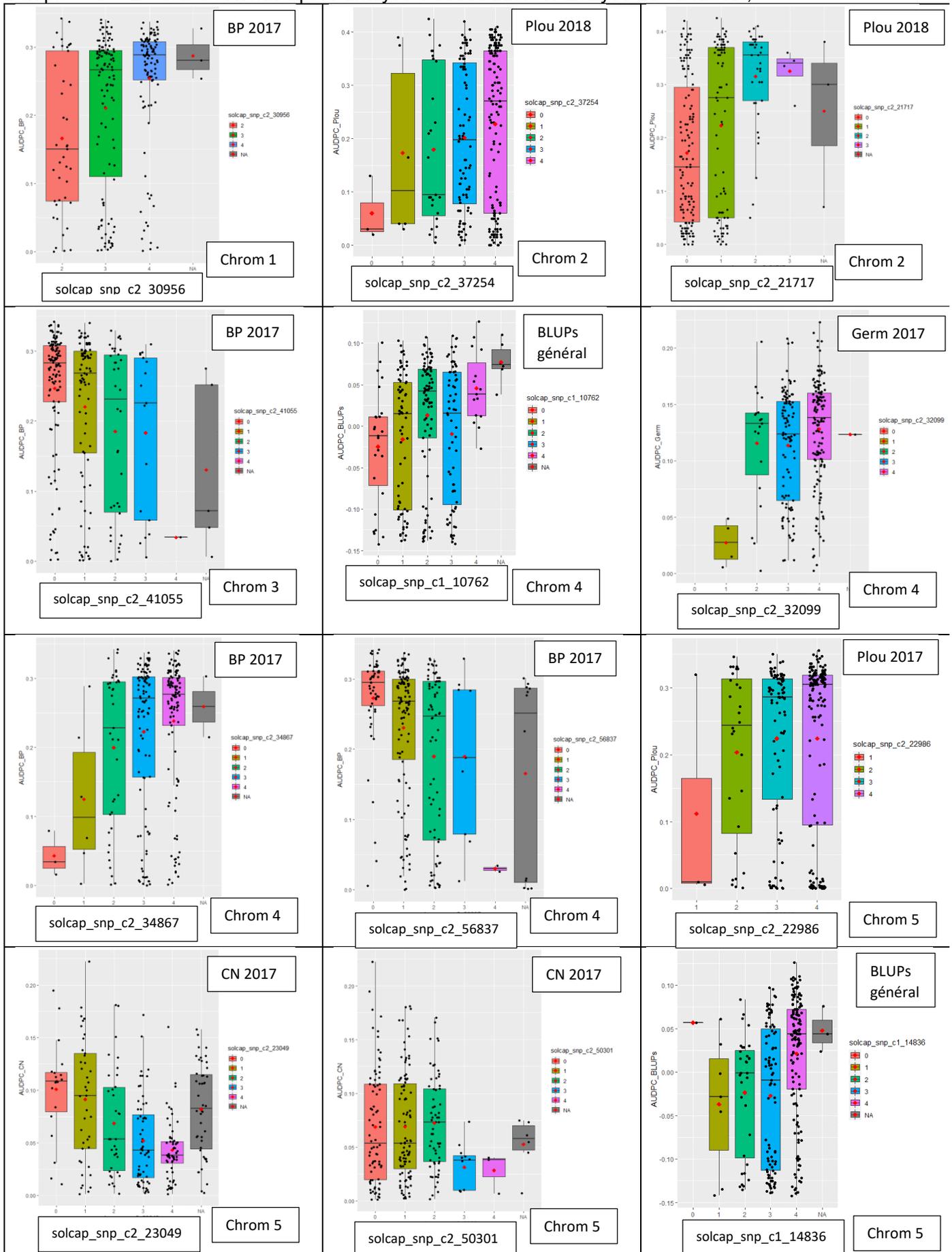


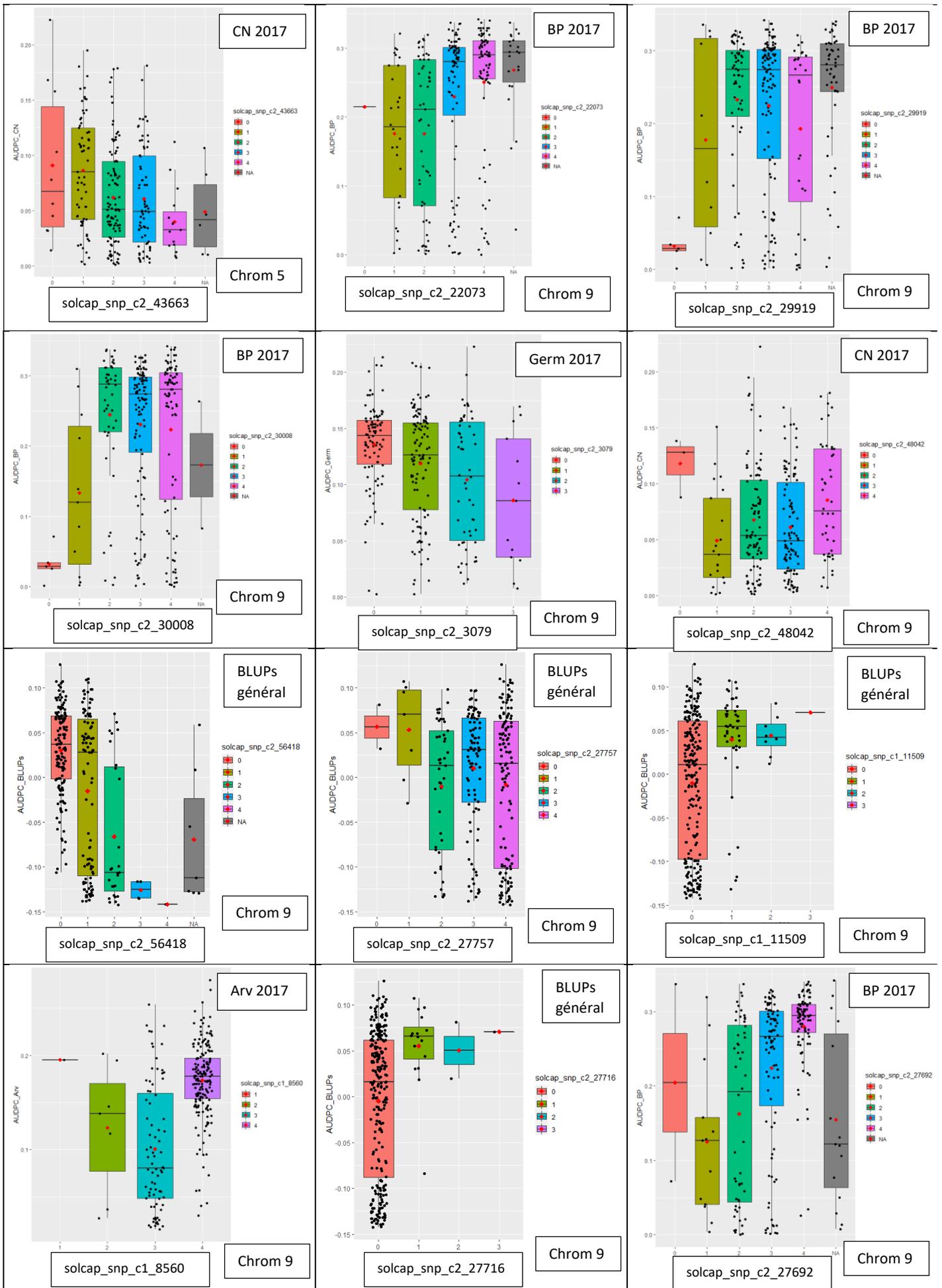
Variable Maturité du feuillage

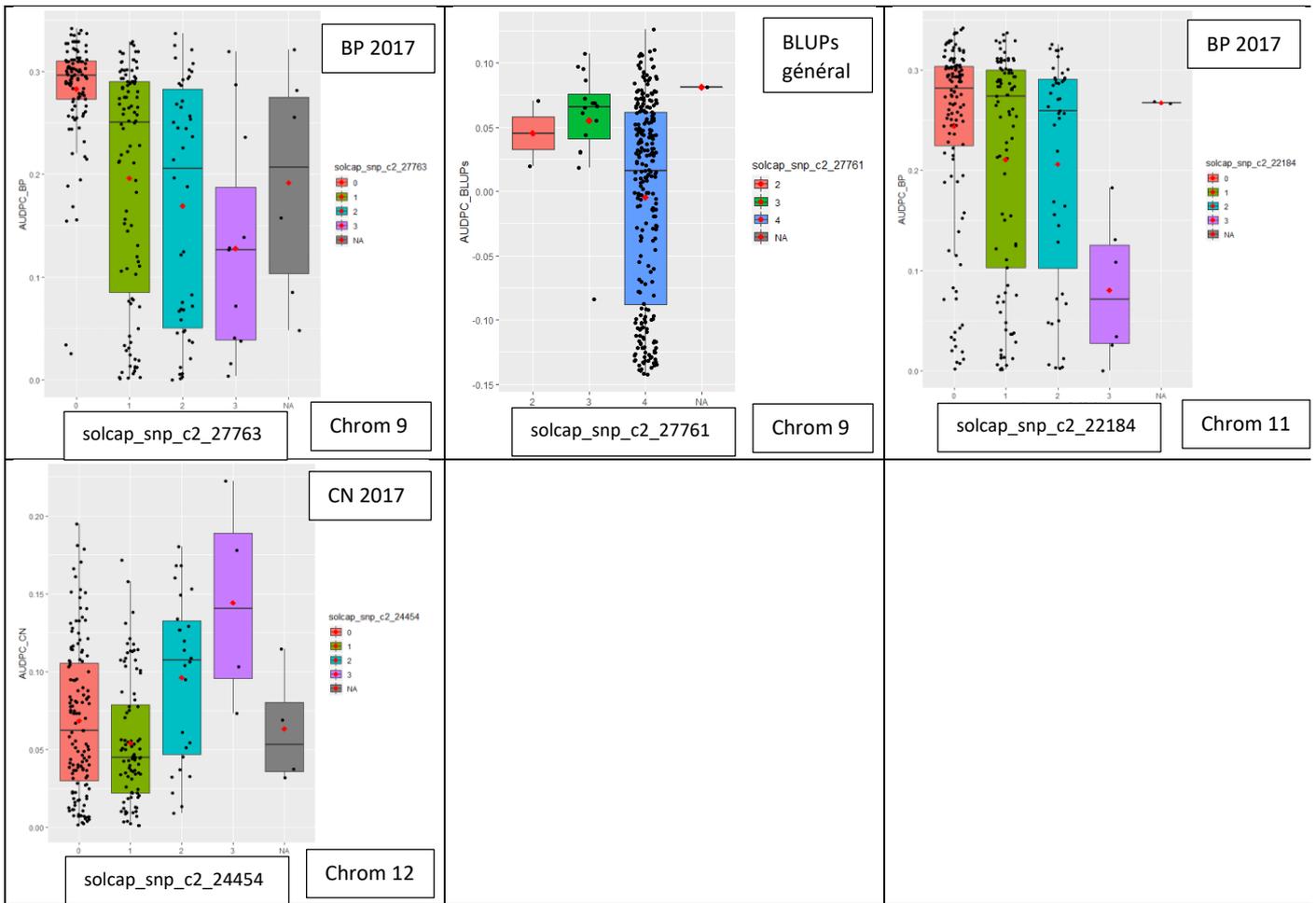


Annexe 4

Box plots des 28 SNPs retenus après analyse d'association et analyse de variance ;



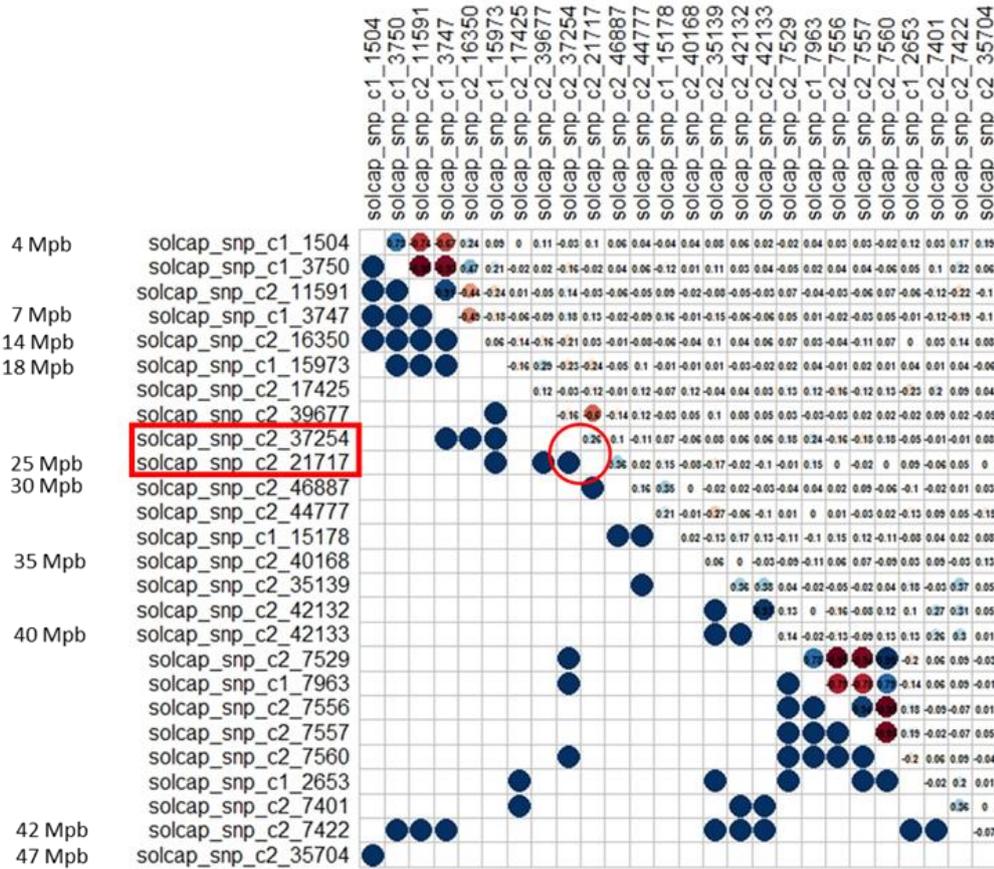




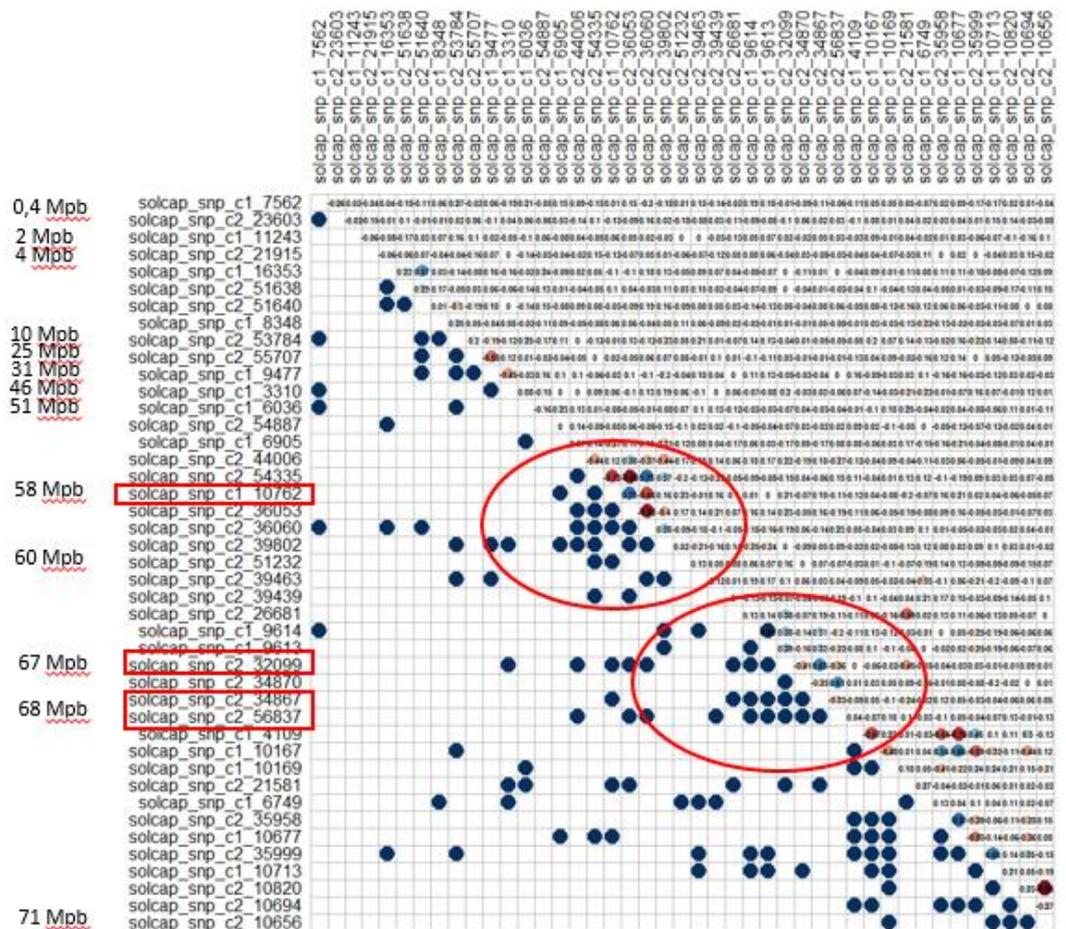
Annexe 5

Heatmaps des coefficients de corrélation entre paires de SNP de régions des chromosomes 2, 4, 5, et 9. Les points bleus représentent les qvalues significatives (<0.01), les chiffres sont les valeurs des coefficients de corrélations. A gauche, les distances sur la carte physique entre les SNPs sont indiquées.

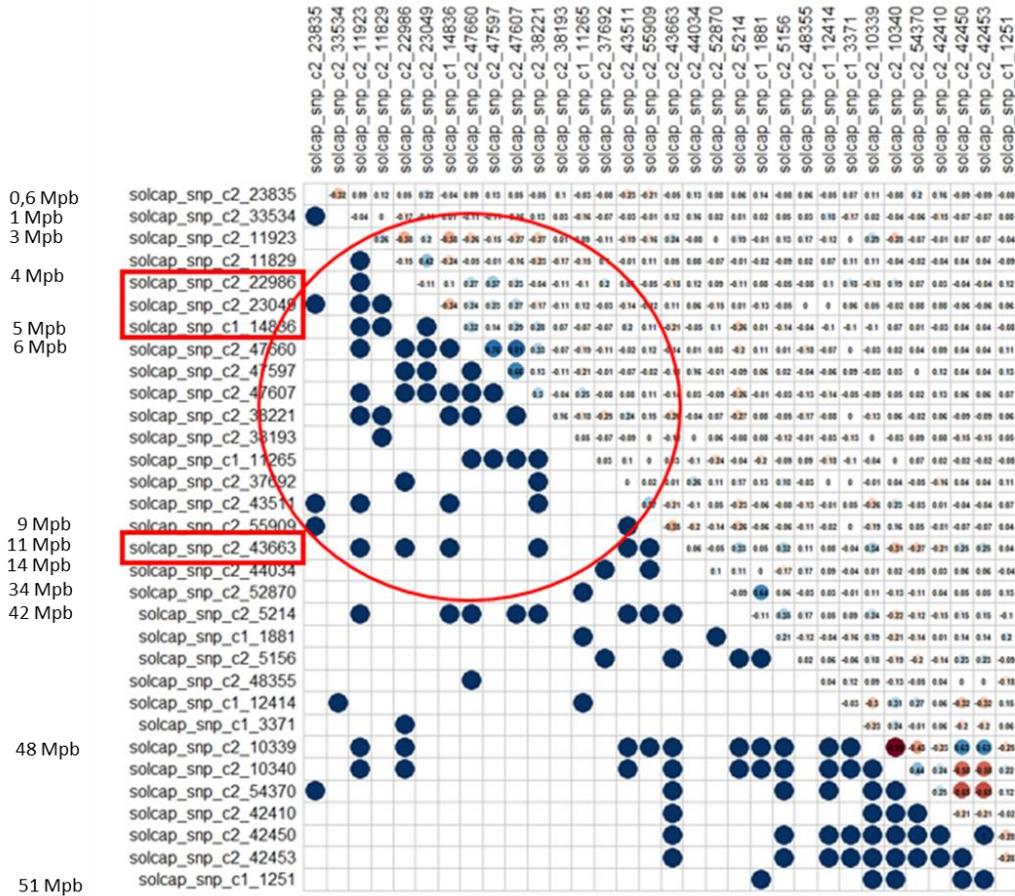
Chromosome 2 :



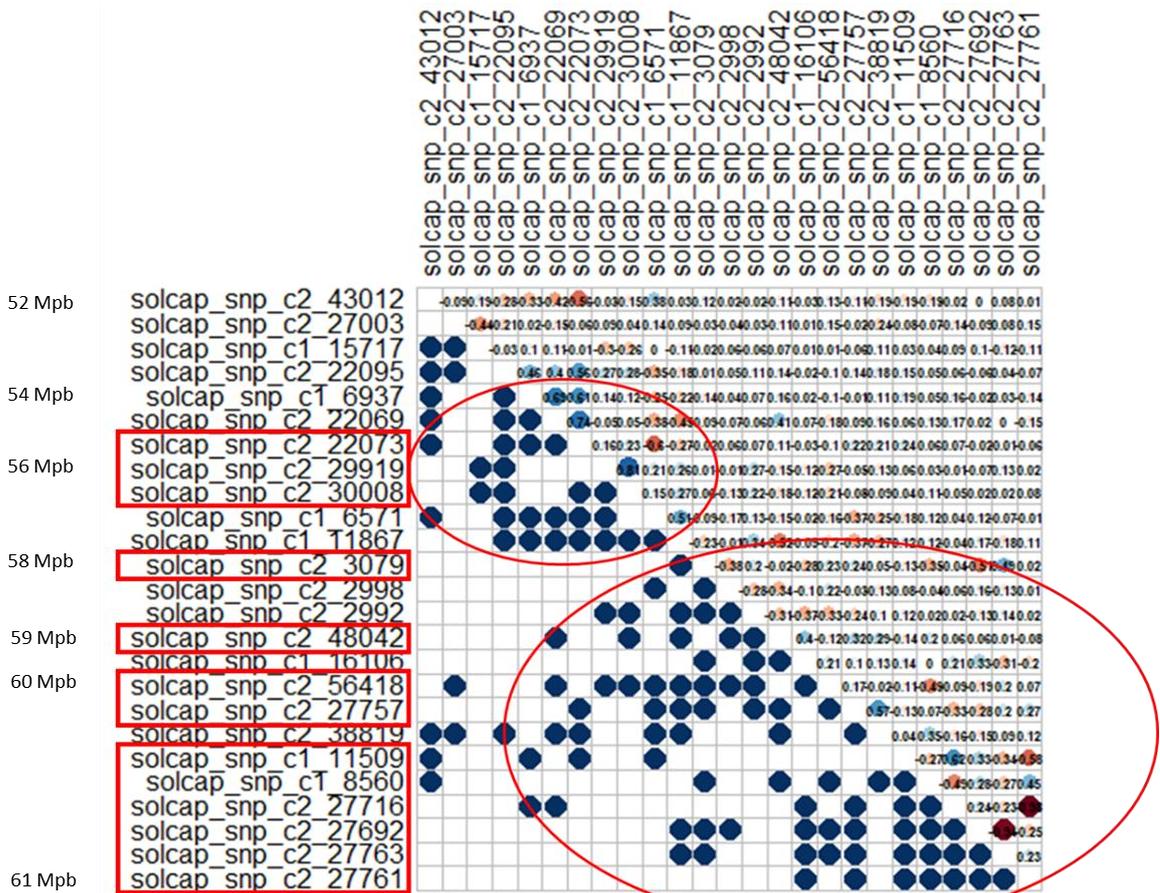
Chromosome 4 :



Chromosome 5 :



Chromosome 9 :



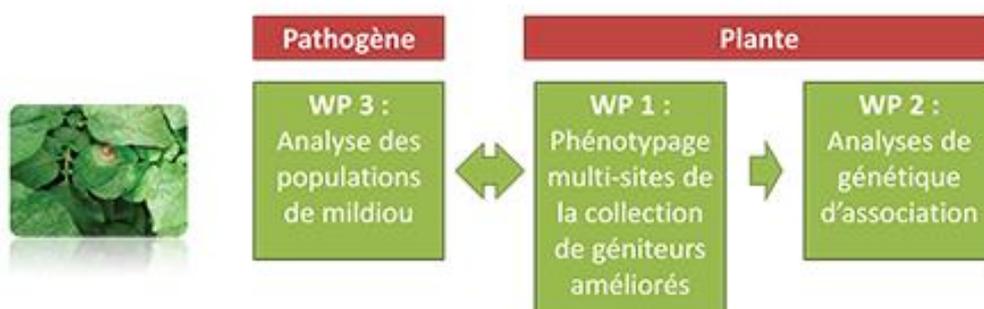
Annexe 6

Projet PoTStaR - Stabilité des résistances au mildiou de la pomme de terre et identification de marqueurs associés

[AAP CASDAR « Semences et Sélection Végétale » 2017-2020 - Pilote : INRA]

QUESTIONS DE RECHERCHE

- Quelles sources de résistance au mildiou de la pomme de terre sont les plus stables (et donc potentiellement plus durables) au sein des ressources génétiques actuellement disponibles en France ?
- Quels sont les facteurs génétiques associés ? Est-il possible d'identifier des marqueurs proches de ces régions utilisables en sélection assistée par marqueurs (SAM) ?
- Comment les populations de mildiou répondent-elles à ces facteurs de résistance ?



• WORKPACKAGE 1 : PHÉNOTYPAGE DE LA COLLECTION DE GÉNITEURS

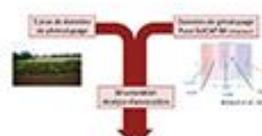


> 286 génotypes, hôtes différentiels et témoins évalués pour leur résistance au mildiou sur feuillage dans l'essai PoTStaR de Villers-Saint-Christophe en 2017 et 2018.

- ~ 250 **géniteurs INRA** (variétés de pommes de terre améliorées pour leur qualité ou leurs caractères de résistance à différents bioagresseurs) + **hôtes différentiels** + **témoins** ;
- 5 **sites d'observation**, situés dans des bassins de production présentant des conditions climatiques contrastées et engendrant des pressions de mildiou différentes (Bretagne, Hauts-de-France, Nouvelle-Aquitaine) / 1 site en Bretagne avec protection fongicide réduite ;
- Exploitation de données d'essais antérieurs et analyse de **données climatologiques** (→ OAD Mileos* / profil épidémique).

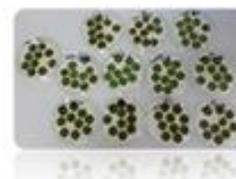
• WORKPACKAGE 2 : ANALYSES DE GÉNÉTIQUE D'ASSOCIATION

- Identification des **régions génomiques** et **marqueurs associés impliqués dans la résistance stable** (dans l'espace) ;
- Comparaison avec autres jeux de données (FN3PT).



• WORKPACKAGE 3 : ANALYSE DE LA STABILITÉ DES RÉSISTANCES

- Prélèvements et **caractérisation d'isolats** [empreinte génétique, agressivité (latence, taille des lésions, sporulation)] + données de caractérisation des souches prélevées à l'INRA de Ploudaniel depuis 1990 : caractérisation des souches actuelles de mildiou et comparaison avec populations antérieures / adaptation locale des souches de mildiou à des sources de résistance partielle.



ACVNPT



ARVALIS
Institut du végétal

Les 4^e Rendez-vous techniques de Villers // 28 juin 2018

ARVALIS
Institut du végétal

Annexe 7



Multi-site evaluation for resistance to late blight of a collection of INRA improved breeding lines

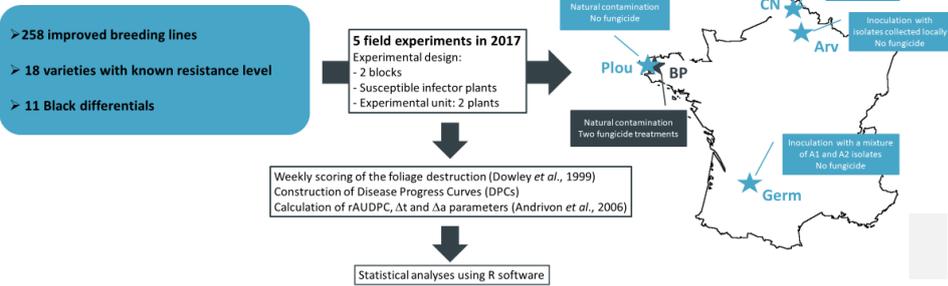
Esnault F ⁽¹⁾, Le Bot M ⁽¹⁾, Pellé R ⁽¹⁾, Kermarrec MP ⁽¹⁾, Abiven JM ⁽²⁾, Aourousseau F ⁽³⁾, Chatot C ⁽⁴⁾, Gravouelle JM ⁽⁵⁾, Dubreuil H ⁽⁶⁾, Marhadour S ⁽⁷⁾, Chauvin JE ⁽¹⁾



The PotStar project, funded by Agence Française pour la Biodiversité as part of the national action plan ECOPHYTO II, aims to 1. identify sources of stable resistance to late blight, 2. identify the genomic regions involved in these stable resistances and associated molecular markers, 3. analyse how *Phytophthora infestans* isolates evolve in front of these resistance factors, 4. further implement the level of plant resistance in the Decision Support System Mileos®.

A collection of 258 improved breeding lines, originating from different research programmes conducted at INRA Ploudaniel and maintained in the BrACySol Biological Resource Center, was evaluated for late blight resistance in the field in five locations presenting different climatic conditions and therefore different disease pressures. First results of this multi-site experiment are presented here.

Material and Methods



Results and Discussion

- A Multiple Factor Analysis (MFA) was performed in which the variables have been structured in 5 groups composed each of the rAUDPC, Δt and Δa variables of one site.
 - The first two dimensions of the MFA explain about 62% of the information (Fig 1 and Fig 2).
 - Dimension 1 is related to the 5 groups. Dimension 2 is related to the variables of CN site (Fig 1).
 - Dimension 1 is highly correlated with the 5 rAUDPC variables (from 0.83 to 0.94) and to a less extent to Δa variables of Plou, BP and Arv sites (from 0.72 to 0.87). Dimension 2 is correlated to Δa variable of CN site (0.65) (Fig 2).

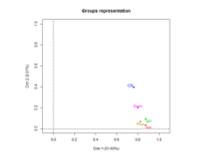


Figure 1: Representation of groups of variables on the first two dimensions obtained from the MFA.

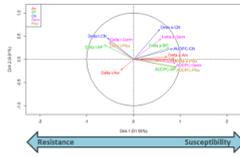


Figure 2: Correlation circle of the variables on the first two dimensions obtained from the MFA.

- A Hierarchical Clustering on principal components was performed.
 - 3 clusters are defined (Fig 3).
 - Each cluster is described by the different variables.
 - Cluster 1:** Significantly explained by all the 15 variables: Low rAUDPC means (from 0.02 to 0.06) Low Δa means (from -0.6 to -0.06) High Δt means (from 5 to 11.4) **Resistance**
 - Cluster 2:** Significantly explained by 8 variables: Plou trial: rAUDPC mean = 0.26 ; Δt mean = 0.31; BP trial: rAUDPC mean = 0.26 ; Δt mean = 0.31; Δa mean = -0.21 CN trial: rAUDPC mean = 0.05 ; Δa mean = 0.001 Germ trial: Δa mean = -0.01 **Susceptibility or Partial Resistance**
 - Cluster 3:** Significantly explained by all the 15 variables: High rAUDPC means (from 0.12 to 0.31) High Δa means (from -0.001 to 0.12) Low Δt means (from -0.7 to 4.5) **Susceptibility**

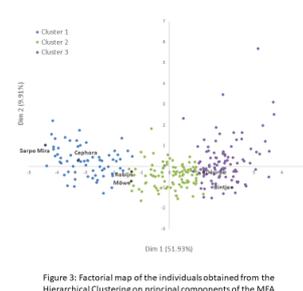


Figure 3: Factorial map of the individuals obtained from the Hierarchical Clustering on principal components of the MFA

- The behavior of the breeding lines was compared between the 5 trials by analysing the within inertia of each individual obtained by the MFA. A low within inertia indicates that the individual has a similar behavior in the different trials.
 - Breeding lines having low or high within inertia are identified in each cluster (Fig 4).

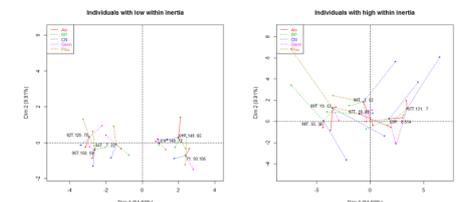


Figure 4: Graphs of partial points of individuals with low or high within inertia.

- Breeding lines from cluster 1 having low within inertia are good candidates as stable resistance sources. Nine breeding lines have a within inertia on dimension 1 inferior to 0.1.
- The origin of the resistance present in these 9 breeding lines is:
 - CIP A Population (AND 69.1, CEW 69.1, CFQ 69.1, CGN 69.1, I 853)
 - Pentland Dell
 - R8 Black differential

Perspectives

- These results will be compared with those obtained in a second year experiment performed in 2018
- They will be analysed in regard to the characteristics of late blight isolates that were present in each trial and in regard to the climatic data that were collected on each site
- The resistance types will be characterised with DPC parameters as proposed by Marhadour et al. (2013)
- BLUPs for rAUDPC values will be calculated to perform GWAS

Ministère de l'Agriculture, de la Pêche et de l'Alimentation

References

Andrivon et al., 2006, Am J Potato Res, 83, 455-461
 Dowley et al., 1999, Potato Res, 42, 107-111
 Marhadour et al., 2013, Potato Res, 56, 99-114

This work is funded by Agence Française pour la Biodiversité within the framework of the call for proposals 'CASDAR Semences et sélection végétale 2016'.

Acknowledgements: We thank the Biological Resource Center BrACySol for providing plant material and the Experimental Unit RGCO for their participation to the experiment at Plou site.

- IGEPP, Institut National de la Recherche Agronomique, Agrocampus Ouest, Université Rennes 1, F-29260 Ploudaniel, France
- Bretagne Plants Innovation, F-29260 Ploudaniel, France
- Comité Nord/Sipre, F-76110 Bretteville du Grand Caux, France
- Germicopa Breeding, F-29520 Châteauneuf du Faou, France
- ARVALIS - Institut du Végétal, F-91720 Boigneville, France
- Grocep, F-87370 Laurière, France
- Fédération Nationale des Producteurs de Plants de Pomme de Terre (FN3PT/RD3PT), UMR IGEPP INRA, F-29260 Ploudaniel, France

European Association of Potato Researchers

10th joint meeting EAPR Breeding and Varietal Assessment Section and EUCARPIA Section Potatoes, Rostock-Warmemuende, Germany, December 3rd – 6th, 2018

Annexe 8

Structure and dynamics of *Phytophthora infestans* clonal populations as related to potato resistance



R. MABON¹, M. GUIBERT¹, F. ESNALTY², R. PELLE³, C. CHATOT³, G. SAUBEAU³, F. AUROUSSEAU⁴, P. DEWAEGENEIRE¹, R. CORBIERE¹ & D. ANDRIVON¹

Developing more sustainable cropping systems has become a major challenge in the current context of pesticide reduction. A promising way for a complete IPM strategy is to combine different types or levels of host resistance with other control practices. However, pathogens may adapt or overcome host resistance. In the PoTStAR project, funded by "Agence Française pour la Biodiversité" as a part of the national action plan

ECOPHYTO II, we investigate the effect of selection by resistant potato genotypes on *Phytophthora infestans* populations. We monitored the composition and pathogenicity of *P. infestans* samples in field trials at the beginning of natural epidemics on the susceptible cultivar Bintje, and then at the end of the season on different resistant genotypes.

1 The PoTStAR project objectives

- To evaluate potato late blight resistance of 258 potato genotypes, in naturally infected multilocal field trials: Improved breeding lines from different research programmes maintained in the INRA BrACySol Biological Resource Center (not presented in this poster)
- To develop molecular markers linked to late blight resistance: Use SNP data and genetic association mapping. (not shown in this poster)
- To follow the dynamics of *Phytophthora infestans* clonal populations on resistant potato genotypes.

2 Experimental sites

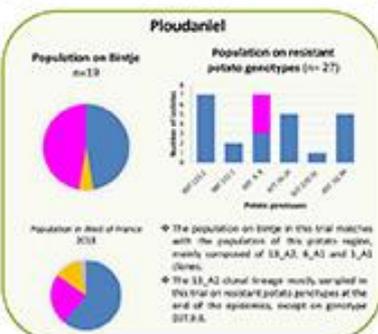
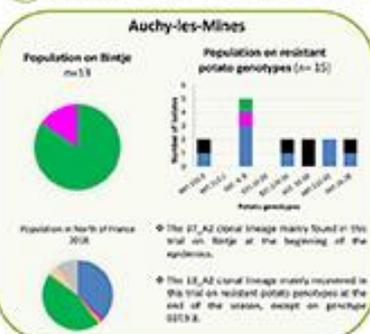
- Two field trials in the North and in the West of France with two different local late blight populations.



3 Sampling characteristics

- Sampling strategy in each site in 2018:
 - 13 to 19 samples on the susceptible cultivar Bintje at the beginning of epidemics.
 - 15 to 27 samples at the end of season on different genotypes showing partial resistance.
- Isolate characterization:
 - Genotyping with 12 SSR markers (European reference method)
 - Virulence characterization on Block's differential set, in laboratory on detached leaves.

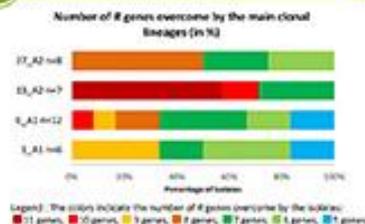
4 Genotypic characterization of *P. infestans*



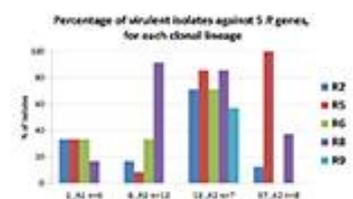
- Resistant potato genotypes have been in contact with all major clonal lineages present in France.
- Isolates sampled on Bintje are different from isolates on resistant potato genotypes.
- Two different behaviors of potato genotypes with partial resistance to late blight:
 - Genotype 017.9.8 is infected by all major clonal lineages.
 - Other potato genotypes are only infected by the 13_A2 lineage.

Legend: The colors indicate clonal lineages: 1_A1, 6_A1, 13_A2, 16_A2, 17_A2, 18_A1, 11 others, ■ samples for which the genotyping failed.

5 Virulence characterization



- More than 50% of isolates are virulent on:
 - The 11_R genes ; 13_A2 lineage
 - 8_R genes ; 17_A2 lineage
 - 6 to 7_R genes ; 1_A1 and 6_A1 lineages



- R genes overcome:
 - R9 by 13_A2 lineage only;
 - R5 by 17_A2 and 13_A2 lineages;
 - R8 by 6_A1 and 13_A2 lineages.
- R1, 3, 4, 7, 10, 11 are generally overcome by all the isolates.

6 Conclusion

- Resistant potato genotypes influence the structure and the dynamics of *Phytophthora infestans* populations.
- In our experiment, the 13_A2 clonal lineage is selected over time by some resistant potato genotypes.
- The highly complex virulence patterns of 13_A2 isolates may explain its selection by potato genotypes with race-specific resistance genes.

- Two types of behaviors in the resistant potato genotypes studied in this experiment:
 - One type with a high level of selection in *P. infestans* populations = impact of R genes?
 - Another type without selection pressure in the *P. infestans* populations = quantitative resistance?
- This study emphasizes the need to incorporate diverse resistance sources, especially non-specific ones, into breeding programs to avoid selection, spreading and dominance of specific *P. infestans* genotypes.

Field disease progress curves of 8 potato genotypes



INRA, UMR 1065P, 35653 Le Rheu, France
 INRA, UMR 1065P and UR 1060, 29250 Ploudaniel, France
 Gemmeo Breeding and Floremond-Degres Weave & Fill, 29520 Châteauneuf du Faou, France
 Sipre and FN3PT-RD3PT, 76110 Erteville Du Grand Caux and 62217 Aizbours, France



17th EuroBlight Workshop, York, UK, 12 - 15 May 2019

Annexe 9

Réunion démarrage projet PoTStaR 10 mars 2017

Participants :

Le Rheu : Andrivon D, Aurousseau F, Barbary A, Chatot C, Chauvin JE, Corbière R, Esnault F, Grall Y, Gravouille JM, Hardel S, Marhadour S, Pellé R
En Visio : Gaucher D (après-midi), Kerlan MC

Projet financé pour 3 ans dans le cadre des actions de recherche du plan Ecophyto. Les fonds Ecophyto sont gérés par l'ONEMA qui a été intégré dans l'Agence Française pour la Biodiversité (AFB) au 1^{er} janvier 2017. Nous attendons la nouvelle convention-type. Une demande de rétroactivité a été faite afin de rendre éligibles les dépenses à partir du 1^{er} mars. En attente de réponse.

Le diaporama présenté a été diffusé aux participants.

Discussion sur les différentes tâches prévues dans le projet :

WP1 : Phénotypage multi-site de la collection de géniteurs améliorés

- **Actions 1.1 et 1.2:** Phénotypage multi-site de la collection de géniteurs améliorés : pilotées par Roland avec une personne relais par site d'expérimentation : Ploudaniel_Kerloï : Jean-Marc, Marmande : Catherine, Villers-Saint-Christophe : Jean-Michel, Auchy-les-Mines : Frédérique.

Action 1.3: Collecte et analyse des données antérieures de phénotypage : pilotée par Roland

- Ces expérimentations sont prévues en conditions de contamination naturelle.

Si cette contamination naturelle n'est pas suffisante, on prévoit de faire

- soit une inoculation avec des isolats de l'année, prélevés de tas de déchets de la région
- soit, si pas ou peu d'infection sur les tas de déchets, une inoculation avec une souche prélevée dans le secteur du site d'expérimentation au cours de l'année précédente et présentant une agressivité moyenne.

La multiplication de ces souches doit être anticipée et réalisée à partir du 10-15 mai pour une inoculation début juin (au plus tard le 15 juin).

Denis doit envoyer le protocole d'inoculation qu'il utilise (nb de plantes inoculées, concentration de spores...) ...) et le nombre de boîtes de culture nécessaires pour inoculer cet essai.

Essai Marmande : Pas de brumisation possible. Catherine s'occupe de la multiplication de la souche qui sera utilisée.

Essai Auchy-les-Mines : Essai sous-traité avec la Fredon. Irrigation possible. Frédérique s'occupe de la multiplication de la souche qui sera utilisée.

Essai Villers-Saint-Christophe : Irrigation non prévue (implantation sur la plateforme mildiou-produits). La souche sera fournie par l'IGEPP et envoyée à Eurofins autour du 10-15 mai pour multiplication.

- Expérimentation réalisée avec une couverture fongicide partielle (site de Kerloï). L'objectif est d'évaluer le comportement des géniteurs soumis à une pression d'inoculum moindre. Le protocole reste encore à discuter. Proposition de faire un traitement sur 2 par rapport à un traitement systématique.

- Notations : la notation des infecteurs permet de contrôler l'hétérogénéité de l'infection.

Mettre une note globale pour les 2 plantes de chaque parcelle élémentaire. Noter tout l'essai dans la même journée.

Roland envoie un protocole de notation.

- Si une année d'expérimentation présente un faible niveau de contamination, on peut envisager de prévoir une 3^{ème} année d'essai en 2019.

- Collecte des données antérieures de phénotypage : sont disponibles pour certains géniteurs. Ces données ont été acquises de 1993 à 2016. Discuter avec Sylvie pour la mise en forme du fichier. Il peut aussi être intéressant de collecter les données de phénotypage mildiou de ces géniteurs acquises dans le cadre de différents projets (projet SAM de Sylvie, thèse de Toky, Archidémio) : permet d'avoir d'autres points de comparaison que les témoins entre les années. Collecter aussi les notes de précocité des géniteurs.

- Collecte des données antérieures des souches de mildiou prélevées à Ploudaniel : voir s'il est possible de faire correspondre ces données avec les années d'expérimentation des géniteurs

WP2 : Analyses de génétique d'association

- **Action 2.1:** Identification de marqueurs associés à une résistance stable : pilotée par Florence

Action 2.2: Comparaison avec autre jeu de données : pilotée par Sylvie

- Données antérieures : pour les géniteurs qui étaient résistants et sont devenus sensibles : faire 2 analyses : une première analyse en utilisant les données anciennes de phénotypage et une seconde analyse en utilisant les données de phénotypage acquises pendant le projet : la comparaison des résultats obtenus avec ces 2 analyses permettrait d'identifier les facteurs de résistance non stables.

WP3 : Analyse des populations de mildiou et de la stabilité des résistances

- **Action 3.1:** Analyse des données climatologiques : pilotée par Denis

Action 3.2: Caractérisation des souches actuelles de mildiou et comparaison avec populations antérieures : pilotée par Roselyne

Action 3.3: Adaptation locale des souches de mildiou à des sources de résistance partielle : pilotée par Roselyne

Action 3.1 :

- Collecte des données climatologiques sur les sites d'expérimentation :

Avoir des données horaires (de température, pluviométrie et humidité relative). Le format de fichier n'est pas un problème.

Les données des sites Auchy les Mines et Villers Saint Christophe pourront être analysées directement dans Mileos.

Essai Marmande : une station météo proche de ce site est déjà référencée dans Mileos. Utilisation de ces données ?

Essai Ploudaniel : Voir avec Agroclim (Inra, Avignon) s'il est possible de connecter la station météo du site INRA Ploudaniel avec Mileos.

- Collecte des données climatologiques antérieures sur le site de Ploudaniel : Données disponibles depuis 1993. Ces données seront analysées avec MilBox.

- Des données de phénotypage sur des variétés évaluées chaque année à Ploudaniel seront également collectées pour aider au paramétrage du modèle.

Action 3.2:

- Prélèvements des souches de mildiou sur les sites d'expérimentation au cours de la 1^{ère} année : si possible en début d'épidémie, pour disposer de 20 isolats propres (sans contamination) par site.

Choisir un des 2 sites Nord : site sur lequel il n'y aura pas de contamination artificielle

Essai Auchy-les-Mines : Prélèvements des feuilles et isolement des souches réalisés par la SIPRE.

Essai Villers-Saint-Christophe : Si cette tâche ne peut pas être réalisée à Auchy-les-Mines, prélèvements des feuilles réalisés par Arvalis. **Mais à définir qui réalisera les isolements.**

Pour le site Nord qui ne sera pas retenu pour le prélèvement de souches, il est quand possible de prévoir quelques prélèvements sur cartes FTA pour réaliser éventuellement du génotypage sur ces souches.

Essai Marmande : Prélèvements des feuilles réalisés par Germicopa. L'isolement des souches sera réalisé par Bretagne Plants ou par IGEPP.

Essai IGEPP Ploudaniel : Prélèvements des feuilles réalisés par Roland ou Roselyne. L'isolement des souches sera réalisé par Roselyne.

- Analyse des populations :

- Détermination du type sexuel : **à définir qui le fera**
- Caractérisation génotypique par microsatellites : IGEPP, Le Rheu
- Test d'agressivité : sur folioles détachées de la variété Bintje : 20 isolats par site

- Collecte des données acquises sur les souches de mildiou prélevées à Ploudaniel depuis la fin des années 1990 :

Données de génotypage sur les souches collectées depuis 2000.

Données d'agressivité sur Bintje et données de compatibilité sexuelle disponibles pour toutes.

Données de virulence sont disponibles pour les souches prélevées jusque 2007-2008. Après, moins systématique.

Collecte des données disponibles sur les souches prélevées à Ploudaniel, √ le génotype sur lequel ces souches ont été prélevées

Action 3.3:

- Prélèvement des souches de mildiou à Ploudaniel au cours de la 2^{ème} année : Sur Bintje (15 isolats) et sur 2 génotypes qui présentent une résistance partielle sur tous les sites au cours de la 1^{ère} année (10 isolats par génotype). Pour ces 2 génotypes, implanter un plus grand nombre de parcelles élémentaires dans l'essai IGEPP Ploudaniel afin de pouvoir prélever suffisamment de souches. Ne devrait pas poser de problème de quantité de matériel.

- Analyse des populations

- Détermination du type sexuel et caractérisation génotypique: IGEPP, Le Rheu
- Test d'agressivité : sur Bintje et les deux variétés à résistance partielle (35 isolats testés sur les 3 variétés)

PS : Il n'a pas été précisé, pour Ploudaniel, de prévoir de multiplier les 2 variétés résistantes, pour fournir des tubercules à Igepp, Le Rheu (10 à 20 max tubercules de petit calibre, par génotype).

WP4 : Coordination du projet

- une réunion par an : à organiser autour de la mi-janvier. Fixer la date en septembre.

Discussion sur la partie administrative :

- la convention est en attente de réception

- les mandats sont en cours de signature

- ACVNPT : souhait que le nom de chaque membre de l'ACVNPT soit précisé dans la convention

- répondre au mail relatif aux aides de l'Etat (mail envoyé à tous les partenaires après la réunion)

- discussion sur la mise en œuvre en France de la réglementation APA (Accès aux ressources génétiques et Partage des Avantages découlant de leur utilisation). Se renseigner auprès du Département SPE pour *P. infestans*.

Annexe 10 :

Réunion d'étape 1 projet PoTStaR 23 janvier 2018

Participants :

Le Rheu : Abiven JM, Andrivon D, Aurousseau F, Barbary A, Bousseau M, Chatot C, Corbière R, Esnault F, Gaucher D, Grall Y, Gravouelle JM, Guibert M, Mabon R, Pellé R, Saubeau G
En Visio : Lairy G, Marhadour S

La réunion a débuté à 10h30 par une présentation par FE des différentes actions du projet et de leurs objectifs. Puis un point d'avancement de chacune des actions a été réalisé.

WP1 : Phénotypage multi-site de la collection de géniteurs améliorés

- Actions 1.1 et 1.2: Phénotypage multi-site de la collection de géniteurs améliorés

Les personnes relais de chaque site d'expérimentation ont fait un bilan du déroulement de l'essai 2017:

Villers-Saint-Christophe (Jean-Michel)

Essai planté le 7 avril, début de levée le 11 mai.

Contamination sur rangs infecteurs BINTJE, selon un plan défini avec Roland, le 12 juin (isolat 13_A2 Eurofins 2016), échec (canicule et absence d'irrigation ou brumisation).

À proximité de l'essai, un essai mildiou « produits » brumisé a fait l'objet d'une nouvelle contamination sur rangs infecteurs le 29 juin (origine FREDON, parcelles agricoles et tas de déchets 2017). Cette dernière contamination s'est révélée efficace (retour à des conditions d'environnement favorables). Démarrage de l'épidémie dans l'essai PoTStaR : entre le 7 et le 14 juillet, probablement essentiellement à partir de spores issues de l'essai mildiou « produits ».

5 cartes FTA ont été réalisées sur des souches de l'essai 'Produit' (présence de 13_A2 et 37_A2). Pas de cartes FTA faites sur l'inoculum apporté.

Suivi des notations : Autour du 14 juillet, les 2 répétitions de l'essai ont été notées à 5 jours d'écart. Va peut-être compliquer un peu l'analyse des données.

Essai 2018 : Prévoir un inoculum mixte 13_A2 / 37_A2 si inoculation artificielle nécessaire. Frédérique choisit les souches. En avril, Frédérique et Roselyne se concertent pour l'envoi de ces souches à Eurofins qui les multiplie et les fournit à Arvalis.

Auchy-les-Mines (Frédérique)

Essai planté le 26 avril.

Inoculation artificielle avec un isolat 13_A2 majoritaire du monitoring 2016. 1^{ère} inoculation le 7 juin, échec. 2^{ème} inoculation le 20 juin et installation de l'irrigation.

5 notations réalisées du 18/07 au 18/08. Notations difficiles car problème de sénescence et alternaria. D'où des données manquantes (pour 23 clones).

Isolats ont été prélevés :

le 06/07 : isolat 1_A1 (correspond à l'inoculum utilisé dans un essai FREDON)

le 17/08 : isolat 13_A2 (correspond à celui inoculé)

Essai 2018 : Prévoir d'emblée l'irrigation. Prévoir un inoculum mixte 13_A2 / 37_A2 si inoculation artificielle nécessaire.

Birac sur Trec, à 15 km de Marmande (Catherine)

Chez un producteur de pommes de terre primeur, maraichage, maïs

Essai planté le 30 mars, début de levée fin avril.

Inoculation le 20 juin, avec un mélange d'isolats A1 et A2 de 2016 et 2017, par pulvérisation sur toutes les microparcelles.

Parcelle irriguée presque tous les 2 jours.

Début de l'infection le 26 juin.

10 notations réalisées dont 7 assurées par Germicopa. Présence d'alternaria déjà au 23 mai.

7 cartes FTA ont été faites.

DA : Aurait été intéressant de voir si présence d'oospores car co-infection A1 + A2 et conditions non favorables à l'épidémie.

CC : Possible de faire des prélèvements de feuilles sur les repousses dans cette parcelle

Essai 2018 : Essai reconduit chez le même agriculteur. Se rapprocher du secteur bio pour récupérer de l'inoculum.

Ploudaniel Bretagne Plants Innovation (Jean-Marc)

Essai planté le 3 mai

Contamination naturelle. Pression faible en juin.

2 applications de fongicide : 7 juin (fongicide de contact), 19 juillet (mancozèbe)

Début de l'infection après le 10 juillet.

6 notations du 17/07 au 21/08. Bonne pression de mildiou et progression régulière de la maladie.

Pas ou peu d'alternaria.

A l'arrachage, grande variabilité de comportement vis-à-vis du mildiou du tubercule. Info intéressante.

SM : Le mildiou du tubercule est un caractère intéressant en particulier pour la SAM.

JMA : Mais un essai classique Mildiou du tubercule demande un autre dispositif (augmentation des allées, parcelles élémentaires plus grandes)

FE : Ne pourrait-on pas envisager une notation en 2-3 classes phénotypiques en conservant le dispositif 2017?

Essai 2018 : Pas de changement. On rajoute une notation mildiou du tubercule au moment de la récolte en classant les géotypes en 3-4 catégories (si c'est possible cad : suffisamment de variabilité phénotypique, pas trop de terre adhérente,...).

Ploudaniel INRA (Roland)

Essai planté le 4 mai, début de levée fin mai.

3 irrigations réalisées le 19/06, 21/06 et 17/07 (en fin de journée)

Contamination naturelle. Progression rapide 2^{ème} quinzaine de juillet.

Notations de mi-juin au 31/07.

Beaucoup de végétation, rendant difficile les premières notations.

Alternaria en fin de notation, peu de pb de sénescence.

Premières analyses des données de phénotypage (Roland)

Analyse des courbes de progression de la maladie sur les rangs d'infecteurs par travée, par rang, par répétition pour chaque site d'expérimentation : Bonne homogénéité de la contamination dans chacun des essais.

Analyse du comportement de quelques témoins dans les 5 lieux d'essai : résultats concordants. La contamination tardive à Auchy exacerbe les résistances.

Analyse de la distribution des AUDPCr en fonction du programme d'origine des géotypes : les géotypes issus des programmes résistance au mildiou sont les plus résistants. Cette analyse a été faite à partir des moyennes des 5 essais. A faire pour chaque essai séparément.

Analyse de la répartition des individus par ACP (totalité des individus, puis individus issus des programmes résistance au mildiou) à partir des variables AUDPCr, delta t et delta a. Refaire cette analyse en incluant la note de précocité, et refaire par lieu d'essai.

Faire aussi des analyses de variance.

SM propose une analyse multivariée (AUDPCr, Δa et Δt) en indiquant le lieu d'essai par variable pour voir comment se positionnent les différents lieux. Il paraît judicieux d'intégrer une note de précocité dans l'analyse.

Analyse préliminaire du comportement de quelques génotypes issus des différents programmes résistance au mildiou.

Etudier la stabilité dans l'espace de la résistance selon le type de résistance et le niveau de résistance : Si présence de gènes majeurs, résistance moins stable ? Un niveau plus élevé de résistance est moins stable qu'un niveau intermédiaire ?

- Action 1.3: Collecte et analyse des données antérieures de phénotypage (Roland)

Les données de phénotypage (AUDPC, delta t et delta a) ont été rassemblées. Les données sont classées année par année, depuis 1992.

A analyser pour étudier l'évolution des notations pour chacun des génotypes : stabilité dans le temps.

Des variétés témoin sont communes à toutes les années (Bintje, Désirée, Arka, Robijn).

A analyser avec les données climatologiques pour mettre en relation les épidémies et les conditions météo. (Voir action 3.1)

WP3 : Analyse des populations de mildiou et de la stabilité des résistances

- Action 3.1: Analyse des données climatologiques (Denis)

Evaluation des profils épidémiques sur les sites d'expérimentation

Les données climatologiques ont été rassemblées pour les sites de Auchy les Mines, Villers Saint Christophe, Ploudaniel (HR élevées mais cohérentes avec Trémaouézan) et Duras (à la place de Birac dont les données ne semblent pas valides en HR).

Analyse des profils épidémiques de chacun des sites (réserves de spores et poids de contamination) : la pression a été faible pendant les essais sauf pour le site de Ploudaniel.

A Villers, la pression était plus forte qu'à Auchy, mais l'essai n'a pas été irrigué. A Auchy, l'épidémie a été permise grâce à l'irrigation.

Les capteurs indiquent parfois la présence d'un fort taux d'humidité, mais cela ne se traduit pas par une forte infection. L'humidité relative semble difficile à estimer dans certaines situations (conditions océaniques).

Valorisation de la base de données historiques de Ploudaniel

Les données climatologiques depuis 1993 du site de Ploudaniel ont été fournies par INRA Avignon.

Elles seront analysées dans Mileos par un stagiaire de M2 (19 mars au 19 septembre).

Pour analyser les données, Denis propose de changer d'échelle : l'axe des abscisses ne sera plus en jours mais en cumul de poids de contamination. Cela devrait permettre de comparer les années et de définir des seuils pour Mileos.

Denis aura besoin de récupérer des données phénotypiques de ces années (variétés témoin communes) pour mettre en relation les profils épidémiques estimés par Mileos avec le comportement de génotypes présentant différents niveaux de résistance au mildiou et ainsi définir des seuils de traitement par niveau de résistance.

- Action 3.2: Caractérisation des souches actuelles de mildiou et comparaison avec populations antérieures (Roselyne)

Caractérisation des souches actuelles :

Auchy les Mines : Inoculation artificielle avec une souche 2016 13_A2. Prélèvement de 2 isolats vivants (+ cartes FTA) :
un isolat 1_A1
un isolat 13_A2

Villers Saint Christophe : Inoculation artificielle, avec un inoculum de 2017 non génotypé (de parcelles et tas de déchets). 5 cartes FTA :
trois isolats 13_A2
un isolat 37_A2
un échec

Birac sur Trec : Inoculation artificielle, avec un inoculum de 2016 : 6_A1 et 13_A2. 7 cartes FTA + 1 isolat vivant :
quatre isolats 6_A1
quatre isolats 13_A2

Ploudaniel : Inoculation naturelle, 2 dates de prélèvement.
26 juin : 19 isolats prélevés à l'INRA sur Bintje (50% de 6_A1)
19 juillet : 15 isolats prélevés sur des génotypes partiellement résistants à l'INRA (85% de 13_A2)
10 isolats prélevés à Kerloï sur Bintje (50% de 6_A1 et 50% de 13_A2)
22 isolats prélevés à Ploudaniel ont été sélectionnés pour faire les tests d'agressivité (issus de 3 lignées, 5 MLG différents).

Il était prévu dans le projet de prélever 20 isolats par site : cela n'a pas été fait dans le Nord ni dans le Sud car inoculation artificielle. Des isolats ont été prélevés en Bretagne et en Nord Picardie dans le cadre du projet IPMBlight, hors de l'essai PoTStaR.

Bretagne : 50% 13_A2, 40 % 6_A1 (Pas de 37_A2)

Nord-Picardie : 60% 13_A2, 35 % 37_A2 (Pas de 6_A1)

Ces résultats peuvent-ils être exploités dans le cadre de PoTStaR ? Il ne sera pas possible de faire le lien entre le comportement des génotypes et la composition régionale des souches.

Données antérieures :

Présence de données de génotypage sur des isolats prélevés à Ploudaniel de 2002 à 2017.

Des données d'agressivité doivent être disponibles dans différentes thèses. Présence aussi de quelques données de virulence.

Faire l'inventaire de ce qui est disponible.

- Action 3.3: Adaptation locale des souches de mildiou à des sources de résistance partielle (Roselyne)

Il était prévu dans le projet de faire, au cours de la deuxième année d'essai, des prélèvements de souches de mildiou à Ploudaniel sur 2 génotypes à résistance partielle. Prévoir d'implanter ces 2 génotypes à plusieurs endroits dans l'essai.

Il faut donc prévoir plus de tubercules pour ces 2 génotypes : avoir davantage de répétitions au champ et des tubercules pour réaliser les inoculations croisées.

On peut envisager de faire du génotypage à partir de cartes FTA sur des isolats prélevés sur tous les sites : 30 cartes FTA par site (15 sur Bintje en début d'épidémie, 15 sur 2 génotypes partiellement résistants en fin d'épidémie, quand Bintje est entre 75 et 100% de destruction). Permettra d'avoir une bonne idée de la population sur chacun des sites. Si un essai a été inoculé, on s'attend à une moindre diversité, donc seulement 10 cartes FTA à chaque date. (Il faudra bien préciser les modalités de réalisation des cartes FTA dans le protocole des essais de phénotypage)

Comment choisir les 2 génotypes partiellement résistants ? Sur quels critères ? Choisir des génotypes qui présentent une résistance stable. Il faudrait avoir le temps de bien analyser les

résultats 2017. Mais les conditions climatiques de 2017 ont été particulières. Afin de répondre au mieux à la question de l'adaptation du mildiou à des sources de résistance, le choix des 2 génotypes partiellement résistants est très important. Il est donc décidé de demander une prolongation du projet de 6 mois afin de suivre le calendrier suivant :

- 2018 : deuxième année d'essai – réalisation de cartes FTA comme mentionné au paragraphe précédent. La deuxième série de cartes est à faire sur des génotypes encore partiellement verts, en indiquant bien quel génotype (Essayer si possible de prélever sur les mêmes génotypes sur tous les sites, liste proposée par Roland).
- 2019 : choix des 2 génotypes partiellement résistants à partir des résultats 2017 et 2018 et mise en place d'un essai spécifique sur un site
 - prélèvement et caractérisation des isolats comme prévu initialement en 2^{ème} année
- 2020 : Caractérisation phénotypique des isolats (nécessaire d'attendre la levée de dormance des tubercules qui seront récoltés en septembre 2019)

FE envoie un courrier à l'AFB pour la demande de prolongation.

WP2 : Analyses de génétique d'association

Pas d'avancées sur ce workpackage.

Une nouvelle analyse des données de génotypage est en cours afin d'améliorer la qualité de l'assignation des génotypes (analyse avec le package fitTetra de R en utilisant la valeur Theta qui représente le dosage de l'allèle B, comme préconisé par Carley et al., 2017) et le nombre de SNP exploitables (modification des paramètres de l'analyse fitTetra).

SM : Peut-on envisager de faire une analyse globale des 5 essais plutôt qu'une analyse de chacun des essais séparément ?

Pour l'analyse d'association, peut-on utiliser la valeur Theta plutôt que la classe génotypique ?

A réfléchir.

Prochaine réunion à prévoir en janvier 2019 (Doodle à envoyer en septembre 2018).

Questions à traiter lors de cette réunion :

- Comment traiter les différents types de données qu'on aura acquis ?
- A quelles questions souhaite-t-on répondre ?

Il faudra organiser des réunions plus spécifiques pour certains types de données avant.

Discussion sur la partie administrative :

Conventions de reversement :

- Convention INRA – FN3PT a été signée. L'argent n'a toujours pas été versé.
- Convention INRA – ACVNPT : après plusieurs échanges, la convention correspond bien à la demande de l'ACVNPT. Sera signée lors de la prochaine réunion ACVNPT.
- Convention INRA – Arvalis : Suite à des erreurs dans les adresses mail, la convention vient seulement d'être réceptionnée par Arvalis. Est en cours de signature.

Feuilles de temps envoyées début 2017 : doivent-elles vraiment être complétées ? Si oui, peut-on avoir les feuilles de temps 2018 ?

FE interroge le service partenariat de centre.

Annexe 11

Réunion d'étape 2 projet PoTStaR 17 janvier 2019

Participants :

Le Rheu : Abiven JM, Andrivon D, Arousseau F, Bagot P, Barbary A, Corbière R, Dewaegeneire P, Esnault F, Gaucher D, Grall Y, Gravouille JM, Guibert M, Lairy G, Le Garrec N, Le Hingrat Y, Mabon R, Marhadour S, Pellé R, Saubeau G
En Visio : Bousseau M, Kerlan MC, Kermarrec MP, Mourot M

La réunion a débuté à 8h45 par un rappel des grandes lignes du projet et des résultats attendus par FE. Puis un point d'avancement de chacune des actions a été réalisé.

WP1 : Phénotypage multi-site de la collection de géniteurs améliorés

- Actions 1.1 et 1.2: Phénotypage multi-site de la collection de géniteurs améliorés

➤ **Présentation du déroulement des essais 2018**

Villers-Saint-Christophe (Jean-Michel)

Essai planté le 18 avril, date de levée (Bintje) le 3 mai. Essai non irrigué, ni brumisé.

La contamination de l'essai a été relativement précoce en saison et d'origine naturelle. Les premières taches ont été observées le 7 juin sur les rangs de BINTJE « infecteurs » et quelques génotypes.

Sous conditions favorables jusqu'à la 3^{ème} décennie de juin, l'épidémie s'est généralisée à l'ensemble de l'essai avec une répartition assez homogène des symptômes sur les rangs de BINTJE « infecteurs ». Ensuite, la pression a fortement diminué en raison de conditions climatiques chaudes et sèches entraînant un arrêt de l'épidémie et une sénescence précoce de la plupart des variétés rendant quasi impossible les notations au-delà de la mi-juillet.

Auchy-les-Mines (Frédérique)

Essai planté le 3 mai. Mise en place d'un système d'irrigation.

La contamination est issue de la parcelle expérimentale FREDON voisine inoculée le 31 mai avec un inoculum en mélange 13_A2 et 37_A2 issu du monitoring 2017 (Pauline Dewaegeneire).

1ers symptômes : 8 juin. Notations du 8 juin au 14 août.

Bon démarrage du mildiou mais conditions difficiles à partir du 26 juin même avec l'irrigation. Les infecteurs sont à seulement 50% de destruction début août.

Légère pression du mildiou fin août mais notations difficiles du fait de la sénescence des plantes et irrigation non suffisante pour maintenir une sporulation.

Birac sur Trec, à 15 km de Marmande (Yannick)

Essai planté le 18 avril. A bénéficié de l'irrigation de la parcelle de maïs voisine.

La contamination est naturelle. Les premières taches ont été notées le 06 Juin, avec déjà des gros foyers. Puis 6 notations jusqu'au 12 juillet.

Progression fulgurante de la maladie. Forte pression en juin. Conditions peu favorables fin juin.

Ploudaniel Bretagne Plants Innovation (Jean-Marc)

Essai planté le 4 mai. Essai non irrigué.

2 traitements fongicides réalisés : le 12 juin avec un produit de contact (Adério) au début de l'épidémie, le 26 juin avec un produit translaminaire (Acrobat) quand la pression est forte.

Notations réalisées du 19 juin au 13 août.

Bon démarrage de l'épidémie en juin puis stagnation début juillet. Reprise de l'épidémie fin juillet avec la pluie.

Ploudaniel INRA (Roland)

Essai planté le 26 avril. Levée fin mai.

1ères taches notées le 12 juin.

Explosion de l'épidémie fin juin et stagnation en juillet. 2 irrigations ont été réalisées en juillet (10 juillet et 20 juillet).

Fin des notations le 3 août.

➤ **Analyses des données de phénotypage 2017 et 2018 (Roland et Florence)**

Les données 2017 ont été analysées par une stagiaire de Master 1 (Marion Le Bot, Université Angers). Sylvie a participé à la conception du plan d'analyse des données et à l'interprétation des résultats.

Analyses réalisées avec le logiciel R. Utilisation de ses scripts par RP pour analyser les données 2018.

Analyse réalisée sur les rangs d'infecteurs essai par essai pour déterminer si l'infection est homogène : analyses de variance pour tester les effets bloc, rang et travée sur les variables AUDPCr, Jours après plantation sans mildiou et pente.

Globalement pas de forte hétérogénéité quel que soit l'essai, pour les 2 années, sauf pour l'essai conduit à Auchy en 2018. Fort effet travée dans cet essai.

Infecteurs à moins de 60% de destruction à la fin des notations dans l'essai Auchy 2018.

D Andrivon : Essai BPI 2018 : Devrait apporter des informations intéressantes sur le comportement des variétés en situation de combinaison de leviers (la progression de l'épidémie présente un plateau début juillet suite à la réalisation d'un traitement phyto et des conditions climatiques peu favorables).

Analyse réalisée sur la gamme des variétés Témoins pour comparer leur comportement entre les essais : analyses de variance sur les variables AUDPCr, Δt (non montré), Δa (non montré), et tests de Tukey réalisés essai par essai ; puis AFM (Analyse Factorielle Multiple) et classification.

Même si l'interaction génotype*essai est significative, les variétés se comportent globalement comme attendu dans chacun des essais au cours des 2 années et leur classement est respecté. Exception pour l'essai Auchy 2018 qui n'est pas discriminant.

Essai Birac 2018 : Robijn a le même comportement que les variétés sensibles. Möwe conserve un comportement de variété présentant une résistance partielle. Toutes les autres variétés ont un comportement de variété résistante. Permet d'identifier les résistances qui craquent sous forte pression et celles qui tiennent. Mais épidémie très rapide, ne permet pas de voir les résistances qui craquent en fin d'épidémie comme dans l'essai INRA et l'essai BPI.

D Gaucher : Comportement plus lié aux caractéristiques de l'épidémie qu'à la composition des souches de mildiou.

Question : Comment intégrer les caractéristiques de l'épidémie dans les analyses ?

Les 2 premières dimensions de l'AFM expliquent 66% de la variation avec la première dimension qui explique entre 50 et 55% selon l'année. Les 3 variables sont globalement bien corrélées entre les essais.

La dimension 1 permet d'expliquer le comportement des génotypes en terme de résistance.

AFM 2017 : la variable Δt de l'essai Birac se distingue des autres variables Δt ainsi que de toutes les autres variables. Mais la différence des valeurs prises par cette variable n'a pas de signification biologique car elle correspond au pas de temps de notation.

AFM 2018 : la variable Δa de l'essai BPI a un positionnement non attendu dans le cercle des corrélations. Mais dans cet essai, la courbe de Bintje n'est pas linéarisable et donc la variable Δa n'est pas bien estimée. De même la variable Δa de l'essai Auchy est orthogonale aux autres variables Δa , probablement dû aux conditions difficiles de l'épidémie de cet essai.

Refaire cette AFM 1. en mettant en variables supplémentaires les Δa des essais BPI et Auchy, 2. en mettant en variables supplémentaires les variables de l'essai Auchy.

La classification met en évidence 3 clusters :

Cluster 1 : génotypes résistants, probablement ayant des gènes majeurs non encore contournés

Cluster 2 : génotypes moyennement résistants

Cluster 3 : génotypes sensibles

Mais les variables utilisées agrègent différents facteurs et peuvent être le résultat de différents types de comportement.

P. Bagot : Pour évaluer plus précisément la résistance, utiliser les valeurs de Bintje comme covariable (projet Optires).

Roland, Sylvie : C'est probablement plus intéressant de le faire lorsque la pression de maladie est moins forte qu'à Ploudaniel.

Sylvie : Intégrer dans l'analyse toutes les dates de notation ? Mais beaucoup seront corrélées. Voir s'il existe des méthodes permettant de tenir compte de la non indépendance des notes au temps n par rapport aux notes au temps $n+1$.

Identifier pour chaque cluster les caractéristiques communes aux génotypes ainsi regroupés (résultat de l'analyse de classification).

Qu'est-ce qui caractérise la dimension 2 de l'AFM ? Permet-elle de caractériser la spécificité des sites d'expérimentation ? Refaire une analyse en sélectionnant des témoins représentatifs de chaque cluster pour essayer de caractériser cette deuxième dimension de l'AFM. Ne pas intégrer l'essai Auchy dans cette AFM ?

Faire aussi une anova de base sur les données rAUDPC 2017 + 2018 (année + lieu+ année*lieu+ génotype +) sur les témoins pour connaître la taille relative des effets.

Analyse réalisée sur les géniteurs : AFM (Analyse Factorielle Multiple) et classification à partir des variables AUDPCr, Δt , Δa . Uniquement pour l'année 2017 pour le moment.

Les 2 premières dimensions de l'AFM expliquent 62% de la variation avec la première dimension qui explique 52%. Les 3 variables sont également globalement bien corrélées entre les essais.

La dimension 1 permet de classer les génotypes sur leur niveau de résistance globale.

La classification répartit les géniteurs également en 3 clusters.

Le cluster 1 comprend majoritairement des géniteurs issus du programme Résistance au mildiou. La moitié des géniteurs du cluster 2 sont issus également du programme Résistance au mildiou. Donc certains géniteurs issus des autres programmes présentent un certain niveau de résistance au mildiou. Quelques géniteurs issus du programme Résistance au mildiou se trouvent dans le cluster 3, indiquant ainsi que leur résistance n'est pas stable.

Il faudra comparer ces résultats avec ceux obtenus sur les données 2018 et analyser la généalogie de ces géniteurs à résistance non stable.

L'analyse des inerties intra des géniteurs montre également que dans chacun des clusters, il y a des individus qui ont des comportements similaires (donc stables) entre les sites et d'autres qui ont des comportements différents.

Ces résultats ont fait l'objet d'un poster présenté au 19th joint Meeting EAPR Breeding and Varietal Assessment et EUCARPIA Section Potatoes à Rostock-Warnemünde (Allemagne) début décembre :

Esnault F, Le Bot M, Pellé R, Kermarrec MP, Abiven JM, Arousseau F, Chatot C, Gravouille JM, Dubreuil H, Marhadour S, Chauvin JE (2018) Multi-site evaluation for resistance to late blight of a collection of INRA improved breeding lines.

Une liste de géniteurs présentant de la résistance partielle avait été proposée pour réaliser des cartes FTA sur les isolats présents sur les différents sites. La liste est la suivante, en respectant l'ordre de priorité indiqué :

1. 89T.123.3 ou 98T.112.1
2. 03T. 9. 8
3. 07T.10.26
4. 92T.120.16 ou 05T. 52.50 (descendant du 92T.120. 16)

Les résultats de la classification réalisée sur les données de phénotypage 2017 indiquent que l'ensemble de ces géniteurs se trouve dans le cluster 1, sauf le 03T. 9. 8 qui est dans le cluster 2. Ils présentent des inerties intra intermédiaires.

L'analyse de leurs courbes de destruction du feuillage 2018 montre qu'ils ont bien un comportement de génotype résistant sauf le 03T. 9. 8 qui a un comportement de génotype sensible sur le site de Birac où l'épidémie a été fulgurante. Le 05T. 52.50 a un comportement de résistance partielle sur le site INRA.

- **Actions 1.3: Analyse des données antérieures de phénotypage vis-à-vis du mildiou**

Comment intégrer l'effet année sur ces données historiques ?

- Utiliser le cumul de poids de contamination comme covariable

Il faut déterminer le point de départ : 5 jours avant les 1^{ères} taches ?

Denis envoie le tableau du poids de contamination jour par jour.

- Calculer un rapport avec un témoin sensible (Bintje par exemple)

WP3 : Analyse des populations de mildiou et de la stabilité des résistances

- **Action 3.1: Analyse des données climatologiques (Denis)**

➤ **Caractérisation climatique des sites en 2018**

Il s'agit d'une année à forte pression pendant le début des essais (jusqu'au 20 juin), puis faible ou très faible ensuite, sauf à Ploudaniel.

Essai Birac : utilisation des données de la station météo de Duras car problème de mesure du niveau d'humidité sur la station de Birac. Epidémie fulgurante.

Essais Auchy et Villers : mêmes profils épidémiques. Forte pression jusque mi-juin. Bon démarrage de l'épidémie sur les 2 sites mais les conditions climatiques peu favorables ensuite ont stoppé l'épidémie sur le site d'Auchy alors que l'essai de Villers pourrait avoir bénéficié d'un emplacement dans une petite cuvette, permettant la poursuite de l'épidémie.

➤ **Valorisation de la base de données historiques de Ploudaniel**

Travail réalisé dans le cadre d'un stage de Master 2 (Boubacar Diouf, Université de Reims Champagne Ardenne) : essai d'utilisation du cumul des poids de contamination comme nouveau seuil Mileos de déclenchement des traitements pour valoriser les résistances variétales.

Données météo de 1995 à 2017 récupérées auprès de l'INRA d'Avignon. Récupération des données de destruction du feuillage à Ploudaniel de 1995 à 2017 de 5 variétés : Bintje (sensible), Désirée et Robijn (R partielle), Arka et Escort (R spécifique).

Le cumul des poids de contamination à Ploudaniel est variable selon les années, mais variabilité pas aussi forte qu'attendue.

Le seuil de cumul de poids de contamination permettant l'apparition des symptômes est variable d'une année à l'autre pour une même variété. Escort : augmentation de la sensibilité de cette variété d'année en année (gène R2 contourné). Au cours de la dernière décennie, Escort a plus un comportement de variété sensible. Les seuils de cumul de poids de contamination sont nouveaux pour chaque variété selon le type de résistance.

L'utilisation du cumul de poids de contamination comme nouveau seuil de déclenchement des traitements est abandonnée.

Nécessaire de préserver les résistances en réalisant des traitements phyto notamment en début de saison.

La relation entre taux d'humidité et taux d'humectation peut être variable selon les types de climat : le niveau de l'épidémie n'est pas toujours bien estimé avec le taux d'humidité, en particulier en situation maritime comme à Ploudaniel ou en Normandie. Utiliser des capteurs d'humectation ? (D Andrivon : Ne sont pas toujours faciles à analyser).

- Action 3.2: Caractérisation des souches actuelles de mildiou et comparaison avec les populations antérieures (Roselyne, Romain)

➤ Phénotypage des souches collectées en 2017

Les prélèvements ont été réalisés uniquement sur les essais non contaminés artificiellement (essais INRA et BPI). Choix ultérieur d'inclure dans l'étude des isolats supplémentaires, prélevés dans les régions des essais, sur différentes variétés de pdt, pour caractériser entre autre les isolats de la nouvelle lignée 37_A2, absents à Ploudaniel

51 isolats choisis en fonction de leur MLG ont été phénotypés (1_A1 : 6 ; 6_A1 : 16 ; 13_A2 : 20 ; 37_A2 : 9).

Analyse de l'agressivité en fonction des lignées clonales : en moyenne : les isolats 6_A1 sont les plus agressifs (taille des lésions et nombre de sporanges plus importants) ; pas de différence d'agressivité entre les 3 lignées 1_A1, 13_A2 et 37_A2 ; les isolats 13_A2 ont les plus gros sporanges.

Analyse de l'agressivité en fonction des MLGs : pas de relation.

Analyse de la virulence en fonction des lignées clonales :

Plus de 50% des isolats 13_A2 contournent les 11 gènes R ; Plus de 50% des isolats 37_A2 contournent 8 gènes R ; Plus de 50% des isolats 1_A1 et 6_A1 contournent 6 à 7 gènes R. Mais pas de lien strict entre le génotype et le profil de virulence.

Le gène R9 est surmonté uniquement par des isolats 13_A2.

→ **La diversité phénotypique est indépendante de la diversité génotypique.**

➤ Génotypage des souches collectées en 2018

Prélèvement de cartes FTA sur Bintje en début d'épidémie et sur des génotypes partiellement résistants (voir liste à la page 4 de ce CR) en fin d'épidémie.

Auchy les Mines :

Prélèvements de 30 cartes FTA (25 avec résultat) par Pauline Dewaegeneire du 12 juin au 5 septembre : isolats 37_A2 majoritaires sur Bintje avec absence de 13_A2 ; uniquement des isolats 13_A2 sur les génotypes résistants sauf pour 03T. 9. 8 qui a aussi des isolats 37_A2 et 6_A1.

Villers-Saint-Christophe :

21 cartes avec résultats :

- Première partie de l'épidémie (21 juin) sur BINTJE (18 cartes) : des isolats 13_A2 uniquement
- fin d'épidémie (10 juillet) peu de résultats (symptômes trop secs) : 3 cartes prélevées sur 89T.122.3, au lieu de 89T.123.3 : isolats 13_A2.

Roselyne : "Etonnant" de ne pas trouver d'isolats 37_A2 en début d'épidémie (comme à Auchy). Il y a des isolats 37_A2 dans cette région.

Jean-Michel : Mais épidémie courte avec sans doute une seule contamination à l'origine.

Et 17 isolats 13_A2 (sur les 21) appartiennent au même MLG, le MLG_033

Birac sur Trec :

10 cartes FTA sur Bintje : isolats 13_A2 uniquement ; 2 cartes avec résultat sur les génotypes résistants : isolats 13_A2 uniquement. Les 12 isolats appartiennent au MLG_039.

Ploudaniel BPI:

30 cartes FTA avec résultat :

- 15 sur Bintje avec majorité de 13_A2, quelques 1_A1 et 1 isolat 39_A1 (étonnant de ne pas trouver de 6_A1) ;
- 15 cartes sur les génotypes résistants, que des isolats 13_A2 sauf sur 03T. 9. 8 où présence aussi d'un isolat 6_A1.

Sur les 25 isolats 13_A2, 11 appartiennent au MLG_043.

Ploudaniel INRA :

56 cartes FTA avec résultat :

- 19 sur Bintje en début d'infection : moitié des isolats sont 6_A1 et moitié sont 13_A2, plus un isolat 1_A1
- 27 sur les génotypes résistants : que des isolats 13_A2 sauf sur 03T. 9. 8 qui a aussi des isolats 6_A1
- 10 sur d'autres génotypes en fin d'épidémie : majorité d'isolats 13_A2, sauf sur Bintje, R5 et 99P.901. 1 qui présentent aussi des 6_A1.

Les isolats 13_A2 appartiennent à 13 MLGs différents, le MLG_053 étant majoritaire.

Bilan : Les génotypes résistants choisis ont bien été en contact avec toutes les lignées clonales présentes en France : 13_A2, 6_A1, 1_A1, 37_A2. En fin d'épidémie, la lignée 13_A2 est majoritairement retrouvée sur les génotypes résistants, sauf sur le génotype 03T. 9. 8 qui est aussi infecté par les lignées 37_A2 et 6_A1.

Le génotype 03T. 9. 8 est issu d'un croisement entre Möwe et Cruza 148, 2 variétés n'ayant a priori pas de gènes R.

➤ Dynamique des populations de *P. infestans* sur le site de Ploudaniel

Analyse des données historiques depuis 2000 : changement drastique des populations en 2007-2008.

Fréquence des lignées clonales prélevées à Ploudaniel de 2011 à 2018 : sur Bintje en début d'épidémie, présence de 6_A1 et 13_A2 ; sur des génotypes +/- résistants en fin d'épidémie, majorité de 13_A2.

- Action 3.3: Adaptation locale des souches de mildiou à des sources de résistance partielle

Cette action sera conduite à partir de 2019.

Choix des géniteurs partiellement résistants pour cette action :

Choisir un géniteur dans chacun des clusters 1 et 2 :

En 2017, 03T. 9. 8 appartient au cluster 2 et 89T.123. 3 appartient au cluster 1. Ces 2 géniteurs semblent de bons candidats pour cette étude. Vérifier leur positionnement en 2018.

Pour ces génotypes, prévoir différentes répétitions au champ pour pouvoir faire suffisamment de prélèvements pour capter la diversité des souches, et prévoir des tubercules pour réaliser les tests de phénotypage des souches au labo.

WP2 : Analyses de génétique d'association (Florence)

Comme évoqué lors de la précédente réunion, une nouvelle analyse des données de génotypage a été réalisée permettant d'améliorer la qualité de l'assignation des génotypes (analyse avec le package fitTetra de R en utilisant la valeur Theta qui représente le dosage de l'allèle B, comme préconisé par Carley et al., 2017) et d'augmenter le nombre de SNP exploitables (modification des paramètres de l'analyse fitTetra). Ainsi, les assignations de génotypes ont pu être réalisées pour 7812 SNPs. Un certain nombre de filtres a ensuite été appliqué pour ne retenir que les SNPs les plus fiables. Après cette étape, il reste 5274 SNPs dont 5146 polymorphes, exploitables pour la stratégie de génétique d'association.

Une nouvelle analyse de structuration de la collection sera réalisée à partir de ce nouveau jeu de données de génotypage. Différentes méthodes seront utilisées : méthode bayésienne avec le logiciel STRUCTURE, ACP.

Une première analyse de génétique d'association a été réalisée en utilisant le logiciel GWASPoly (package R, Rosyara *et al.*, 2016) à partir des données de phénotypage 2017.

Des BLUPs (Best Linear Unbiased Predictor) pour la variable AUDPCr ont été calculés à partir des jeux de données des 5 essais en utilisant le package lme4 de R.

Les données de structuration prises en compte dans cette analyse correspondent à celles de l'analyse réalisée précédemment avec l'ancien jeu de données de génotypage : cette analyse avait mis en évidence 3 sous populations.

Cette analyse d'association a également été réalisée en intégrant dans le modèle une matrice d'apparentement calculée avec le package GWASPoly.

Pour contrôler le taux de faux positifs dans l'identification d'associations significatives entre les SNPs et la résistance, la méthode de Bonferroni a été utilisée.

Cette première analyse a mis en évidence 2 SNPs sur le chromosome 9. Un de ces SNPs (solcap_snp_c2_56418) a aussi été identifié par Lindqvist-Kreuzer *et al.* (2014). D'après cette publi, ce SNP, situé à l'extrémité du chromosome 9, pourrait provenir de la source de résistance CEW-69-1 (Montserrat), et n'est pas dans le gène Rpi-vnt1. Le gène R8 est dans cette région.

Ces analyses sont à poursuivre en explorant différentes pistes :

- Avec les données de phénotypage site par site, année par année
- En utilisant des données de phénotypage corrigées pour la maturité
- En utilisant d'autres méthodes de correction pour tests multiples
- En utilisant les valeurs de Theta plutôt que les classes génotypiques pour les données de génotypage
- En utilisant un sous-ensemble de géniteurs

Une stagiaire de Master 2 (Nadège Le Garrec, Agrocampus Ouest) a commencé le 7 janvier sur ce sujet.

WP4 : Points administratifs

Participation d'Elisabeth Bouat (Responsable du Service Partenariat Centre, elisabeth.bouat@inra.fr) et Laurent Briens (Pôle Gestion Finances & Contrats, UMR IGEPP, laurent.briens@inra.fr) à cette partie de la réunion.

La convention INRA / AFB (Agence Française pour la Biodiversité) a été signée le 29 mai 2017. La durée globale du projet est de 48 mois dont 36 mois de réalisation et 12 mois pour fournir les pièces justificatives. Rétroactivité de l'éligibilité des dépenses au 1^{er} janvier 2017. La subvention est versée à l'INRA et l'INRA signe des conventions de reversement avec chacun des partenaires : il manque encore celle avec ACVNPT. Elle a été signée par les membres de l'ACVNPT et doit être renvoyée à l'INRA.

Au cours de la réunion précédente, nous avons convenu de faire une demande de prolongation de 6 mois sans financement complémentaire. La démarche s'est révélée plus longue et difficile que prévu pour connaître la procédure et trouver les interlocuteurs à l'AFB et à l'administration référente qui est la MAAF-DGER.

Ainsi le courrier qui motive la demande a finalement été envoyé courant décembre 2018 à **Marion Bardy** (marion.bardy@agriculture.gouv.fr) qui est la référente de l'administration pour les projets financés par Ecophyto dans le cadre d'AAP CASDAR. Après validation par le référent, la demande doit être envoyée à **Amélie Chalte** (Chargée de coordination juridique Ecophyto, amelie.chalte@afbiodiversite.fr) qui propose un projet d'avenant qui sera signé par les 2 parties. (Cette validation de l'administration référente a été reçue après la réunion, le 29 janvier 2019.)

Les modalités de versement de la subvention sont:

- 30% à la signature de la convention par l'AFB
- 40% après remise à l'AFB, au plus tard dans les 24 mois après la signature, du rapport intermédiaire validé par l'administration référente
- Le solde après remise à l'AFB, au plus tard dans les 48 mois après la signature, du rapport final validé par l'administration référente, de la synthèse pédagogique, des justificatifs des dépenses

Ainsi, nous devons rédiger un rapport intermédiaire et l'envoyer pour le 29 mars à **Laure Dreux** (Chargée de mission Ecophyto II, Laure.DREUX@astredhor.fr). Ce rapport sera expertisé puis validé, le cas échéant, par le référent de l'administration. Cette validation sera ensuite à transmettre à l'AFB, accompagnée du rapport intermédiaire. Ces documents seront à envoyer à anne.roge@afbiodiversite.fr, thibault.contrastin@afbiodiversite.fr et yousra.agnouche@afbiodiversite.fr.

Le numéro SIREPA du projet est 3042.

Le rapport intermédiaire, au format **.doc**, doit faire 5-6 pages et respecter le plan suivant :

1 – Synthèse de l'avancement du projet

Principaux résultats marquants

Contribution attendue du projet aux objectifs du plan Écophyto

2 – Description de la réalisation des actions annoncées :

Etat d'avancement des différents volets et tâches

Actions d'animation et de coordination interne au projet ainsi que, éventuellement, de coordination avec d'autres projets de l'APR

Contribution apportée par les différents partenaires du consortium

Liste des faits et résultats marquants

Interactions avec les acteurs du terrain et du plan Écophyto ; contribution *itinere*

3 – Autodiagnostic sur le déroulé du projet, obstacles rencontrés :

Rappel des calendriers et retards éventuels (jalons identifiés, livrables...)

Pour le moment, il n'y a pas de justificatifs particuliers à fournir à l'INRA. A la fin du projet, chaque partenaire devra fournir à l'INRA un rapport financier et des justificatifs de temps validés par un

commissaire au compte. Il est préférable de les fournir dans les 3 mois après la fin des dépenses (début 2020).

Il faudra établir un accord de consortium. E Bouat prépare un draft.

Prochaine réunion à prévoir en janvier 2020 (Doodle à envoyer en septembre 2019).

D'autre part, nous avons reçu l'information suivante à propos de l'AFB :

« Le Gouvernement a donc décidé de créer un nouvel établissement public administratif reprenant les missions de l'Agence française pour la biodiversité et de l'Office national de la chasse et de la faune sauvage :

*Il est créé un établissement public de l'État dénommé : “ Office français de la biodiversité ”
L'Office français de la biodiversité contribue, s'agissant des milieux terrestres, aquatiques et marins, à la surveillance, la préservation, la gestion et la restauration de la biodiversité ainsi qu'à la gestion équilibrée et durable de l'eau. »*

Annexe 12

Réunion d'étape 3 projet PoTStaR 06 février 2020

Participants :

Le Rheu : Andrivon D, Aurousseau F, Barbary A, Chauvin JE, Corbière R, El Hage F, Esnault F, Grall Y, Gravouelle JM, Guibert M, Lairy G, Leclerc M, Mabire C, Mabon R, Marhadour S, Pellé R, Prodhomme C, Saubeau G, Viguié C

En Visio : Bousseau M, Cann MP, Dantec MA, Eveno W, Kerlan MC, Kermarrec MP, Le Ven LA, Lesage ML, Mourot M, Rahmoun L, Souchet C

La réunion a débuté à 10h45 par un rappel des grandes lignes du projet et des résultats attendus par FE. Puis un point d'avancement des actions a été réalisé.

WP1 : Phénotypage multi-site de la collection de géniteurs améliorés

- Actions 1.3: Analyse des données antérieures de phénotypage vis-à-vis du mildiou (Roland)

Les données de phénotypage acquises entre 1992 et 2011 sur 122 géniteurs issus des programmes Mildiou ont été analysées et comparées aux données acquises en 2017 et 2018 dans le cadre du stage de Corentin Picard (IUT Brest).

L'analyse des courbes de cumul de poids de contamination montre que les années 2017 et 2018 se situent au-dessus de la courbe moyenne de la période 1994 à 2011. Année la plus favorable au mildiou : 2007. Année la moins favorable : 1996.

Ces 122 géniteurs sont répartis dans 5 catégories selon leur origine et le type de résistance :

- RNS (18 géniteurs) : pas de gènes R dans leur généalogie
- Ecopapa (10 géniteurs) : issus de variétés sud-américaines ne possédant a priori pas de gènes R (Cordillera, Chota Nawi, Pollerita et Torridon)
- GR (15 géniteurs) : issus de croisements avec des géniteurs ayant 1 ou des gènes R (HD R5, HD R8, Pentland Dell, Escort, Hertha, Naturella)
- PopA1 (34 géniteurs) : issus d'un 1^{er} croisement avec des individus de la population A du CIP. Présence de gènes R + résistance partielle.
- PopA2 (45 géniteurs) : issus d'un croisement avec des individus du groupe PopA1 (soit entre eux, soit avec des variétés sensibles mais qui peuvent être résistantes à *G. pallida*)

Les géniteurs ont été évalués au cours de 2 années consécutives (A_Ident et A_Conf) dans la période 1992-2011. Cela représente au total 22 essais. Ces essais ont été analysés en considérant qu'ils représentaient un dispositif Augmented Design (Petersen, 1985) : chaque essai constitue un bloc avec 3 variétés témoin : Bintje, Désirée et Arka, qui étaient présentes chaque année et qui ont été utilisées pour calculer la correction à apporter (Arka n'était pas présente dans les essais d'évaluation des géniteurs en 1992, 2003 et 2004. Comme elle était présente dans des essais adjacents, ce sont les valeurs de ces essais adjacents qui ont été prises en compte pour calculer les corrections).

Ainsi les valeurs AUDPCr obtenues dans les essais antérieurs ont été corrigées, et les valeurs corrigées négatives ont été arbitrairement fixées à 0. Par contre il n'a pas été apporté de correction aux valeurs AUDPCr des essais 2017 et 2018 (A_2017 et A_2018).

Des analyses de variance et comparaisons de moyenne ont été réalisées par catégorie de matériel sur les valeurs corrigées.

Discussion sur la nécessité ou non d'apporter des corrections aussi sur les essais 2017 et 2018. Les avis sont partagés. Proposition de faire des analyses en utilisant un modèle mixte qui inclut l'année.

Puis la stabilité de la résistance a été évaluée pour chaque géniteur en comparant le niveau de résistance entre les 2 périodes d'évaluation et la variabilité de réponse entre les 4 essais de chaque géniteur (A_Ident, A_Conf, A_2017 et A_2018). Cette évaluation a été réalisée par analyse visuelle de graphiques XY (AUDPCr en X et Y).

Le classement des catégories de géniteurs des plus stables aux moins stables est : PopA2, PopA1, GR, RNS puis Ecopapa.

WP2 : Analyses de génétique d'association (Florence)

Les analyses d'association ont été réalisées dans le cadre du stage de Nadège Le Garrec (Master 2, Agrocampus Ouest).

Après utilisation du clusterfile de Douches et al. et du package fitTetra (Voorrips et al., 2011), l'assignation aux 5 classes génotypiques a pu être réalisée pour 7812 SNP sur les 8303 de la puce SolCAP. Puis les filtres suivants ont été appliqués : répétabilité des témoins, concordance entre les deux méthodes d'assignation, cartographie à un seul locus, moins de 20% données manquantes, fréquence de l'allèle mineur > 0.05 et la fréquence de chaque classe génotypique < 0.95. Restent 4504 SNP pour les analyses d'association.

Analyse de structuration :

Une structuration en 2 sous-populations semble la plus probable, avec la sous-population 1 composée à 52% de géniteurs issus des programmes de résistance à *G. pallida* et la sous-population 2 composée à 59% de géniteurs issus des programmes de résistance au mildiou. Toutefois une structuration en 4 sous-populations paraît possible, avec la sous-population 3 composée à 67% de géniteurs issus des programmes de résistance à *G. pallida* et les sous-populations 1, 2 et 4 composées respectivement à 49, 45 et 72% de géniteurs issus des programmes de résistance au mildiou. Mais les sous-populations sont plus mixées dans ce 2^{ème} cas, et l'analyse des différentes sources de résistance au mildiou ne permet pas d'expliquer la répartition des géniteurs mildiou dans les 3 sous-populations.

Il est suggéré d'analyser cette 2^{ème} structuration en prenant en compte les catégories de géniteurs présentées dans le WP1.

Des **analyses d'association** ont été réalisées à l'aide du package GWASPoly (Rosyara et al., 2016) en prenant les données de phénotypage site par site et année par année. Seul l'essai réalisé à Auchy en 2018 n'a pas été pris en compte car il était peu discriminant. La variable utilisée est AUDPCr.

Une première série de 3 analyses a été réalisée en intégrant dans le modèle soit une structuration en 2 sous-populations, soit une structuration en 4 sous-populations, soit pas de structuration. Cette première série d'analyses a permis d'identifier 83, 190 et 145 SNP respectivement. 96.4% des SNP détectés dans l'analyse avec 2 sous-populations sont aussi détectés dans les 2 autres analyses. 18 SNP répartis sur 7 chromosomes sont identifiés plusieurs fois (sur plusieurs sites et/ou au cours des 2 années) dans au moins 2 analyses.

Les SNP les plus souvent identifiés (sur 4 sites au cours des 2 années) et expliquant la plus forte part de variation du caractère (24 à 50%) sont situés à l'extrémité du bras long du chromosome 9 : solcap_snp_c1_8560 et solcap_snp_c2_56418.

Afin d'identifier des QTL qui pourraient être masqués par ce QTL à effet fort, 2 autres analyses d'association ont été réalisées :

- Sur un sous-ensemble de la collection dans lequel nous avons retiré les individus porteurs des combinaisons alléliques favorables aux 2 SNP expliquant la plus forte part de variation (93 individus retirés) : 281 SNP identifiés dont 17 répartis sur 8 chromosomes détectés sur plusieurs sites et/ou plusieurs années

- En mettant en covariables les 2 SNP expliquant la plus forte part de variation : 123 SNP identifiés dont 5 répartis sur 2 chromosomes détectés sur plusieurs sites et/ou plusieurs années

Une analyse du déséquilibre de liaison (DL) a également été réalisée dans les régions génomiques identifiées par ces différentes analyses d'association. Le DL a été évalué en calculant les coefficients de corrélation entre paires de marqueurs.

Ainsi, en prenant en compte les SNP les plus souvent détectés dans les différentes analyses d'association réalisées et l'étendue du déséquilibre de liaison dans ces régions, ce sont 25 régions génomiques qui ont été identifiées, réparties sur les 12 chromosomes.

Lien avec l'analyse de la stabilité

Suite à l'analyse de la stabilité des géniteurs (WP1), la fréquence des combinaisons alléliques favorables a été comparée entre un pool de 22 géniteurs présentant une très bonne résistance stable et un pool de 10 géniteurs ayant perdu sa résistance. Ainsi, 21 SNP (répartis dans 16 régions génomiques) semblent associés à la stabilité de la résistance, dont 7 plus particulièrement. Une analyse similaire pourrait être réalisée pour identifier des SNP associés à l'instabilité.

Lien avec les données de la bibliographie

La correspondance entre les cartes génétiques et la carte physique de la pomme de terre n'est pas toujours établie. Il n'est donc pas toujours possible de faire le lien entre nos résultats et les données de la biblio.

Les SNP du chromosome 9 que nous avons détectés ont également été identifiés par Lindqvist-Kreuze et al (2014) et par Marhadour et al. Dans cette région du chromosome 9, il y a 2 clusters de gènes : Rpi-vnt1 d'une part, R8 – R9 d'autre part. Les SNP identifiés sont en région plus télomérique que Rpi-vnt1. Les hôtes différentiels R8 et R9 ont présenté peu de symptômes dans nos essais. Est-ce que ce sont ces gènes qui s'expriment dans notre matériel ? Mais il y a probablement d'autres facteurs de résistance que R8 et R9 dans ces hôtes différentiels.

Un des SNP détectés sur le chromosome 5 (c2_23049) est situé dans un gène qui code une protéine impliquée dans la résistance au mildiou.

Sur le chromosome 7, nous avons détecté un SNP dans un gène aussi identifié par Lindqvist et al (2014) : un gène qui code une glucan endo-1.3-β-glucosidase.

Chromosome 4 : Mosquera et al (2016) ont identifié un QTL associé à la résistance au mildiou en région plus télomérique que les SNP que nous avons détectés. Par contre Draffehn et al (2013) ont identifié des SNP associés à la résistance au mildiou dans les mêmes régions.

Chromosome 11 : Les SNP détectés sont dans une région dans laquelle un cluster de gènes R issus de *S. demissum* a été cartographié. Les gènes *R3*, *R10* et *R11* sont contournés et nous avons bien observé des symptômes importants sur les hôtes différentiels porteurs des gènes *R3* et *R11*. Par contre l'hôte différentiel porteur du gène *R10* a été moins attaqué. De plus il a été rapporté que le comportement de ce gène R était proche de l'expression d'un QTL.

Chromosome 1: Certains SNP détectés se situent dans une région dans laquelle Mosquera et al (2016) ont identifié un QTL de résistance au mildiou. Un gène proche de cette région a aussi été détecté comme associé à la résistance dans une autre étude (Muktar et al. 2015). Ce gène code une hydroxyde pyruvate impliquée dans la photorespiration.

Discussion

Les SNP identifiés se situent principalement aux extrémités des chromosomes. Mais ces régions sont aussi plus riches en gènes.

Pour étudier les régions identifiées sur le génome, ne pas s'intéresser seulement aux gènes R de type NBS-LRR mais rechercher également la présence de récepteurs de type RLP (receptor-like protein) ou RLK (receptor-like kinase) qui sont aussi des facteurs impliqués dans les mécanismes de résistance (récepteurs extra-cellulaires de PAMPs).

Le génotype DM 1-3 516 R44 qui a été séquencé n'est pas résistant au mildiou. Les clusters de gènes de résistance ne sont donc pas forcément localisés sur cette séquence. Il peut être envisagé de tester des marqueurs des gènes R connus afin de tester si les régions que nous avons identifiées correspondent à ces gènes.

Ces analyses ont été faites à partir de l'AUDPCr, qui est une variable intégrative qui ne reflète pas le profil de l'épidémie. Comment prendre plus en compte ce profil ?

Perspectives :

- Comparer les régions identifiées avec celles identifiées par Sylvie Marhadour à partir d'une autre collection
- Analyser le lien entre les régions identifiées et la maturité
- Analyser le lien entre les régions identifiées et les populations de mildiou présentes
- Valider les SNPs identifiés en les testant avec un autre pool de géniteurs, et/ou dans des descendances issues de ces géniteurs (marqueurs KASPar)

WP3 : Analyse des populations de mildiou et de la stabilité des résistances

Résultats Epidémiosurveillance 2019 (Michèle)

La lignée 37_A2 continue son avancée vers l'Ouest, avec une augmentation en Normandie mais pas encore présente en Bretagne.

Forte augmentation de la proportion de 36_A2 dans le Nord et en Normandie. Pas présente en Bretagne.

Situation stable en Bretagne, avec les lignées clonales 13_A2, 6_A1 et 1_A1. Quelques isolats 39_A1.

- Action 3.3: Adaptation locale des souches de mildiou à des sources de résistance partielle (Roselyne, Romain)

Les 2 génotypes partiellement résistants choisis pour réaliser cette analyse sont : 89T.123. 3 et 03T. 9. 8.

Essais préliminaires :

- Caractéristiques des isolats prélevés sur ces 2 génotypes en 2018 :

89T.123. 3 : isolats 13_A2

03T. 9. 8 : isolats 13_A2, 6_A1 et quelques 37_A2

La lignée 13_A2 a un fort potentiel pour contourner les gènes de résistance (plus de 50% des isolats de cette lignée contournent 10 à 11 gènes *R* de la gamme différentielle). Ce qui pourrait expliquer qu'on les retrouve majoritairement sur les génotypes résistants.

- Caractéristiques biologiques des lignées clonales sur ces 2 génotypes résistants et sur Bintje

6 lignées clonales ont été testées : 1_A1, 6_A1, 13_A2 (2), 36_A2, 37_A2 et 41_A2* (un isolat par lignée sauf pour 13_A2). Chaque isolat a été inoculé sur 6 folioles de chacun des 3 génotypes. La période de latence (temps entre l'inoculation et l'apparition des premiers sporanges) a été observée, puis la taille de la lésion et la sporulation (nombre total de sporanges) ont été mesurées 5 jours après inoculation et la capacité de sporulation (nombre de spores par mm² de lésion) a été calculée.

Pour la période de latence, tous les isolats ont un comportement identique sur Bintje. Par contre leur comportement est différent sur les 2 génotypes résistants. Sur 03T. 9. 8, la sporulation est retardée pour l'ensemble des isolats, avec des retards +/- importants selon les lignées. Sur 89T.123. 3, on observe 3 types de comportement : période de latence identique à Bintje (lignées 13_A2 et 41_A2), début de sporulation très retardée (lignées 6_A1 et 37_A2) et sporulation nulle à 7 jours après inoculation (lignées 1_A1 et 36_A2).

Les analyses de taille de lésion et de sporulation ont été réalisées sur les lignées 13_A2 et 41_A2 pour lesquelles le plus d'échantillons ont pu être collectés. Sur 03T. 9. 8, on observe une diminution de la taille des lésions et de la sporulation totale, par rapport à Bintje, pour les 2 lignées. Mais ces résultats sont sans doute biaisés par la différence de période de latence. Sur 89T.123. 3, la taille des lésions est équivalente à celle sur Bintje mais la sporulation et la capacité de sporulation sont moins importantes. La lignée 41_A2 semble plus sporulante que la lignée 13_A2.

* La lignée 41_A2 a émergé en 2013 au Danemark. Elle est présente dans les pays nordiques (principalement au Danemark et aussi en Suède et Norvège), mais n'est pas présente en France.

Essai 2019 :

Les 2 géotypes résistants ont été implantés en plusieurs répétitions dans un essai à Ploudaniel en 2019. Des isolats ont été prélevés sur Bintje et sur ces 2 géotypes résistants en début (04/07/19) et en fin (18/07/19) d'épidémie.

La grande majorité des isolats prélevés appartiennent à la lignée 13_A2. Un isolat 6_A1 a été prélevé sur Bintje en début et en fin d'épidémie, et sur O3T. 9. 8 en début d'épidémie.

Essais 2020 :

Les tests d'agressivité vont être réalisés sur 30 isolats 13_A2, échantillonnés sur les 3 hôtes au cours des 2 périodes de prélèvement. Chaque isolat sera inoculé sur 10 folioles de chacun des 3 géotypes.

Discussion sur le protocole à utiliser : Le protocole classique prévoit d'évaluer la taille des lésions et la sporulation 5 jours après inoculation des folioles. Mais les tests préliminaires ayant montré une différence de période de latence des isolats sur O3T. 9. 8, les résultats risquent d'être biaisés. Il est proposé de réaliser ces évaluations 3 jours après la période de latence, ce qui complique et alourdit la mise en œuvre de cette expérimentation. Toutefois les résultats obtenus étant plus fiables, ce nouveau protocole est validé.

D'autre part, il est aussi proposé de réaliser un test d'agressivité sur Bintje et sur les 2 géotypes résistants avec une gamme d'isolats des lignées 36_A2 (5), 37_A2 (5), 6_A1 (5) et 13_A2 (5), soit 20 isolats. Cette expérimentation n'était pas prévue dans le projet mais elle permettra d'étudier le comportement des lignées majoritaires ou émergentes en France face aux résistances présentes dans ces deux géotypes. La réalisation de cette expérimentation est validée, en utilisant le même protocole modifié que pour l'expérimentation précédente.

Il est aussi prévu d'évaluer la virulence de l'ensemble des isolats (50) sur la gamme différentielle (R1 à R11) en conditions contrôlées (expérimentation supplémentaire par rapport au projet initial).

WP4 : Points administratifs

Participation de Laurent Briens (Pôle Gestion Finances & Contrats, UMR IGEPP, laurent.briens@inrae.fr). Il n'a pas été possible d'obtenir la participation d'une personne du service Partenariat INRAE à la réunion.

Rappel : La convention INRA / AFB (Agence Française pour la Biodiversité) a été signée le 29 mai 2017. Une prolongation de 6 mois de la durée globale du projet a été obtenue (avenant à la convention signé le 5 juin 2019). Ainsi la durée globale du projet est de 54 mois dont 42 mois de réalisation et 12 mois pour fournir les pièces justificatives. Rétroactivité de l'éligibilité des dépenses au 1^{er} janvier 2017.

Le versement de la dernière tranche de la subvention sera donc réalisé après fourniture du rapport final validé par l'administration référente, de la synthèse pédagogique, des justificatifs des dépenses, au plus tard dans les 54 mois après la signature.

Le rapport intermédiaire a été envoyé le 28 mars 2019 à **Laure Dreux** (Chargée de mission Ecophyto II, Laure.DREUX@astredhor.fr). Ce rapport a été validé par le pilote de l'axe recherche et innovation d'Ecophyto le 08 octobre 2019.

Des courriels indiquant la signature de convention de reversement entre l'INRA et chacun des 3 autres partenaires ont été reçus le 31 octobre 2019. Mais, à la date de la réunion, la 2^{ème} tranche de la subvention n'avait toujours pas été versée aux partenaires du projet. F. Esnault se renseigne auprès du service Partenariat INRAE.

Discussion sur la date qui est prise en compte pour définir à quelle date le rapport final doit être remis : si c'est la date de signature de la convention, le rapport doit être remis à partir de fin novembre 2020 ; si c'est la date d'éligibilité des dépenses, le rapport doit être remis à partir de fin juin 2020. F. Esnault se renseigne auprès du service Partenariat INRAE sur le calendrier exact et sur le format du rapport.

Une nouvelle réunion pourra être fixée au moment de la rédaction du rapport pour organiser sa finalisation et réfléchir à une suite qui pourrait être donnée à ce projet.

Beaucoup de données ont été produites dans le cadre de ce projet et d'autres analyses peuvent être envisagées. Toutefois, nous avons passé en revue, en fin de réunion, les différents résultats qui étaient attendus dans les différents Workpackages. Ainsi, tous les objectifs qui avaient été fixés au début du projet ont été atteints ou vont l'être dans les prochains mois. La validation du rapport final ne devrait donc pas poser de problème.

Annexe 13

Réunion finale projet PoTStaR 17 février 2021 En visioconférence (Skype)

Participants :

INRAE : Andrivon D, Bousseau M, Briens L, Cann MP, Chauvin JE, Corbière R, Dantec MA, Esnault F, Eveno W, Guibert M, Kerlan MC, Kermarrec MP, Leclerc M, Le Ven LA, Lesage ML, Pellé R, Pilet-Nayel ML, Souchet C

Bretagne Plants Innovation : Abiven JM, Barbary A

Germicopa : Grall Y, Lairy G, Saubeau G

Grocep : Viguié C

SIPRE / Comité Nord : Mabire C

ACVNPT : Mourot M

Arvalis : El Hage F, Gaucher D

FN3PT / Inov3PT : Demey L, Marhadour S, Prodhomme C

Excusé : Mabon R

La réunion a débuté à 9h00. Pour chaque Workpackage, une synthèse des actions conduites et des résultats obtenus a été réalisée et les perspectives ont été discutées.

WP4 : Point administratif

Rappel : La convention INRA / AFB (Agence Française pour la Biodiversité) a été signée le 29 mai 2017. Une prolongation de 6 mois de la durée globale du projet a été obtenue (avenant à la convention signé le 5 juin 2019). Ainsi la durée globale du projet est de 54 mois dont 42 mois de réalisation et 12 mois pour fournir les pièces justificatives. Rétroactivité de l'éligibilité des dépenses au 1^{er} janvier 2017.

Le versement de la dernière tranche de la subvention sera réalisé après fourniture à l'AFB du rapport final validé par l'administration référente, de la synthèse pédagogique, des justificatifs des dépenses, au plus tard dans les 54 mois après la signature : 29 novembre 2021.

Mais le rapport doit être envoyé pour validation auprès du référent Ecophyto pour le 1^{er} Mars 2021 (Obtention d'un délai car la date officielle était 42 mois après la signature, soit le 29 Novembre 2020).

Les documents à fournir sont :

- compte de réalisation signé du commissaire aux comptes
- rapport du commissaire aux comptes visant le respect de la convention et du guide des modalités financières
- tableau des agents mobilisés
- tableau des dépenses directes (missions + consommables)
- tableau des prestations de service
- recettes obtenues complétant la subvention CASDAR

Les documents sont à envoyer à Laurent Briens (Pôle Gestion Finances & Contrats, UMR IGEPP, laurent.briens@inrae.fr) pour la mi-mars au plus tard.

Arvalis : Le rapport financier a été envoyé. Il manque juste le tableau des dépenses directes.

FN3PT : Le rapport financier est en cours de validation. Le tableau des dépenses directes doit être rajouté.

ACVNPT : Le rapport financier est en cours de consolidation.

INRAE (UE RGCO et UMR IGEPP) : Le rapport financier est en cours de consolidation.

La compilation sera ensuite réalisée par Laurent Briens et Sophie Collet.

WP1 : Phénotypage multi-site de la collection de géniteurs améliorés et analyse des données antérieures de phénotypage vis-à-vis du mildiou (Roland, Melen)

Roland a rappelé les essais qui ont été mis en place en 2017 et 2018. Les analyses statistiques réalisées sur les données de suivi de l'épidémie de mildiou ont permis de valider tous les essais, sauf celui conduit en 2018 à Auchy-les-Mines (Hétérogénéité de la contamination, Essai peu discriminant).

Roland a ensuite présenté les résultats de l'analyse de la stabilité dans l'espace et dans le temps du panel des 122 géniteurs issus des programmes de résistance au mildiou et sélectionnés de 1992 à 2011.

Ces 122 géniteurs sont répartis dans 5 catégories selon leur origine et le type de résistance :

- RNS (18 géniteurs) : pas de gènes R dans leur généalogie
- Ecopapa (10 géniteurs) : issus de variétés sud-américaines ne possédant a priori pas de gènes R (Cordillera, Chota Nawi, Pollerita et Torridon)
- GR (15 géniteurs) : issus de croisements avec des géniteurs ayant 1 ou des gènes R (HD R5, HD R8, Pentland Dell, Escort, Hertha, Naturella)
- PopA1 (34 géniteurs) : issus d'un 1^{er} croisement avec des individus de la population A du CIP. Présence de gènes R + résistance partielle.
- PopA2 (45 géniteurs) : issus d'un croisement avec des individus du groupe PopA1 (soit entre eux, soit avec des variétés sensibles mais qui peuvent être résistantes à *G. pallida*)

La stabilité dans l'espace a été évaluée en construisant pour chaque géniteur un diagramme en radar représentant, pour les 9 essais validés, les valeurs AUDPCr de ce géniteur, en comparaison des valeurs de la variété sensible Bintje et de la variété à résistance partielle Möwe. Une forme régulière sur le radar indique une stabilité de comportement.

La stabilité dans le temps a été évaluée pour chaque géniteur en comparant le niveau de résistance entre les 2 périodes d'évaluation (données historiques / données acquises au cours du projet) et la variabilité de réponse entre les 4 essais de chaque géniteur (2 essais antérieurs et 2 essais du projet). Cette évaluation a été réalisée par analyse visuelle de graphiques XY dans lesquels les valeurs AUDPCr de chaque géniteur sont positionnées sur les axes des abscisses et des ordonnées. Les valeurs AUDPCr des essais antérieurs ont été corrigées sur la base du comportement de 3 variétés témoin : Bintje, Désirée et Arka, qui étaient présentes chaque année.

Ces analyses ont conduit à identifier **60 géniteurs qui présentent une résistance stable dans le temps et dans l'espace** : 7 géniteurs montrant une résistance de type gènes R (sur les 15 du panel), 3 géniteurs montrant de la résistance partielle (sur les 28 du panel) et 50 géniteurs qui cumulent de la résistance partielle avec des gènes R (sur les 79 du panel).

Les 2 géniteurs 89T.123. 3 et 03T. 9. 8 qui ont été utilisés pour l'étude de l'adaptation des souches de mildiou (WP3) présentent une bonne stabilité dans le temps et dans l'espace.

Les géniteurs qui cumulent les deux types de stabilité sont les mêmes que ceux identifiés pour la stabilité dans l'espace seule.

Melen a présenté les résultats obtenus dans le cadre du stage de Hugo Hervé (3^{ème} année ENSAI, avril à septembre 2020) sur l'analyse des données historiques de ce panel de 122 géniteurs. Ce stage a été réalisé dans le cadre du projet européen Organic Plus.

Des modèles de régression non-linéaires mixtes ont été développés pour analyser les épidémies. Ces modèles comprennent 3 paramètres qui caractérisent la courbe de destruction du feuillage en fonction du temps: l'asymptote a (niveau de destruction du feuillage maximum), le point d'inflexion de la courbe b (indique si la maladie a été plus ou moins précoce) et la pente c (vitesse de l'épidémie). Chaque paramètre comprend une composante fixe et une composante aléatoire qui traduit sa variabilité interannuelle. Une nouvelle méthode de calcul des AUDPC a également été développée. Le calcul de ces paramètres a été réalisé en partie pour chacun des géniteurs.

La variabilité interannuelle des épidémies a été étudiée pour 7 variétés. Pour les variétés sensibles, les paramètres varient peu. La variabilité est plus forte pour les variétés résistantes, en particulier pour le paramètre a.

Les perspectives de ce travail sont d'expliquer la variabilité interannuelle en évaluant la part du climat, la part de la composition de l'inoculum, la part de la génétique (présence de gènes R, de QTLs).

Discussion :

Roland : La stabilité dans le temps des résistances est plus facile à évaluer que leur stabilité dans l'espace.

Didier : L'analyse de la stabilité dans le temps et de la stabilité dans l'espace correspondent à 2 caractères différents, qui ne sont pas prédictifs l'un de l'autre. L'évaluation des variétés sur un seul site (Ploudaniel) pendant 2 ans n'est pas suffisante pour prédire leur stabilité dans l'espace.

Sylvie : Toutefois, ce projet a montré que le classement des variétés était respecté entre les différents sites (évaluation 2017, résultat à confirmer à partir de l'évaluation 2018). L'évaluation réalisée sur le site de Ploudaniel serait donc bien représentative du comportement des variétés.

Florence : L'analyse de la part du climat et de la part de la composition de l'inoculum dans la variation interannuelle des épidémies permettra de mieux comprendre les facteurs qui interviennent dans ces 2 types de stabilité.

Didier : Mais il y a aussi des interactions climat / souches à prendre en compte.

WP2 : Analyses de génétique d'association (Florence, Sylvie, Charlotte)

Florence a présenté les résultats des analyses de génétique d'association faites sur le panel phénotypé dans le cadre du projet.

Celles-ci ont été réalisées en utilisant soit les données AUDPCr obtenues site par site, soit des BLUPs calculés pour chaque année ou sur l'ensemble des 2 années d'essai. Les analyses ont été faites avec le package GWASPoly de R. Plusieurs séries d'analyse ont été réalisées : prise en compte ou non de la structuration du panel (K=2 ou K=4), fréquence de l'allèle mineur supérieure à 5% ou à 1,25%, avec ou sans les 2 SNPs C1_8560 et C2_56418 comme covariables, sur le panel complet ou sur un panel réduit dans lequel les 93 géniteurs porteurs des 2 SNPs C1_8560 et C2_56418 ont été enlevés. Des analyses de variance ont ensuite été réalisées avec les SNPs identifiés dans l'analyse GWAS, ainsi qu'une étude du déséquilibre de liaison dans les régions génomiques identifiées.

Ainsi, 28 SNPs ont été identifiés, répartis sur les chromosomes 1, 2, 3, 4, 5, 9, 11 et 12. Les SNPs présentant les effets les plus forts sont situés sur le chromosome 9. Les différentes analyses réalisées semblent indiquer que 2 QTLs différents pourraient être impliqués dans cette région du chromosome 9. Une analyse GWAS réalisée parallèlement avec des données de maturité du feuillage a montré que les SNPs identifiés sur le chromosome 5 étaient plutôt associés à la maturité du feuillage et non à la résistance au mildiou.

Toutefois tous les facteurs de résistance présents dans ce panel n'ont pas été identifiés. En effet, la résistance d'au moins 10 géniteurs n'est pas expliquée par les SNPs identifiés dans ces analyses (ces facteurs peuvent être masqués par le facteur à effet fort du chromosome 9, ou ils ne sont pas assez fréquents dans le panel, ou ils sont positionnés dans des régions génomiques non couvertes par les SNPs de la puce SolCAP 8K).

Les SNPs identifiés dans ces analyses doivent être validés en poursuivant les analyses de variance, en les testant dans des populations de cartographie ou sur d'autres géniteurs.

Une première forme de validation a été d'évaluer leur portabilité dans le panel FN3PT/OP.

Charlotte a présenté les résultats d'analyse de ces 28 SNPs sur le panel FN3PT/OP.

Le panel FN3PT/OP est composé de 284 génotypes (variétés, matériel de sélection et géniteurs INRAE) et a été phénotypé à Ploudaniel (site de Kerloï) de 2013 à 2015, en conditions de contamination naturelle. Ce panel a été génotypé avec la puce SolCAP 12K (marqueurs assignés avec le package ClusterCall de R) et avec 329 marqueurs supplémentaires (CAPS, SSR et KASP). Les analyses GWAS ont aussi été réalisées avec le package GWASPoly de R (pas prise en compte de structuration et fréquence de l'allèle mineur supérieure à 1,25%).

Si l'un des 28 SNPs identifié dans le panel INRAE n'a pas pu être assigné automatiquement par ClusterCall, une assignation manuelle a été tentée ou un marqueur KASP a été développé.

Cette analyse a montré que la même région du chromosome 9 était significativement associée à la résistance au mildiou. Le SNP C2_37254 du chromosome 2 est aussi identifié dans les 2 panels. De la même façon, le SNP C2_23049 du chromosome 5 est commun au 2 panels, également associé à la maturité du feuillage.

Ainsi, le(s) QTL(s) identifié(s) sur le chromosome 9 est(sont) présent(s) et fonctionnel(s) dans un panel plus représentatif du matériel de sélection que le panel INRAE.

Il y a 11 SNPs identifiés dans le panel INRAE qui ne sont pas associés à la résistance dans le panel FN3PT/OP. Cela peut s'expliquer par différentes raisons : ce sont des SNPs non spécifiques de l'haplotype résistant (ascertainment bias), ou il y a eu perte de liaison entre le SNP et le facteur de résistance dans le matériel sélectionné, ou du fait de populations de mildiou différentes entre les essais, ou du fait d'autres sources de variation (lieu, année, dispositif expérimental, données de génotypage, paramètres GWAS,..), ou ce sont de faux positifs (inhérents à la GWAS).

Discussion :

Marie-Laure : Poursuivre par une analyse d'haplotypes, détermination des intervalles de confiance, calculs d'héritabilité des phénotypes.

Charlotte : La puce SolCAP n'est idéale pour déterminer les haplotypes car elle a été construite avec les SNPs les plus fréquents, qui ne sont donc pas haplotypes spécifiques. D'autre part, le nombre de marqueurs sélectionné sur le même haplotype est limité.

Marie-Laure : Il serait aussi intéressant de faire une analyse GWAS avec les données historiques pour identifier les régions génomiques impliquées dans la stabilité.

Florence : Mais les données historiques ne portent que sur du matériel résistant. Il n'y a donc pas de variabilité phénotypique sur ce matériel.

Didier : La variable AUDPCr n'est peut-être pas la plus pertinente pour identifier des facteurs autres que des gènes R. Intéressant de faire des analyses avec les paramètres définis dans les modèles de Melen.

Sylvie : Regarder si la région du chromosome 10 détectée avec l'analyse des données de maturité du feuillage correspond à un type de matériel spécifique dans le panel INRAE.

WP3 : Analyse des populations de mildiou et de la stabilité des résistances

- Action 3.1: Analyse des données climatologiques (Denis)

Denis a présenté le bilan des profils épidémiques des sites expérimentaux. En 2017, la pression de maladie était faible sauf à Ploudaniel. En 2018, la pression était forte à Ploudaniel, et assez forte mais brève sur les autres sites. Il est difficile de valoriser ces données pour établir de nouveaux seuils de déclenchement des traitements en fonction de la résistance variétale car la pression de maladie était trop faible et/ou trop brève.

Dans ce même objectif, les données historiques climatologiques et épidémiologiques du site de Ploudaniel ont également été analysées. L'analyse des données climatologiques a montré une variabilité interannuelle du cumul des poids de contamination bien marquée, mais peu d'années faibles. Le remplacement du nombre de jours après plantation par le cumul des poids de contamination dans les courbes d'évolution du % de destruction du feuillage n'apporte aucune amélioration pour comparer ces courbes entre les années. Mais cette idée doit être approfondie. Un nouveau paramétrage de Mileos® (version qui sera mise en service en 2021) va permettre de mieux évaluer les risques épidémiques en conditions océaniques. L'analyse du comportement des variétés dans le temps n'a pas permis de définir des seuils de poids de contamination pour le déclenchement du premier traitement selon les différents niveaux de résistance. La prise en

compte du niveau de résistance variétale reste une perspective de développement dans Mileos®, à raisonner dans le cadre d'une combinaison de leviers.

- Actions 3.2 et 3.3: Caractérisation des souches et Adaptation locale des souches de mildiou à des sources de résistance partielle (Roselyne, Romain, Didier)

Roselyne a présenté le bilan de caractérisation des souches prélevées sur les expérimentations.

Génotypage :

Les souches prélevées sur la totalité des essais sont en majorité des 13_A2, puis des 6_A1, des 37_A2 et des 1_A1. Ainsi, les génotypes résistants ont été en contact avec toutes les lignées clonales présentes en France. Toutefois, sur ces génotypes résistants, on retrouve majoritairement des souches 13_A2.

Les 2 génotypes résistants sélectionnés pour l'étude de l'adaptation des souches de mildiou ont des comportements différents : le géniteur 89T.123. 3 sélectionne des isolats 13_A2 alors qu'il n'y a pas de sélection des isolats par le géniteur 03T. 9. 8, sur lequel on retrouve aussi des isolats 6_A1 et 37_A2.

Phénotypage :

Les isolats 6_A1 sont les plus agressifs (lésions plus grandes et plus de sporanges), pas de différence d'agressivité entre les autres lignées clonales. Les isolats 13_A2 ont les plus gros sporanges. Mais il existe une variabilité intra-clonale importante du niveau d'agressivité. Ainsi, le génotype ne permet pas de prédire le niveau d'agressivité d'un isolat donné.

Les isolats 13_A2 ont un fort potentiel pour contourner les gènes de résistance R.

Analyse des caractéristiques biologiques des lignées clonales sur 89T.123. 3 et 03T. 9. 8 :

Tous les isolats ont le même comportement sur Bintje. De même, tous ont un début de sporulation retardé sur 03T. 9. 8. Par contre, leur comportement diffère sur 89T.123. 3, avec des isolats présentant une latence identique à Bintje (13_A2 et 41_A2), des isolats ayant un début de sporulation retardé (6_A1 et 37_A2), et des isolats ayant une sporulation nulle 7 jours après inoculation (1_A1 et 36_A2).

Les isolats 13_A2 présentent une taille de lésion et une sporulation plus faibles sur 03T. 9. 8. Sur 89T.123. 3, ils présentent une taille de lésion équivalente à Bintje mais une sporulation moins importante.

Didier a présenté les conclusions majeures de ce travail :

- le dispositif mis en place dans ce projet a permis d'exposer au champ les géniteurs aux lignées clonales actuelles majeures.
- une caractérisation approfondie des traits phénotypiques des différentes lignées clonales a été réalisée.
- des différences nettes de modes d'action des résistances ont été mises en évidence entre les géniteurs et entre les lignées clonales de mildiou.
- les lignées clonales présentent des comportements différentiels en termes de potentiel d'adaptation.

Ainsi, nous disposons d'outils pour évaluer la stabilité des résistances et avons identifié différents types de profils de ces résistances stables. Ces études doivent être poursuivies pour comprendre l'impact de certains traits d'histoire de vie du pathogène et approfondir les dynamiques d'adaptation des isolats face à ces différents types de résistance.

- Résultats Epidémiosurveillance 2020 (Michèle)

Année avec une faible pression de mildiou, sauf en Bretagne. 125 cartes FTA utilisables, 58% en Bretagne.

Lignée 36_A2 : forte expansion en Haute Normandie et Centre, présence en Bretagne

Lignée 37_A2 : en régression dans le Nord, 1 échantillon en Bretagne

Lignée 13_A2 : persiste à une forte fréquence dans le Nord et en Bretagne

Lignées 6_A1 et 1_A1 : présence stable en Bretagne

Forte expansion des lignées 36_A2 : Agressivité et virulence intermédiaires
Pays-Bas, Belgique, UK : Lignées 36_A2 dominantes et en expansion, lignées 13_A2 sporadiques, lignées 6_A1 très présentes en UK.
Pays nordiques : Prédominance des Other (issues de reproduction sexuée)
En analysant les données historiques des populations collectées à Ploudaniel depuis 20 ans, un changement drastique des isolats a eu lieu en 2007-2008 avec l'apparition (puis l'extension et la persistance) des souches 6_A1 et 13_A2).
2020 : Apparition des souches 36_A2 : nouveau switch?

Discussion générale

Actions de valorisation réalisées:

Création d'une page Internet de présentation du projet et des résultats obtenus sur le site Internet IGEPP :

<https://www6.rennes.inrae.fr/igepp/Equipes-de-recherche/Biodiversite-et-Polyploidie/Projets/PoTStaR>

Communications :

- Poster : Projet PoTStaR – Stabilité des résistances au mildiou de la pomme de terre et identification de marqueurs associés. 4e Rendez-vous techniques de Villers en 2018

- Poster: Esnault F, Le Bot M, Pellé R, Kermarrec MP, Abiven JM, Aourousseau F, Chatot C, Gravouelle JM, Dubreuil H, Marhadour S, Chauvin JE (2018) Multi-site evaluation for resistance to late blight of a collection of INRA improved breeding lines. 19th joint Meeting EAPR Breeding and Varietal Assessment and EUCARPIA Section Potatoes, Rostock-Warnemünde, Germany, December 3rd – 6th.

- Poster: Mabon R., Guibert M., Esnault F., Pellé R., Chatot C., Saubeau G., Aourousseau F., Dewaegeneire P., Corbière R., Andrivon D., 2019. Structure and dynamics of *Phytophthora infestans* clonal populations as related to potato resistance. 17th EuroBlight Workshop, York, UK, 12-15 May 2019.

- Communication orale : Pellé R, Kermarrec MP, Bousseau M, Cann MP, Abiven JM, Aourousseau F, Chatot C, Gravouelle JM, Dubreuil H, Marhadour S, Chauvin JE, Esnault F (2020) Stabilité des résistances au mildiou de la pomme de terre (Projet PoTStaR). 3^{ème} Carrefour Plants de Pomme de terre 'Vers une pomme de terre sans phyto?' Paris, 14-15 octobre 2020. (<https://www.umt-innoplant.fr/Communication-Diffusion/Carrefour-2020>)

- Résumé soumis pour un poster: Pellé R, Picard C, Kermarrec MP, Bousseau M, Cann MP, Mabon R, Corbière R, Abiven JM, Aourousseau F, Chatot C, Gravouelle JM, Dubreuil H, Marhadour S, Andrivon D, Esnault F, 2021. Phenotypic stability of late blight resistance in potato advanced genotypes. 21st EAPR Triennial Conference, Poland, 12-16 July 2021.

- Article rédigé par Dorothée Bourget (2021) : Projet PoTStaR : stabilité des résistances variétales au mildiou. Potato Planet, N°86, p60-61.

Encadrement de stagiaires :

INRAE : 2 stages DUT, 1 stage Master 1, 1 stage Master 2

Arvalis : 1 stage Master 2

Germicopa : 1 stage DUT

Perspectives :

Quelles publications scientifiques dans des revues à comité de lecture ?

- Article reliant les données de phénotypage au champ avec les données épidémiques des populations de mildiou présentes. Focus sur les 3 génotypes sélectionnés et l'analyse de leur comportement en conditions contrôlées vis-à-vis des différentes lignées. (Qui pilote ? A rediscuter)

- Article présentant les résultats de GWAS

Faut-il publier ces résultats en l'état ou est-il préférable d'attendre les données de GBS en cours d'acquisition sur ce panel ? Les données de GBS permettront d'avoir accès à une autre information (plus de précisions sur les régions identifiées dans cette étude, SNP plus pertinents, identification de nouvelles régions...). Mais si nous publions les résultats actuels, risque de ne pas pouvoir publier les analyses avec les données GBS car c'est le même jeu de données de phénotypage qui est utilisé. Pas de consensus sur ce sujet. D'autre part, ces résultats sont-ils suffisamment originaux ? Un des intérêts de cette étude est l'expérimentation multi-sites (Une seule autre publi du CIP exploite également des données de phénotypage multi-sites).(A rediscuter).

Quelles suites ?

Ces analyses GWAS doivent être poursuivies en explorant différentes pistes :

- valider les SNPs identifiés en complétant les analyses de variance, en les testant dans des descendances de cartographie ou d'autres panels de géniteurs
- identifier des haplotypes
- identifier les gènes candidats sous-jacents aux QTLs identifiés
- exploiter les données historiques pour identifier les régions génomiques impliquées dans la résistance stable
- faire les analyses en utilisant les paramètres des modèles développés par Melen

Des données de GBS haute densité sont en cours d'acquisition sur ce panel dans le cadre du projet européen G2P-Sol. Ce nouveau jeu de données permettra d'affiner les régions génomiques identifiées, d'identifier des SNPs plus pertinents, d'identifier de nouvelles régions. Des données GBS basse densité sont également disponibles pour la descendance dihaploïde 92T118. 5 (généteur inclus dans le panel du projet PoTStaR) qui est déjà phénotypée pour la résistance au mildiou.

Nous disposons donc d'un jeu de données intéressant (en rajoutant les données du projet GeCoNem) permettant d'envisager la poursuite de ce travail via un sujet de thèse qui combinerait la résistance au mildiou et la résistance à *G. pallida* (projet présenté lors de la réunion INRAE/ACVNPT du 12/11/2020).

Le comité scientifique de l'ACVNPT a indiqué son intérêt pour financer une telle thèse via une bourse CIFRE (permet de financer le salaire du doctorant). Mais cela doit être validé auprès du bureau de l'ACVNPT (AG prévue le 10 mars).

Côté INRAE, nous devons réfléchir plus précisément au sujet de cette thèse.

Il faut également envisager de cribler les ressources génétiques du CRB BrACySol avec les marqueurs identifiés dans ce projet (et en particulier ceux du chromosome 9) afin de connaître quels facteurs de résistance sont présents dans nos ressources et à quelle fréquence. Est-ce que les facteurs de résistance que nous mettons à disposition sont diversifiés ou non ?

Annexe 14

Courrier de demande de prolongation

MAAF - DGER
Agence française pour la biodiversité

Madame, Monsieur,

Le projet PoTStaR 'Stabilité des résistances au mildiou de la pomme de terre et identification de marqueurs associés' (CASDAR) a été sélectionné par le comité scientifique d'orientation « Recherche-Innovation » du plan Ecophyto. Le projet a démarré le 1^{er} janvier 2017 et sa réalisation est prévue pour une durée de 36 mois.

Les objectifs de ce projet sont d'identifier les déterminants génétiques impliqués dans la résistance plus stable et potentiellement plus durable au mildiou, et d'étudier les facteurs de cette stabilité. Dans ce cadre, il est prévu d'évaluer, pour la résistance au mildiou, au cours des années 2017 et 2018, une collection de géniteurs améliorés de pomme de terre sur 5 sites situés dans différents bassins de production de pomme de terre et présentant des conditions climatiques contrastées. En parallèle, les populations de *Phytophthora infestans* présentes au cours de ces expérimentations seront caractérisées d'un point de vue génétique ainsi que pour leur pouvoir pathogène.

Afin d'étudier l'adaptation locale des souches de mildiou à des sources de résistance partielle, nous avons prévu de réaliser, au cours de la deuxième année d'essai (2018), des prélèvements de souches de mildiou sur 2 géotypes paraissant présenter une résistance stable, sur la base de résultats de phénotypage antérieurs et sur la base des résultats de phénotypage acquis en 2017 dans le cadre du projet. Ces souches seront caractérisées d'un point de vue génétique et de leur agressivité en réalisant des inoculations croisées afin de détecter une éventuelle adaptation/maladaptation à l'hôte d'origine. Afin de répondre au mieux à la question posée, il est nécessaire de bien choisir ces 2 géotypes et d'en implanter plus de parcelles élémentaires.

Au cours de la réunion d'étape organisée début 2018 avec tous les partenaires après la première année d'essai, nous avons réalisé qu'il serait préférable de baser ce choix sur 2 années d'expérimentation plutôt que sur une seule. Ainsi, nous souhaiterions réaliser le choix de ces 2 géotypes fin 2018, mettre en place en 2019 un essai spécifique avec ces 2 géotypes, essai sur lequel seront prélevées les souches de mildiou pour réaliser l'étude de l'adaptation locale à des sources de résistance partielle. Ces souches seront alors caractérisées début 2020.

Ainsi nous sollicitons auprès de l'AFB et du MAAF-DGER une prolongation du projet de 6 mois sans demande de financement supplémentaire. Ainsi la période de réalisation du projet serait de 42 mois au lieu de 36 mois.

Je vous remercie pour l'attention que vous porterez à notre demande.

Dans l'attente de votre réponse, veuillez agréer, Madame, Monsieur, l'expression de mes sentiments distingués.

C – Compte rendu financier

Les pièces à fournir sont les suivantes :

Par le chef de file :

- compte de réalisation consolidé, de l'ensemble du projet, action par action, établi par le chef de file
- le compte du chef de file faisant apparaître le versement aux tiers
- la copie des conventions (et avenants le cas échéant) avec montants des travaux prévus et des subventions CASDAR prévues, établie par le chef de file
- la copie éventuelle de l'accord de propriété intellectuelle du projet

Pour chaque partenaire recevant des financements CASDAR (chef de file + chaque organisme tiers) ou devant effectuer des travaux (même s'ils ne sont pas subventionnés) :

- le compte de réalisation global du projet (signé du commissaire aux comptes ou de l'agent comptable)
- le tableau des agents mobilisés sur le projet (modèle DGER)
- pour les organismes privés : le rapport du commissaire aux comptes de la structure établi spécifiquement pour le projet en question et qui doit viser le respect de la convention et du guide des modalités financières
- le tableau des dépenses directes
- le tableau des prestations de service (cf décision en comité de pilotage)
- en cas de non assujettissement à la TVA, une attestation du représentant légal de la structure ou de l'administration fiscale (ne pas faire figurer si la convention est établie en HT)
- Recettes obtenues complétant la subvention du CASDAR : source (collectivités, organismes français..., modalités d'obtention, années concernées)
- Octroi de subvention européenne