



HAL
open science

Diversité des QTL et haplotypes de résistance à Aphanomyces euteiches chez le pois protéagineux (*Pisum sativum*)

Théo Leprévost

► **To cite this version:**

Théo Leprévost. Diversité des QTL et haplotypes de résistance à *Aphanomyces euteiches* chez le pois protéagineux (*Pisum sativum*). Sciences du Vivant [q-bio]. 2020. dumas-03173157

HAL Id: dumas-03173157

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03173157>

Submitted on 18 Mar 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0
International License

AGROCAMPUS
OUEST

CFR Angers

CFR Rennes



UNIVERSITÉ DE
RENNES 1

INRAE

<p>Année universitaire : 2019 - 2020</p> <p>Master : Biologie, Agrosiences</p> <p>Parcours : Amélioration, Production, Valorisation du végétal</p> <p>Option : Génétique, Génomique et Amélioration des Plantes</p>	<p>Rapport de stage</p> <p><input type="checkbox"/> d'Ingénieur de l'Institut Supérieur des Sciences agronomiques, agroalimentaires, horticoles et du paysage</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> de Master de l'Institut Supérieur des Sciences agronomiques, agroalimentaires, horticoles et du paysage</p> <p><input type="checkbox"/> d'un autre établissement (étudiant arrivé en M2)</p>
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Diversité des QTL et haplotypes de résistance à *Aphanomyces euteiches* chez le pois protéagineux (*Pisum sativum*)

Par : Théo LEPRÉVOST

Soutenu à LE RHEU le 25/06/2020

Devant le jury composé de :

Président : Mélanie JUBAULT

Rapporteuse : Nathalie NESI

Maître de stage : Marie-Laure PILET-NAYEL

Examinatrice : Maria MANZANARES-DAULEUX

Clément LAVAUD

Enseignant référent : Mélanie JUBAULT

Les analyses et les conclusions de ce travail d'étudiant n'engagent que la responsabilité de son auteur et non celles d'AGROCAMPUS OUEST et l'université de Rennes 1

Ce document est soumis aux conditions d'utilisation
« Paternité-Pas d'Utilisation Commerciale-Pas de Modification 4.0 France »
disponible en ligne <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.fr>





Remerciements

Ce rapport de stage vient clôturer ma formation de Master II en Génétique, Génomique et Amélioration des Plantes (GGAP). Ce travail a été mené dans le cadre du projet Diversification et cOmbinaison des QTL de Résistance à Aphanomyces chez le pois protéagineux (DORA), co-coordonné par KWS-Momont et INRAE, financé par le Fond d'Action Stratégique des OléoProtéagineux (FASO) géré par Sofiprotéol, que je souhaite remercier. De plus, je tiens à remercier mes encadrants de stage Marie-Laure Pilet-Nayel et Clément Lavaud pour leur confiance et leur bienveillance au cours de ces 6 derniers mois. Je souhaite également remercier, Rémi Ollivier, Gilles Boutet, Angélique Lesné, Jean-Philippe Rivière, Isabelle Glory, Anaïs Le-rat et Gwenola Le Roy, pour leur aide et leur sympathie au cours de ce stage. Je tiens à remercier ma famille de m'avoir soutenu et permis d'effectuer d'aussi belles années d'études. Enfin, un grand merci à Louise qui m'accompagne tous les jours avec son immuable bonne humeur et sa positivité, et cela même en période de confinement 😊

Table des matières

Introduction générale	1
Introduction bibliographique	1
I. La résistance génétique des plantes face aux agents pathogènes	1
a) La notion de résistance génétique chez les végétaux	1
b) Méthodes de dissection génétique des résistances polygéniques.....	2
c) Exploitation de la résistance quantitative en amélioration des plantes	3
II. La résistance quantitative au sein du pathosystème <i>Pisum sativum</i> -<i>Aphanomyces euteiches</i>	4
a) Le pois protéagineux (<i>Pisum sativum</i>)	4
b) L'agent de la pourriture racinaire molle du pois (<i>Aphanomyces euteiches</i>).....	5
c) La résistance génétique à <i>Aphanomyces euteiches</i> chez le pois.....	7
III. Objectif et stratégie de recherche du stage	8
Matériels et méthodes	8
I. Sources de résistance et matériel végétal	8
II. Dispositif de phénotypage pour la résistance et données de génotypage	9
a) Dispositifs expérimentaux au champ et variables évaluées.....	9
b) Test de criblage en conditions contrôlées	9
c) Exploitation des données de génotypage	10
III. Analyses génétiques et statistiques des données	11
a) Analyse statistique des données phénotypiques	11
b) Détection de QTL par analyse de liaison et d'association	12
c) Analyse d'haplotypes aux QTL identifiés par analyse de liaison et d'association.....	13
Résultats	13
I. Diversité des QTL identifiés au sein de la population de BAv Eden x E11	13
a) Analyses statistiques des variables phénotypiques.....	13
b) Identification de QTL	14
II. Diversité des QTL et haplotypes identifiés au sein de la collection <i>Aphanomyces</i>	15
a) Décroissance du déséquilibre de liaison	15
b) Apparement et structuration entre lignées de pois de la collection <i>Aphanomyces</i>	15
c) Identification de QTL	15
d) Identification d'haplotype au marqueur associé au QTL.....	16
e) Contenu en haplotypes des lignées d'intérêt.....	17
Discussion	17
I. Analyse comparative des méthodologies d'analyse de liaison et d'association appliquées ...18	
a) Avantages et limites de la détection de QTL dans les populations de BAv et dans la collection <i>Aphanomyces</i> étudiée.....	18
b) Apports et intérêts de la GWAS revisitée au regard de l'étude de Desgroux et al. (2016)	18
II. Diversité des QTL de résistance à <i>A. euteiches</i> chez le pois	19
a) QTL de résistance majeurs ou consistants entre populations	19
b) Des QTL nouveaux, mineurs détectés spécifiquement selon les populations	20
c) Des colocalisations de QTL de résistance et QTL/gènes de développement et morphologie confirmées	20
III. Diversité des haplotypes aux QTL de résistance à <i>A. euteiches</i> chez le pois	21
a) Dans les lignées du programme de création de géniteurs	21
b) Dans de nouvelles sources de résistance	21
Conclusion et perspectives	22
Références bibliographiques	23
Annexes	25

Liste des abréviations

ADI : Aerial Decline Index

ANOVA : Analysis Of Variance

BAM : Back-cross Assisté par Marqueur

BAv : Back-cross Avancé

BC : Back-Cross

CIM : Composite interval mapping

CL(M)M : Cumulative Link (Mixed) Model

cM : centiMorgan

DL : Déséquilibre de Liaison

DM : Données manquantes

GL(M)M : General Linear (Mixed) Model

GSP : Groupement des Sélectionneurs de Protéagineux

GWA(S) : Genome Wide Association (Studies)

h²: héritabilité

IDA : Indice de Dépérissement Aérien

INR : Indice de Nécrose Racinaire

INRA : Institut National de la Recherche Agronomique

INRAE : Institut national de recherche pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement

LG : Linkage Group

MAF : Minor Allele Frequency

MLMM : Multi-Locus Mixed-Model

NILs : Near-Isogenic Lines

PI : Potentiel Infectieux

QTL : Quantitative Trait Locus

RILs : Recombinant Inbred Lines

RRI : Root Rot Index

SAM : Sélection Assistée par Marqueurs

SIM : Single interval mapping

SG : Sélection Génomique

SNP : Single nucleotide polymorphism

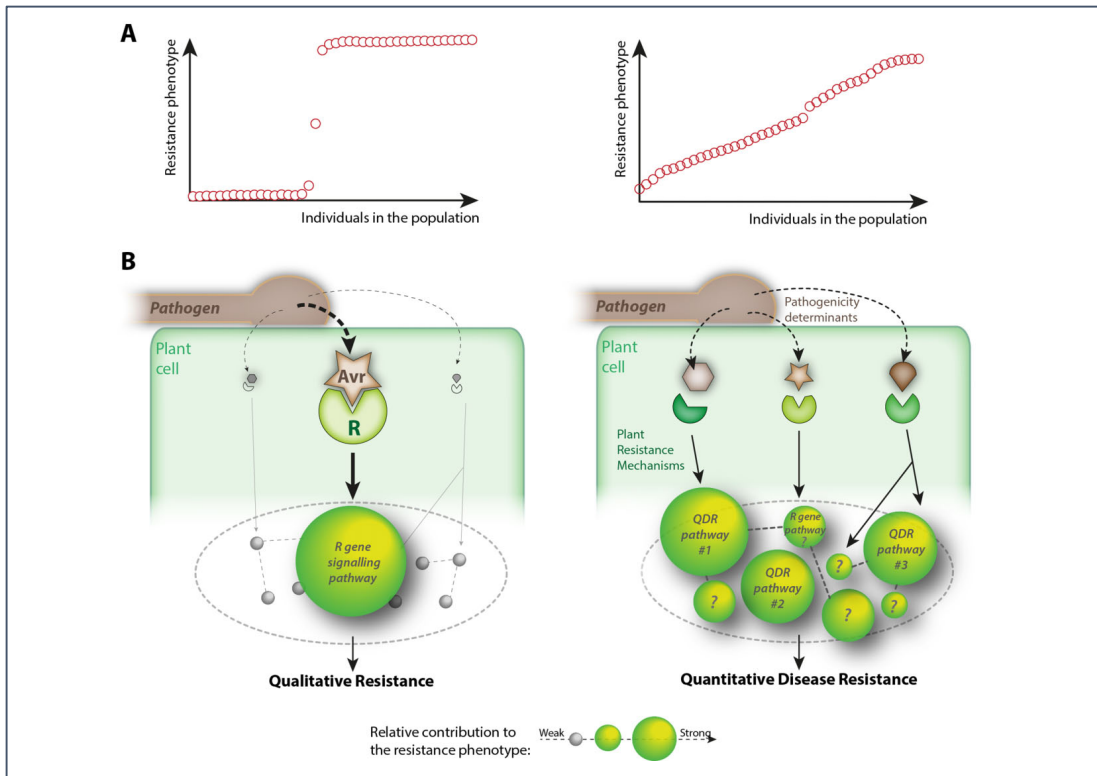


Figure 1 : Concepts associés à la résistance qualitative et quantitative. **A.** À l'échelle de la biologie des populations, les phénotypes de résistance qualitative et quantitative suivent une distribution binaire (sensible ou résistant) et continue, respectivement. **B.** À l'échelle de la biologie moléculaire, les résistances qualitatives et quantitatives sont portées par des gènes R reconnaissant des protéines d'avirulence (Avr) et par l'intégration de plusieurs voies de perception simultanées à effets faibles dans la résistance, respectivement. Source : Roux et al., (2014).

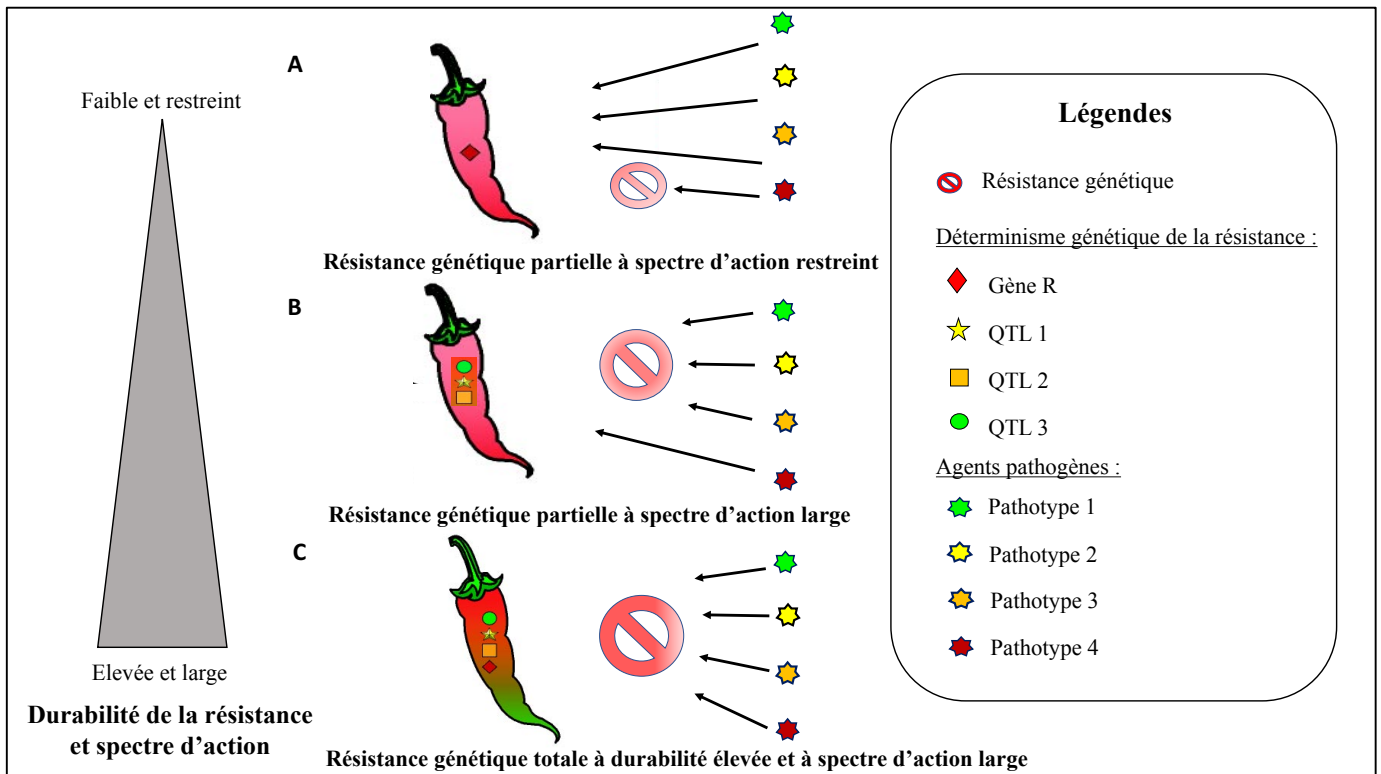


Figure 2 : Exemples théoriques de durabilité et de spectre d'action de résistance. **A.** Exemple de résistance partielle, portée par un gène R, à un unique pathotype. **B.** Exemple de résistance partielle, portée par 3 QTL, à trois pathotypes différents. **C.** Exemple de résistance totale, portée par un gène R et 3 QTL, à l'ensemble des pathotypes rencontrés. La durabilité de la résistance sera élevée dans le temps et l'espace. Source : modifiée d'après Mc Donald et Linde, (2002).

Introduction générale

La culture de pois protéagineux représente un intérêt majeur dans un contexte global de transition agro-écologique. La culture (i) fournit une graine locale, riche en protéines pour l'alimentation animale et humaine, (ii) nécessite peu d'intrants azotés et (iii) constitue une source de diversification des assolements au sein des rotations. Cependant, la culture de pois protéagineux est confrontée à une instabilité des rendements due à de multiples stress biotiques et abiotiques. La pourriture racinaire molle causée par l'agent pathogène *Aphanomyces euteiches* est considérée comme la maladie la plus préjudiciable affectant le pois de printemps. Actuellement, aucune méthode de lutte efficace n'est disponible contre l'agent pathogène, mais l'inscription récente de variétés tolérantes cultivables dans des sols faiblement infestés ouvre des perspectives prometteuses de lutte contre la maladie en combinaison avec des méthodes prophylactiques et culturales. Depuis ces 20 dernières années, 7 principales régions du génome du pois (ou QTL, Quantitative Trait Loci), dont une région à effet majeur en France, ont été identifiées pour la résistance à *A. euteiches* et validées dans des lignées quasi-isogéniques (ou NILs, Near-Isogenic Lines). Néanmoins, la durabilité des QTL de résistance est questionnée face aux capacités potentielles d'évolution des populations de l'agent pathogène. De plus, les niveaux de résistance des lignées de sélection créées à ce jour restent partiels. La combinaison et la diversification de l'usage des QTL sont des stratégies incontournables pour augmenter durablement l'efficacité de la résistance quantitative à *A. euteiches* dans les futures variétés de pois et faciliter la réintroduction de la culture dans les rotations agricoles françaises. Dans cet objectif, l'identification de nouveaux QTL et allèles de résistance à *A. euteiches* représente un enjeu de recherche majeur.

Introduction bibliographique

I. La résistance génétique des plantes face aux agents pathogènes

- a) La notion de résistance génétique chez les végétaux
 - i) Les résistances qualitatives et quantitatives

La pathogénicité est la capacité d'un agent pathogène à induire des symptômes chez une plante hôte et ainsi à affecter sa résistance (Agrios, 2005). Une résistance est dite qualitative, lorsqu'elle présente un effet élevé et un déterminisme génétique simple. Elle se traduit par un arrêt précoce de la colonisation de la plante hôte par l'agent pathogène et l'interaction plante – agent pathogène est incompatible.

Au contraire, une résistance est dite quantitative, lorsqu'elle présente un effet le plus souvent partiel et un déterminisme génétique plus complexe, mis en évidence par une variation continue des phénotypes dans une descendance allant de la résistance partielle à la sensibilité, selon l'intensité des symptômes. La résistance quantitative se traduit par un ralentissement de la colonisation de la plante hôte par l'agent pathogène après infection et l'interaction plante – agent pathogène est alors compatible (Hamon, 2010 ; Figure 1).

- ii) Mécanismes de résistance quantitative

Les résistances qualitatives sont contrôlées le plus souvent par des gènes R à forts effets, codant fréquemment des protéines à domaine conservé de type NLR (Nucleotide-binding Leucine-rich Repeat). En revanche, les mécanismes moléculaires sous-jacents aux résistances quantitatives contrôlées par des QTL à effets variables, demeurent relativement méconnus (Hamon, 2010). Néanmoins, une quinzaine de QTL de résistance aux maladies ont été clonés

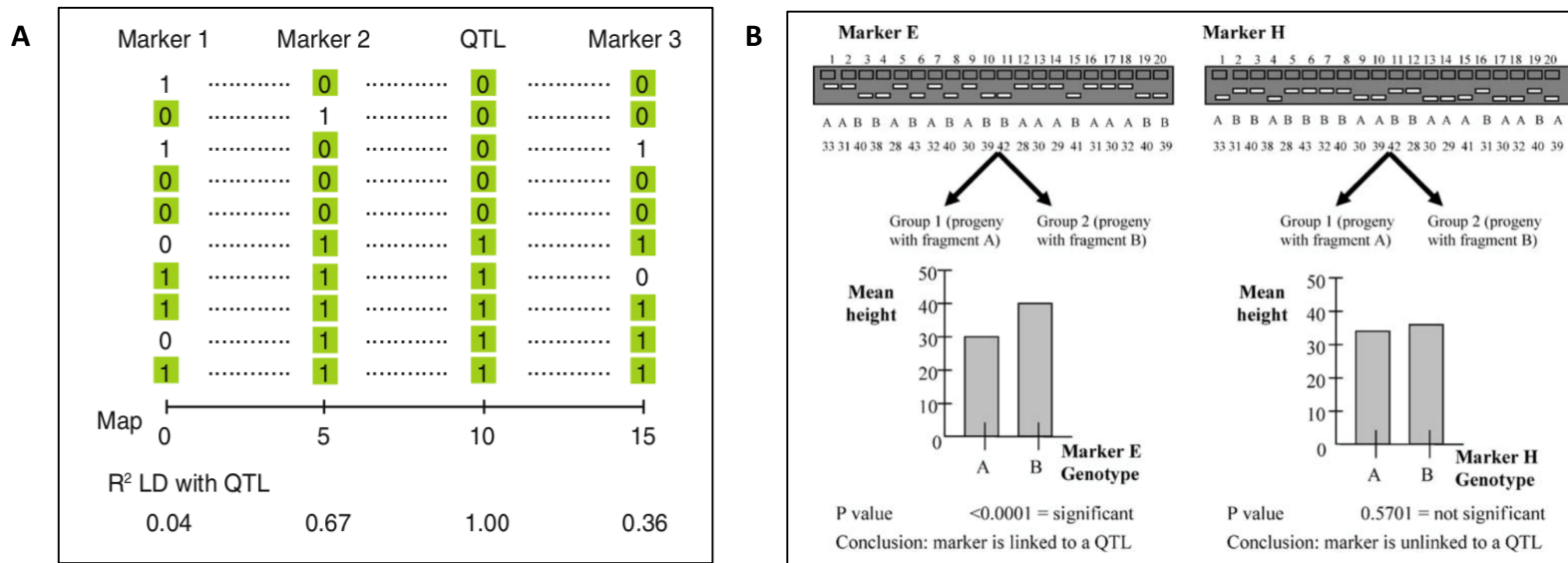


Figure 3 : Le concept de la détection de QTL par analyse du déséquilibre de liaison (DL). **A.** Illustration du DL entre 3 marqueurs et 1 QTL. Plus l'association statistique est forte entre marqueur et QTL, plus le DL est élevé. Source : [Würschum, \(2012\)](#). **B.** Illustration montrant le lien entre le génotypage au marqueur au sein d'une population et les différences entre moyennes phénotypiques calculées. Une différence significative entre moyennes suggère l'identification de QTL. Source : [Collard et al., \(2005\)](#).

Tableau 1 : Forces évolutives impliquées dans le déséquilibre de liaison au sein des populations. Source : [Hossard et al., \(2010\)](#).

Forces évolutives	Mécanismes	Conséquences
Mutation	Changement de la séquence nucléotidique de certains gènes	Apparition de nouveaux allèles dans les populations
Dérive génétique	Fluctuation aléatoire de la fréquence des gènes dans une population d'effectif limité	Disparition et fixation d'allèles
Migration	Fux de gènes ou de génotypes entre population	Déplacement des nouveaux allèles et génotypes mutants entre les populations
Recombinaison sexuée	Modification des associations d'allèles	Modification de la diversité génétique globale (multilocus) et apparition de combinaisons générant des phénotypes nouveaux
Sélection	Survie et reproduction différentielles entre individus au sein d'une population	Augmentation en fréquence des génotypes /phénotypes les mieux adaptés aux conditions locales

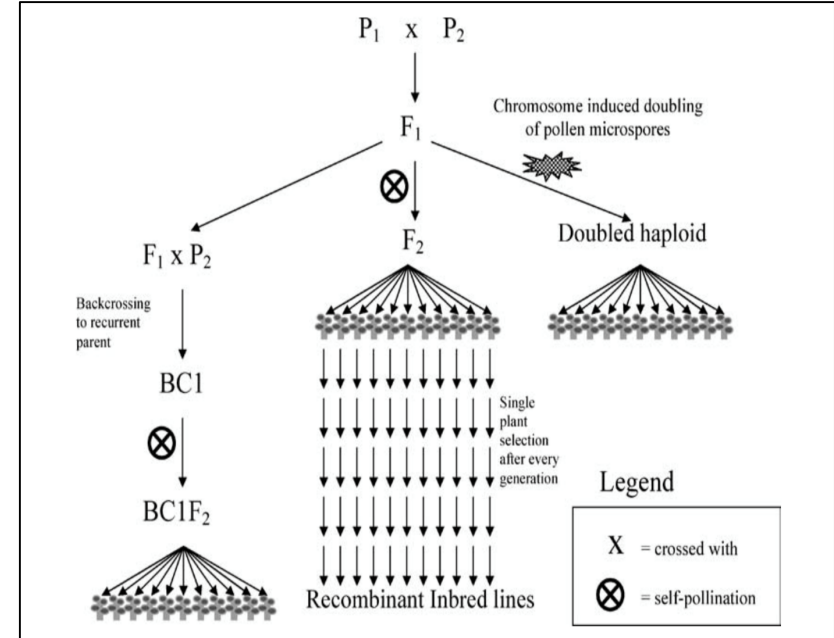


Figure 4 : Illustration des principaux types de population en ségrégation. Source : [Collard et al., \(2005\)](#).

chez les plantes cultivées ces 15 dernières années et ont permis de mettre en évidence diverses fonctions des gènes sous-jacents aux QTL. Ces gènes mis en évidence ont été décrits comme codant des protéines ayant un rôle dans (i) la reconnaissance des agents pathogènes (NB-LRR, kinases associées aux parois), (ii) la transduction de signaux de défense (transporteurs), ou encore (iii) la défense (lectines, prolines) et le métabolisme de la plante hôte (transférases). Certains gènes sont des formes modifiées de gènes NB-LRR ou des allèles de sensibilité ayant perdu leur fonction (Pilet-Nayel et al., 2017).

iii) Le concept de durabilité d'une résistance

Une résistance est dite durable si elle reste effective dans des variétés cultivées sur de larges surfaces durant une longue période dans un environnement favorisant l'apparition de la maladie (Johnson, 1981). Les résistances quantitatives sont considérées comme plus durables que les résistances qualitatives (Parlevliet, 2002), bien que certains cas de gènes majeurs conférant une résistance durable soient connus tels que le gène *Mlo* conférant au sein des variétés d'orge, une résistance au mildiou depuis 1979 en Europe (Kusch et Panstruga, 2017). La combinaison de gènes R et de QTL au sein d'un même génotype est une stratégie prometteuse visant à améliorer la durabilité d'une résistance (Quenouille et al., 2014). La combinaison de gènes R et de QTL possédant des spectres d'action variés, *i.e.* apportant une résistance à plusieurs pathotypes d'un agent pathogène, au sein d'un même génotype, est aussi une stratégie pouvant améliorer la durabilité d'une résistance (Pilet-Nayel et al., 2017 ; Figure 2). Chez le pommier, Le Van et al. (2013) ont montré que la combinaison de QTL à spectre d'action large permettait de limiter la pression de sélection exercée sur des populations d'isolats co-inoculés de *Venturia inaequalis*, ceci comparé dans les mêmes conditions, à des génotypes portant des QTL à spectre d'action restreint.

b) Méthodes de dissection génétique des résistances polygéniques

Afin d'identifier des QTL de résistance, deux méthodes principales peuvent être utilisées : (i) l'analyse de liaison au sein d'une population en ségrégation et (ii) l'analyse d'association au sein d'un panel.

i) L'analyse de liaison : une approche QTL au sein d'une population en ségrégation

Le déséquilibre de liaison (ou DL) correspond à une dépendance statistique, *i.e.* une association non aléatoire entre allèles de deux locus différents (Figure 3.A). Lors de l'analyse de liaison, un calcul de corrélation statistique entre un locus marqueur cartographié génétiquement et un trait quantitatif d'intérêt est effectué. Si cette corrélation est statistiquement significative alors un QTL est identifié comme lié génétiquement au marqueur testé (Figure 3.B). La dérive génétique, la migration, la mutation, la recombinaison sexuée et la sélection sont des forces évolutives pouvant entraîner du DL au sein des populations (Mackay et Powell, 2007 ; Tableau 1). Pour la détection de QTL, il est nécessaire d'étudier des populations pour lesquelles ces pressions évolutives sont contrôlées afin de pouvoir valider le DL mesuré comme résultant principalement de la liaison génétique entre le locus et le QTL identifiés. Les populations en ségrégation sont des populations limitant les effets de ces forces évolutives : (i) de sélection car l'intégralité des génotypes générés sont utilisés, (ii) de dérive génétique du fait de leur effectif important généralement supérieur à 100, et (iii) de migration car il n'y a pas de mélange de populations. Les populations en ségrégation les plus utilisées en détection de QTL chez les végétaux sont (i) les populations F2 dérivées de l'autofécondation d'hybrides, (ii) les populations de backcross (BC) dérivées du rétrocroisement entre l'hybride F1 et l'un de ses parents, (iii) les populations de lignées recombinantes (ou RILs, Recombinant Inbred Lines)

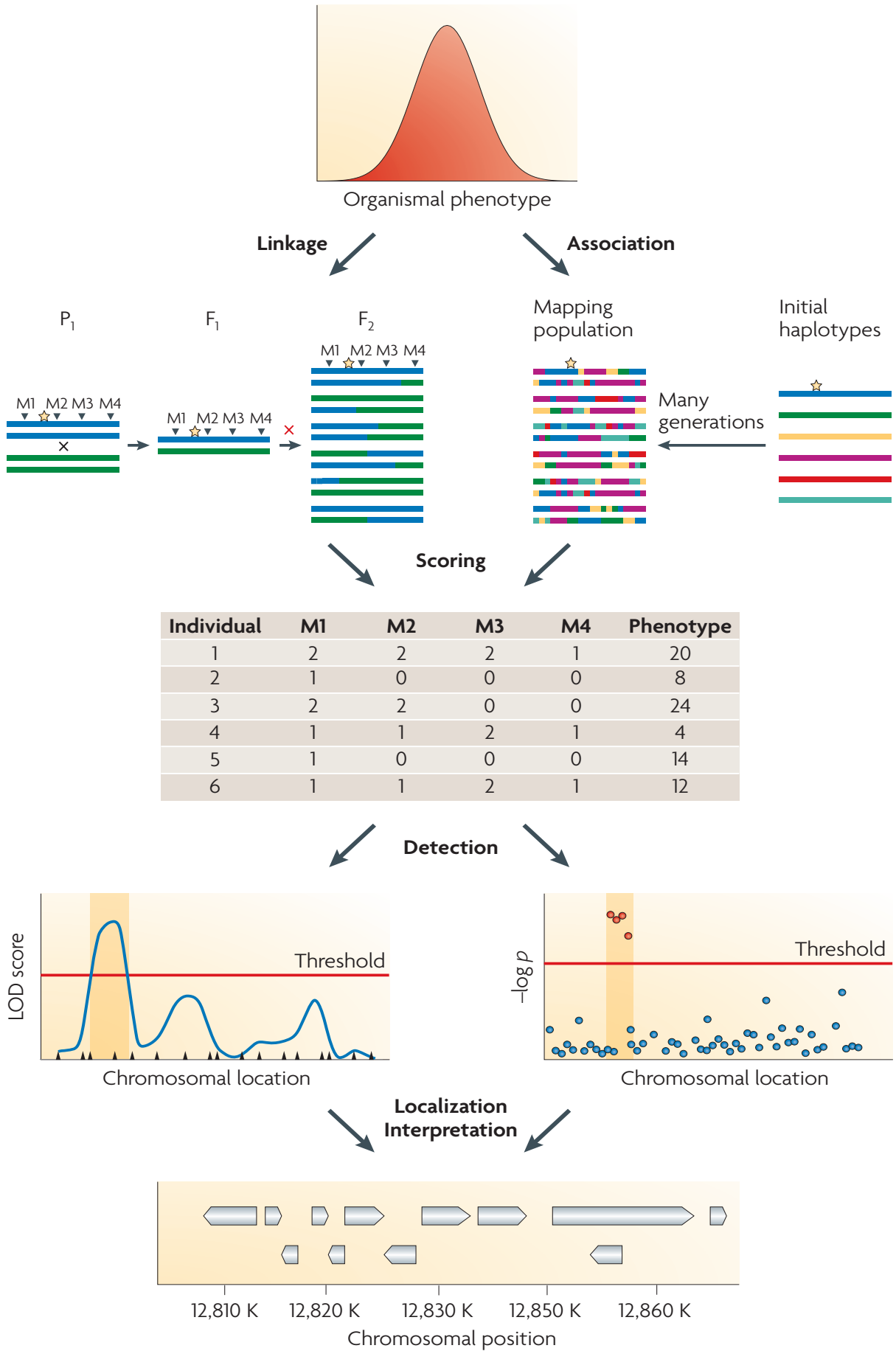


Figure 5 : Principe de la détection de QTL par analyse génétique de liaison et d'association.
 Source : Mackay et al., (2009).

issues de plusieurs générations d'autofécondation d'individus issus de populations F2, et (iv) les populations d'haploïdes doublés (ou DH, doubled haploid) résultant d'un doublement chromosomique effectué à partir de grains de pollen (Collard et al., 2005 ; Figure 4). Cependant, l'analyse de liaison au sein de populations de ségrégation est principalement limitée par (i) un taux faible de recombinaison, *i.e.* de brassage génétique, et (ii) par l'étude d'une fraction restreinte de la diversité génétique disponible au sein d'une espèce (Korte et Farlow, 2013).

- ii) L'analyse d'association : l'analyse du déséquilibre de liaison au sein d'un panel de génotypes

L'analyse d'association génome entier (ou GWAS, Genome Wide Association Study) n'est pas limitée par les deux principaux inconvénients mentionnés précédemment. En effet, la GWAS repose sur l'analyse du DL issu de nombreux événements historiques de recombinaison afin d'associer du polymorphisme lié à des marqueurs génétiques aux variations phénotypiques d'un trait quantitatif d'intérêt observé au sein d'une population quelconque de large diversité et de large effectif, appelée aussi panel (Huang et Han, 2014 ; Figure 5). Les panels peuvent être constitués à partir d'une collection de variétés et/ou de génotypes d'origines géographiques diverses, cultivés ou non. Cependant, afin de pouvoir associer le DL comme résultant de la liaison génétique, l'analyse d'association doit être effectuée sous réserve de prise en compte dans les modèles d'analyse : (i) de l'apparementement due à un fond polygénique commun, *i.e.* la répartition non aléatoire des allèles, et (ii) de la structuration, *i.e.* l'appartenance des individus à une sous-population, au sein du panel étudié (Korte et Farlow, 2013). L'étude de marqueurs en DL élevé ou complet avec un polymorphisme responsable d'un trait quantitatif d'intérêt permet de définir des haplotypes de marqueurs, *i.e.* des allèles situés sur différents loci d'une même région chromosomique et transmis ensemble à la génération suivante (Liu et al., 2008).

- c) Exploitation de la résistance quantitative en amélioration des plantes

- i) Introduction et introgression de QTL

En génétique des plantes, l'introgression est le transfert de gènes depuis une espèce donneuse vers une espèce receveuse différente tandis que l'introduction désigne un transfert de gènes entre même espèce. La sélection assistée par marqueurs (SAM) consiste à utiliser des marqueurs en DL avec des locus d'intérêt (gène R ou QTL) afin de valider leur présence dans un fond génétique, au cours d'un programme d'amélioration génétique. Ainsi le Back-cross Assisté par Marqueurs (BAM) facilite l'introgression ou l'introduction d'allèles favorables identifiés au sein d'un génotype d'intérêt dans un fond génétique élite (Figure 6). Cette méthode possède l'avantage d'être plus simple, efficace, rapide et moins coûteuse que la sélection phénotypique lorsqu'elle est appliquée à des caractères quantitatifs difficilement mesurables et contrôlés par des QTL majeurs (Hospital, 2009). Les lignées fixées à l'état homozygote issues de BAM sont alors quasi-isogéniques au fond génétique élite, constituant ainsi des NILs. Des séries de NILs dont les génomes ne diffèrent que par les gènes/loci introduits peuvent être ainsi créées afin de valider l'effet de QTL seul ou en combinaison dans un nouveau fond génétique (Lavaud, 2015).

Les populations de Back-cross Avancée (ou BAv) sont des populations en ségrégation permettant l'introduction et la détection simultanées d'allèles issus de génotypes exotiques non agronomiques mais d'intérêt pour certains caractères ciblés. Elles sont créées par rétrocroisements limités entre des hybrides F1 et leur parent agronomique, suivis de multiples générations d'autofécondation afin de fixer l'homozygotie de la population finale (Tanksley et Nelson, 1996).

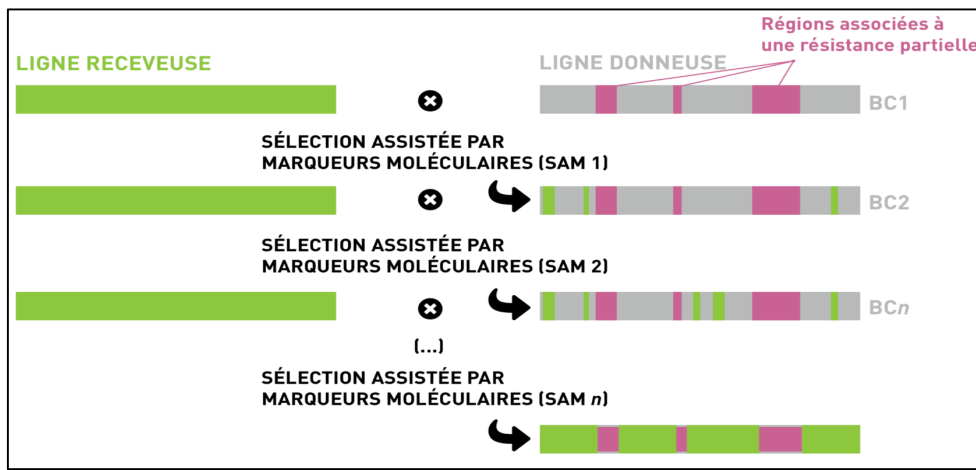


Figure 6 : Concept de l'introduction ou de l'introgression de régions associées à une résistance partielle par rétrocroisement, *i.e.* par back-cross, successifs assistés par marqueurs moléculaires. Source : Pilet-Nayel et al., (2019).

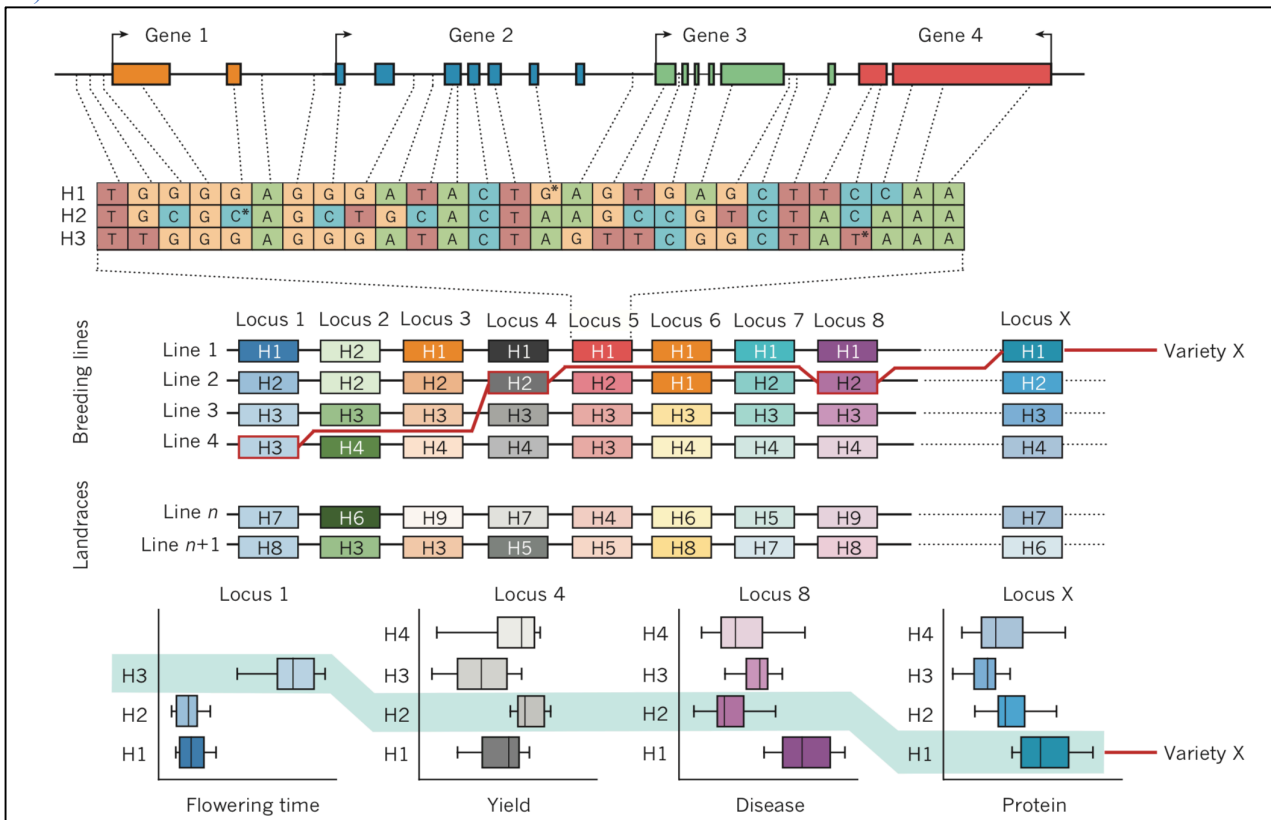


Figure 7 : L'assemblage d'haplotypes en amélioration variétale. Assemblage de régions génomiques comportant des haplotypes de marqueurs liés à des traits phénotypiques d'intérêt. Source : Bevan et al., (2017).

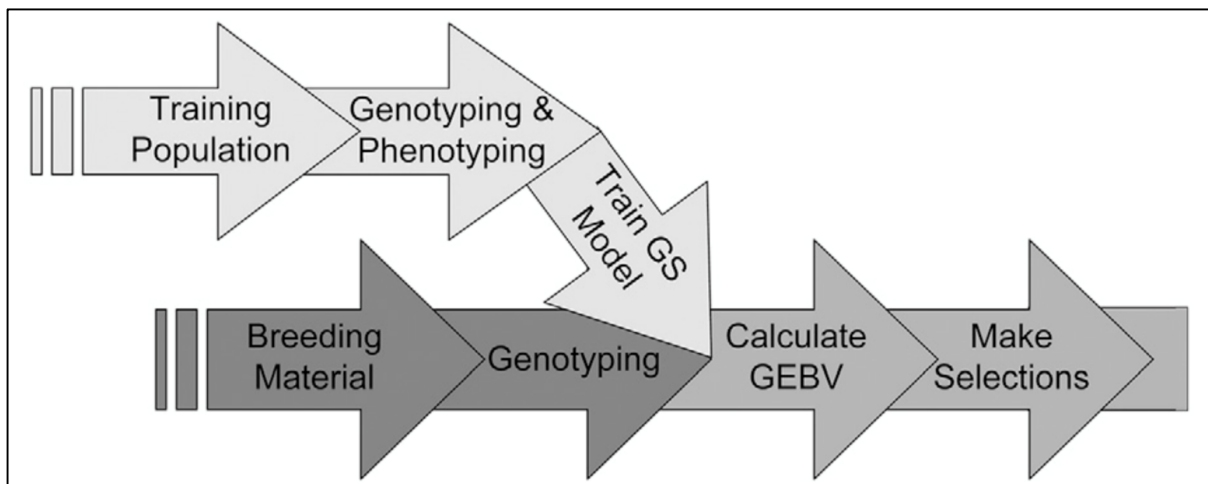


Figure 8 : La sélection génomique en amélioration variétale. Une équation de prédiction génomique est calibrée à partir d'une population d'entraînement et testée sur une population de validation. Source : Heffner et al., (2009).

ii) Cumul de QTL : sélection sur haplotypes et sélection génomique

La sélection sur haplotype et la sélection génomique sont des approches récentes développées et utilisées en amélioration des plantes afin de (i) sélectionner et cumuler des allèles associés à des caractères complexes d'intérêt et (ii) globalement diminuer les coûts de phénotypage ainsi que la durée des schémas de sélection.

La sélection sur haplotype permet d'effectuer des inférences prédictives sur les valeurs phénotypiques de lignées partageant des phylogénies haplotypiques communes avec des lignées dont les haplotypes ont déjà été associés à des caractères d'intérêts agronomiques (Buntjer et al., 2015 ; Figure 7). La sélection génomique (SG) consiste, quant à elle, à prédire la valeur génétique d'un individu non phénotypé à partir d'une équation de prédiction génomique obtenue sur une population d'entraînement et testée sur une population de validation (Heffner et al., 2009 ; Figure 8).

II. La résistance quantitative au sein du pathosystème *Pisum sativum* -*Aphanomyces euteiches*

a) Le pois protéagineux (*Pisum sativum*)

i) Importance économique et agro-écologique du pois protéagineux

Le pois protéagineux (*Pisum sativum* L.), est classé comme la sixième culture de légumineuse au monde et la première en France avec une production de respectivement 15 654 kt et 710 kt en 2018 (Figure 9.A). La culture française de pois protéagineux représentait une surface récoltée de 154 000 hectares en 2019, le rendement moyen était alors de 40,4 q/ha (Figure 9.C, D). Les variétés françaises de pois protéagineux sont principalement de type printemps, les variétés d'hiver ne représentant que 20% de la surface cultivée nationale en 2019. La culture de pois de printemps est semée entre fin janvier et mi-mars afin d'être récoltée au cours de l'été (Figure 10), les surfaces cultivées se situant majoritairement dans le nord de la France (Schneider et Huyghe, 2015 ; Figure 9.B).

Le pois protéagineux est une culture d'intérêt majeur dans le contexte de la transition agro-écologiques souhaitée en agriculture. En effet, le pois produit une graine riche en protéines (environ 21%)^[1], valorisée en alimentation animale et humaine comme source de protéines alternatives aux tourteaux de soja. De plus, la culture ne nécessite pas d'apport en intrants azotés de par la capacité de la plante à fixer l'azote atmosphérique grâce à des symbioses racinaires. Enfin, introduite dans les rotations, la culture du pois protéagineux permet de rompre le cycle des bio-agresseurs des autres espèces cultivées, Poaceae principalement (Schneider et Huyghe, 2015).

ii) Complexité génétique et morphologie du pois protéagineux

Pisum sativum L., est une espèce diploïde ($2n = 2x = 14$) annuelle, autogame de la famille des Leguminosae (ou Fabaceae). Le pois possède un génome complexe d'une taille d'environ 4.45 Gb, soit 10 fois plus élevée que celle du génome de l'espèce légumineuse modèle *Medicago truncatula* (Dolezel et al., 1998 ; Kaló et al., 2004). La large taille du génome du pois est due à de nombreux rétrotransposons et séquences répétées, représentant environ 75 à 97% de l'ADN nucléaire, issus de nombreux événements évolutifs de translocations et de transpositions chromosomiques (Kreplak et al., 2019). Kreplak et al. (2019) ont publié le premier assemblage de la séquence du génome du pois en 2019. Ils ont montré que le génome de la variété Caméor est composé de 44 756 gènes, 62% de rétrotransposons et 4% de transposons.

^[1] Terres Univia. L'interprofession des huiles et protéines végétales. [En ligne] Disponible sur : <http://www.terresunivia.fr> (consultée le 13 avril 2020).

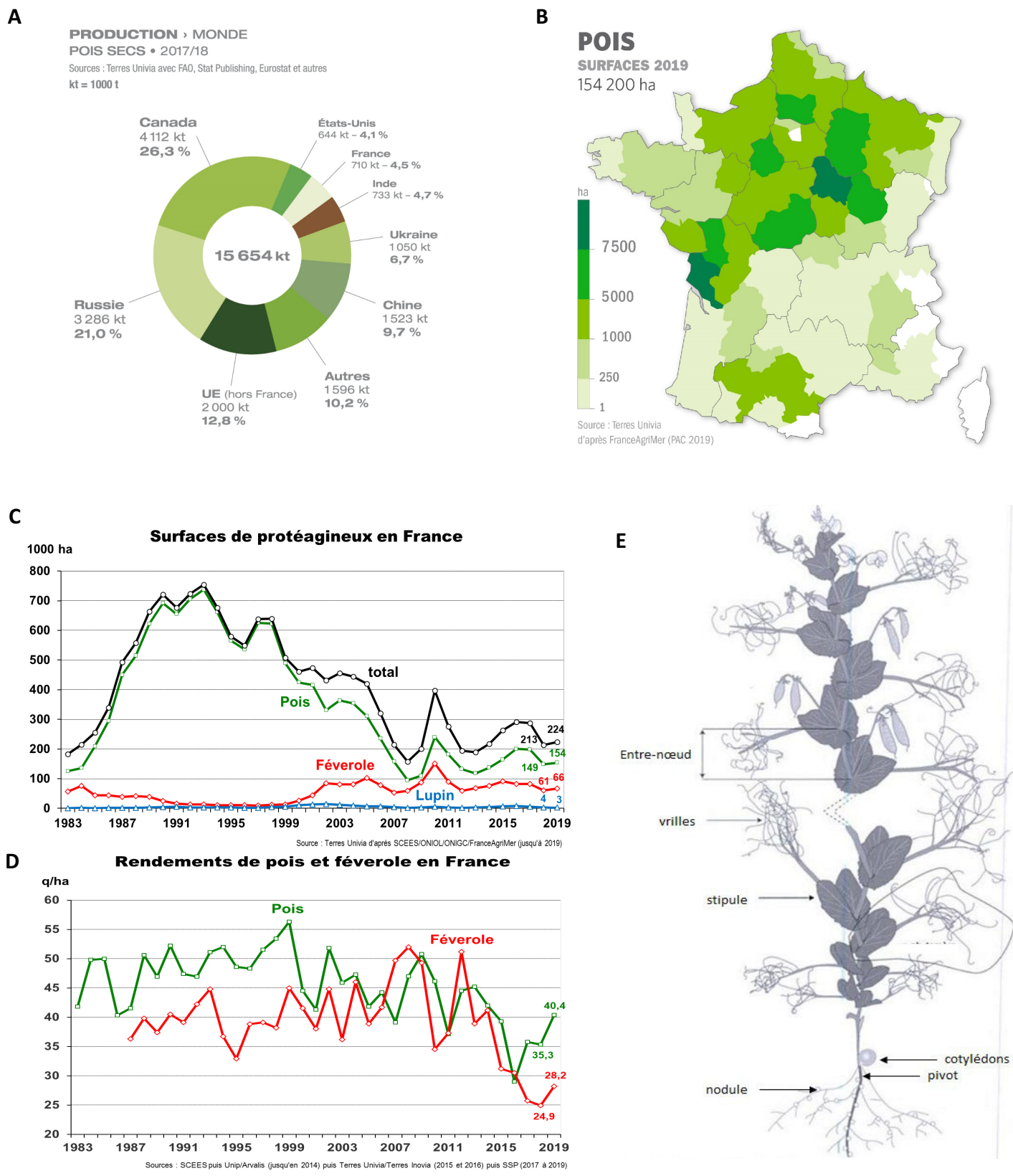


Figure 9 : La culture de pois protéagineux. **A.** Production mondiale de pois sec en kilotonnes entre 2017 et 2018. **B.** Surfaces françaises cultivées en pois en hectares en 2019. **C.** Surface de protéagineux en France de 1983 à 2019. **D.** Instabilité des rendements de pois et de féverole en France de 1983 à 2019. Source : [Terres Univia](#). **E.** Organisation du pois. Source : [Lecoeur, \(2005\)](#).

Les variétés commerciales de pois inscrites au catalogue national sont des lignées pures, toutes porteuses de l'allèle *afila* (limitation de la verse de la culture grâce à des folioles transformées en vrilles) et de fleurs blanches (graines sans tanin) (Lavaud et al., 2015). Les feuilles sont alternes, composées et munies de stipules à leur base (Figure 9.E).

iii) Ressources génétiques et génomiques

Les ressources génétiques du pois, conservées de manière *ex situ*, sont estimées à environ 74 000 accessions réparties dans plus de 28 pays dans le monde. Aucune core collection mondiale n'est actuellement disponible afin de représenter la variabilité de l'espèce *P. sativum* (Warkentin, 2015). Néanmoins, des collections de référence ou ciblées ont été constituées, telles que la collection de référence INRAE (Burstin et al., 2015) ou la collection ciblée *Aphanomyces* (175 accessions ; Desgroux et al. 2016). Les SNPs (Single Nucleotide Polymorphism) sont des marqueurs avantageux du fait de leur abondance au sein du génome et de la possibilité de les séquencer à haut débit (Mammadov et al., 2012). Récemment, une puce GenoPea Infinium® BeadChip comportant 13 204 SNPs issus de séquences d'ADN génomiques (Tayeh et al., 2015a) et 63 353 SNPs identifiés par GBS (Genotyping By Sequencing) (Boutet et al., 2016) ont été développés afin de couvrir en marqueurs le génome du pois. Ces 30 dernières années, plus de 52 cartes génétiques ont été construites à partir de diverses populations biparentales F2 ou de lignées recombinantes de pois (Tayeh et al., 2015b), afin d'étudier des traits quantitatifs d'intérêt dont la résistance à *A. euteiches*. Basées sur différentes cartes génétiques obtenues à partir de populations de RILs, des cartes consensus ont été générées afin d'améliorer la densité et la précision des positions des marqueurs cartographiés génétiquement.

Malgré les multiples avantages du pois protéagineux, les surfaces cultivées de la culture ont été réduites d'un facteur 5 environ ces 30 dernières années en France. Cette diminution est principalement due à l'instabilité des rendements de la culture, ceux-ci pouvant osciller entre 30 et 55 q/ha en fonction des années, (Figure 9.D), couplée à une politique de prix peu incitative favorisant la production de semences fermières. L'instabilité des rendements est liée à différents stress abiotiques (gel, sécheresse) mais surtout biotiques (agents pathogènes, ravageurs, adventices) pouvant affaiblir la culture. Parmi ces différents stress, la pourriture racinaire molle est considérée comme la plus préjudiciable à la culture du pois protéagineux en France depuis plus de 20 ans (Moussart et al., 2018).

b) L'agent de la pourriture racinaire molle du pois (*Aphanomyces euteiches*)

i) Répartition géographique et importance économique de la maladie

Agent de la pourriture racinaire molle du pois, *Aphanomyces euteiches* Drechs. est un oomycète tellurique de la famille des Saprolegniaceae découvert pour la première fois aux Etats-Unis en 1925 (Jones et Drechsler, 1925). La maladie a été identifiée dans de multiples régions du monde telles que l'Amérique du Nord, l'Australie, l'Europe (France, Suède, Danemark, Allemagne...) (Wicker, 2001). La dissémination de l'agent pathogène s'effectue dans l'eau libre du sol ou par transport mécanique anthropique (Hughes et Grau, 2007). De ce fait, la multiplicité des échanges de matériel végétal liés à la mondialisation ainsi que les modifications de température et de pluviométrie dues au changement climatique facilitent l'établissement de l'agent pathogène au sein de nouveaux environnements tels que la région d'Alberta au Canada par exemple, où la maladie a été observée pour la première fois en 2013 (Chatterton et al., 2015). La France, premier producteur de pois protéagineux au sein de la Communauté Economique Européenne (ou CEE) ^[1], est l'un des pays les plus touchés par la

^[1] Fédération Française des Producteurs d'Oléagineux et de Protéagineux. [En ligne] Disponible sur : <http://www.fopoleopro.com/la-fop/nos-cultures/pois-2/> (consultée le 27 février 2020).

Manifestation de la pourriture racinaire molle au cours du cycle de développement du pois

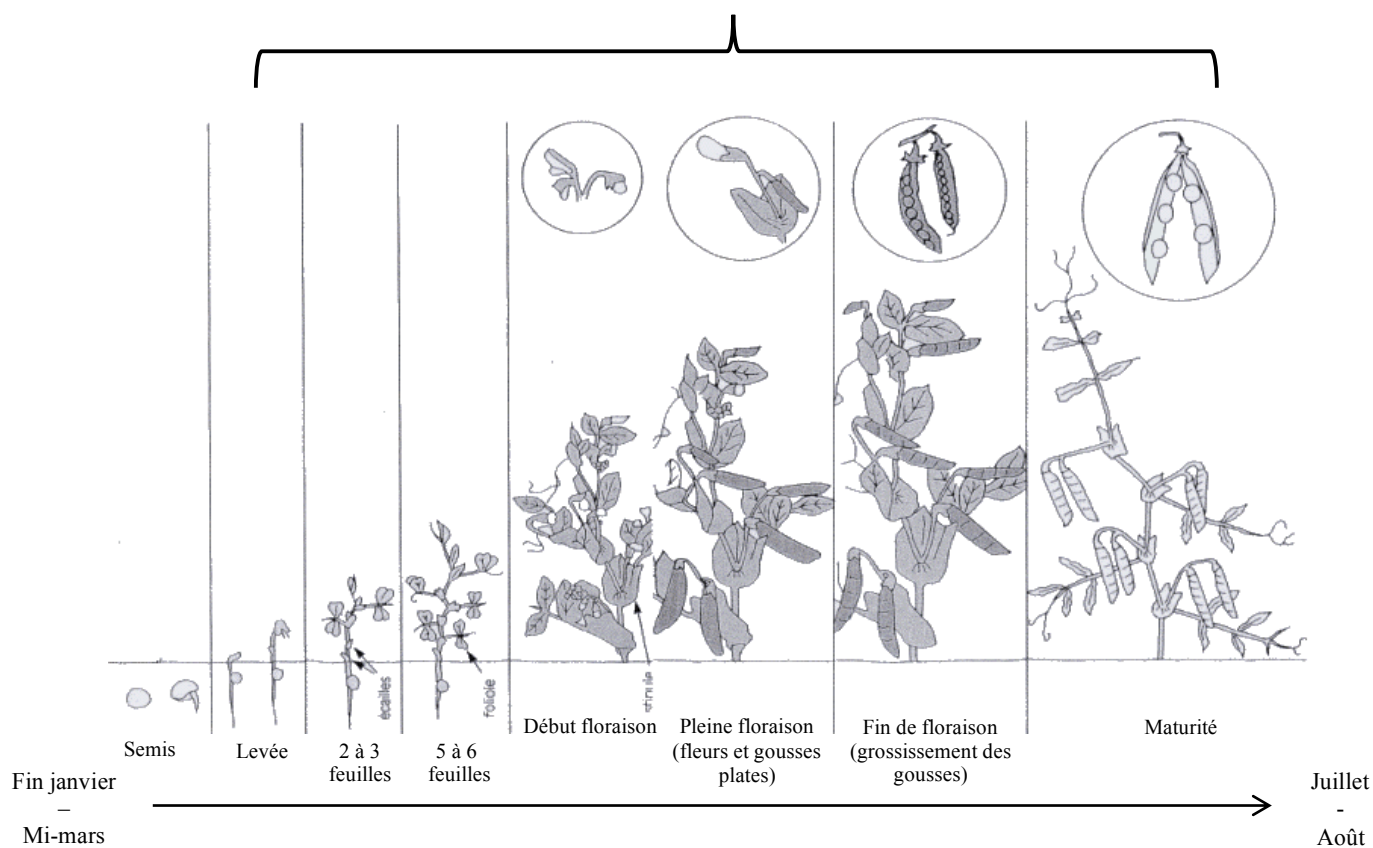


Figure 10 : Cycle de développement de la culture de pois de printemps.
Source : modifiée d'après [Boyeldieu, \(1991\)](#).

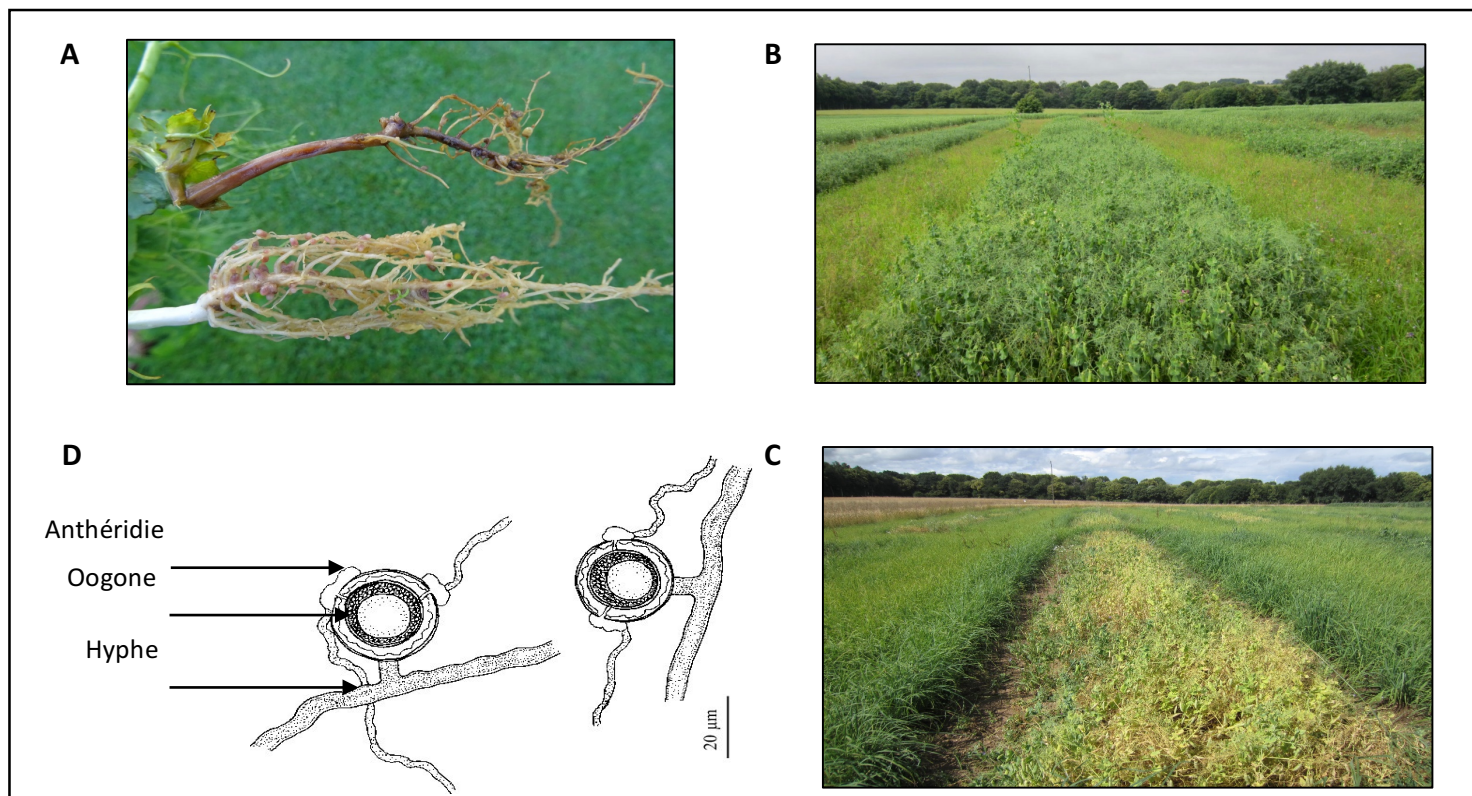


Figure 11 : L'agent pathogène *Aphanomyces euteiches*. **A.** Cycle de développement de la culture de pois de printemps. Source : modifiée d'après [Boyeldieu, \(1991\)](#). **B.** Racine de pois saine et nécrosée. Source : modifiée d'après [Terres Inovia](#). **C.** Culture saine. **D.** Chlorose aérienne. Source : [INRA - Chambre d'Agriculture de Bretagne de Bignan \(56\)](#). **D.** Gamètes mâles (anthéridie) et gamètes femelles (oogone). Source : modifiée d'après [Treigien et Markovskaja, \(2007\)](#).

maladie. Selon un inventaire de l'interprofession des protéagineux (Terres Univia) effectué en 2011, pour l'ensemble des régions françaises, *A. euteiches* serait détectable dans 65% des parcelles ayant déjà accueilli du pois durant les 20 dernières années ^[1]. Les dégâts primaires causés par la pourriture racinaire au pois sont une pourriture couleur brun-miel des racines primaires et secondaires pouvant atteindre l'épicotyle, provoquant son ramollissement (Figure 11.A). Les dégâts secondaires correspondent à une chlorose et un flétrissement des parties aériennes (Figures 11.B, C) accompagnés d'une diminution de la capacité de nutrition et de nodulation de la plante (Hughes et Grau, 2007). Les dommages infligés à la culture varient entre 20 et 50 q/ha, ceux-ci pouvant induire sur une perte totale de la récolte (Desgroux, 2016).

ii) Biologie de l'agent pathogène et méthodes de lutte actuelles

A. euteiches est un agent pathogène à large spectre d'hôtes chez les légumineuses, pouvant effectuer son cycle biologique sur la lentille (*Lens culinaris*), la luzerne (*Medicago sativa*), le haricot commun (*Phaseolus vulgaris*), le pois, le trèfle (*Trifolium repens* et *T. pratense*), la vesce (*Vicia sativa*) (Moussart et al., 2008). Exclusivement présent en France sous la forme du pathotype de type I et aux Etats-Unis sous les formes des pathotypes de type I et III (Le May et al., 2017), une gamme d'agressivité variable a été observée au sein de différents isolats prélevés dans différents sols de différentes régions françaises (Quillévéré-Hamard, (2018), acceptée) et plus localement, au sein de deux sols provenant d'une même parcelle infestée située autour de Bignan (53) dans la région Bretagne (Leprévost, 2019).

A. euteiches est un oomycète homothallic, à mode de vie héli-biotrophe, capable d'intercroisements à faible fréquence. L'agent pathogène n'effectue qu'un seul cycle par saison incluant deux formes de reproduction qui sont de type asexuée et sexuée par l'intermédiaire de zoospores et d'oospores, respectivement. Le contact entre la plante hôte et l'agent pathogène est induit par un chimiotactisme provoqué par la libération d'exsudats racinaires dans le sol guidant les zoospores jusqu'à l'enkystement. Les zoospores peuvent alors coloniser la plante hôte et initier la reproduction sexuée au sein des tissus nécrosés. De la fécondation du gamétocyste femelle (l'oogone) par le gamétocyste mâle (l'anthéridie) résulte la production d'oospores (Figure 11.D) et ainsi, le renouvellement d'un stock d'inoculum dans le sol d'une longévité pouvant dépasser 10 ans (Hughes et Grau, 2007 ; Figure 12).

Actuellement, aucune solution de lutte efficace contre la pourriture racinaire molle du pois n'a été identifiée. Néanmoins, différentes méthodes prophylactiques peuvent être envisagées afin de mieux gérer le risque Aphanomyces (Moussart et al., 2008). Un test de potentiel infectieux du sol, (ou PI) basé sur l'évaluation de l'Indice de Nécrose Racinaire (noté RRI pour Root Rot Index) d'une variété sensible de pois (Lumina) cultivée en chambre climatique sur un échantillon de sol prélevé au sein d'une parcelle potentiellement infestée, est disponible. De plus, (i) l'introduction d'espèces végétales résistantes à *A. euteiches* ou non hôtes au sein des rotations, (ii) l'allongement des fréquences de retour du pois, (iii) l'application d'un meilleur drainage des sols afin de limiter la dissémination de l'agent pathogène, et (iv) l'utilisation de variétés de pois d'hiver échappant à la maladie en conditions hivernales, sont des stratégies de lutte préconisées (Moussart et al., 2008).

À ce jour, aucune variété de pois présentant un niveau élevé de résistance à la pourriture racinaire molle n'est cultivée, mais des variétés tolérantes ont été inscrites en 2019-2020. Des sources de résistance quantitatives à *A. euteiches* ont été identifiées par l'INRAE, en étroite collaboration avec l'USDA, depuis 20 ans. La résistance génétique représente la méthode de lutte la plus prometteuse, en combinaison avec les méthodes culturales et prophylactiques existantes, pour lutter contre *A. euteiches* (Pilet-Nayel et al., 2019).

^[1] Terres Univia. La pourriture racinaire du pois due à Aphanomyces. Stratégie de gestion du risque [En ligne] Disponible sur : <https://www.arvalis-infos.fr/file/galleryelement/pj/b1/0f/43/99/aphanomyces821106418699469363.pdf> (consultée le 27 février 2020).

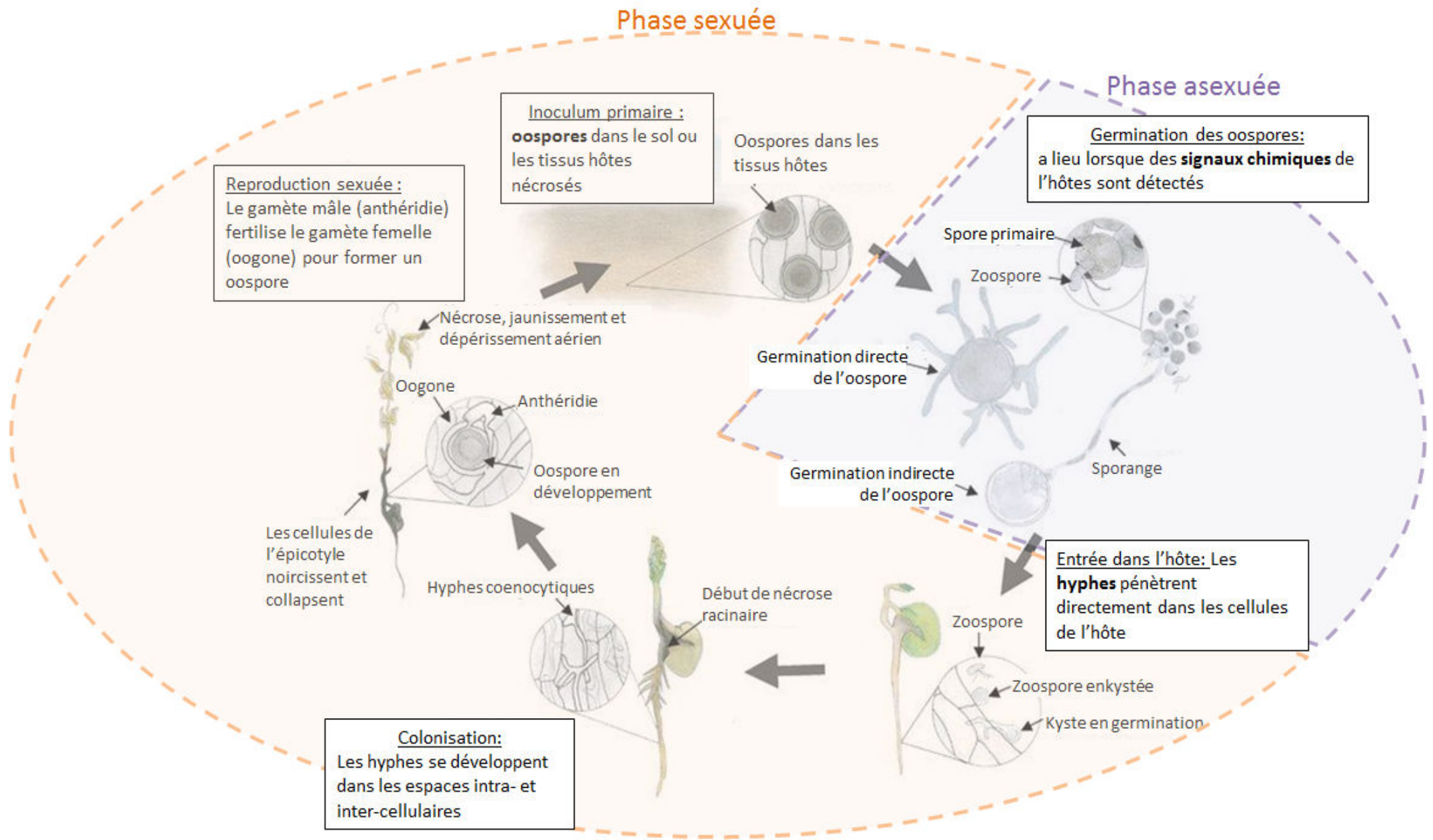


Figure 12 : Cycle infectieux et organes de la reproduction sexuée de l'agent pathogène *A. euteiches*. Source : Desgroux, (2016) adaptée de Hugues et Grau, (2007).

c) La résistance génétique à *Aphanomyces euteiches* chez le pois

i) Déterminants génétiques de la résistance à *A. euteiches* et exploitation en sélection

Depuis ces 20 dernières années, 7 principaux QTL, nommés *Ae-Ps1.2*, *Ae-Ps2.2*, *Ae-Ps3.1*, *Ae-Ps4.1*, *Ae-Ps4.5*, *Ae-Ps5.1* et *Ae-Ps7.6* ^[1], ont été identifiés de manière stable dans divers environnements par analyse de liaison génétique au sein de 4 populations de RILs (Hamon et al., 2011, 2013), issues de croisements biparentaux incluant 4 sources de résistance américaines, *i.e.* 90-2079, 90-2131 (Kraft, 1992), PI180693 (Lockwood, 1960) et 552 (Lewis et Gritton, 1992). Parmi ces 7 QTL, *Ae-Ps4.5* et *Ae-Ps7.6* ont été identifiés comme présentant des effets majeurs vis-à-vis des souches Ae109 (pathotype III) et RB84 (pathotype I), respectivement. Différentes séries de NILs ont permis de valider l'effet des 2 QTL de résistance *Ae-Ps4.5* et *Ae-Ps7.6*, seuls ou en combinaison avec des QTL à effets mineurs, en conditions contrôlées et/ou au champ (Lavaud et al., 2015).

Par ailleurs, 52 QTL de résistance à *A. euteiches* ont été détectés par GWAS au sein de la collection de pois *Aphanomyces* de 175 lignées, génotypée avec 13 204 marqueurs (Figure 13). L'analyse a permis de valider 6 des 7 principaux QTL détectés par analyse de liaison et d'identifier des haplotypes de marqueurs associés à la résistance à *A. euteiches* dans 14 intervalles génomiques. Des lignées nommées AeA, AeB et AeD, à haut niveau de résistance à *A. euteiches* et pouvant cumuler jusqu'à 13 haplotypes favorables identifiés, ont été créées par sélection récurrente phénotypique par le Groupement des Sélectionneurs de Protéagineux (GSP) (Roux-Duparque et Boitel, 2004 ; Desgroux et al., 2016). La comparaison des positions génétiques de QTL identifiés par analyse de liaison (Hamon et al., 2013) et d'association (Desgroux et al., 2016) est restée peu précise du fait du manque de marqueurs communs aux populations étudiées.

De 2002 à 2008, un large programme de criblage de sources de résistance à *A. euteiches* a été mené par l'INRA, en conditions contrôlées, sur un total d'environ 1 900 accessions de pois. Ce programme a permis de sélectionner quelques nouvelles sources de résistance partielle, dont les accessions E11 et LISA. Un programme de BAv développé entre 2008 et 2014 a permis de rétrocroiser E11 et LISA avec la variété de pois de printemps sensible Eden, puis de fixer les descendances rétrocroisées. Ainsi, deux populations de BAv d'environ 200 lignées, issues des croisements Eden x E11 et Eden x LISA, ont été obtenues en BC2S6 et BC2S5 ^[2], respectivement. Les haplotypes identifiés dans les accessions E11 et LISA, aux 14 intervalles précédemment identifiés par GWAS, ont été observés différents de ceux identifiés au sein des lignées dérivées des sources américaines et en fréquence rare dans la plupart des intervalles étudiés (Desgroux et al., 2016). Une nouvelle diversité d'allèles et de mécanismes de résistance partielle à *A. euteiches* est donc supposée au sein des sources de résistance E11 et LISA comparés à ceux décrits chez les sources américaines.

ii) Mécanismes de la résistance à *A. euteiches*

Actuellement, peu de connaissances sont disponibles à l'échelle mondiale sur les mécanismes biologiques et moléculaires de résistance du pois à *A. euteiches*. La résistance partielle du pois serait essentiellement liée (i) à la diminution de la production et de la germination des oospores, et (ii) au ralentissement de la multiplication de l'agent pathogène et du développement des lésions (Kraft et Boge, 1996). Lavaud et al. (2016) ont montré en conditions contrôlées, que les QTL majeurs de résistance *Ae-Ps4.5* et *Ae-Ps7.6* introduits seuls ou en combinaison avec des QTL à effets mineurs au sein de NILs, ont un effet sur le ralentissement de la colonisation et le retard de l'apparition des symptômes de pourriture racinaire. De plus, les QTL à effets mineurs, *Ae-Ps2.2*, *Ae-Ps3.1* et *Ae-Ps5.1* introduits seuls, ont permis de diminuer la colonisation racinaire de l'agent pathogène. Desgroux et al. (2018) ont montré par analyse

^[1] *AePs* pour *Aphanomyces euteiches* – *Pisum sativum*, suivi du numéro du groupe de liaison et du numéro du QTL au sein du groupe de liaison.

^[2] Les populations de BAv sont nommées BCNSM avec N, le nombre de back-cross (BC) et M, le nombre de génération d'autofécondation (S).

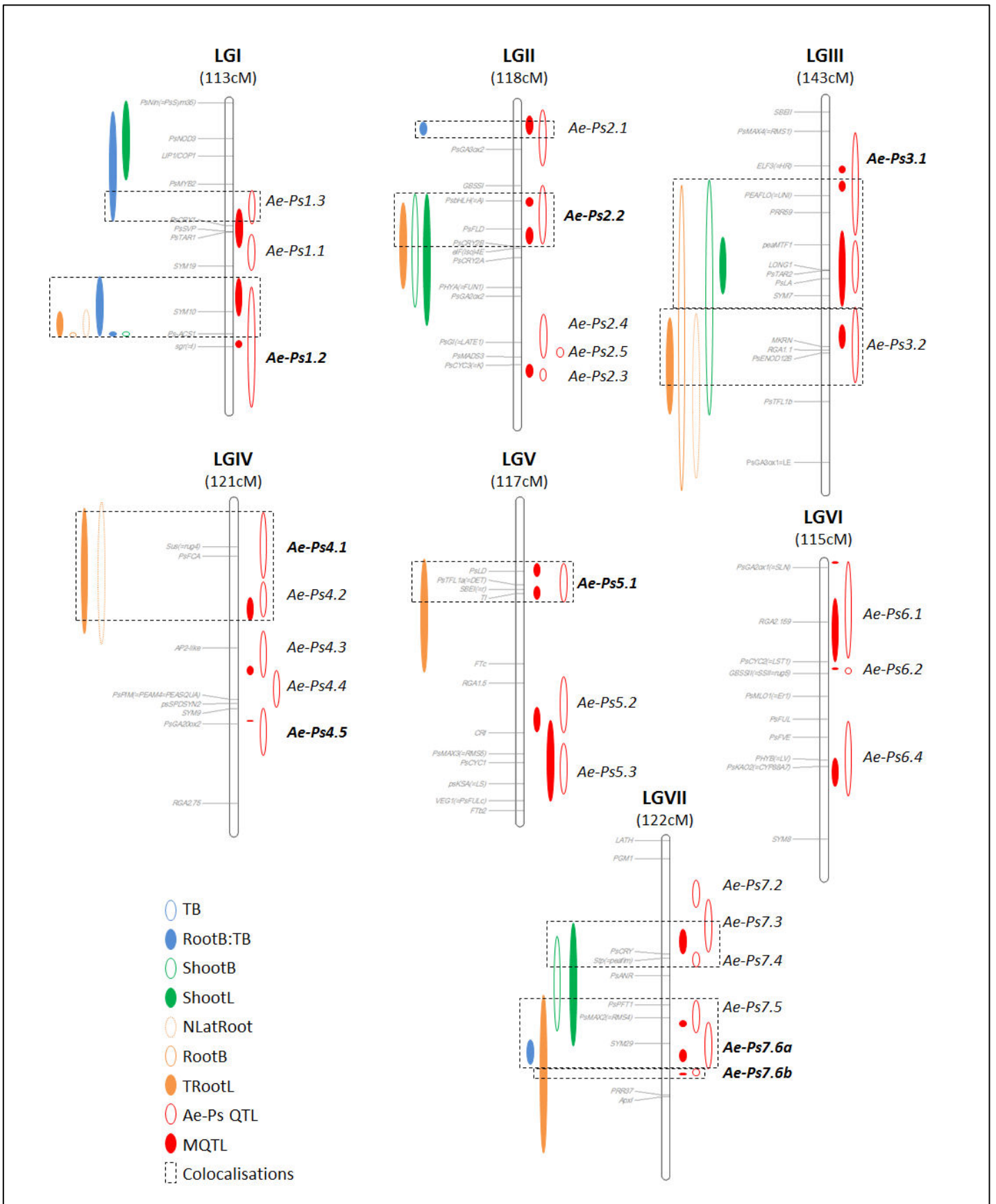


Figure 13 : Chevauchement des QTL de résistance à *A. euteiches* et des QTL d'architecture de la plante chez le pois. Source : [Desgroux, \(2016\)](#) adaptée de [Hamon et al., \(2013\)](#).

Les QTL de résistance à *A. euteiches* sont extraits de [Hamon et al., \(2013\)](#) : les QTL *Ae-Ps* sont les régions génomiques principales détectées à partir de quatre populations de RIL (Puget x 90-2079, DSP x 90-2131, Baccara x PI180693 et Baccara x 552), tandis que les MQTL sont les méta-QTL issus de la méta-analyse des QTL *Ae-Ps*. Les QTL d'architecture de la plante de pois sont issus de l'étude de [Bourion et al., \(2010\)](#) sur une population de RIL (Cameor x Ballet). Les QTL ont été projetés sur une carte consensus grâce à des marqueurs moléculaires communs. Des chevauchements entre QTL de résistance et QTL d'architecture sont visibles sur 6 des 7 groupes de liaison.

d'association d'un panel de 266 lignées de pois combinant la collection Aphanomyces de 175 accessions et des lignées sélectionnées pour leur diversité de phénotype d'architecture racinaire, que le QTL de résistance *Ae-Ps7.6* était également associé à une augmentation de la densité du système racinaire, suggérant ainsi un lien entre l'architecture racinaire du pois et la résistance partielle à la pourriture racinaire molle.

III. Objectif et stratégie de recherche du stage

Les agriculteurs français sont dans l'attente de solutions de lutte efficaces et durables face à la pourriture racinaire molle, afin d'introduire ou de réintroduire le pois protéagineux dans leur rotation agricole. La création de variétés résistantes est une solution de lutte prometteuse du fait des acquis de la recherche depuis ces 20 dernières années dans l'identification et la validation de QTL. Cependant, les niveaux de résistance partielle des lignées créées en recherche et en sélection sont difficiles à augmenter et la durabilité des QTL de résistance à *A. euteiches* qui seront intégrés dans les futures variétés est questionnée. La diversification des QTL en combinaison dans un même fond génétique est une stratégie prometteuse afin d'améliorer les niveaux et la durabilité de la résistance dans les futures variétés de pois protéagineux.

Afin d'appuyer cette stratégie, mon travail de stage a visé à tester l'hypothèse suivante :

- Il existe une nouvelle diversité de QTL, et/ou d'haplotypes de marqueurs aux QTL connus, associés à la résistance à *A. euteiches*, identifiable (i) par analyse de liaison au sein de la nouvelle source de résistance Eden x E11 et (ii) par analyse d'association revisitée au sein de la collection Aphanomyces mieux caractérisée par des marqueurs SNPs « ponts » avec les populations d'analyse de liaison étudiées précédemment ou dans le stage.

La démarche de mon stage de fin d'études a été : (i) de réaliser une analyse QTL dans la population de BAv Eden x E11 issue du croisement entre la variété de pois de printemps sensible Eden et la nouvelle source de résistance E11, à partir de données phénotypiques et génotypiques disponibles ou générées dans le cadre du stage, (ii) de revisiter l'analyse GWAS précédemment effectuée dans la collection Aphanomyces (Desgroux et al., 2016), en intégrant des données de génotypage supplémentaires obtenues à l'aide de marqueurs SNP communs à ceux utilisés pour le génotypage de la population de BAv et (iii) de comparer les QTL et haplotypes de résistance identifiés au cours du stage dans la population de BAv, dans la collection Aphanomyces et lors des études précédentes sur populations de RILs, elles-mêmes re-génotypées récemment avec des marqueurs SNPs communs.

Matériels et méthodes

I. Sources de résistance et matériel végétal

Une population de 179 lignées BC2S6, obtenue en 2014, a été développée par BAv à partir du croisement Eden x E11 pour la détection par analyse de liaison génétique et l'introduction simultanée de QTL issus de la nouvelle source de résistance à *A. euteiches*, E11 (Figure 14). E11, est une accession sauvage provenant d'Egypte ayant montré de moindres pertes de système racinaire et de rendement en conditions d'infection par l'agent pathogène, comparée à plusieurs lignées sensibles ou partiellement résistantes (Desgroux, 2016). Eden, sélectionné comme parent sensible à *A. euteiches*, est une variété élite de pois de printemps inscrite au catalogue français par l'obteneur Nickerson en 2004 (Lavaud, 2015). Pour les expériences au champ, le génotype de pois de printemps Solara, sensible à *A. euteiches*, a été utilisé comme

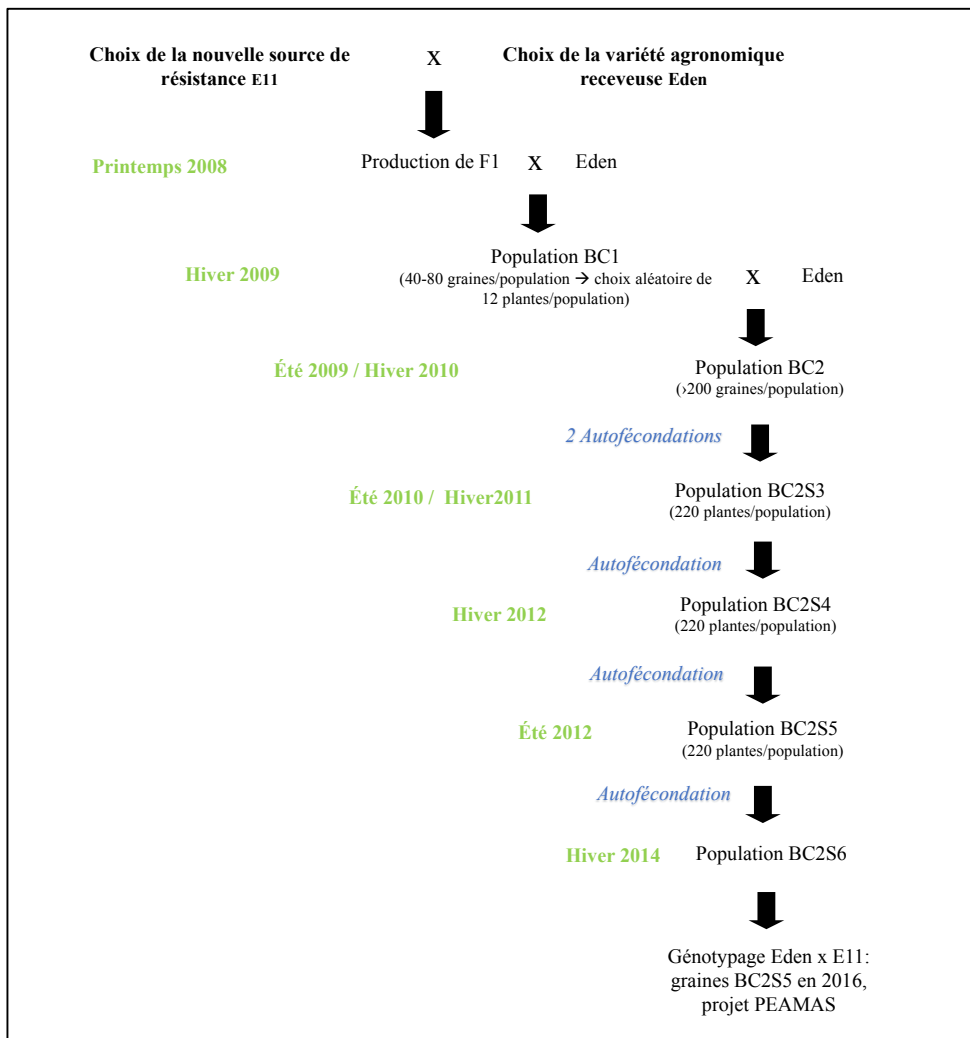


Figure 14 : Schéma de sélection de la population de BAv Eden x E11

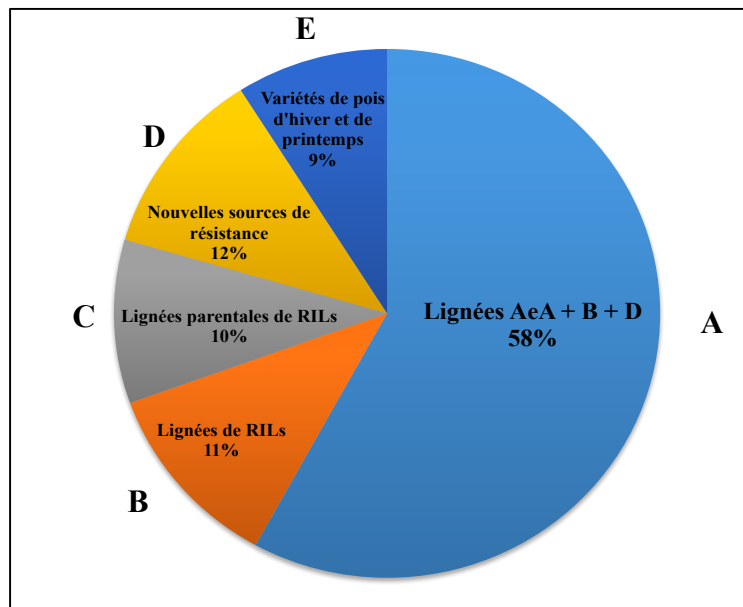


Figure 15 : Composition de la collection Aphanomyces de 175 lignées de pois. La collection compte : **A.** cent une lignées partiellement résistantes ou sensibles à *A. euteiches*, nommées AeA95, AeB97 et AeD99, provenant du programme de sélection récurrente phénotypique mené par le GSP, **B.** vingt RILs issues des croisements biparentaux menés conjointement entre l'INRA et l'USDA, sélectionnées pour leur résistance à *A. euteiches* ainsi que pour leurs traits morphologiques et de développement. Ces RILs incluent, (i) 4 lignées issues du croisement Baccara x PI180693, (ii) 8 lignées issues du croisement Baccara x 552 et (iii) 8 lignées issues du croisement DSP x 90-2131, **C.** dix-huit lignées parentales des populations de RILs et/ou du programme GSP de sélection récurrente pour la résistance à *A. euteiches*, **D.** vingt lignées représentant de nouvelles sources de résistance à *A. euteiches* issues du programme de criblage phénotypique mené par l'INRA de 2002 à 2008, **E.** seize variétés de pois de printemps ou d'hiver cultivées actuellement ou ayant été cultivées. Source : adaptée de Desgroux et al., (2016).

témoin adjacent afin de contrôler l'hétérogénéité du potentiel infectieux du sol au sein des parcelles expérimentales.

L'analyse d'association conduite dans [Desgroux et al. \(2016\)](#) a été remise à jour, à partir des données obtenues sur le panel de 175 lignées de la collection de pois *Aphanomyces* (Figure 15 ; Annexe VII). La collection inclut des lignées de pois protéagineux ou potager de type hiver ou printemps, présentant une variabilité pour la résistance/sensibilité à *A. euteiches* et pour des caractères morphologiques divers (type de graine, architecture foliaire et florale).

II. Dispositif de phénotypage pour la résistance et données de géotypage

a) Dispositifs expérimentaux au champ et variables évaluées

La population de BAv Eden x E11 a été évaluée pour la résistance à *A. euteiches* sur 2 sites expérimentaux infestés par la maladie en France (Riec-sur-Belon noté Riec, Finistère ; Dijon-Epoisses noté Dijon, Côte d'Or), en 2019. Au sein de chaque lieu, chaque lignée BAv et parentale a été expérimentée au sein d'un dispositif de type pépinière (doubles-lignes de 2 mètres de long) à 3 répétitions complètes randomisées. Des témoins adjacents du géotype Solara sensible ont été implantés toutes les 4 doubles-lignes (Figures 16.A, B).

Au total, trois critères de notations ont été utilisés pour évaluer la résistance des lignées à *A. euteiches* :

1. L'indice de dépérissement aérien pondéré (ADI_w pour Aerial Decline Index_{weighted}), noté à Riec et Dijon en 2019, qui consiste (i) à estimer la chlorose aérienne globale (notée ADI) sur l'ensemble des plantes d'une double-ligne, selon une échelle de 1 à 8 (Figure 16.C), à intervalle de 10 à 15 jours à partir du stade de floraison et (ii) à pondérer la valeur ADI obtenue pour chaque lignée par celles du témoin Solara sur les parcelles adjacentes, selon la formule détaillée dans [Hamon et al. \(2011\)](#).
2. L'indice de nécrose racinaire pondéré (RRI_w pour Root Rot Index_{weighted}), noté à Riec en 2019 qui consiste à (i) estimer l'indice de nécrose racinaire (noté RRI) moyen de 10 plantes par double-ligne, selon une échelle de notation allant de 0 à 5 ([Moussart et al., 2001](#) ; Figure 16.D), puis (ii) pondérer la valeur RRI obtenue de la même manière que pour les valeurs ADI.
3. La date de floraison totale (FLO2 pour Flowering Time 100%), notée à Dijon en 2019, qui consiste à effectuer la somme du nombre de jours entre le premier jour de l'année et la date de floraison de la totalité des plantes sur une double-ligne.

L'évaluation au champ de la collection *Aphanomyces* pour la résistance à *A. euteiches* est détaillée dans [Desgroux et al. \(2016\)](#). Le phénotypage des lignées a été effectué (i) en France dans un total de 8 environnements en pépinières infestées (4 années de 2010-2013 ; 2 sites, Riec et Dijon) et 2 environnements en pépinières saines (2 années 2010 et 2012, site Le Rheu, Ille-et-Vilaine) et (ii) aux Etats-Unis en 2012, au sein d'une parcelle expérimentale située à Kendrick dans l'Idaho. Les dispositifs expérimentaux ont été similaires à ceux présentés précédemment. Additionnement aux critères RRI_w , ADI_w et FLO2, les critères de notation correspondant à (i) la date de demi-floraison (notée FLO1 pour Flowering Time 50%), (ii) la date de maturité totale (notée RIPE pour Ripening) et (iii) la hauteur moyenne (notée HT pour Height), ont été évalués en pépinières saines.

b) Test de criblage en conditions contrôlées

La population de BAv Eden x E11 a été évaluée en chambre climatique pour la résistance aux souches Ae109 (origine américaine ; pathotype III) en 2016 et RB84 (origine française ;

pathotype I) en 2019. Pour chaque souche, l'ensemble des lignées et parents a été évalué au sein d'un unique test, de quatre blocs complets randomisés (à 25 +/- 2 °C pendant 16 h la journée ; 23 +/- 2°C pendant 8 h la nuit ; Figure 17.A). Au sein de chaque bloc et pour chaque lignée, cinq graines ont été semées dans 1 godet rempli de vermiculite et réparti dans des soucoupes (4 godets/soucoupe). Les soucoupes ont été randomisées au sein de chaque bloc (Figure 17.B), puis, remplies d'eau de manière à humidifier et saturer la vermiculite. Sept jours après le semis, chaque plante a été inoculée avec 5 ml d'une suspension concentrée à 200 spores/ml, obtenue à partir d'une culture pure de la souche française ou américaine, comme détaillé dans [Moussart et al. \(2001\)](#). Les soucoupes ont été remplies d'eau après inoculation. Sept jours après l'inoculation, chaque plante a été extraite de la vermiculite et le RRI noté selon l'échelle présentée précédemment (Figure 16.D, Figure 17.C).

La collection *Aphanomyces* a été évaluée en chambre climatique, de la même manière que précité, pour la résistance aux souches Ae109 et RB84 en 2009 ainsi que pour la résistance à la souche RB84 en 2013, comme détaillé dans [Desgroux et al. \(2016\)](#).

c) Exploitation des données de génotypage

L'ensemble des données de génotypage a été filtré à l'aide de fonctions générées personnellement sur le logiciel R version 3.6.3 ([R Core Team, 2020](#)).

Le génotypage de la population de BAv Eden x E11 a été effectué en 2016, sur des graines BC2S5, avec un total de 1 850 marqueurs SNP issus du projet PEAMAS ^[1], répartis sur l'ensemble des 7 groupes de liaison du pois. Ces 1 850 marqueurs ont inclus 1 093 SNPs polymorphes dans la population, dont (i) 784 SNPs nommés Ps1 ([Boutet et al., 2016](#)), (ii) 263 SNPs nommés PsCam ([Tayeh et al., 2015a](#)), (iii) 43 SNPs nommés Ps0/Ps9 ([Duarte et al., 2014](#)) et (iv) 3 autres SNPs dans des gènes de facteurs antitrypsiques. Trois traits morphologiques contrôlés par des gènes majeurs ségrégant au sein de la population de BAv ont été notés au champ (Riec, Dijon) et en serre, afin de vérifier l'homogénéité génétique de chaque lignée. Les gènes ont été : « *af* » pour la morphologie foliaire (afila ou feuillu), « *col* » pour la production d'anthocyane (feuille colorée ou blanche) et « *leaf* » pour l'architecture foliaire (foliole ou vrille).

Au total, 993 marqueurs et 160 individus ont été retenus pour l'analyse de liaison génétique après application des filtres suivants : suppression des SNPs avec DM = 100% ou taux d'hétérozygotie > 15% ; suppression des individus avec DM > 15% ou taux d'hétérozygotie > 15% ou non fixés à l'état homozygote pour les 3 critères morphologiques *af*, *col* et *leaf*.

La cartographie génétique des 993 marqueurs SNP a été réalisée avec le logiciel CarthaGène ([De Givry et al., 2005](#)) (i) en constituant les groupes de marqueurs avec la commande « sem » afin d'estimer le maximum de vraisemblance des taux de recombinaison entre l'ensemble des 993 marqueurs du jeu de données, puis (ii) en ordonnant les marqueurs dans chaque groupe de liaison avec la commande « annealing 100 100 0,1 0,9 ». La fonction de distance Kosambi a été utilisée afin de calculer la distance en cM entre marqueurs. Enfin, le logiciel MapChart 2.1 a été utilisé pour représenter la carte génétique ([Voorrips, 2002](#)).

Le jeu de données de génotypage de la collection *Aphanomyces* utilisé pour l'analyse GWAS dans [Desgroux et al. \(2016\)](#), obtenu à partir de 12 067 marqueurs SNP « PsCam » (Illumina Infinium® BeadChip, [Tayeh et al., 2015a](#)), a été enrichi dans cette étude avec 1850 SNPs « Ps9 ou Ps0 ou Ps1 » (KASPar, [Duarte et al., 2014](#) ; [Boutet et al., 2016](#)) dont 440 SNPs communs à des « PsCam » précédemment utilisés pour le génotypage de la collection. Au final, 10 824 SNPs et 172 individus ont été retenus pour l'analyse GWAS, après applications des filtres suivants : SNP avec MAF < 5% ou DM > 10% ; individu avec taux d'hétérozygotie > 15% et

[1] Projet PEAMAS (2016 -2018) : SNP Multi-Stress & Qualité pour la sélection du pois

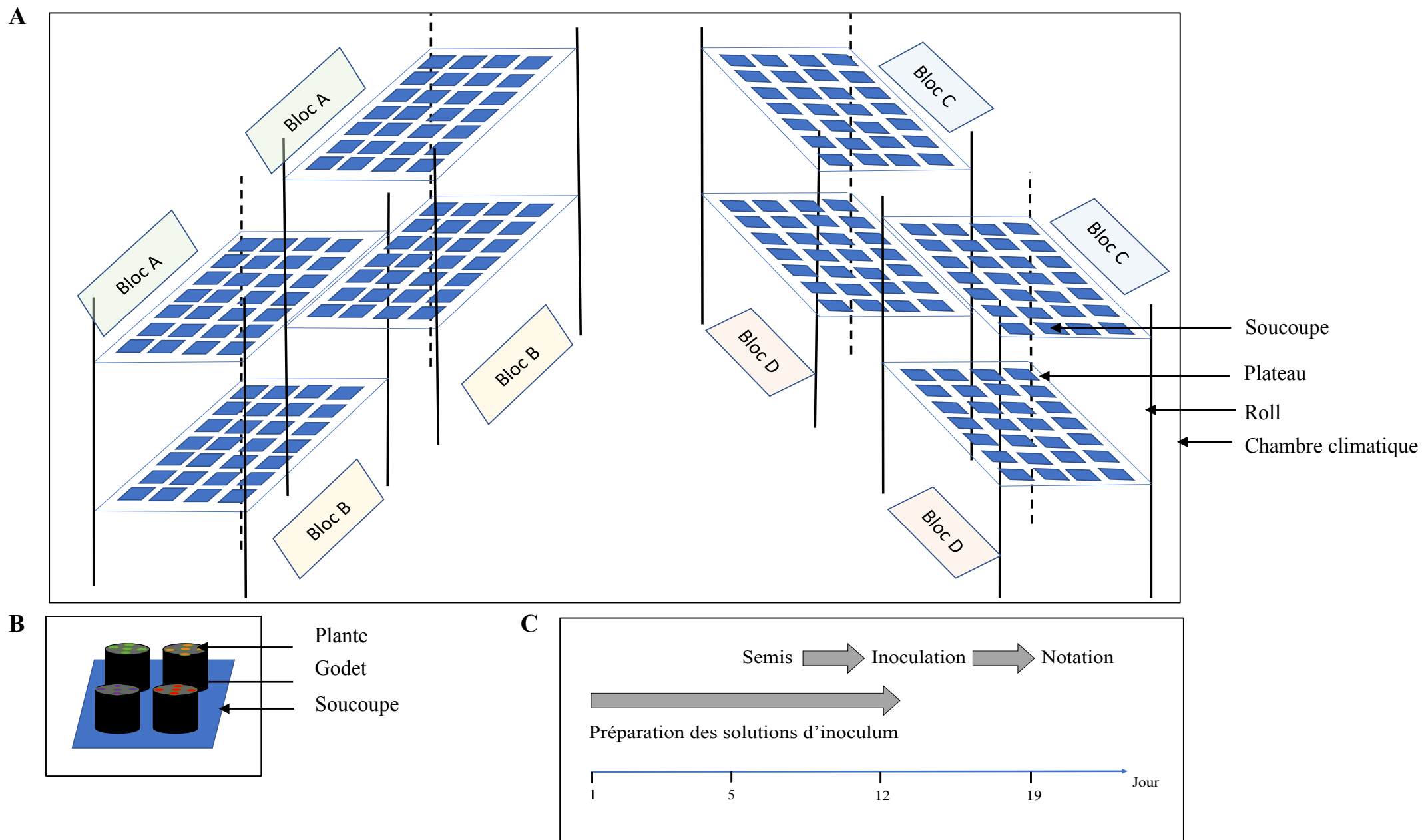


Figure 17 : Schéma du dispositif utilisé en chambre climatique pour les tests d'évaluation de l'indice de nécrose racinaire (noté RRI) de la population de BAV EdenxE11. **A.** Schéma de la chambre climatique. La chambre est composée de 4 rolls contenant chacun 2 plateaux. La capacité maximum d'un plateau est de 28 soucoupes. Pour un même bloc, les soucoupes sont positionnées à la même hauteur et de manière aléatoire. **B.** Schéma d'une soucoupe contenant dans chacun de ses 4 godets, 5 plantes d'une même lignée. **C.** Chronologie des différentes étapes du test de notation de l'indice de nécrose racinaire (noté RRI) en conditions contrôlées. Source : adaptée de [Moussart et al., \(2001\)](#).

DM > 10%.

Les données manquantes, représentant 0,94% du jeu de données de génotypage, ont été imputées avec le logiciel Beagle 5.1 (Browning et Browning, 2007). Les positions génétiques de chaque marqueur ont été converties de façon arbitraire en positions physiques avec un ratio de 1 cM pour 10^6 pb. Puis, les commandes de fenêtre glissante, de superposition et d'itération ont été fixées à 15pb, 5pb et 15, respectivement.

III. Analyses génétiques et statistiques des données

Les abréviations des différentes variables de phénotypage obtenues dans la population de BAV et la collection *Aphanomyces* de Desgroux et al. (2016), sont décrites dans le Tableau 2. L'ensemble des analyses génétiques et statistiques des données de la population de BAV Eden x E11 a été effectué avec le logiciel R version 3.6.3 (R Core Team, 2020).

a) Analyse statistique des données phénotypiques

Les analyses statistiques des données phénotypiques obtenues sur la population de BAV Eden x E11 ont été réalisées (i) pour les variables quantitatives « Champ » RRI_w, ADI_w FLO2, avec un modèle linéaire mixte généralisé (ou GLMM, Generalized Linear Mixed Model ; fonction « lmer » ; package « lme4 » ; Bates et al., 2015), incluant le génotype (G) en facteur fixe et les blocs notateur et gradient (N et Gr, respectivement) en facteurs aléatoires et (ii) pour les variables qualitatives ordinales « Conditions contrôlées » RRI, avec un modèle linéaire cumulatif mixte (ou CLMM, Cumulative Link Mixed Model ; fonction « clmm » ; package « ordinal » ; Christensen, 2019), incluant G en facteur fixe, les facteurs bloc (B) et GxB en aléatoires. Les données manquantes pour la variable RRI, dues à un défaut de levée important en chambre climatique (taux de levée compris entre 81% et 93%), ont été imputées (fonction « amelia » ; package « Amelia » ; Honaker et al., 2011) afin d'améliorer l'efficacité du modèle CLMM. L'héritabilité dans le dispositif de test des différentes variables à expliquer a été calculée avec un modèle linéaire général (ou GLM, Generalized Linear Model) en incluant la variable qualitative génotype (G) seule en effet fixe (fonction « lm »), selon la formule suivante (Annexe I) : $h_L^2 = h_{LS}^2 = 1 - \frac{1}{F}$, où F est la valeur du test de Fisher de l'analyse de variance du modèle (fonction « Anova » ; package « car » ; Fox et Weisberg, 2019).

L'hypothèse de normalité des résidus des différents modèles GL(M)M a été vérifiée graphiquement en traçant l'histogramme ainsi que le graphique quantile-quantile des résidus et l'adéquation aux données des différents modèles CLMM a été mesurée avec la matrice de conditionnement hessienne (modèle adéquat pour cond.H < 10^5).

Pour chaque variable, les moyennes ajustées des génotypes, issues des modèles GLMM et CLMM, ont été comparées par un test de Tukey ($\alpha=5\%$; fonction « emmeans » et « CLD » ; package « emmeans » ; Lenth, 2020). Le coefficient de corrélation linéaire de Pearson a été calculé entre les moyennes ajustées de chaque paire de variable (fonction « rcorr » ; package « Hmisc » ; Harrell et al., 2020). Enfin, une classification hiérarchique de Ward des variables a été effectuée et le corrélogramme des coefficients de corrélation a été représenté (fonction et package « corrplot » ; Wei et Simko, 2017).

Les résultats statistiques des données de phénotypage de la collection *Aphanomyces* ont été repris de Desgroux et al. (2016). Des modèles GLM, incluant le génotype (G), la répétition (R), l'environnement (E) et les interactions GxE comme facteurs à effets fixes, avaient été utilisés pour expliquer la variation observée pour les différentes variables.

Tableau 2 : Détail des abréviations des variables phénotypiques utilisées afin d'évaluer la population de BAv Eden x E11 et la collection de pois Aphanomyces.

Matériel végétal	Environnement	Variable ^(a)	Abréviation ^(b)
<u>Population BAv Eden x E11</u>			
	Champs	RRI _w	EE_Field_RRI_19_RI
		ADI1 _w	EE_Field_ADI1_19_RI
		ADI2 _w	EE_Field_ADI2_19_RI
		ADI1 _w	EE_Field_ADI1_19_DI
		ADI2 _w	EE_Field_ADI2_19_DI
		ADI3 _w	EE_Field_ADI3_19_DI
		FLO2	EE_Field_FLO2_19_DI
	Conditions contrôlées	RRI	EE_CC_RRI_19_RB84
		RRI	EE_CC_RRI_16_Ae109
<u>Collection Aphanomyces</u>			
	Champs	RRI _w	PAC_Field_RRI_All
		RRI _w	PAC_Field_RRI_10_RI
		RRI _w	PAC_Field_RRI_11_RI
		RRI _w	PAC_Field_RRI_12_RI
		RRI _w	PAC_Field_RRI_13_RI
		RRI _w	PAC_Field_RRI_10_DI
		RRI _w	PAC_Field_RRI_11_DI
		RRI _w	PAC_Field_RRI_12_DI
		RRI _w	PAC_Field_RRI_13_DI
		ADI _w	PAC_Field_ADI1_All
		ADI1 _w	PAC_Field_ADI1_10_RI
		ADI1 _w	PAC_Field_ADI1_11_RI
		ADI1 _w	PAC_Field_ADI1_12_RI
		ADI1 _w	PAC_Field_ADI1_13_RI
		ADI1 _w	PAC_Field_ADI1_10_DI
		ADI1 _w	PAC_Field_ADI1_11_DI
		ADI1 _w	PAC_Field_ADI1_12_DI
		ADI1 _w	PAC_Field_ADI1_13_DI
		ADI1 _w	PAC_Field_ADI1_12_KE
		ADI2 _w	PAC_Field_ADI2_All
		ADI2 _w	PAC_Field_ADI2_10_RI
		ADI2 _w	PAC_Field_ADI2_11_RI
		ADI2 _w	PAC_Field_ADI2_12_RI
		ADI2 _w	PAC_Field_ADI2_13_RI
		ADI2 _w	PAC_Field_ADI2_10_DI
		ADI2 _w	PAC_Field_ADI2_12_DI
		ADI2 _w	PAC_Field_ADI2_13_DI
		ADI2 _w	PAC_Field_ADI2_12_KE
		FLO1	PAC_FLO1_10_REN
		FLO1	PAC_FLO1_12_REN
		FLO2	PAC_FLO2_10_REN
		FLO2	PAC_FLO2_12_REN
		RIPE	PAC_RIPE_10_REN
		RIPE	PAC_RIPE_12_REN
		HT	PAC_HT_10_REN
		HT	PAC_HT_12_REN
	Conditions contrôlées	RRI	PAC_CC_RRI_09_RB84
		RRI	PAC_CC_RRI_13_RB84
		RRI	PAC_CC_RRI_09_Ae109

^(a) **ADIK_w** : Indice de dépérissement aérien pondéré mesuré lors de l'intervalle de jour K ; **FLO1** et **FLO2** : Date de demi-floraison et de floraison complète, respectivement ; **HT** : Hauteur ; **RIPE** : Date de maturité totale ; **RRI_w** et **RRI** : Indice de nécrose racinaire pondéré et non pondéré, respectivement. ^(b) **CC** : Variable acquise en conditions contrôlées ; **EE** : Population Eden x E11 ; **DI** : Dijon ; **Field** : Variable acquise au champ ; **KEN** : Kendrick ; **PAC** : Collection de pois Aphanomyces ; **REN** : Rennes, **RI** : Riec. Les nombres entre tirets correspondent aux années d'expérimentations, e.g. 09 pour 2009.

b) Détection de QTL par analyse de liaison et d'association

La cartographie génétique de QTL dans la population de BAv Eden x E11 a été effectuée avec le package R « qtl » (Broman et al., 2003). Préalablement à l'analyse, les éventuelles erreurs de génotypage ont été corrigées, après 100 simulations et en suivant une fenêtre de 1 cM (fonction « sim.gen0 » ; $\alpha = 0,01$). Une première analyse de cartographie d'intervalles simple (ou SIM, Simple Interval Mapping) a été effectuée afin d'estimer approximativement le nombre de QTL impliqué dans le contrôle du caractère d'intérêt étudié et une valeur de LOD seuil a été calculée pour chaque variable en réalisant 1 000 permutations (fonction « scanone » ; $\alpha = 0.05$). Puis, une analyse de cartographie d'intervalles composite (ou CIM, Composite Interval Mapping ; fonction « cim ») a été effectuée avec une fenêtre de 5 cM, en sélectionnant comme cofacteurs les QTL significatifs ($\alpha = 10\%$) dans un modèle de régression forward, en considérant une fenêtre d'intervalle de 5 cM et un LOD seuil estimé pour chaque variable à l'aide d'un test de permutations ($n = 1000$; fonction « scanone » ; $\alpha = 5\%$). La part de variance phénotypique expliquée par chaque QTL (R^2) a été estimée dans un modèle linéaire avec vérification de la normalité des résidus (fonction « fitqtl » ; $p\text{-value} < 0,05$). L'intervalle de confiance des QTL a été calculé par la méthode de décroissance du LOD, avec un seuil de 1 (fonction « lodint ») et les effets alléliques aux QTL ont été estimés (fonction « effectplot »).

L'analyse GWAS a été effectuée dans la collection Aphanomyces, selon différentes étapes : Premièrement, l'analyse du DL (r^2) entre paires de marqueurs au sein des différents groupes de liaison a été effectuée avec le logiciel Plink 1.9 (Chang et al., 2015) et la décroissance du DL a été représentée pour chaque groupe de liaison en fonction de la distance génétique (cM) (Desgroux et al., 2016).

Puis, à partir des données de génotypage imputées, une matrice d'apparentement a été calculée avec l'algorithme d'Astle et Balding (2009) selon la méthode de Rincent et al. (2014). Cette méthode utilise, pour le calcul de l'apparentement, des marqueurs situés sur des chromosomes différents du chromosome testé, afin d'éviter l'effet « confondant » d'utiliser les mêmes marqueurs dans l'estimation des variances d'apparentement et d'association marqueurs-phénotype dans un modèle de GWAS. Une matrice de structuration a été également calculée avec le logiciel Admixture 1.3 (Alexander et al., 2009), en testant un nombre de sous-population (k) compris entre 1 et 30 et en effectuant 15 validations croisées afin de définir la valeur de k la plus probable. L'apparentement et la structuration de la population ont été représentées graphiquement avec le package R « GAPIT » (Lipka et al., 2012) par une classification hiérarchique de Ward des lignées, et avec le package R « pophelper » (Francis, 2017), respectivement.

Enfin, un modèle mixte multi-locus (ou MLM, Multi-Locus Mixed-Model) a été utilisé avec le script R « mlmm_cof.r »^[1], implémenté par Segura et al. (2012), afin d'effectuer l'analyse GWAS. Le script initial « mlmm_cof.r » a été modifié, comme précisé dans Desgroux et al. (2016), afin de définir un seuil de significativité de détection corrigé par ajustement multiple de Bonferroni : $m\text{Bonf} = -\log\left(\frac{\alpha}{m}\right)$, avec $\alpha = 0,1$, le seuil de risque d'erreur de test et $m = 2738$, le nombre de marqueurs non redondants, pour une même position génétique, parmi les 10 824 SNPs étudiés. Le seuil $m\text{Bonf}$ a ainsi été ajusté à 4,44, ceci correspondant à une $p\text{-value}$ limite d'environ $3,6 \cdot 10^{-5}$. Les moyennes ajustées issues de Desgroux et al. (2016) ont été utilisées comme variables à expliquer et les matrices de structuration et d'apparentement, présentées précédemment, ainsi que les marqueurs SNP détectés comme les plus significatifs par régression multiple, ont été utilisés comme cofacteurs dans l'analyse. Un modèle de régression forward-backward a été appliqué pour identifier et ajouter à chaque étape de régression (nombre max=5) les marqueurs les plus significatifs en cofacteurs dans l'analyse

[1] Segura, V. Multi-Locus Mixed-Model (MLMM) script. 2013. [En ligne] Disponible sur : <https://sites.google.com/site/vincentosegura/mlmm> (consultée le 08/05/2020).

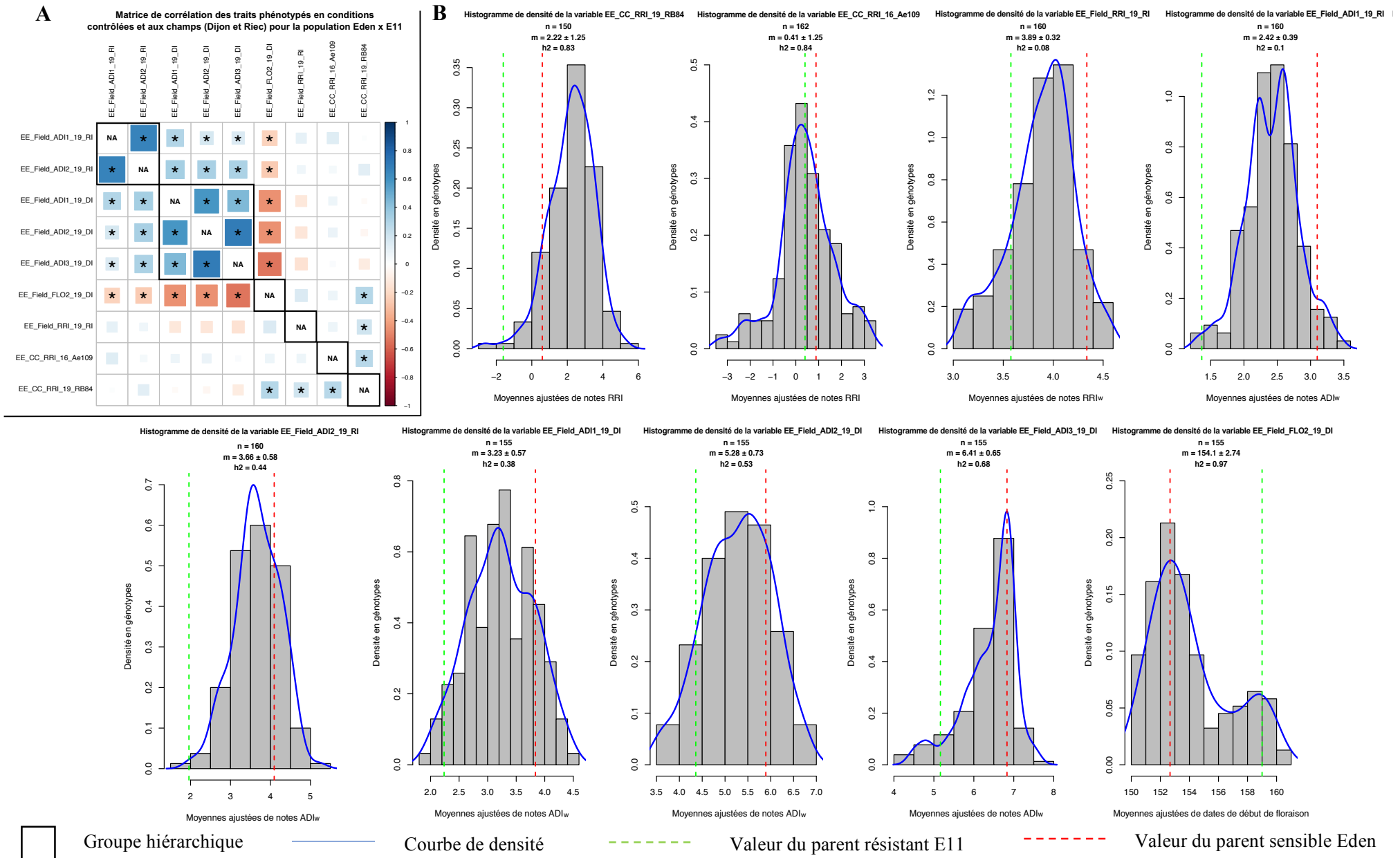


Figure 18 : Résultats de l'analyse statistique des variables phénotypiques de la population de BAv Eden x E11. **A**. Matrice de corrélation et classification ascendante hiérarchique de Ward des différentes variables. Une couleur rouge foncé ou bleu foncé signifie, respectivement, que la corrélation est positive ou négative. Une étoile signifie que la corrélation est significative au seuil d'erreur $\alpha=5\%$. Les variables hiérarchisées au sein d'un même groupe sont regroupées au sein d'un même rectangle. **B**. Histogramme de densité des moyennes ajustées « emmeans » pour les différentes variables de phénotypage de la population de BAv Eden x E11 (n = nombre d'individus ; m = moyenne de la distribution ; h^2 = héritabilité du trait phénotypique).

GWAS. Lors de l'étape finale de régression, les effets alléliques et les p-values des marqueurs significatifs, ainsi que les partitions de variance, sont obtenus. Chaque modèle final est préalablement validé graphiquement en étudiant la cohérence, au sein des graphiques quantile-quantile, entre les valeurs observées et attendues des p-values sous l'hypothèse H_0 d'absence d'une association entre le SNP et caractère étudié.

c) Analyse d'haplotypes aux QTL identifiés par analyse de liaison et d'association

Une analyse comparative de l'ensemble des QTL de résistance à *A. euteiches* identifiés a été réalisée en représentant tous les QTL sur la carte génétique de référence de [Tayeh et al. \(2015a\)](#) enrichie avec 1 850 SNPs ponts issus du projet PEAMAS, à l'aide du logiciel MapChart 2.1. Les QTL représentés ont inclus les QTL de résistance à *A. euteiches* et de traits de développement identifiés (i) dans cette étude, suite à l'analyse GWAS de [Desgroux et al. \(2016\)](#) remise à jour dans la collection Aphanomyces de pois, (ii) dans cette étude, suite à l'analyse de liaison effectuée pour la première fois dans la population de BAV Eden x E11 et (iii) précédemment, suite à une analyse QTL remise à jour sur des cartes génétiques enrichies en marqueurs SNP à partir des populations de RILs Puget x 90–2079, Baccara x PI180693, Baccara x 552 et DSP x 90–2131 ([Hamon et al., 2013](#)), dans le cadre du projet PEAMAS ([Boutet et al., 2019](#), communication personnelle).

Cette analyse comparative a permis de sélectionner des régions du génome « consistantes », dans lesquelles conduire une analyse du DL local à partir des données de génotypage de la collection Aphanomyces, afin de définir des blocs haplotypiques et identifier des haplotypes au sein de ces blocs. Pour chaque type de caractère (résistance ou développement), les régions du génome « consistantes » ont été sélectionnées comme (i) celles détectées en GWAS pour au moins deux variables, ou bien (ii) celles détectées pour au moins une variable, à la fois en GWAS et en analyse de liaison sur les populations de BAV ou RILs. Des blocs haplotypiques ont été construits avec le logiciel Plink 1.9 ($r^2 > 0,7$), dans ces régions « consistantes » à partir des marqueurs SNPs significatifs identifiés en GWAS. Pour chaque bloc haplotypique, des haplotypes de marqueurs ont été recherchés au sein de la collection Aphanomyces. Pour chaque variable, les moyennes des valeurs phénotypiques des haplotypes comptant au moins 9 lignées, *i.e.* représentant au moins 5% des 172 lignées étudiées de la collection, ont été comparées entre elles par un test de Tuckey ($\alpha=5\%$; fonction R « CLD »). Les haplotypes montrant les moyennes phénotypiques significativement les plus et moins élevées comparées aux autres haplotypes ont été considérés comme favorables (nommés « a ») et défavorables (nommés « b ou c »), respectivement.

Sur l'ensemble des blocs haplotypiques, les haplotypes favorables de résistance ont été dénombrés pour chaque lignée comportant au moins 90% d'haplotypes « a » et/ou « b ou c ». Puis, les lignées ont été classées dans 3 groupes correspondant (i) au premier quartile, (ii) à l'écart interquartile, et (iii) au troisième quartile, des valeurs des variables synthétiques PAC_Field_ADI1_All, PAC_Field_ADI2_All, PAC_Field_RRI_All, PAC_CC_RRI_13_RB84 et PAC_CC_RRI_09_Ae109. Enfin, un test de Tuckey ($\alpha=5\%$) a été effectué afin de comparer le nombre moyen d'haplotypes favorables entre les trois groupes de lignées pour chaque variable synthétique.

Résultats

I. Diversité des QTL identifiés au sein de la population de BAV Eden x E11

a) Analyses statistiques des variables phénotypiques

Pour les 6 variables de résistance et la variable de floraison phénotypées au champ, l'analyse

Tableau 3 : Synthèse des QTL de résistance à *A. euteiches* et de floraison identifiés au sein de la population de BAv Eden x E11, à partir de différentes variables de phénotypage au champ et en conditions contrôlées.

Groupe de liaison (a)	Variable de phénotypage (b)	Position (cM) (c)	Intervalle de confiance (cM) (d)	Marqueur au pic ou marqueurs flanquants (e)	LOD seuil calculé (f)	LOD calculé (g)	R ² (%) (h)	Effet d'additivité (i)	Effet d'épistasie (j)	Allèle favorable (k)
I	EE_Field_FLO2_19_DI	28	25,2 - 31,4	PsCam036351_21495_1108	2,66	2,96	2,9	-0,38	I@28.0:II@60.0 avec R ² =1,3	E11
II	EE_Field_ADI2_19_DI	50,6	49,3 - 56	Ps132306	2,52	10,79	16,7	-0,43	-	E11
	EE_Field_ADI3_19_DI	54	50,6 - 56	Ps103820 - Ps150561	2,83	15,64	25,4	-0,44	-	E11
	EE_Field_ADI1_19_DI	56	52,1 - 57,3	Ps150561	2,83	10,19	26,4	-0,35	-	E11
	EE_Field_FLO2_19_DI	60	59,3 - 60,6	Ps122708 - Ps000212	2,66	43,49	66,7	2,65	I@28.0:II@60.0 avec R ² =1,3	EDEN
	EE_CC_RRI_19_RB84	60,6	58 - 62,5	Ps000212	2,76	3,04	5,5	0,56	-	EDEN
III	EE_Field_ADI2_19_DI	21,5	20,2 - 24,8	Ps129683	2,52	3,53	5,3	-0,46	-	E11
	EE_Field_ADI3_19_DI	22	21,5 - 24,8	Ps117934 - Ps130008	2,83	15,69	20,3	-0,75	-	E11
	EE_Field_FLO2_19_DI	22	20,9 - 24,8	Ps117934 - Ps130008	2,66	7,58	6,1	1,54	-	EDEN
	EE_Field_FLO2_19_DI	121,7	119,7 - 123,8	Ps142055	2,66	2,99	2,7	0,86	-	EDEN
	EE_Field_ADI2_19_DI	122,6	121,7 - 123,8	Ps120567	2,52	5,6	7,6	-0,5	-	E11
	EE_Field_ADI3_19_DI	123,2	121,7 - 123,8	Ps121916	2,83	6,32	8,7	-0,45	-	E11
IV	EE_Field_ADI2_19_DI	113,7	111,2 - 123	Ps108273	2,52	4,32	5,9	0,49	-	EDEN
VII	EE_Field_FLO2_19_DI	24	19,4 - 27,6	Ps159890 - Ps133597	2,66	5,62	1,9	1,27	-	EDEN
	EE_Field_ADI2_19_DI	71	68,9 - 74	Ps157116 - PsCam000487_426_1043	2,52	6,17	8,6	-0,36	-	E11
	EE_Field_ADI3_19_DI	71	68,3 - 71,9	Ps157116 - PsCam000487_426_1043	2,83	6,31	8,8	-0,3	-	E11
	EE_Field_FLO2_19_DI	71,9	68,9 - 74,8	PsCam000487_426_1043	2,66	3,03	3,6	0,76	-	EDEN
	EE_CC_RRI_19_RB84	106	105,4 - 109	Ps163489 - Ps102541	2,76	14,21	30,9	-0,99	-	E11
	EE_CC_RRI_16_Ae109	112	109 - 113,8	Ps110867	2,68	3,86	10,5	-0,56	-	E11
	EE_Field_RRI_19_RI	116,7	113,8 - 121,4	Ps133018	2,58	3,28	9,1	-0,13	-	E11

(a) Groupe de liaison d'appartenance du QTL ; (b) Variable de phénotypage associée au QTL ; (c) Position en cM Haldane du LOD maximal calculé, situé dans la région du QTL ; (d) Intervalle de confiance en cM Haldane de la position du QTL ; (e) Marqueur situé à la position exacte du LOD maximal calculé ou marqueurs flanquants à cette position ; (f) LOD seuil calculé ($\alpha = 0.1$) après 1 000 permutations ; (g) LOD calculé au QTL par analyse de cartographie d'intervalles composite ; (h) Pourcentage de variance phénotypique expliquée par le QTL ; (i) Effet d'additivité au QTL : des valeurs positives et négatives correspondent à la présence d'un allèle favorable issu du parent sensible Eden et du parent résistant E11, respectivement ; (j) Effet d'interaction identifié entre QTL ; (k) Parent d'origine de l'allèle favorable identifié au QTL.

de variance a montré un effet significatif (p -value $< 0,01$) pour au moins un des facteurs blocs (Gr ou N) et un effet très significatif pour le facteur génotype (p -value $< \text{ou} = 0,001$) (Annexe II). Les valeurs d'héritabilité calculées varient (i) de 0,08 à 0,44 pour les variables RRI_w ou ADI_w mesurées à Riec, et (ii) de 0,38 à 0,68 pour les variables ADI_w mesurées à Dijon (Figure 18.B). Une valeur d'héritabilité élevée ($h^2 = 0,97$) a été estimée pour la variable FLO2.

Pour la variable RRI mesurée en fonction de la souche Ae109 ou RB84, l'analyse de variance a montré un effet significatif du facteur bloc (p -value $< 0,05$) ainsi que de l'interaction GxB (p -value $< 0,001$), et un effet hautement significatif du facteur génotype (p -value $< 0,001$) (Annexe II). Les valeurs d'héritabilité des variables RRI calculées sont de 0,83 et 0,84, respectivement, pour les souches RB84 et Ae109 (Figure 18.B).

Des variations continues des distributions de densité des moyennes ajustées ont été observées pour toutes les variables, sauf pour la variable FLO2 ayant montré une variation discontinue. Ceci suggère un déterminisme génétique plutôt de type quantitatif pour toutes les variables, sauf pour FLO2 dont le déterminisme serait davantage qualitatif. Des lignées transgressives, *i.e.* plus résistantes ou sensibles que les parents de la population E11 et Eden, ont été identifiées pour l'ensemble des caractères quantitatifs étudiés (Figure 18.B).

Les moyennes ajustées pour l'ensemble des variables ADI_w évaluées au champ (i) ont été significativement (p -value $< 0,05$) ainsi que positivement corrélées ($0,16 < r < 0,69$) entre elles et (ii) significativement et négativement corrélées avec les valeurs de la variable FLO2 ($-0,53 < r < -0,23$). Les valeurs des variables RRI évaluées en conditions contrôlées pour les souches Ae109 et RB84 (i) ont été significativement ainsi que positivement corrélées entre elles ($r = 0,27$) et (ii) corrélées positivement à celles de la variable RRI_w mesurée au champ à Riec ($r = 0,27$ et $0,07$, respectivement). Aucune corrélation significative n'a été observée entre les valeurs des variables RRI_w au champ ou RRI en conditions contrôlées et celles de la variable ADI_w . La classification hiérarchique de Ward des variables mesurées a permis d'identifier 6 groupes hiérarchiques distincts de variables dont (i) deux groupes regroupant séparément les variables IDA_w phénotypées à Dijon et Riec et (ii) quatre groupes séparant les variables FLO2, RRI_w , RRI_{Ae109} et RRI_{RB84} (Figure 18.A).

b) Identification de QTL

La carte génétique de la population de BAV Eden x E11 a été construite à partir de 993 marqueurs SNP, incluant 712 Ps1, 242 PsCam, 37 Ps0/Ps9 et 2 SNPs de gènes de facteurs anti-trypsiques, distribués au sein des 7 groupes de liaison du pois (Annexe III). La carte génétique, couvrant un total de 785 cM Kosambi, est de taille légèrement plus réduite comparée à celle de la carte consensus de 794,9 cM, établie par [Tayeh et al. \(2015a\)](#). Des groupes de 11 à 50 marqueurs ont été réordonnés, d'après la carte consensus, après observation d'inversions de blocs chromosomiques sur les groupes de liaison V et VI. Les données de génotypage des 993 marqueurs cartographiés comportent 2,4% de données manquantes ainsi que 87,6 % et 12,4 % d'allèles issus des parents Eden et E11, respectivement. De nombreuses recombinaisons ont été observées sur les LGI, II, IV et VI et une faible densité en marqueurs couvre la fin du LGII (77,1 – 167,6 cM) (Annexe IV).

Un total de 20 QTL distribués sur 5 groupes de liaison, dont 14 et 6 QTL associés significativement ($LOD_{calculé} > LOD_{seuil(\alpha=0,1)}$) à la résistance à *A. euteiches* et à la date de floraison, respectivement, ont été identifiés par analyse de liaison génétique au sein de la population de BAV Eden x E11 (Tableau 3). Ainsi, 6 zones génomiques regroupant des QTL de résistance à *A. euteiches* à intervalles chevauchants ou flanquants ont été identifiées (Figure 19). Elles incluent (i) une zone sur le LGII (49,3 – 62,5 cM) regroupant 3 QTL associés à des variables « champ » ADI_w et 1 QTL associé à une variable « conditions contrôlées » RRI (5,5%

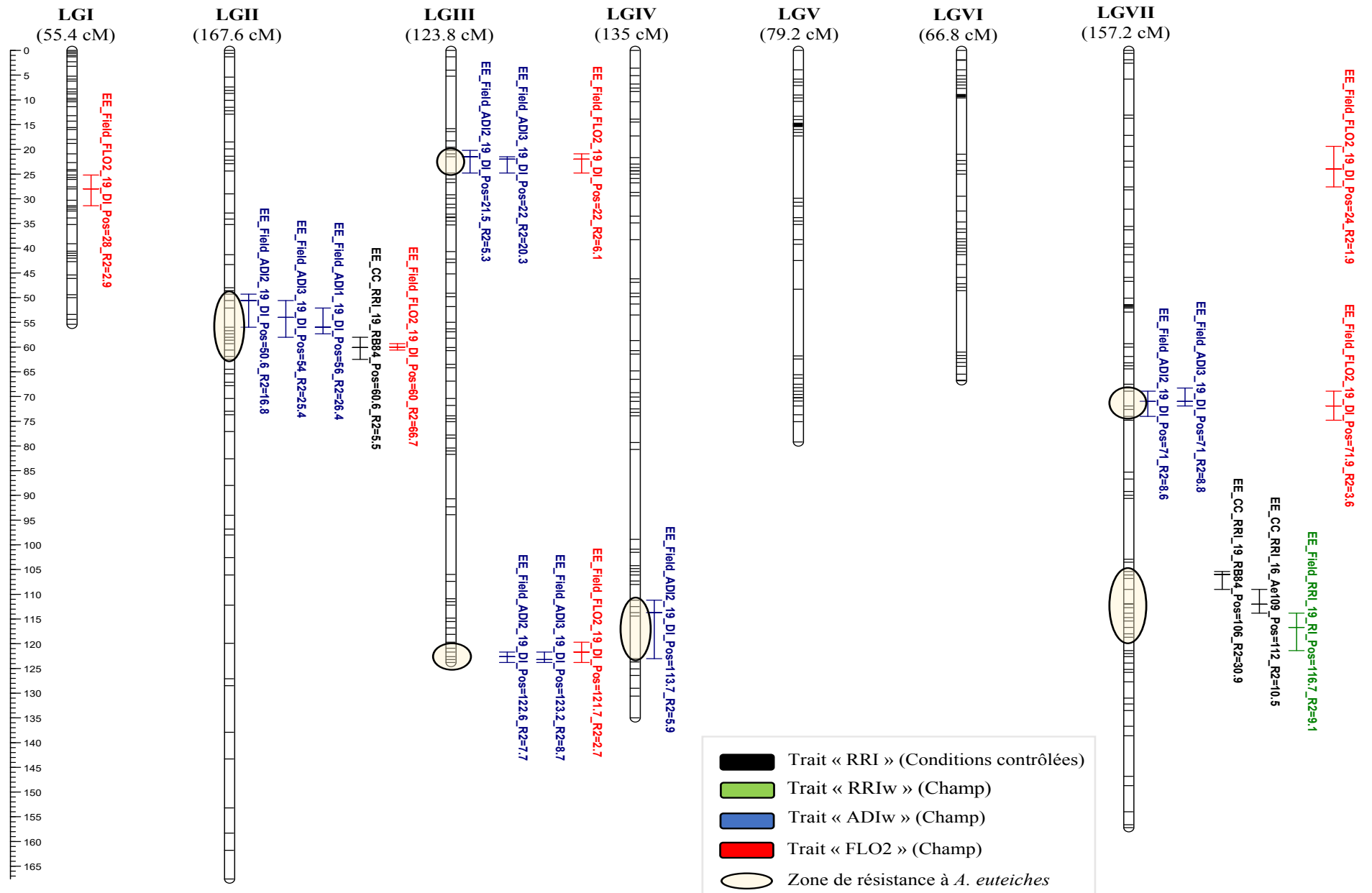


Figure 19 : Carte génétique représentant les différents QTL de résistance à *A. euteiches* et de floraison identifiés au sein de la population de BAv Eden x E11, avec différentes variables de phénotypage au champ et en conditions contrôlées. Les variables RRI, RRI_w, ADI_w et FLO2 sont représentées en noir, vert, bleu et rouge, respectivement. Les zones de résistance à *A. euteiches* sont représentées au sein d'un fond de couleur beige. Les positions génétiques sont indiquées en cM Haldane.

< $R^2 < 66,7\%$), (ii) une zone en fin de LGIV (111,2 – 123 cM) avec 1 QTL associé à une variable ADI_w ($R^2 = 5,9\%$), (iii) deux zones en début (20,2 – 24,8 cM) et en fin (121,7 – 123,8 cM) de LGIII, regroupant 2 QTL respectivement associés à des variables ADI_w ($5,3\% < R^2 < 20,3\%$), et (iv) deux zones au milieu (68,9 – 71,9 cM) et en fin (105,4 – 121,4 cM) de LGVII, regroupant 2 QTL associés à des variables ADI_w ($R^2 = 8,6\%$ et $8,8\%$) et 3 QTL associés à des variables $RRI_{(w)}$ (1 variable « champ » et 2 « conditions contrôlées » ; $9,1\% < R^2 < 30,9\%$), respectivement. A 12 des 14 QTL de résistance identifiés, l'allèle contribuant à la résistance est apporté par le parent résistant E11.

Parmi les 6 QTL de floraison identifiés, localisés dans 6 zones génomiques différentes, (i) 2 QTL sont situés en début de LGI et LGVII, ($R^2 = 2,9\%$ et $1,9\%$, respectivement), et (ii) 4 QTL colocalisent avec 4 zones génomiques de résistance sur les LGII, LGIII, LGIV et LGVII, chacune comportant au moins 2 QTL associés à des variables ADI_w ($2,7\% < R^2 < 66,7\%$). Un effet d'interaction épistatique ($R^2 = 1,3\%$) a été identifié entre les 2 QTL de floraison situés sur les LGI et LGII (Tableau 3). Aux 6 QTL identifiés, l'allèle contribuant à la précocité est apporté par Eden. Dans les 4 zones de colocalisation entre QTL de résistance et de floraison, l'allèle du parent E11 contribue à la fois à la résistance et à la tardiveté.

II. Diversité des QTL et haplotypes identifiés au sein de la collection Aphanomyces

a) Décroissance du déséquilibre de liaison

Les valeurs de décroissance du déséquilibre de liaison, calculées par groupe de liaison et à partir des données imputées de génotypage des 10 824 marqueurs SNP retenus pour l'analyse, sont comprises entre 0,1 et 0,21 cM (Figure 20.A). La valeur moyenne globale estimée pour la décroissance du déséquilibre de liaison au sein de la collection Aphanomyces est de 0,14 cM, elle est légèrement supérieure à la valeur de 0,12 cM obtenue par [Desgroux et al. \(2016\)](#).

b) Apparentement et structuration entre lignées de pois de la collection Aphanomyces

L'analyse d'apparentement entre les 172 lignées de la collection Aphanomyces a révélé des valeurs d'identité par descendance comprises entre -0,34 et 1,12, avec une moyenne générale estimée à -0,006 (Figure 20.B). Au sein de la matrice d'apparentement, la classification hiérarchique de Ward des 172 lignées a permis de regrouper distinctement entre elles (i) les populations de RILs BACCARA x PI180693, BACCARA x 552 et DSP x 90-2131, ainsi que (ii) les variétés de pois de printemps, d'une part, et d'hiver, d'autre part.

L'analyse de structuration de la collection Aphanomyces a permis d'identifier, après 15 validations croisées ($0,809 < CV_{\text{erreur}} < 0,833$), des valeurs de nombre potentiel de sous-populations comprises entre 10 et 15. La valeur de 10 sous-populations a été retenue car cohérente vis-à-vis des informations biologiques connues sur les 172 lignées de la collection (Figure 20.C). L'analyse de structuration a permis de regrouper des sous-populations similaires à celles identifiées dans l'analyse d'apparentement, bien que des mélanges de lignées aient été observés entre les deux analyses (Figure 20.B, C). Les lignées AeA + B + D, les lignées parentales de RILs et les nouvelles sources de résistance ont été regroupées dans divers clusters sans unicité apparente dans les analyses d'apparentement et de structuration de la collection Aphanomyces.

c) Identification de QTL

Un total de 45 marqueurs SNP, dont 17 SNPs préalablement identifiés avec le modèle MLM, ont significativement été détectés ($p\text{-value}_{\text{calculée}} < p\text{-value}_{\text{seuil-3,6.10-5}}$) lors de l'analyse GWAS dans les 172 lignées de la collection Aphanomyces avec le modèle MLMM (Annexe V). Les

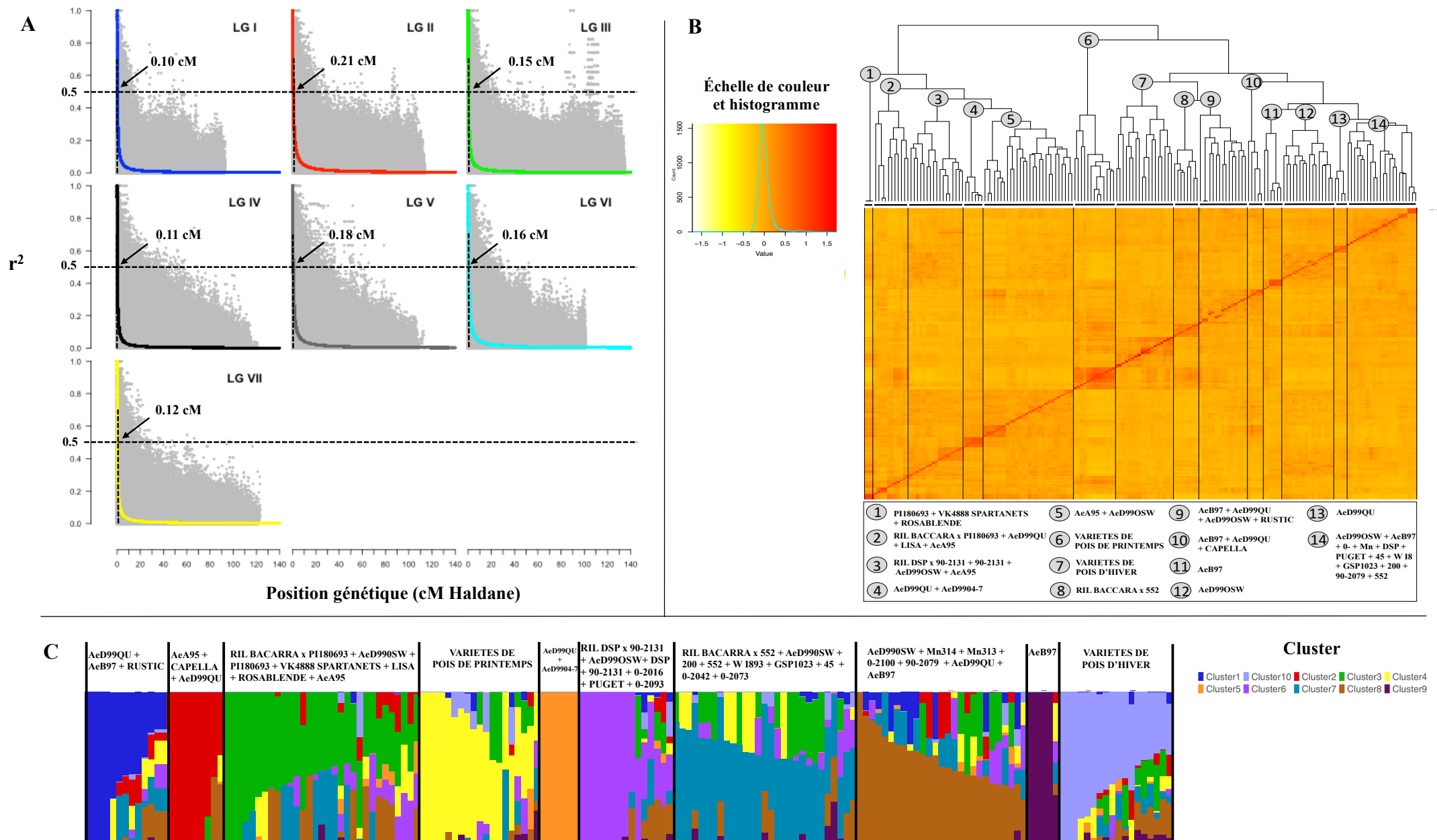


Figure 20 : Représentation du déséquilibre de liaison (DL), de l'apparentement et de la structuration dans la collection Aphanomyces. **A.** Décroissance du DL en fonction des groupes de liaison. Les courbes de couleur représentent l'estimation de la décroissance du DL. Les flèches représentent la décroissance du DL en cM Haldane pour la valeur seuil de 0,5 (droite en pointillé) de la valeur maximale calculée. **B.** Matrice d'apparentement (IBD) de la collection Aphanomyces. La matrice d'apparentement a été calculée selon la méthode de [Rincet et al. \(2012\)](#). La classification hiérarchique de Ward a été effectuée avec le package R GAPIT. **C.** Structuration de la collection Aphanomyces. Les valeurs de la matrice de structuration ont été calculées avec le logiciel Admixture pour dix sous-populations.

45 SNPs, distribués sur 6 des 7 groupes de liaison du pois, ont été associés à 30 variables phénotypées précédemment dans [Desgroux et al. \(2016\)](#), dont (i) 5 variables PAC_Field_RRI, (ii) 14 variables PAC_Field_ADI, (iii) 3 variables PAC_CC_RRI et (iv) 8 variables de morphologie et de floraison (PAC_FLO ; PAC_RIPE ; PAC_HT) (Tableau 4). Lors de l'analyse MLM, un total de 69 cofacteurs, dont 15 communs à l'analyse de [Desgroux et al. \(2016\)](#), ont significativement été identifiés ($4,61.10^{-28} < p\text{-value} < 3,56.10^{-5}$) pour l'ensemble des variables. La valeur d'effet allélique associée à chaque cofacteur et à chaque variable a été comprise en valeur absolue entre 0,15 et 37,38. Le pourcentage de variance expliqué pour chaque variable de résistance ou de floraison par la matrice de structuration, la matrice d'apparentement et les cofacteurs, a varié de 0,11 à 0,59%, 0 à 0,47% et 0 à 0,68%, respectivement, au sein du modèle MLM. Enfin, la variance non expliquée moyenne au sein du modèle était d'environ 27,2% (Tableau 4).

d) Identification d'haplotype au marqueur associé au QTL

Parmi les 45 marqueurs SNP significativement identifiés précédemment, 24 SNPs ont été sélectionnés car associés (i) à au moins une variable phénotypique et colocalisant avec un ou plusieurs QTL identifié(s) au sein de la population de BAV Eden x E11 ou au sein des quatre populations de RILs ou (ii) à au moins deux variables phénotypiques et colocalisant ou non avec des QTL détectés dans les populations de RILs ou BAV. À partir des 24 SNPs, un total de 18 blocs haplotypiques ($r^2 > 0,7$), de taille variant entre 0 et 8,1 cM, a été identifié (Annexe VI). Les 18 blocs ont inclus (i) 10 blocs associés à des variables de résistance à *A. euteiches*, (ii) 7 blocs associés à des caractères de floraison et/ou de morphologie et (iii) 1 bloc associé à la fois à des variables de résistance, de floraison et de morphologie. Parmi les 18 blocs haplotypiques, (i) 17 blocs ont été nommés de façon cohérente avec [Desgroux et al. \(2016 ; 2018\)](#) car comportant au moins un SNP commun aux blocs définis dans les publications précédentes et (ii) 1 bloc colocalisant avec le bloc haplotypique V.2, a été renommé V.2* car associé à une variable différente de celle identifiée par [Desgroux et al. \(2016\)](#). Les blocs haplotypiques I.5, II.1, II.3, III.2, III.17, VII.8, VII.11 et VII.16 colocalisent de manière stable dans 5 grandes régions génomiques comportant (i) des QTL associés aux variables de résistance ADI et RRI, (ii) des QTL de floraison et/ou de morphologie et à l'exception de l'haplotype I.5 (iii) avec des QTL identifiés précédemment au sein de la population de BAV Eden x E11 (Figure 21).

Parmi les 18 blocs haplotypiques identifiés, 16 blocs composés de 3 à 21 haplotypes, ont montré un minimum de 2 haplotypes, chacun représenté chez au moins 5% d'individus au sein des 172 lignées étudiées. Parmi ces 16 blocs haplotypiques, 15 blocs ont montré des différences significatives pour au moins 2 haplotypes lors du test de comparaison de moyennes des valeurs phénotypiques associées à chaque haplotype (Annexe VI). Ainsi sur l'ensemble des 15 blocs haplotypiques, (i) 10 blocs sont associés à des variables de résistance à *A. euteiches*, (ii) 4 blocs sont associés à des caractères de floraison et/ou de morphologie et (iii) 1 bloc est associé à la fois à des variables de résistance, de floraison et de morphologie.

Chacun des 15 blocs haplotypiques comprend 1 haplotype favorable et entre 1 et 2 haplotypes défavorables. Dans chaque lignée, le nombre d'haplotypes favorables a varié entre (i) 0 et 8 sur les 11 blocs associés à la résistance et (ii) 0 et 4 pour les 5 blocs associés à la floraison et/ou la morphologie. Les lignées possédant un nombre maximum d'haplotypes favorables de résistance à *A. euteiches* ($n = 8$) sont *AeD99OSW-49-5-7*, *AeD99QU-04-15-8-1* et *AeD99QU-04-4-6-1*. Les lignées possédant le nombre le plus élevé d'haplotypes favorables de floraison et de morphologie ($n = 4$) sont *AeD99OSW-26-3-8* et *AeD99OSW-27-7-6* (Annexe VII). À partir des 136 lignées comportant au moins 90% d'haplotypes favorables et/ou défavorables identifiés, les lignées appartenant au premier quartile de phénotypes les plus résistantes, ont

Tableau 4 : Synthèse des résultats de l'analyse GWAS (modèle MLM) dans la collection de pois *Aphanomyces*.

Variable (a)	Héritabilité (b)	Nombre de marqueurs (c)	Intervalle de valeurs des pvalue (d)	Intervalle de valeurs des effets alléliques (e)	Pourcentage de variance phénotypique expliquée par :			Variance non expliquée (i)
					La structuration (f)	L'apparentement (g)	Les cofacteurs (h)	
PAC_Field_RRI_All	0,92	1	1,23E-08	0,15	59 %	20 %	11 %	10 %
PAC_Field_RRI_10_RI	0,65	0	-	-	36 %	33 %	0 %	31 %
PAC_Field_RRI_10_DI	0,78	1	3,57E-05	0,2	43 %	40 %	~ 0 %	17 %
PAC_Field_RRI_11_RI	0,73	1	4,03E-09	-0,29	52 %	6 %	12 %	30 %
PAC_Field_RRI_11_DI	0,88	1	2,89E-06	0,21	51 %	24 %	11 %	14 %
PAC_Field_RRI_12_RI	0,78	3	1,74E-06 - 2,35E-05	-0,16 - 0,23	42 %	18 %	19 %	21 %
PAC_Field_RRI_12_DI	0,78	0	-	-	52 %	22 %	0 %	26 %
PAC_Field_RRI_13_RI	0,28	0	-	-	26 %	25 %	0 %	49 %
PAC_Field_RRI_13_DI	0,61	0	-	-	40 %	28 %	0 %	32 %
PAC_Field_ADI1_All	0,81	4	2,09E-10 - 2,51E-05	0,2 - 0,31	36 %	23 %	27 %	14 %
PAC_Field_ADI1_10_RI	0,35	0	-	-	15 %	0 %	0 %	85 %
PAC_Field_ADI1_10_DI	0,82	1	2,54E-05	0,49	45 %	38 %	2 %	15 %
PAC_Field_ADI1_11_RI	0,57	0	-	-	13 %	42 %	0 %	45 %
PAC_Field_ADI1_11_DI	0,92	1	4,14E-06	0,63	11 %	0 %	11 %	78 %
PAC_Field_ADI1_12_RI	0,88	3	9,27E-07 - 1,48E-05	0,41 - 0,58	19 %	47 %	27 %	7 %
PAC_Field_ADI1_12_DI	0,86	4	6,57E-06 - 2,11E-05	-0,37 - 0,26	34 %	24 %	30 %	12 %
PAC_Field_ADI1_12_KEN	0,47	0	-	-	36 %	32 %	0 %	32 %
PAC_Field_ADI1_13_RI	0,44	0	-	-	26 %	31 %	0 %	43 %
PAC_Field_ADI1_13_DI	0,82	2	3,90E-11 - 2,89E-07	0,34 - 0,45	39 %	13 %	25 %	23 %
PAC_Field_ADI2_All	0,84	2	1,62E-07 - 7,30E-06	0,23 - 0,41	45 %	36 %	13 %	6 %
PAC_Field_ADI2_10_RI	0,29	0	-	-	17 %	4 %	0 %	79 %
PAC_Field_ADI2_10_DI	0,89	3	2,22E-06 - 2,00E-05	-0,32 - 0,49	29 %	6 %	21 %	44 %
PAC_Field_ADI2_11_RI	0,55	1	1,96E-05	0,45	16 %	31 %	10 %	43 %
PAC_Field_ADI2_12_RI	0,81	1	2,57E-05	-0,4	35 %	40 %	9 %	16 %
PAC_Field_ADI2_12_DI	0,96	4	4,56E-08 - 1,55E-05	-0,84 - 0,82	31 %	11 %	29 %	29 %
PAC_Field_ADI2_12_KEN	0,55	1	1,73E-05	0,36	17 %	44 %	14 %	25 %
PAC_Field_ADI2_13_RI	0,7	1	3,04E-05	0,28	33 %	47 %	7 %	13 %
PAC_Field_ADI2_13_DI	0,83	2	8,08E-09 - 7,53E-07	0,47 - 0,57	51 %	3 %	18 %	28 %
PAC_CC_RRI_13_RB84	0,78	1	4,18E-13	-0,35	41 %	17 %	22 %	20 %
PAC_CC_RRI_09_RB84	0,86	1	3,63E-16	-0,32	49 %	9 %	21 %	21 %
PAC_CC_RRI_09_Ae109	0,91	2	4,61E-28 - 7,82E-07	-0,29 - 0,85	12 %	6 %	68 %	14 %
PAC_FLO1_10_REN	0,96	4	4,76E-18 - 5,68E-06	-5,42 - 2,65	13 %	34 %	47 %	6 %
PAC_FLO1_12_REN	1	4	1,29E-21 - 2,86E-05	-5,03 - (-1,71)	9 %	17 %	64 %	10 %
PAC_FLO2_10_REN	0,95	3	4,00E-12 - 3,48E-06	-2,78 - 4,18	2 %	20 %	54 %	24 %
PAC_FLO2_12_REN	0,99	4	5,55E-18 - 7,99E-06	-5,82 - 6,23	0 %	13 %	66 %	21 %
PAC_RIPE_10_REN	0,87	2	5,44E-10 - 6,97E-10	-2,57 - 3,1	7 %	16 %	40 %	37 %
PAC_RIPE_12_REN	0,93	4	1,48E-22 - 1,62E-05	-3,74 - 1,88	1 %	13 %	59 %	27 %
PAC_HT_10_REN	0,97	3	9,27E-25 - 9,58E-06	-6,28 - 32,24	0 %	31 %	61 %	8 %
PAC_HT_12_REN	0,98	4	1,11E-24 - 7,59E-06	-10,51 - 37,38	0 %	37 %	57 %	6 %

(a) Variable de phénotypage utilisée ; (b) Valeur d'héritabilité de chaque variable calculée par [Desgroux et al. \(2010\)](#) ; (c) Nombre de SNP placés comme cofacteur lors de l'analyse MLM ; Intervalle de valeurs (d) des p-values et (e) des effets alléliques calculés pour les SNPs identifiés comme significatifs pour chaque variable ; Pourcentage de variance expliquée au sein du modèle MLM par (f) la matrice de structuration et (g) la matrice d'apparentement des 172 lignées de la collection *Aphanomyces* ainsi que par (h) les cofacteurs du modèle ; (i) Pourcentage de variance non expliquée au sein du modèle MLM. L'ensemble des données sont présentées au sein de l'annexe V.

montré un nombre moyen d'haplotypes favorables ($n = 5$) plus élevée comparé à celui des lignées appartenant à l'interquartile et au 3^{ème} quartile ($n = 4$ et 3 , respectivement), pour les variables synthétiques de résistance PAC_CC_RRI_09_Ae109, PAC_Field_ADI1_All, PAC_Field_ADI2_All et PAC_Field_RRI_All (différences significatives) et PAC_CC_RRI_13_RB84 (différence non significative) (Figure 22).

e) Contenu en haplotypes de lignées d'intérêt

La comparaison du contenu en haplotypes favorables et défavorables des 3 lignées les plus résistantes et des 3 lignées les plus sensibles de la collection (avec $n_{\text{haplotypes favorables/défavorables}} > 90\%$) pour les 5 variables synthétiques pré-citées, montre qu'un niveau élevé de résistance est associé aux lignées portant les haplotypes favorables de la combinaison des blocs haplotypiques : (i) [I.5, II.1, III.4, III.9], associée à la combinaison des blocs [VII.16, VII.18], pour les variables PAC_Field_ADI1_All et PAC_Field_ADI2_All, (ii) [II.1, III.4, VII.8] associée à la combinaison des blocs [VII.11, VII.16, VII.18], pour la variable PAC_Field_RRI_All, et (iii) VII.8 et [IV.5, IV.8] pour les variables conditions contrôlées PAC_CC_RRI_13_RB84 et PAC_CC_RRI_09_Ae109, respectivement (Tableau 5).

Au cours de l'analyse d'haplotypes, certaines des 14 lignées de la collection, issues du programme INRAE de criblage de nouvelles sources de résistance, ont montré de nouveaux haplotypes de résistance, *i.e.* différents des haplotypes favorables et défavorables représentés chez au moins 5% des 172 lignées étudiées, distribués sur les différents blocs haplotypiques associés aux variables de résistance à *A. euteiches*, de floraison et/ou de hauteur (Tableau 6). Notamment, les lignées du groupe d'apparement n°7 ont présenté plus fréquemment de nouveaux haplotypes. Par ailleurs, d'autres lignées, ne présentant pas ou peu d'haplotypes nouveaux mais davantage des haplotypes défavorables aux blocs identifiés, ont montré un bon niveau moyen de résistance partielle suggérant la présence potentielle de nouveaux locus de résistance non détectés dans cette étude. Spécialement, la lignée LISA, isolée au sein du groupe d'apparement n°2, entre dans cette dernière catégorie de lignées.

Discussion

L'exploration de la diversité des loci et haplotypes de résistance à *A. euteiches* est primordiale afin de combiner et diversifier l'usage des QTL pour augmenter durablement les niveaux de résistance à *A. euteiches* des futures variétés de pois. Au cours de cette étude, une analyse de liaison génétique a été effectuée à partir d'une population de 179 lignées BC2S6 issues d'un croisement impliquant la nouvelle source de résistance E11. Cette étude correspond à la première approche de détection de QTL de résistance à *A. euteiches* réalisée au sein d'une population de BAV dans la communauté scientifique internationale. De plus, l'analyse d'association génome entier revisitée dans la population de 175 lignées de pois de la collection Aphanomyces, a permis de revalider de manière stable et fiable, des SNPs significativement associés à la résistance à *A. euteiches* ainsi que d'en identifier de nouveaux. Enfin, l'utilisation de marqueurs SNP « ponts » dans les analyses de liaison et d'association, a permis de représenter et de regrouper sur une même carte génétique, des QTL identifiés au cours de ce stage de fin d'études et au sein des 4 populations de RILs étudiées au cours de ces dernières années de travaux sur la génétique de la résistance du pois protéagineux à la pourriture racinaire molle.

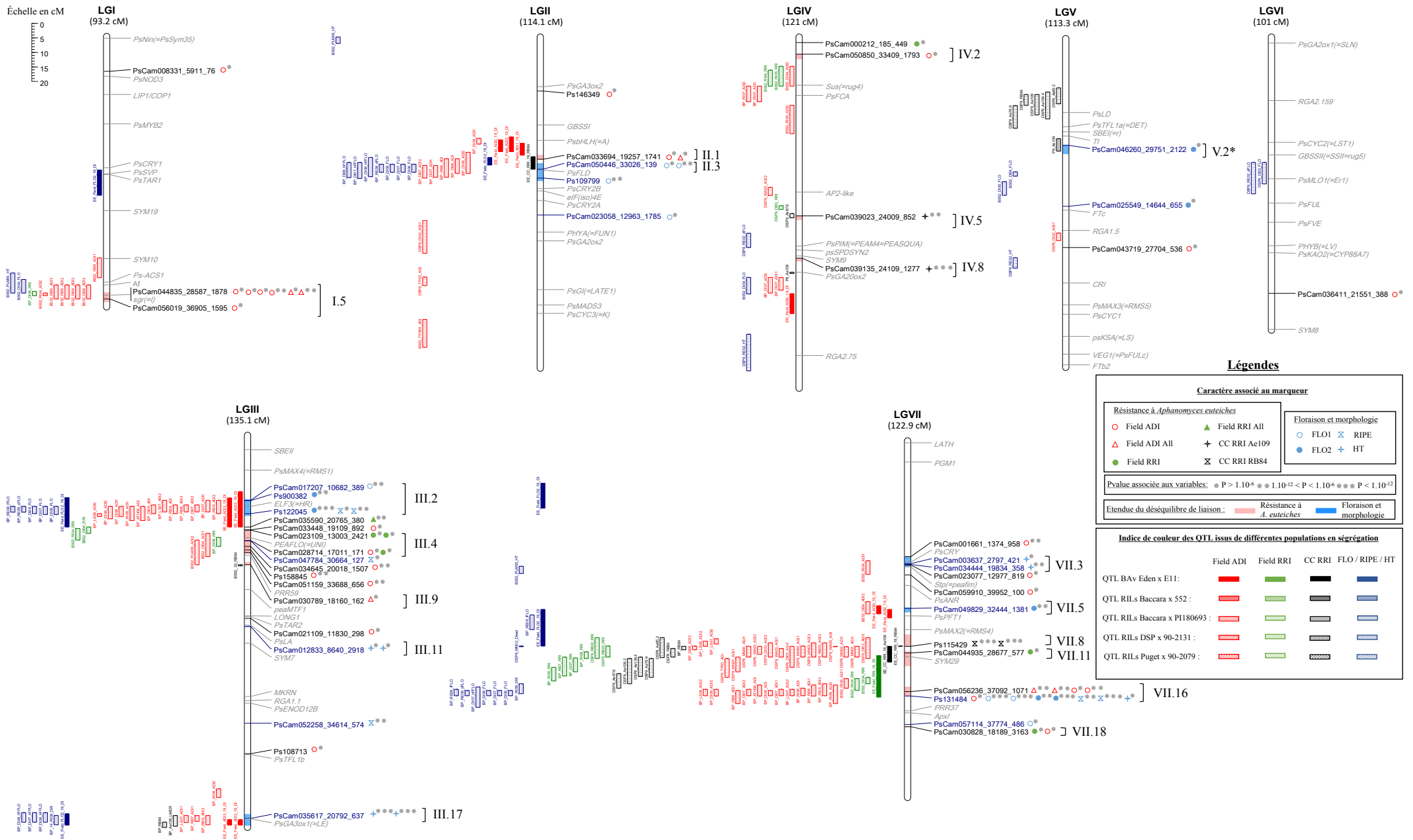


Figure 21 : Carte génétique comparative des différents QTL identifiés lors (i) de l’analyse GWAS dans la collection *Aphanomyces*, (ii) de l’analyse de liaison dans la population de BAV Eden x E11 et (iii) lors des analyses de liaison effectuées précédemment à partir de populations de RILs (Boutet et al., 2019 ; com. pers.). La carte génétique, dont les positions sont indiquées en cM Haldane, correspond à la projection de la carte composite issue du projet PEAMAS sur la carte consensus de Tayeh et al. (2015a). Les blocs haplotypiques identifiés au cours de cette étude ($r^2 > 0,7$), comprenant un marqueur SNP identifié lors de l’analyse d’association, ont été nommés selon Desgroux et al. (2016). Les marqueurs associés à des gènes identifiés et clonés chez le pois, ou associés à des variables de résistance à *A. euteiches*, de floraison et/ou de morphologie, sont représentés en gris, noir et bleu, respectivement.

I. Analyse comparative des méthodologies d'analyse de liaison et d'association appliquées

- a) Avantages et limites de la détection de QTL dans les populations de BAv et dans la collection *Aphanomyces* étudiée

Lors de la GWAS, les nombreux événements historiques de recombinaison entre les individus du panel étudié ont permis d'apporter une haute précision dans la détection de QTL. Cependant, la capacité de la GWAS à identifier une association entre un SNP et un caractère d'intérêt dépend de la variance phénotypique expliquée par ce SNP au sein de la population. Ainsi, si un SNP est représenté en fréquence faible au sein de la population et est associé à un QTL à effet mineur sur le caractère d'intérêt, la puissance de détection de cet allèle rare sera limitée au cours de l'analyse (Korte et Farlow, 2013). Ainsi, dans notre étude, l'approche GWAS n'a peut-être pas permis de détecter des allèles qui seraient potentiellement présents en fréquence rare dans de nouvelles sources de résistance. Au contraire, au sein des populations de BAv, les recombinaisons au sein des individus sont moindres et la détection de QTL par analyse de liaison génétique est moins précise comparée à la GWAS. Cependant, les allèles sont représentés dans des fréquences équilibrées au sein de la population, la détection d'allèles rares est donc facilitée. Ainsi, des QTL à effets plus mineurs, identifiés spécifiquement à la population de BAv Eden x E11 ou au sein d'une des 4 populations de RILs, n'ont pas été ré-identifiés au cours de la GWAS. Par ailleurs, les individus issus de BAv montrent un fond génétique proche de leur parent agronomique d'origine, *e.g.* la population de BAv Eden x E11 étudiée est composée d'environ 87,6% d'allèles issus du parent agronomique Eden, ainsi les individus porteurs de QTL d'intérêt peuvent être facilement réutilisables dans des futurs schémas de sélection (Tanksley et Nelson, 1996). Dans notre étude, une sélection de lignées BAv comportant les allèles du parent E11 à un ou plusieurs des QTL identifiés pourront être ainsi rétrocroisées avec le parent Eden pour produire, en une ou deux génération(s) de back-cross suivie d'autofécondations, des lignées agronomiques épurées des allèles défavorables du parent E11.

- b) Apports et intérêts de la GWAS revisitée au regard de l'étude de Desgroux et al. (2016)

Au regard de la GWAS menée par Desgroux et al. (2016), l'analyse effectuée au cours de ce stage de fin d'études a permis, (i) d'enrichir de 1 850 SNPs, soit d'environ 15%, le nombre de marqueurs utilisés afin de mieux exploiter les recombinaisons présentes dans la collection, (ii) de limiter le nombre d'individus supprimés en modifiant les seuils de filtrage des données génétiques, (iii) d'appliquer une nouvelle méthode d'imputation des données manquantes avec le logiciel Beagle 5.1, (iv) d'expérimenter des matrices de structuration et d'apparentement différentes, issues du logiciel Admixture 1.3 et de la méthode de Rincent et al. (2014), respectivement, (v) de modifier la valeur du seuil de significativité de détection corrigé par ajustement multiple, ainsi que de limiter le nombre maximal d'étapes de régression pour la sélection des cofacteurs dans le modèle MLM, et (vi) d'augmenter la valeur seuil de DL afin de construire des blocs haplotypiques constitués de marqueurs SNPs hautement liés génétiquement.

Lors de cette étude, l'utilisation de 1 850 marqueurs SNP supplémentaires aux 12 067 SNPs utilisés par Desgroux et al. (2016), n'a globalement pas permis d'améliorer la précision de détection des SNPs (la *p*-value moyenne des SNPs identifiés a augmenté de $2 \cdot 10^{-6}$) ni de réduire la taille des blocs haplotypiques identifiés précédemment (la taille des haplotypes a en moyenne augmenté de 1,24 cM). Néanmoins, l'analyse comparative de la position des SNPs identifiés lors de la GWAS et lors des analyses QTL effectuées au sein des études précédentes a été grandement précisée. Cette analyse n'a plus été basée sur des projections de marqueurs

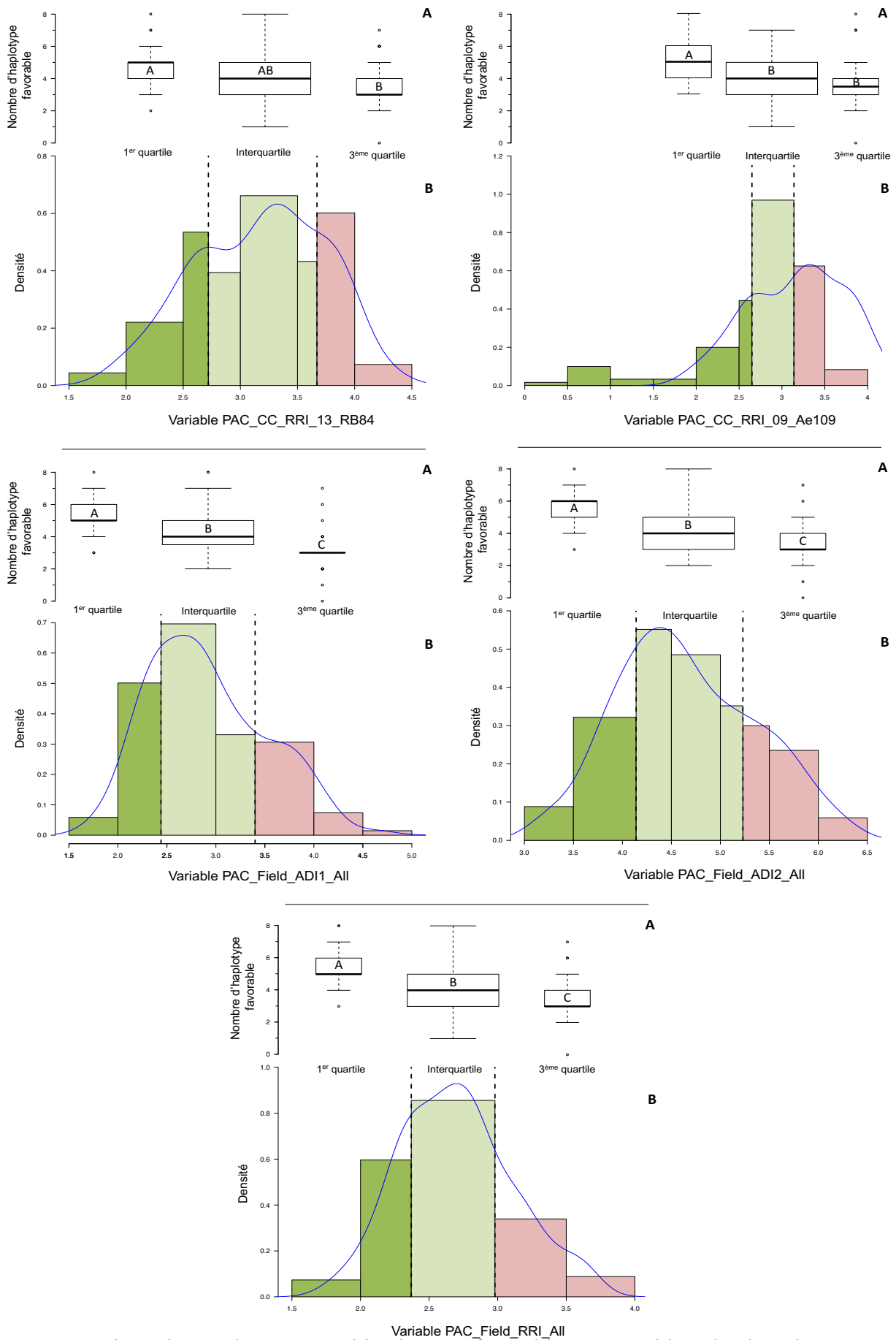


Figure 22 : Comparaison du nombre moyen d'haplotypes favorables aux 15 blocs haplotypiques associés à la résistance à *A. euteiches*, dans 136 lignées de pois de la collection Aphanomyces comportant au moins 90% d'haplotypes favorables ou défavorables identifiés, en fonction des variables synthétiques PAC_CC_RRI_13_RB84, PAC_CC_RRI_09_Ae109, PAC_Field_ADI1_All, PAC_Field_ADI2_All et PAC_Field_RRI_All. **A.** « Box plot » du nombre d'haplotype favorable en fonction de l'appartenance au 1^{er} quartile, à l'interquartile et au 3^{ème} quartile des valeurs de résistance des lignées. **B.** Histogramme de densité des valeurs des variables étudiées. Les couleurs vert foncé, vert clair et rouge clair correspondent aux haplotypes favorables du 1^{er} quartile, de l'interquartile et du 3^{ème} quartile, respectivement.

par cartes interposées, mais bien sur des liens directs entre marqueurs communs utilisés dans le génotypage des populations d'analyse QTL et GWAS. Ainsi, deux zones majeures de résistance associées aux haplotypes VII.8, VII.11 et VII.16 ont été identifiées avec haute précision au sein du QTL majeur de résistance partielle *Ae-Ps7.6*, précédemment identifié (Hamon et al., 2013). De plus, l'ajout des 1 850 SNPs a permis l'identification de liens entre la GWAS et l'analyse de la population de BAv Eden x E11. Ainsi, 5 marqueurs identifiés lors de la GWAS ont été identifiés dans les intervalles de confiance des QTL de la population Eden x E11, dont 2 communs à des pics de QTL.

La modification des seuils de filtrage des données génétiques (suppression des individus avec un taux d'hétérozygotie > 15% et de DM > 10%) a permis d'étudier les haplotypes dans 4 individus supplémentaires, *AeB97-722.14.1*, *AeD99OSW-50-2-5*, *AeD99OSW-53-3-5* et *BAP8.1844*. Cependant, contrairement à Desgroux et al. (2016), l'individu *E186* n'a pas pu être conservé car les données de génotypage de la lignée étaient différentes à plus de 20% pour les 440 SNPs communs issus de PEAMAS et de Desgroux et al. (2016).

Les modifications des matrices de structuration et d'apparentement utilisées, ont permis en moyenne d'augmenter de 7,36% et de diminuer de 0,57%, respectivement, la variance phénotypique expliquée pour les variables de résistance à *A. euteiches* associées à au moins un cofacteur au sein des modèles MLM. La matrice complète des 10 sous-populations, estimée par le logiciel Admixture 1.3, a ainsi montré un effet explicatif supérieur comparé à la matrice issue de l'analyse en composante principale effectuée par Desgroux et al. (2016), basée uniquement sur les 3 premiers axes synthétiques explicatifs de la variation phénotypique des lignées de la collection Aphanomyces. L'utilisation d'une nouvelle matrice d'apparentement n'a pas permis d'améliorer la variance expliquée au sein du modèle, comparée à la matrice utilisée par Desgroux et al. (2016) issue de l'algorithme EMMA de GAPIT et ne prenant pas en compte l'effet « confondant » dans le calcul matriciel. La variance phénotypique expliquée par les cofacteurs des variables associées à la résistance à *A. euteiches* a diminué en moyenne de 5,27%. Cette diminution est principalement liée à la limitation du nombre maximal d'étapes de régression (nombre max = 5) lors des régressions « Backward-Forward » du modèle MLM, permettant ainsi de diminuer la détection de cofacteurs supplémentaires. La valeur seuil de détection a légèrement augmenté ($3,6 \cdot 10^{-5}$) comparée à l'étude de Desgroux et al. (2016) ($2,5 \cdot 10^{-5}$), ce qui n'a pas eu d'effets majeurs sur la détection d'associations significatives.

Enfin, lors de l'analyse d'haplotypes aux marqueurs, les données génétiques ont été codées sous formes de bases nucléiques (codage A, T, G, C) contrairement à Desgroux et al. (2016) (codage AA et BB). Ce nouveau codage a globalement augmenté les valeurs de DL entre paires de marqueurs et a parallèlement permis d'augmenter la valeur seuil, *i.e.* $r^2 > 0,7$ contre 0,2 précédemment, afin de construire des blocs haplotypiques hautement liés génétiquement.

II. Diversité des QTL de résistance à *A. euteiches* chez le pois

a) QTL de résistance majeurs ou consistants entre populations

Lors de l'analyse de liaison génétique effectuée à partir de la population de BAv Eden x E11, des colocalisations avec des QTL associés à des variables phénotypiques similaires et identifiés à partir d'au moins l'une des 4 populations de RILs, ont été identifiés pour la majorité des QTL associés à des variables de résistance à *A. euteiches* (13/14 QTL). Ainsi, les QTL de résistance à *A. euteiches* précédemment identifiés, *Ae-Ps2.2*, *Ae-Ps3.1*, *Ae-Ps3.2*, *Ae-Ps7.5* et *Ae-Ps7.6* (Hamon et al., 2013), ont été re-détectés dans la population Eden x E11 ($5,3\% < R^2 < 30,9\%$). Lors de l'analyse d'association revisitée de la collection Aphanomyces de lignées de pois, 45 marqueurs SNP ont été identifiés, dont 11 marqueurs « PsCam » communs à Desgroux et al. (2016), associés à des variables de résistance à *A. euteiches*.

Tableau 5 : Description des haplotypes favorables et défavorables aux 11 blocs haplotypiques de résistance à *A. euteiches*, dans les 3 meilleures et 3 moins intéressantes lignées identifiées au sein des 172 lignées de la collection de pois *Aphanomyces* étudiée. Les encadrés noirs correspondent aux haplotypes associés aux variables de résistance à *A. euteiches* étudiées pour un SNP identifié comme significatif au sein d'un bloc haplotypique lors de l'analyse GWAS.

		Haplotype de résistance à <i>Aphanomyces euteiches</i>											
		Lignées	I.5	II.1	III.4	III.9	IV.2	IV.5	IV.8	VII.8	VII.11	VII.16	VII.18
Variable ADI1All	3 meilleures lignées*	AeD99OSW- 56-19-4	a	g	a	a	b	b	b	a	a	a	a
		AeD99OSW- 37-3-4	a	a	a	a	b	b	b	b	b	a	a
		AeB97-725.11.2	a	a	a	a	b	b	b	b	c	a	a
	3 moins bonnes lignées*	AeD99QU-04-23-8-1	b	b	b	b	b	b	b	b	c	a	a
		AeD99OSW- 15-7-4	b	b	b	b	b	b	b	b	c	b	b
		Safranos	b	c	b	b	b	b	b	b	a	a	a
Variable ADI2All	3 meilleures lignées*	AeB97-738.2.3	e	b	a	a	b	b	b	a	a	a	a
		AeD99OSW- 37-3-4	a	a	a	a	b	b	b	b	b	a	a
		AeB97-741.9.6	e	b	a	a	b	b	b	b	a	a	a
	3 moins bonnes lignées*	AeD99QU-04-23-8-1	b	b	b	b	b	b	b	b	c	a	a
		Safranos	b	c	b	b	b	b	b	b	a	a	a
		EDEN	b	b	b	b	b	b	b	b	a	a	a
Variable RRIAll	3 meilleures lignées*	AeD99OSW- 41-7-6	b	a	a	a	b	b	b	a	a	a	a
		AeD99OSW- 49-5-7	a	a	a	a	b	b	b	a	a	a	a
		AeD99OSW- 47-6-1	a	a	d	b	b	b	b	a	a	a	a
	3 moins bonnes lignées*	Odeon	b	b	b	b	b	b	b	b	a	a	a
		Marignan	b	b	b	b	b	b	b	b	a	a	a
		Lumina	b	b	b	b	b	b	b	b	a	a	a
Variable CC RB84	3 meilleures lignées*	AeD99QU-04-8b-5-2	b	b	g	a	b	b	b	a	a	a	a
		AeD99OSW- 58-10-5	b	a	a	b	b	b	b	a	a	b	b
		AeD99OSW- 60-1-3	a	a	a	a	b	b	b	d	a	b	b
	3 moins bonnes lignées*	Safranos	b	c	b	b	b	b	b	b	a	a	a
		BA55.171	a	a	a	a	b	b	b	b	c	a	a
		BA55.233	r	a	b	b	b	b	b	b	c	a	a
Variable CC Ae109	3 meilleures lignées*	AeD99OSW- 8-8-1	b	b	d	a	b	a	a	b	c	a	a
		AeD99OSW- 22-3-7	b	b	h	b	b	a	a	a	a	a	a
		AeD99QU-04-4-6-1	b	a	a	b	a	a	a	a	c	a	a
	3 moins bonnes lignées*	BA55.8	s	b	a	a	b	b	b	b	c	a	a
		BAP8.43	b	b	b	b	b	b	b	a	a	b	b
		BAP8.184	NA	b	b	b	b	b	b	a	a	b	b

* : Lignées possédant au moins 90% d'haplotypes favorables et/ou défavorables ; a : Haplotype favorable ; b ou c : Haplotype défavorable.

Lors de l'analyse d'haplotypes au marqueur, 11 blocs haplotypiques de résistance à *A. euteiches* ont été identifiés et ont partagé au minimum, un marqueur commun avec les blocs haplotypiques identifiés par [Desgroux et al. \(2016 ; 2018\)](#) pour des variables similaires. Ainsi, les 11 marqueurs et haplotypes communs de résistance à *A. euteiches* ont permis de revalider 5 des 7 principaux QTL, *Ae-Ps1.2*, *Ae-Ps2.2*, *Ae-Ps3.1*, *Ae-Ps4.5* et *Ae-Ps7.6*, identifiés au cours des études précédentes. Le QTL *Ae-Ps5.1* de résistance aux souches Ae109 et RB84 ($R^2 < 38\%$) identifié dans la population DSP x 90-2131, n'a pas été revalidé au cours de cette nouvelle étude malgré une haute densité en marqueurs retenus après filtres dans la zone du QTL (219 SNPs ; 22,5 - 36,6 cM). [Lavaud et al. \(2015\)](#) ont montré que l'effet du QTL avait été perdu lors de son introduction dans des lignées possédant un fond génétique différent de DSP, suggérant la possibilité d'effets épistatiques entre le QTL et le fond génétique du parent de référence, limitant ainsi la puissance de détection au sein des lignées étudiées. Contrairement à [Desgroux et al. \(2016\)](#), le QTL *Ae-Ps4.1* n'a pas montré de colocalisation avec l'haplotype IV.2 du fait d'une meilleure précision dans le nouveau positionnement du QTL ([Boutet et al., 2019](#), com. pers.).

b) Des QTL nouveaux, mineurs détectés spécifiquement selon les populations

Au regard des études précédentes, l'analyse de liaison génétique de la population de BAv Eden x E11 n'a pas montré de nouveaux QTL consistants de résistance à *A. euteiches*. Néanmoins, un QTL localisé sur le LGIV a été spécifiquement détecté en position proche mais différente de la région *Ae-Ps4.5* à partir d'une variable ADI_w. Un QTL associé à la résistance en conditions contrôlées à la souche RB84 (LGII), a également été identifié spécifiquement à la population de BAv. Cependant, tout comme les QTL associés au 2 variables FLO2, situés sur le LGI et au début du LGVII, les valeurs modérées de variance phénotypique expliquée par ces 4 QTL ($1,9\% < R^2 < 5,5\%$), soulèvent l'éventualité d'une détection imprécise ou de faux-positifs. Lors de la GWAS, 5 nouveaux marqueurs SNP « Ps1 » associés à des variables de résistance à *A. euteiches*, issus des 1 850 SNPs du Projet PEAMAS, ont significativement été identifiés. Parmi les 5 marqueurs « Ps1 » identifiés, (i) 4 marqueurs sont à proximité de marqueurs « PsCam » déjà identifiés précédemment et (ii) un marqueur Ps146349 ($p\text{value} = 2,11.10^{-5}$) n'est associé à aucun QTL précédemment identifié ([Desgroux et al., 2016](#)).

c) Des colocalisations de QTL de résistance et QTL/gènes de développement et morphologie confirmées

Au cours de l'analyse, les colocalisations précédemment identifiées entre des QTL de floraison et des QTL associés à la résistance au dépérissement des parties aériennes (LGII, III et VII), ont été de nouveau observées à partir de la population BAv dans les régions *Ae-Ps2.2*, *Ae-Ps3.1*, *Ae-Ps3.2* et *Ae-Ps7.6* ([Hamon, 2010](#)). L'identification de colocalisations pour des QTL associés aux variables d'IDA_w et FLO2, corrélées négativement ($-0,53 < r < -0,23$), serait principalement due à un décalage phénologique d'expression des symptômes de chlorose, *i.e.* un décalage d'expression des symptômes de dépérissement aérien lié à une floraison tardive des lignées, biaisant ainsi l'attribution des notes d'IDA lors de la notation.

Lors de la GWAS, un total de 6 blocs haplotypiques, distribués sur 4 groupes de liaison, ont été associés à des variables de floraison et/ou de morphologie et ont colocalisé avec des QTL de résistance. De plus, des colocalisations ont été observées pour 4 de ces haplotypes avec des gènes impliqués dans la floraison ou la morphologie, *i. e.* PsFLD, ELF3(=HR), PsGA3ox1(=LE), PsCRY. Ainsi, il est possible que des gènes de développement de la plante à effets pléiotropes soient sous-jacents aux QTL de résistance à *A. euteiches*.

Tableau 6 : Description des haplotypes de résistance à *A. euteiches* et des valeurs phénotypiques des variables synthétiques de résistance, de floraison et de morphologie dans 20 nouvelles sources de résistance de la collection Aphanomyces et dans les parents résistants de référence des populations de RILs précédemment étudiées.

	Lignée (i)	Groupe (ii)	Haplotype de résistance à <i>A. euteiches</i> (iii)											Variable de résistance à <i>A. euteiches</i> (iv)					Haplotype de floraison et/ou de morphologie (v)					Variable de floraison et de hauteur (vi)		
			I.5	II.1	III.4	III.9	IV.2	IV.5	IV.8	VII.8	VII.11	VII.16	VII.18	PAC_Field_ADH_All	PAC_Field_AD12_All	PAC_Field_RRI_All	PAC_CC_RRI_13_RB84	PAC_CC_RRI_09_Ae109	II.3	III.11	V.2*	VII.5	VII.16	PAC_FLO1_All	PAC_FLO2_All	PAC_HT_All
Nouvelles sources de résistance et parents résistants de référence des populations de RILs	VK4888 SPARTANETS	1	b	a	b	b	b	b	b	a	a	b	b	3.22	4.67	2.33	2.47	2.73	b	a	b	b	b	144.67	175.17	149.66
	PI180693	1	b	a	b	b	b	b	b	a	a	b	b	3.16	4.39	2.39	2.47	2.76	b	a	b	b	b	144.83	173.65	151.67
	ROSBLENDE	1	b	a	b	b	b	b	b	a	a	b	b	3.00	4.41	2.46	2.40	2.97	b	a	b	b	b	146.67	185.00	163.00
	LISA	2	b	m	b	b	b	b	b	b	c	a	a	2.80	4.31	2.67	3.37	3.04	h	b	i	a	a	147.17	173.83	150.00
	90-2131	3	a	b	b	b	b	b	b	c	f	a	a	2.48	4.63	2.11	3.13	2.91	b	a	b	a	a	145.00	174.83	110.83
	L2782.1	7	o	NA	NA	c	a	b	b	b	k	a	b	3.11	4.10	2.58	2.89	2.65	NA	c	g	NA	a	165.50	185.67	150.83
	ZP141 (=V281)	7	u	o	NA	NA	b	b	b	b	m	a	a	2.77	4.71	2.51	3.73	2.80	l	c	l	a	a	155.50	183.17	178.33
	ETHIOPIA-32 CGN 3255 (=PI196026)	7	i	l	b	b	b	c	b	f	b	a	a	3.00	5.20	2.74	2.57	2.85	b	a	h	g	a	148.17	178.33	152.50
	E11	7	l	k	NA	NA	NA	NA	d	d	NA	a	c	2.96	4.68	2.90	2.56	3.00	NA	a	NA	NA	a	155.00	182.50	156.33
	GAT 1259	7	n	k	i	b	c	NA	NA	b	j	a	d	3.19	4.59	2.62	3.13	2.89	g	a	e	g	a	153.17	182.83	162.39
	100	7	a	b	c	b	b	b	b	b	c	a	a	3.46	5.26	2.62	3.13	2.47	a	b	a	a	a	135.33	168.17	107.50
	FRIGLOO	7	a	d	b	b	a	b	b	b	c	a	b	2.84	4.75	2.75	3.27	3.00	b	b	b	b	a	146.17	171.67	104.17
	NO. 9845 (=PI 196032)	7	i	l	i	b	a	b	b	f	b	a	a	4.27	5.71	3.09	2.27	2.86	b	b	k	i	a	148.50	178.68	150.47
	NEPAL A	7	p	n	e	b	d	b	e	b	l	a	c	4.30	5.97	2.23	3.60	3.41	i	a	j	f	a	140.01	166.53	70.83
	0-2073	14	a	b	a	b	b	b	b	b	c	a	a	2.81	4.57	2.20	3.27	2.49	b	a	a	a	a	143.50	167.33	90.00
	0-2016	14	NA	NA	b	NA	b	b	b	a	a	a	a	2.16	3.77	2.54	3.00	3.13	c	b	a	b	a	147.33	176.00	95.83
	552	14	a	NA	a	a	b	b	b	b	NA	a	a	2.14	3.86	2.38	3.73	2.82	b	a	a	NA	a	145.17	172.50	117.50
	W I8903	14	a	a	d	b	d	b	b	b	b	a	a	2.87	4.25	2.43	3.40	2.80	b	a	a	a	a	145.08	167.33	82.50
	GSP1023	14	a	f	a	a	b	b	b	b	c	a	a	2.39	4.77	2.33	3.45	3.25	b	b	a	a	a	143.83	166.17	85.00
	W I8905	14	a	a	d	b	d	b	b	b	b	a	a	3.20	4.90	2.61	3.07	2.67	b	a	a	a	a	140.50	173.38	144.25
90-2079	14	d	b	b	b	b	b	a	b	e	c	a	3.73	5.78	3.17	3.67	1.60	b	a	a	a	c	146.33	172.17	96.67	
0-2042	14	a	b	e	b	b	b	b	b	c	a	a	3.45	4.86	2.77	3.73	2.88	b	a	a	a	a	144.83	168.00	88.33	
E186**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
LOCAL (=bluish-green, small,B-563)**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

(i) 20 nouvelles sources de résistance et parents résistants de référence des 4 populations de RILs Puget x **90–2079**, Baccara x **PI180693**, Baccara x **552** et DSP x **90–213** issus de la collection de pois Aphanomyces ; (ii) Groupe d'appartenance des différentes lignées (Figure 20.B) ; (iii) ou (v) Haplotypes de résistance à *A. euteiches* ou de floraison et/ou de morphologie dans différentes lignées identifiés lors de l'analyse GWAS dans les 172 lignées de la collection Aphanomyces ; (iv) Moyenne ajustée des variables synthétiques de résistance à *A. euteiches* ; (vi) Valeurs des variables synthétiques de floraison non étudiées au cours de la GWAS, PAC_FLO1_All et PAC_FLO2_All, issues de la moyenne entre PAC_FLO1_10_REN et PAC_FLO1_12_REN et de la moyenne entre PAC_FLO2_10_REN et PAC_FLO2_12_REN, respectivement, et de hauteur PAC_HT_All issue de la moyenne entre PAC_HT_10_REN et PAC_HT_12_REN ; * : Haplotypes de résistance associés à des variables de résistance, de floraison et de morphologie ; ** ; Lignée non étudiée lors de l'analyse GWAS pour cause de données de génotypage non conformes lors du filtrage des données ; a : Haplotype favorable ; b ou c : Haplotype défavorable.

III. Diversité des haplotypes aux QTL de résistance à *A. euteiches* chez le pois

a) Dans les lignées du programme de création de géniteurs

La comparaison des haplotypes aux 11 blocs haplotypiques de résistance à *A. euteiches* identifiés dans la collection Aphanomyces, a montré une diversité d'haplotypes en fonction des variables synthétiques étudiées (PAC_CC_RRI_13_RB84, PAC_CC_RRI_09_Ae109, PAC_Field_ADII_All, PAC_Field_ADII2_All et PAC_Field_RRI_All). La combinaison de QTL à spectre d'action large face à différents pathotypes d'un même agent pathogène constitue une stratégie permettant de développer des résistances partielles durables et efficaces (Pilet-Nayel et al., 2017). Actuellement, l'agent pathogène *A. euteiches* est exclusivement présent sous la forme du pathotype I en France (Le May et al., 2017). Aujourd'hui, une stratégie de sélection efficace serait de cumuler les différents haplotypes favorables des blocs haplotypiques, [I.5, II.1, III.4, III.9, IV.2, VII.8, VII.11, VII.16, VII.18], associés à la résistance au pathotype I, afin de créer de nouvelles variétés adaptées au territoire français et à haut niveau de résistance partielle face à la pourriture racinaire molle. Parmi les lignées de la collection, des lignées « AeD », comportant jusqu'à 8 haplotypes favorables à ces blocs haplotypiques, ont présenté les niveaux les plus élevés de résistance partielle, confirmant l'efficacité de la stratégie de cumul de locus à effets partiels pour augmenter les niveaux de résistance. Par ailleurs, la veille sanitaire en France des populations de l'agent pathogène *A. euteiches* est une stratégie incontournable afin de prévenir l'introduction et la sélection du pathotype III américain face aux nouvelles résistances partielles principalement ciblées sur le pathotype I. Ainsi, dans l'éventualité de l'établissement du pathotype III en France, les haplotypes favorables aux blocs haplotypiques IV.5 et IV.8 pourraient être essentiels à exploiter dans les futurs schémas de sélection.

b) Dans de nouvelles sources de résistance

Parmi les 18 nouvelles sources de résistance étudiées, 14 lignées ont montré de nouveaux haplotypes de résistance et ont pu montrer des niveaux de résistance partielle plus élevés comparés aux parents résistants des 4 populations de RILs 90–2079, PI180693, 552 et 90–2131, validant ainsi un effet favorable des nouveaux haplotypes au sein des nouvelles sources de résistance. Néanmoins, 8 nouvelles sources de résistance ont été classées dans les mêmes groupes d'appartenance (n°1 et n°14) des 2 lignées parentales de référence PI180693 et 552, dont au moins 87% des 121 lignées GSP (AeA/B ou D) de la collection Aphanomyces ont été dérivées (Desgroux et al., 2016). Ainsi, la construction de la collection n'a pas été favorable à l'identification de nouveaux haplotypes au sein des nouvelles sources de résistance.

La nouvelle source de résistance E11 n'a pas apporté de nouveaux QTL de résistance au sein de la population de BAv Eden x E11, mais a présenté divers haplotypes originaux (n = 5) aux blocs haplotypiques identifiés, suggérant une diversité allélique potentielle aux locus connus. La source de résistance LISA a montré des valeurs moyennes assez élevées de résistance partielle, bien que cumulant le plus d'haplotypes défavorables de résistance à *A. euteiches* (n = 8) parmi les 18 nouvelles sources étudiées. Cette lignée pourrait donc porter de nouveaux QTL ou allèles aux locus connus de résistance partielle (notamment au niveau de l'haplotype II.1) non identifiés au cours de cette étude et des études précédentes. Au total, 9 lignées ont été identifiées au sein du groupe d'appartenance n°7 (pois de type hiver). Les lignées de pois d'hiver possèdent une moindre sensibilité à *A. euteiches* comparées aux pois de printemps en conditions contrôlées. De plus, elles échappent à la maladie du fait de leur stade plus avancé au printemps, au moment où les conditions climatiques deviennent plus favorables à la maladie (Moussart et al., 2018). Ainsi, l'étude des nouveaux haplotypes identifiés chez les nouvelles sources appartenant au groupe d'appartenance n°7 pourraient permettre de cibler de nouveaux

locus/allèles impliqués dans des mécanismes généraux de résistance de la plante aux stress et d'identifier de nouveaux QTL d'intérêt pour la résistance à *A. euteiches*.

Conclusion et perspectives

L'identification de nouveaux loci de résistance à *A. euteiches* représente un enjeu majeur afin d'appuyer de nouvelles stratégies de diversification et de combinaison de QTL permettant d'augmenter durablement les niveaux de résistance partielle des futures variétés de pois inscrites au catalogue français. En accord avec cet objectif, ce travail de stage de fin d'études a permis de tester l'hypothèse suivante :

- Il existe une nouvelle diversité de QTL, et/ou d'haplotype de marqueurs aux QTL connus, associés à la résistance à *A. euteiches*, identifiable (i) par analyse de liaison au sein de la population de BAV Eden x E11 et (ii) par analyse d'association revisitée au sein de la collection Aphanomyces.

Une première étude de liaison génétique au sein des 179 lignées de la population de BAV Eden x E11, génotypée avec 993 marqueurs SNP et phénotypée pour la résistance à *A. euteiches* dans différents environnements au champ et en conditions contrôlées, a permis de confirmer 3 des 7 principaux QTL (*Ae-Ps2.2*, *Ae-Ps3.1* et *Ae-Ps7.6*) ainsi que les QTL *Ae-Ps3.2* et *Ae-Ps7.5*, identifiés précédemment (Hamon, 2013), pour la résistance à *A. euteiches*. Des liaisons génétiques entre allèles de tardiveté et de résistance ont également été confirmées, notamment sur les LGII, LGIII et LGVII. Aucun nouveau QTL consistant, différent de ceux décrits au cours des études précédentes, n'a été identifié au sein de la population de BAV étudiée.

Une seconde étude d'association génome entier a permis de revisiter l'analyse des 175 lignées de la collection de pois Aphanomyces de Desgroux et al. (2016) avec 1 850 marqueurs SNP supplémentaires, dont 440 marqueurs ponts communs à la population de BAV Eden x E11. Au cours de cette nouvelle analyse, 28 marqueurs SNP ont significativement été associés à des variables de résistance à *A. euteiches* avec le modèle MLM. Les marqueurs « ponts » ont permis de confirmer par GWAS, 5 des 7 principaux QTL identifiés précédemment à partir de populations de RILs, dont 3 principaux QTL (*Ae-Ps2.2*, *Ae-Ps3.1*, *Ae-Ps7.6*) détectés également à partir de la population de BAV dans cette étude.

La diversité en haplotypes de marqueurs au sein des 175 lignées de la collection a été étudiée dans 11 blocs haplotypiques associés à la résistance de manière consistante, localisées dans les intervalles larges des 5 principaux QTL identifiés. Un cumul d'haplotypes favorables (>8) issus des sources de résistance travaillées en génétique (90-2131, 552 et PI180693) a été observé dans les lignées de sélection les plus résistantes dérivées de croisements combinant ces sources comme géniteurs. Par ailleurs, une nouvelle diversité d'haplotypes de résistance a été observée de manière intéressante au sein de nouvelles sources de résistance non étudiées précédemment en génétique. Par exemple, l'accession LISA, a présenté de bons niveaux de résistance partielle malgré un cumul élevé d'haplotypes défavorables aux 11 régions génomiques analysées. Il n'est donc pas exclu que cette lignée comporte des QTL potentiellement différents de ceux décrits au cours des études menées précédemment, qui n'auraient pas été identifiés en GWAS du fait de leur fréquence supposée rare.

Enfin, cette étude ouvre également la voie vers de nouvelles perspectives d'identification de gènes et mécanismes sous-jacents aux locus de résistance à *A. euteiches* chez le pois, pour mieux raisonner les stratégies de sélection de futures variétés résistantes. En particulier, (i) la projection des marqueurs flanquants aux QTL sur le génome du pois récemment séquencé, (ii) la production de données RNAseq d'identification d'expression des gènes putatifs aux QTL et (iii) l'évaluation des modes d'action des QTL de résistance sur les différentes étapes du cycle de vie d'*A. euteiches*, sont des approches essentielles et entreprises dans ces perspectives.

Références bibliographiques

- Agrios, G. N. (2005). Plant pathology. 5th Edition, Academic Press. ISBN: 978-0-12-044565-3
- Alexander, D. H., Novembre, J., & Lange, K. (2009). Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals. *Genome Research*, 19(9), 1655–1664. doi:10.1101/gr.094052.109
- Astle, W., & Balding, D. J. (2009). Population structure and cryptic relatedness in genetic association studies. *Statistical Science*, 24(4), 451–471. doi:10.1214/09-sts307
- Bates, D., Maechler, M., Bolker, B., & Walker, S. (2015). Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software*, 67(1), 1–48. doi:10.18637/jss.v067.i01
- Bevan, M. W., Uauy, C., Wulff, B. B. H., Zhou, J., Krasileva, K., & Clark, M. D. (2017). Genomic innovation for crop improvement. *Nature*, 543(7645), 346–354. doi:10.1038/nature22011
- Bourion, V., Rizvi, S. M. H., Fournier, S., de Larambergue, H., Galmiche, F., Marget, P., ... Burstin, J. (2010). Genetic dissection of nitrogen nutrition in pea through a QTL approach of root, nodule, and shoot variability. *Theoretical and Applied Genetics*, 121(1), 71–86. doi:10.1007/s00122-010-1292-y
- Boutet, G., Alves Carvalho, S., Falque, M., Peterlongo, P., Lhuillier, E., Bouchez, O., ... Baranger, A. (2016). SNP discovery and genetic mapping using genotyping by sequencing of whole genome genomic DNA from a pea RIL population. *BMC Genomics*, 17(1). doi:10.1186/s12864-016-2447-2
- Boutet, G., Lavaud, C., Coyne, C., Dufour, P., Lejeune-Hénaut, I., Lesné, A., Pilet-Nayel, M-L & Baranger, A. (2019). Identification of regions in the pea genome controlling both stress resistance and developmental traits. ICLGG. May 13-17th, Dijon, France.
- Boyeldieu, J. (1991). Produire des grains oléagineux et protéagineux. Paris, Lavoisier Tec&Doc, p 256. ISBN: 978-2-8520-6763-9
- Broman, K.W., Wu, H., Sen, S., & Churchill, G.A. (2003). R/qtl: QTL mapping in experimental crosses. *Bioinformatics* 19:889–890. doi:10.1093/bioinformatics/btg112
- Browning, S. R., & Browning, B. L. (2007). Rapid and accurate haplotype phasing and missing-data inference for whole-genome association studies by use of localized haplotype clustering. *The American Journal of Human Genetics*, 81(5), 1084–1097. doi:10.1086/521987
- Buntjer, J. B., Sørensen, A. P., & Peleman, J. D. (2005). Haplotype diversity: the link between statistical and biological association. *Trends in Plant Science*, 10(10), 466–471. doi:10.1016/j.tplants.2005.08.007
- Burstin, J., Salloignon, P., Chabert-Martinello, M., Magnin-Robert, J.-B., Siol, M., Jacquin, F., ... Duc, G. (2015). Genetic diversity and trait genomic prediction in a pea diversity panel. *BMC Genomics*, 16(1), 105. doi:10.1186/s12864-015-1266-1
- Chang, C. C., Chow, C. C., Tellier, L. C., Vattikuti, S., Purcell, S. M., & Lee, J. J. (2015). Second-generation PLINK: rising to the challenge of larger and richer datasets. *GigaScience*, 4(1). doi:10.1186/s13742-015-0047-8
- Christensen, R. H. B. (2019). ordinal - Regression Models for Ordinal Data. R package version 2019.4-25. <http://www.cran.r-project.org/package=ordinal/>
- Collard, B. C. Y., Jahufer, M. Z. Z., Brouwer, J. B., & Pang, E. C. K. (2005). An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: The basic concepts. *Euphytica*, 142(1-2), 169–196. doi:10.1007/s10681-005-1681-5
- Crosson, P., & Moussart, A. (2011). Aphanomyces - Un test pour cultiver du pois sans craintes. *Perspectives agricoles*, 378:68-71. ISSN:0399-8533
- De Givry, S., Bouchez, M., Chabrier, P., Milan, D., & Schiex, T. (2004). CARTHAGENE: multipopulation integrated genetic and radiation hybrid mapping. *Bioinformatics*, 21(8), 1703–1704. doi:10.1093/bioinformatics/bti222
- Desgroux, A. (2016). Rôle de l'architecture racinaire dans le contrôle génétique de la diminution des symptômes de pourriture racinaire dus à *Aphanomyces euteiches* chez le pois (*Pisum sativum*). *Biologie végétale. Agrocampus Ouest. Français*. <NNT : 2016NSARA076>. <tel-01615191v2>
- Desgroux, A., Baudais, V. N., Aubert, V., Le Roy, G., de Larambergue, H., Miteul, H., ... Bourion, V. (2018). Comparative genome-wide-association mapping identifies common loci controlling root system architecture and resistance to *Aphanomyces euteiches* in pea. *Frontiers in Plant Science*, 8. doi:10.3389/fpls.2017.02195
- Desgroux, A., L'Anthoëne, V., Roux-Duparque, M., Rivière, J.-P., Aubert, G., Tayeh, N., ... Pilet-Nayel, M.-L. (2016). Genome-wide association mapping of partial resistance to *Aphanomyces euteiches* in pea. *BMC Genomics*, 17(1). doi:10.1186/s12864-016-2429-4
- Dolezel, J., Greilhuber, S., Lucretti, S., Meister, A., Lysák, K., Nardi, L & Obermayer, R. (1998). Plant genome size estimation by flow cytometry: inter-laboratory comparison. *Annals of Botany*, 82, 17–26. doi:10.1006/anbo.1998.0730
- Duarte, J., Rivière, N., Baranger, A., Aubert, G., Burstin, J., Cornet, L., ... Boutet, G. (2014). Transcriptome sequencing for high throughput SNP development and genetic mapping in Pea. *BMC Genomics*, 15(1), 126. doi:10.1186/1471-2164-15-126
- Duparque, M., & Boitel, C. (2001). Common root rot (*Aphanomyces euteiches*) reduces the yield of pea (*Pisum sativum* L.) depending on the resistance level of the genotype. In: Proceedings of the 4th European conference on grain legumes, July 8-12th, Cracow, Poland, pp 270–271
- Fox, J., & Weisberg, W. (2019). An {R} Companion to Applied Regression, Third Edition. Thousand Oaks CA: Sage. URL: <https://socialsciences.mcmaster.ca/jfox/Books/Companion/>
- Francis, R. M. (2017). pophelper: an R package and web app to analyse and visualize population structure. *Mol Ecol Resour*, 17: 27–32. doi:10.1111/1755-0998.12509
- Hamon, C. (2010). Variabilité structurale des déterminants génétiques de la résistance à *Aphanomyces euteiches* chez le pois (*Pisum sativum* L.) et l'espèce légumineuse modèle, *Medicago truncatula*. *Biologie végétale. Agrocampus Ouest. Français*. N° ordre : 2010-3 N° Série : C-95
- Hamon, C., Baranger, A., Coyne, C. J., McGee, R. J., Le Goff, I., L'Anthoëne, V., ... Pilet-Nayel, M.-L. (2011). New consistent QTL in pea associated with partial resistance to *Aphanomyces euteiches* in multiple French and American environments. *Theoretical and Applied Genetics*, 123(2), 261–281. doi:10.1007/s00122-011-1582-z
- Hamon, C., Coyne, C. J., McGee, R. J., Lesné, A., Esnault,

- R., Mangin, P., ... Pilet-Nayel, M.-L. (2013). QTL meta-analysis provides a comprehensive view of loci controlling partial resistance to *Aphanomyces euteiches* in four sources of resistance in pea. *BMC Plant Biology*, 13(1), 45. doi:10.1186/1471-2229-13-45
- Harrell Jr, F. E., ... Dupont, C. (2020). Hmisc: Harrell Miscellaneous. R package version 4.4-0. <https://CRAN.R-project.org/package=Hmisc>
- Heffner, E. L., Sorrells, M. E., & Jannink, J.-L. (2009). Genomic selection for crop improvement. *Crop Science*, 49(1), 1. doi:10.2135/cropsci2008.08.0512
- Honaker, J., King, G., & Blackwell, M. (2011). Amelia II: A Program for Missing Data. *Journal of Statistical Software*, 45(7), 1-47. URL <http://www.jstatsoft.org/v45/i07/>
- Hospital, F. (2008). Challenges for effective marker-assisted selection in plants. *Genetica*, 136(2), 303–310. doi:10.1007/s10709-008-9307-1
- Hossard, L., Lannou, C., Papaix, J., Monod, H., L pezler, E., Souch re, V., & Jeuffroy, M.H. (2010). Quel déploiement spatio-temporel des variétés et des itin raires techniques pour accro tre la durabilité des résistances vari tales ? *Innovations Agronomiques* 8, 15-33. <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01173260>
- Huang, X., & Han, B. (2014). Natural variations and Genome-Wide Association Studies in crop plants. *Annual Review of Plant Biology*, 65(1), 531–551. doi:10.1146/annurev-arplant-050213-035715
- Hughes, T., & Grau, G. (2007). *Aphanomyces* root rot of common root rot of legumes. *The Plant Health Instructor*. doi:10.1094/PHI-I-2007-0418-01
- Johnson, R. (1981). Durable resistance: definition of, genetic control, and attainment in plant breeding. *Phytopathology* 71:567. doi: 10.1094/Phyto-71-567
- Jones, F. R. & Drechsler, C. (1925). Root rot of peas in the United States caused by *Aphanomyces euteiches* (n.sp.). *J. Agr. Research*, 30, 293–325
- Kal , P., Seres, A., Taylor, S. A., Jakab, J., Kevei, Z., Kereszt, A., ... Kiss, G. B. (2004). Comparative mapping between *Medicago sativa* and *Pisum sativum*. *Molecular Genetics and Genomics*, 272(3), 235–246. doi:10.1007/s00438-004-1055-z
- Korte, A. & Farlow, A. (2013). The advantages and limitations of trait analysis with GWAS: a review. *Plant Methods*, 9(1), 29. doi:10.1186/1746-4811-9-29
- Kraft, J. M. (1992). Registration of 90-2079, 90-2131, and 90-2322 pea germplasm. *Crop Sci*, 32:1076
- Kraft, J. M. & Boge, W.L. (1996). Identification of characteristics associated with resistance to root rot caused by *Aphanomyces euteiches* in pea. *Plant Dis* 80:1383-1386
- Kreplak, J., Madoui, M., C pal, P., ... Burstin, J. (2019) A reference genome for pea provides insight into legume genome evolution. *Nat Genet* 51, 1411–1422. doi:10.1038/s41588-019-0480-1
- Kusch, S., & Panstruga, R. (2017). *mlo*-based resistance: an apparently universal “weapon” to defeat powdery mildew disease. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 30(3), 179–189. doi:10.1094/mpmi-12-16-0255-cr
- Lavaud, C. (2015). Diversité et combinaison des modes d’actions des QTL de résistance   *Aphanomyces euteiches* chez le pois. *Biologie végétale*. Agrocampus Ouest. Français. <NNT: 2015NSARC121>. <tel-01493826>
- Lavaud, C., Baviere, M., Le Roy, G., & Pilet-Nayel, M. L. (2016). Single and multiple resistance QTL delay symptom appearance and slow down root colonization by *Aphanomyces euteiches* in pea near isogenic lines. *BMC Plant Biology*, 16(1). doi: 10.1186/s12870-016-0822-4
- Lavaud, C., Lesn , A., Piriou, C., Le Roy, G., Boutet, G., Moussart, A., ... Pilet-Nayel, M.-L. (2015). Validation of QTL for resistance to *Aphanomyces euteiches* in different pea genetic backgrounds using near-isogenic lines. *Theoretical and Applied Genetics*, 128(11), 2273–2288. doi:10.1007/s00122-015-2583-0
- Lecoeur, J. (2005) Développement v g tatif. In: Murier-Jolain N (ed) *Agrophysiologie du pois prot g ineux*. QUAE, Paris, pp 27-36. ISBN(INRA):2-7380-1182-9
- Lenth, R. (2020). emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means. R package version 1.4.4. <https://CRAN.R-project.org/package=emmeans>
- Leprévost, T. (2019). Impact des sources de résistance variétale sur l’évolution du pouvoir pathogène des populations d’*Aphanomyces euteiches* dans des successions culturales de légumineuses. Mémoire d’ingénieur agronome : Spécialisation Protection des Plantes et Environnement. Agrocampus Ouest, Rennes. 1 vol.
- Le May, C., Onfroy, C., Moussart, A., Andrivon, D., Baranger, A., Pilet-Nayel, M. L., & Vandemark, G. (2017). Genetic structure of *Aphanomyces euteiches* populations sampled from United States and France pea nurseries. *European Journal of Plant Pathology*, 150(2), 275–286. doi:10.1007/s10658-017-1274-x
- Le Van, A. L., Caffier, V., Lasserre-Zuber, P., Chauveau, A., Brunel, D., Le Cam, B., & Durel, C.-E. (2013). Differential selection pressures exerted by host resistance quantitative trait loci on a pathogen population: a case study in an apple × *Venturia inaequalis* pathosystem. *New Phytologist*, 197(3), 899–908. doi:10.1111/nph.12086
- Lewis, M., Gritton, E. (1992). Use of one cycle of recurrent selection per year for increasing resistance to *Aphanomyces* root rot in peas. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 117(4):638-42. doi:10.21273/JASHS.117.4.638
- Lipka, A. E., Tian, F., Wang, Q., Peiffer, J., Li, M., Bradbury, P. J., ... Zhang, Z. (2012). GAPIT: genome association and prediction integrated tool. *Bioinformatics*, 28(18), 2397–2399. doi:10.1093/bioinformatics/bts444
- Liu, N., Zhang, K., & Zhao, H. (2008). Haplotype-Association Analysis. *Advances in Genetics*, 335–405. doi:10.1016/s0065-2660(07)00414-2
- Lockwood, J., Ballard, J. (1960). Evaluation of pea introductions for resistance to *Aphanomyces* and *Fusarium* root rots. *Michigan Quarterly Bulletin*. 42:704-713
- Mackay, I. & Powell, W. (2007). Methods for linkage disequilibrium mapping in crops. *Trends in Plant Science*, 12(2), 57-63. doi: 10.1016/j.tplants.2006.12.001
- Mackay, T. F. C., Stone, E. A., & Ayroles, J. F. (2009). The genetics of quantitative traits: challenges and prospects. *Nature Reviews Genetics*, 10(8), 565–577. doi:10.1038/nrg2612
- Mammadov, J., Aggarwal, R., Buyyarapu, R., & Kumpatla, S. (2012). SNP markers and their impact on plant breeding. *International Journal of Plant Genomics*, 1–11. doi:10.1155/2012/72839

- McDonald, B. A., & Linde, C. (2002). Pathogen population genetics, evolutionary potential, and durable resistance. *Annual Review of Phytopathology*, 40(1), 349–379. doi:10.1146/annurev.phyto.40.120501.101443
- Moussart, A., Even, M. N., & Tivoli, B. (2008). Reaction of genotypes from several species of grain and forage legumes to infection with a French pea isolate of the oomycete *Aphanomyces euteiches*. *European Journal of Plant Pathology*, 122(3), 321–333. doi:10.1007/s10658-008-9297-y
- Moussart, A., Pilet-Nayel, M. L., & Baranger, A. (2018). Gestion du risque *Aphanomyces* sur pois. 12ème conférence internationale sur les maladies des plantes. Végéphyt. Tours
- Moussart, A., Wicker, E., Duparque, M., & Rouxel, F. (2001). Development of an efficient screening test for pea resistance to *Aphanomyces euteiches*. In: Proceedings of the 4th European conference on grain legumes. July 8-12th, Cracow, Poland
- Parlevliet, J. E. (2002). Durability of resistance against fungal, bacterial and viral pathogens; present situation. *Euphytica*, 124(2), 147–156. doi:10.1023/a:1015601731446
- Pilet-Nayel, M. L., Le May, C., & Moussart, A. (2019). *Aphanomyces* du pois : des avancées en génétique de la résistance. *Perspectives agricoles*, 469:42-46
- Pilet-Nayel, M. L., Moury, B., Caffier, V., Montarry, J., Kerlan, M.-C., Fournet, S., Durel, C.-E., & Delourme, R. (2017). Quantitative resistance to plant pathogens in pyramiding strategies for durable crop protection. *Frontiers in Plant Science*, 8. doi:10.3389/fpls.2017.01838
- Quenouille, J., Paulhiac, E., Moury, B., & Palloix, A. (2014). Quantitative trait loci from the host genetic background modulate the durability of a resistance gene: a rational basis for sustainable resistance breeding in plants. *Heredity*, 112(6), 579–587. doi:10.1038/hdy.2013.138
- Quillévéré-Hamard, A., Le Roy, G., Moussart, A., Baranger, A., Andrivon, D., Le May, C., & Pilet-Nayel, M.-L. Aggressiveness diversity of *Aphanomyces euteiches* isolates from pea-growing regions in France on single and multiple resistance QTL in pea near isogenic lines. En révision.
- R Core Team. (2020). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>
- Rincet, R., Moreau, L., Monod, H., Kuhn, E., Melchinger, A. E., Malvar, R. A., ... Mary-Huard, T. (2014). Recovering power in association mapping panels with variable levels of linkage disequilibrium. *Genetics*, 197(1), 375–387. doi:10.1534/genetics.113.159731
- Roux-Duparque, M., & Boitel, C. (2004). Breeding peas for resistance to *Aphanomyces* root rot: current main outputs of three breeding programmes. 5th Eur Conf Grain Legumes, Dijon, France, p 133
- Roux, F., Voisin, D., Badet, T., Balagué, C., Barlet, X., Huard-Chauveau, C., ... Raffaele, S. (2014). Resistance to phytopathogens *e tutti quanti*: placing plant quantitative disease resistance on the map. *Molecular Plant Pathology*, 15(5), 427–432. doi:10.1111/mpp.12138
- Segura, V., Vilhjálmsson, B. J., Platt, A., Korte, A., Seren, Ü., Long, Q., & Nordborg, M. (2012). An efficient multi-locus mixed-model approach for genome-wide association studies in structured populations. *Nature Genetics*, 44(7), 825–830. doi:10.1038/ng.2314
- Sosnowski, O., Charcosset, A., & Joets, J. (2012). BioMercator V3: an upgrade of genetic map compilation and quantitative trait loci meta-analysis algorithms. *Bioinformatics*, 28(15), 2082–2083. doi:10.1093/bioinformatics/bts313
- Tanksley, S. D., & Nelson, J. C. (1996). Advanced backcross QTL analysis: a method for the simultaneous discovery and transfer of valuable QTLs from unadapted germplasm into elite breeding lines. *Theoretical and Applied Genetics*, 92(2), 191–203. doi:10.1007/bf00223376
- Tayeh, N., Aluome, C., Falque, M., Jacquin, F., Klein, A., Chauveau, A., ... Burstin, J. (2015a). Development of two major resources for pea genomics: the GenoPea 13.2K SNP Array and a high-density, high-resolution consensus genetic map. *The Plant Journal*, 84(6), 1257–1273. doi:10.1111/tpj.13070
- Tayeh, N., Aubert, G., Pilet-Nayel, M.-L., Lejeune-Hénaut, I., Warkentin, T. D., & Burstin, J. (2015b). Genomic tools in pea breeding programs: status and perspectives. *Frontiers in Plant Science*, 6. doi:10.3389/fpls.2015.01037
- Treigien, A., & Markovskaja, S. (2007). Microscopic fungi on *Carpinus betulus* in Lithuania 2. Anamorphic Fungi *Botanica Lithuanica*, 13: 45–50
- Voorrips, R. E. (2002). MapChart: Software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs. *Journal of Heredity*, 93(1), 77–78. doi:10.1093/jhered/93.1.77
- Warkentin, TD. (2015). Pea. In: De Ron AM, editor. *Grain Legumes. Handbook of Plant Breeding*, vol 10: Springer-Verlag New York. ISSN: 2363-8478
- Wei, T., & Simko, W. (2017). R package "corrplot": Visualization of a Correlation Matrix (Version 0.84). <https://github.com/taiyun/corrplot>
- Wicker, E. (2001). Diversité des populations françaises d'*Aphanomyces euteiches* Drechs., agent de la pourriture racinaire du pois: variabilité pathogène et moléculaire. Génétique des populations [q-bio.PE]. Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Rennes. Français. <tel-01269995>
- Würschum, T. (2012). Mapping QTL for agronomic traits in breeding populations. *Theoretical and Applied Genetics*, 125(2), 201–210. doi:10.1007/s00122-012-1887-6

Sites web :

Fédération Française des Producteurs d'Oléagineux et de Protéagineux. [En ligne] Disponible sur : <http://www.fopoleopro.com/la-fop/nos-cultures/pois-2/> (consultée le 27 février 2020)

Segura, V. Multi-Locus Mixed-Model (MLMM) script. 2013. [En ligne] Disponible sur : <https://sites.google.com/site/vincentosegura/mlmm> (consultée le 08/05/2020)

Terres Inovia. *Aphanomyces* : vérifier le potentiel infectieux de la parcelle avant l'implantation du pois. [En ligne]. Disponible sur : <https://www.terresinovia.fr/-aphanomyces-verifier-le-potentiel-infectieux-de-la-parcelle-avant-l-implantation-du-pois> (consultée le 13 avril 2020)

Terres Univia. L'interprofession des huiles et protéines végétales. [En ligne] Disponible sur : <http://www.terresunivia.fr> (consultée le 13 avril 2020)

Terres Univia. La pourriture racinaire du pois due à *Aphanomyces*. Stratégie de gestion du risque [En ligne] Disponible sur : <https://www.arvalis-infos.fr/file/galleryelement/pj/b1/0f/43/99/aphanomyces821106418699469363.pdf> (consultée le 27 février 2020)

Annexes

I. Calcul d'héritabilité d'un caractère au niveau d'un système de test à répétitions

Soit un dispositif comprenant I lignées, chacune répétée J fois. Une analyse de variance à un facteur peut être réalisée selon le modèle :

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij}$$

Avec Y_{ij} : valeur phénotypique de la lignée i dans la répétition j
 μ : moyenne générale de toutes les lignées
 α_i : effet du génotype de la lignée i
 ε_{ij} : erreur aléatoire résiduelle

L'héritabilité est alors calculée à partir de résultats de l'analyse de variance en posant :

$$E(CM_G) = \theta^2_e + J.\theta^2_G \text{ et } E(CM_e) = \theta^2_e$$

Avec θ^2_G : variance génotypique
 θ^2_e : variance environnementale
 CM_G : carré moyen génotypique
 CM_e : carré moyen résiduel
J : nombre de répétitions par lignée

Le carré moyen est une bonne estimation de l'espérance du carré moyen donc on en déduit :

$$\theta^2_e = E(CM_e) \text{ et } \theta^2_G = \frac{1}{J}(E(CM_G) - E(CM_e))$$

L'héritabilité au sens large est définie par le rapport de la variance génotypique sur la variance phénotypique (θ^2_P) :

$$h_L^2 = \frac{\theta_G^2}{\theta_P^2} \text{ avec } \theta_P^2 = \theta_G^2 + \frac{1}{J} \theta_e^2$$

$$\text{Donc } h_L^2 = \frac{\frac{1}{J}(CM_G - CM_e)}{\frac{1}{J}(CM_G - CM_e) + \frac{1}{J}CM_e} = \frac{CM_G - CM_e}{CM_G} = 1 - \frac{CM_e}{CM_G}$$

Avec $F = \frac{CM_G}{CM_e}$ = valeur de Fisher

$$\text{D'où } \boxed{h_L^2 = 1 - \frac{1}{F} = h_S^2}$$

II. Résultats statistiques de l'analyse des variables phénotypiques de la population de BAv Eden x E11

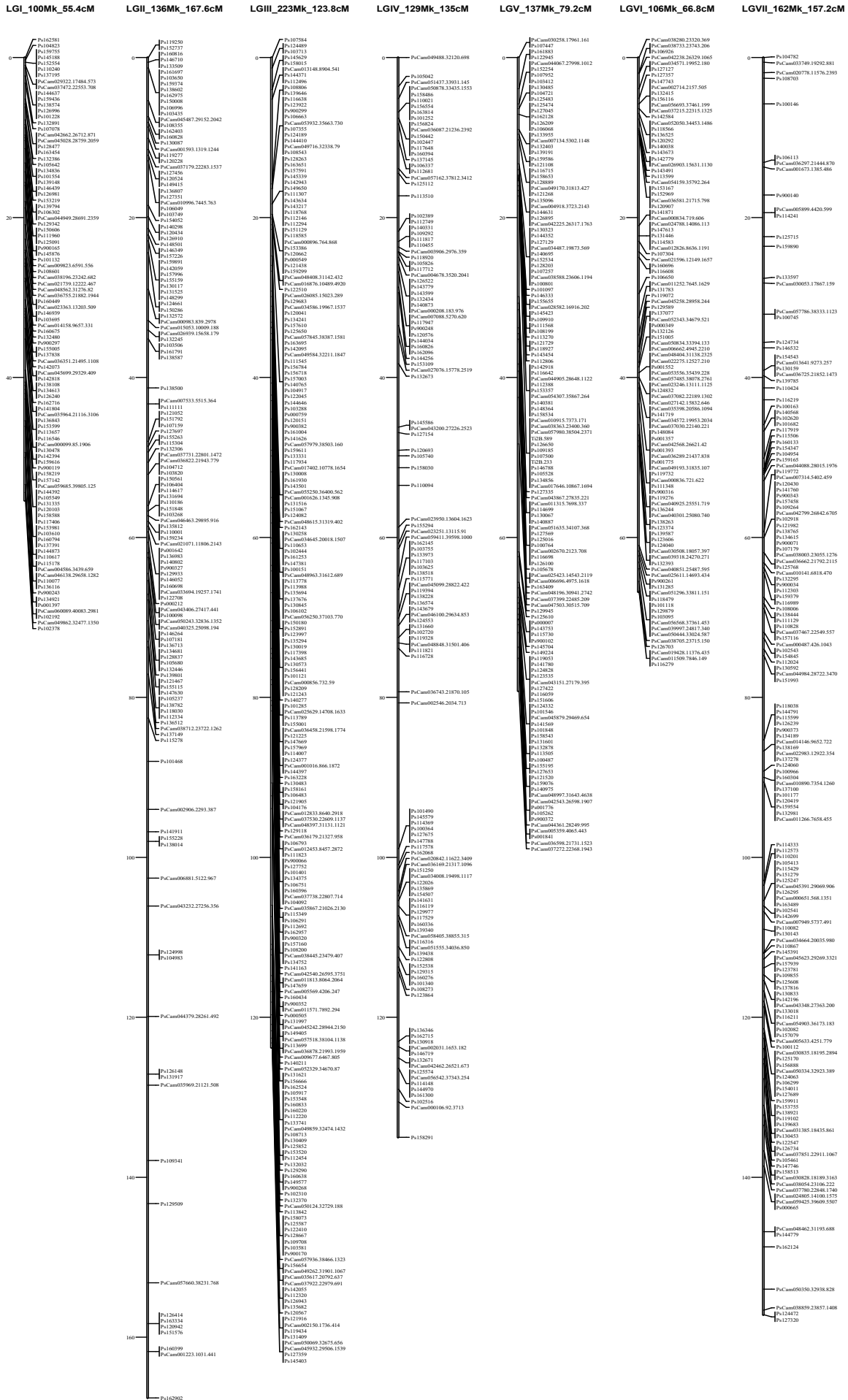
Population de BAv EDEN x E11

		Modèle GLM (Y ~ G + N + Gr)							Modèle GLM (Y ~ G)	
		Variable	Nombre de lignées	Nombre d'observations	R ² ajusté du modèle	Effet du génotype (pvalue)	Effet du bloc gradient (pvalue)	Effet du bloc notateur (pvalue)	Héritabilité (h ²)	
Données champs Dijon et Riec	Riec	EE_Field_RRI_19_RI	160	468	0,23	**	*	***	0,08	
		EE_Field_ADI1_19_RI	160	465	0,24	**	***	***	0,1	
		EE_Field_ADI2_19_RI	160	465	0,24	***	**	,	0,44	
	Dijon	EE_Field_ADI1_19_DI	155	458	0,22	***	**	*	0,38	
		EE_Field_ADI2_19_DI	155	458	0,42	***		***	0,53	
		EE_Field_ADI3_19_DI	155	458	0,46	***	***	*	0,68	
		EE_Field_FLO2_19_DI	155	458	0,93	***	**	,	0,97	
			Modèle GLMM (Y ~ G + (1 N) + (1 Gr))							
			Variable	Nombre de lignées	Nombre d'observations	Maximum de vraisemblance (REML) du modèle	Effet du génotype (pvalue)			
	Riec	EE_Field_RRI_19_RI	160	468	594,2	0,001				
		EE_Field_ADI1_19_RI	160	465	698,1	0,001				
		EE_Field_ADI2_19_RI	160	465	839,8	5,17E-10				
	Dijon	EE_Field_ADI1_19_DI	155	458	855,4	1,23E-07				
		EE_Field_ADI2_19_DI	155	458	877,9	2,20E-16				
EE_Field_ADI3_19_DI		155	458	732,7	2,20E-16					
EE_Field_FLO2_19_DI		155	458	872,3	2,20E-16					
		Modèle CLM (Y ~ G + B + G:B)							Modèle GLM (Y ~ G)	
		Variable	Nombre de lignées	Nombre d'observations	Valeur cond.H du modèle	Effet du génotype (pvalue)	Effet du bloc (pvalue)	Effet de l'interaction génotype x bloc (pvalue)	Héritabilité (h ²)	
Données conditions contrôlées	Souche RB84	EE_CC_RRI_19_RB84	150	3000	2,80E+12	***	***	***	0,83	
	Souche Ae109	EE_CC_RRI_16_Ae109	164	3280	2,00E+05	***	*	***	0,84	
			Modèle CLMM (Y ~ G + (1 B) + (1 G:B))							
			Variable	Nombre de lignées	Nombre d'observations	Valeur cond.H du modèle	Effet du génotype (pvalue)			
	Souche RB84	EE_CC_RRI_19_RB84	150	3000	1,60E+04	2,20E-16				
	Souche Ae109	EE_CC_RRI_16_Ae109	164	3280	6,50E+03	2,20E-16				

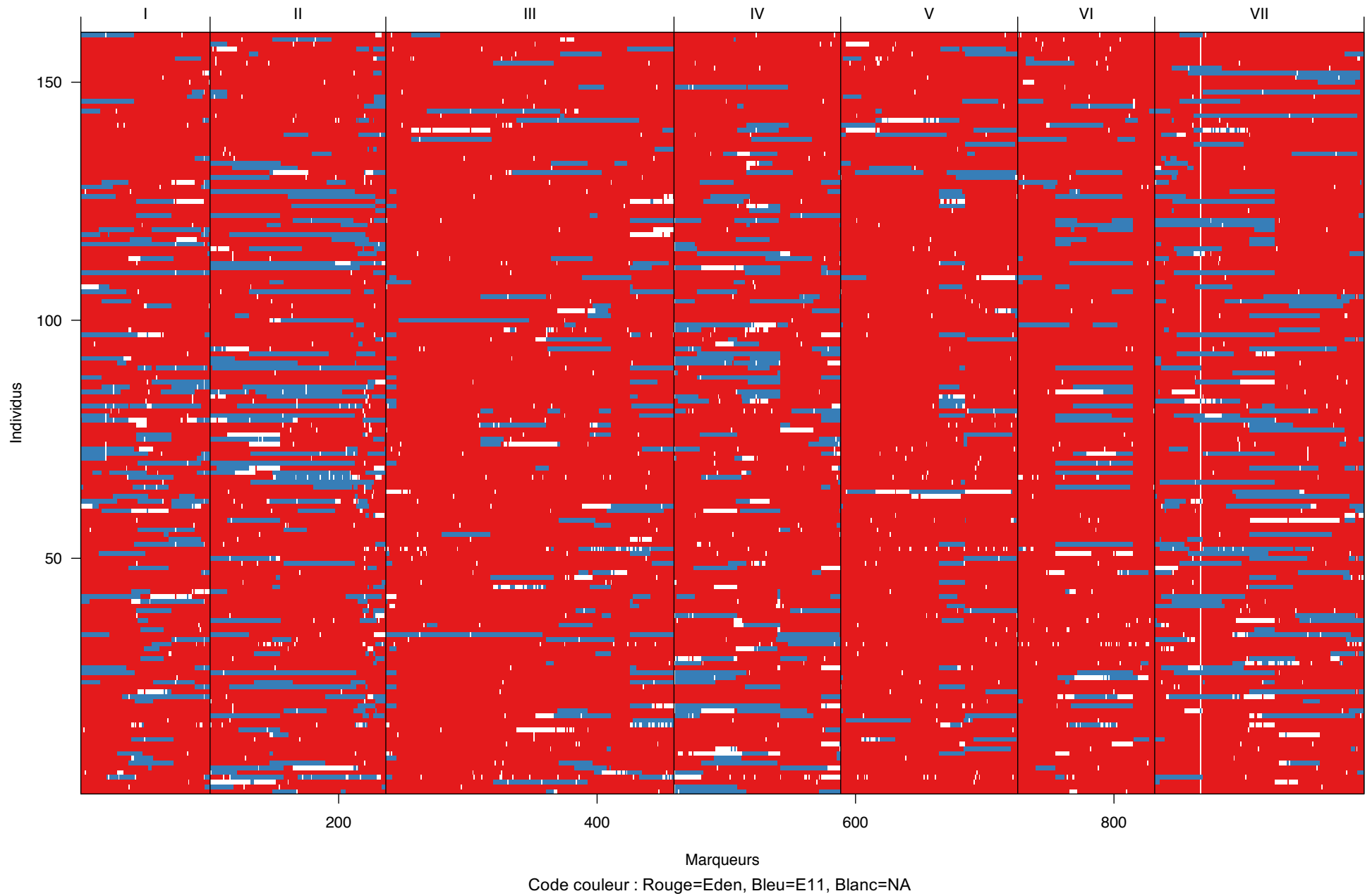
Légendes :

*** : pvalue < 0,001 G : Facteur génotype
 ** : pvalue < 0,01 N : Facteur notateur
 * : pvalue < 0,05 Gr : Facteur gradient
 , : pvalue < 0,1 B : Facteur bloc

III. Carte génétique de la population de BAv Eden x E11



IV. Recombinations génétiques observées au sein des 7 groupes de liaison de la population de BA_v Eden x E11



V. Synthèse des SNP identifiés comme significatifs lors de l'analyse GWAS avec les modèles MLM et MLMM de la collection de pois Aphanomyces pour une valeur de p-value seuil de $3,6.10^{-5}$

Analyse MLMM							Analyse MLM	
LG (a)	Position cM (b)	Marqueur identifié (c)	Variable (d)	h^2 (e)	Effet allélique (f)	p-value (g)	p-value	
I	2,8	PsCam056019_36905_1595	PAC_Field_ADI1_10_DI	0,82	$0,49 \pm 0,11$	2,54E-05	3,40E-05	
	4,1	PsCam044835_28587_1878	PAC_Field_ADI1_All	0,81	$0,29 \pm 0,04$	2,09E-10	6,40E-09	
			PAC_Field_ADI1_12_RI	0,88	$0,41 \pm 0,09$	1,48E-05		
				PAC_Field_ADI1_13_DI	0,82	$0,45 \pm 0,06$	3,90E-11	2,80E-11
				PAC_Field_ADI2_All	0,84	$0,23 \pm 0,05$	7,30 ^E -06	3,01E-05
				PAC_Field_ADI2_13_RI	0,7	$0,28 \pm 0,06$	3,04E-05	3,34E-05
81,2	PsCam008331_5911_76	PAC_Field_ADI2_10_DI	0,89	$0,29 \pm 0,06$	2,00E-05			
II	18,6	Ps146349	PAC_Field_ADI1_12_DI	0,86	$-0,37 \pm 0,08$	2,11E-05		
	42,1	PsCam033694_19257_1741	PAC_Field_ADI1_All	0,81	$0,2 \pm 0,05$	2,51E-05		
			PAC_Field_ADI1_12_DI	0,86	$0,26 \pm 0,06$	6,57E-06		
	45,5	PsCam050446_33026_139	PAC_FLO1_10_REN	0,96	$-3,13 \pm 0,67$	5,68E-06	9,99E-06	
			PAC_FLO1_12_REN	1	$-4,88 \pm 0,64$	1,93E-12	1,34E-05	
	48,55	Ps109799	PAC_FLO1_10_REN	0,96	$2,65 \pm 0,46$	3,29E-08		
61,3	PsCam023058_12963_1785	PAC_FLO1_12_REN	1	$-1,71 \pm 0,4$	2,86E-05			
III	22,4	PsCam017207_10682_389	PAC_FLO1_12_REN	1	$-3,9 \pm 0,61$	1,68E-09		
	22,45	Ps900382	PAC_FLO2_10_REN	0,95	$4,18 \pm 0,56$	4,00E-12	2,04E-07	
	26,98	Ps122045	PAC_FLO2_12_REN	0,99	$6,23 \pm 0,73$	1,26E-14	2,24E-07	
			PAC_RIPE_10_REN	0,87	$3,1 \pm 0,47$	6,97E-10	7,26E-06	
			PAC_RIPE_12_REN	0,93	$1,88 \pm 0,41$	9,39E-06		
	31,6	PsCam035590_20765_380	PAC_Field_RRI_All	0,92	$0,15 \pm 0,03$	1,23E-08	7,21E-08	
	32,6	PsCam033448_19109_892	PAC_Field_ADI1_12_DI	0,86	$-0,26 \pm 0,06$	6,68E-06		
	32,7	PsCam023109_13003_2421	PAC_Field_RRI_11_DI	0,88	$0,21 \pm 0,04$	2,89E-06	5,54E-06	
			PAC_Field_RRI_12_RI	0,78	$0,17 \pm 0,04$	1,95E-05		
	36,3	PsCam028714_17011_171	PAC_Field_RRI_11_RI	0,73	$-0,29 \pm 0,05$	4,03E-09	9,59E-08	
			PAC_Field_ADI2_12_RI	0,81	$-0,4 \pm 0,09$	2,57E-05	3,32E-05	
	36,35	PsCam047784_30664_127	PAC_RIPE_12_REN	0,93	$1,08 \pm 0,24$	1,62E-05		
	38,3	PsCam034645_20018_1507	PAC_Field_ADI1_13_DI	0,82	$0,34 \pm 0,06$	2,89E-07	5,55E-06	
	39,53	Ps158845	PAC_Field_ADI2_13_DI	0,83	$0,47 \pm 0,08$	8,08E-09	2,45E-05	
40,4	PsCam051159_33688_656	PAC_Field_ADI2_12_DI	0,96	$-0,7 \pm 0,12$	4,56E-08			
44,6	PsCam030789_18160_162	PAC_Field_ADI1_All	0,81	$0,21 \pm 0,04$	2,92E-06			
63,1	PsCam021109_11830_298	PAC_Field_ADI1_12_RI	0,88	$0,58 \pm 0,12$	3,97E-06			
65,9	PsCam012833_8640_2918	PAC_HT_10_REN	0,97	$7,46 \pm 1,45$	7,32E-07			
		PAC_HT_12_REN	0,98	$7,76 \pm 1,67$	7,22E-06			
99,2	PsCam052258_34614_574	PAC_RIPE_12_REN	0,93	$-1,2 \pm 0,2$	1,45E-08			
109,72	Ps108713	PAC_Field_ADI2_12_DI	0,96	$-0,84 \pm 0,19$	1,28E-05			
132	PsCam035617_20792_637	PAC_HT_10_REN	0,97	$32,24 \pm 2,63$	9,27E-25	9,37E-20		
		PAC_HT_12_REN	0,98	$37,38 \pm 3,05$	1,11E-24	2,49E-18		
IV	1,9	PsCam000212_185_449	PAC_Field_RRI_10_DI	0,78	$0,2 \pm 0,05$	3,57E-05		

	5,9	PsCam050850_33409_1793	PAC_Field_ADI2_12_KEN	0,55	0,36 ± 0,08	1,73E-05	2,57E-05
	61,6	PsCam039023_24009_852	PAC_CC_RRI_09_Ae109	0,91	-0,29 ± 0,06	7,82E-07	
	76,2	PsCam039135_24109_1277	PAC_CC_RRI_09_Ae109	0,91	0,85 ± 0,06	4,61E-28	1,00E-19
V	41,3	PsCam043719_27704_536	PAC_Field_ADI1_11_DI	0,92	0,63 ± 0,13	4,14E-06	5,13E-06
	55,5	PsCam025549_14644_655	PAC_FLO2_10_REN	0,95	-1,35 ± 0,28	3,48E-06	
	76,5	PsCam046260_29751_2122	PAC_FLO2_12_REN	0,99	-1,94 ± 0,42	7,99E-06	
VI	88,3	PsCam036411_21551_388	PAC_Field_ADI1_12_DI	0,86	-0,26 ± 0,06	1,61E-05	
	39,9	PsCam001661_1374_958	PAC_Field_ADI1_12_RI	0,88	0,47 ± 0,09	9,27E-07	
	42,3	PsCam003637_2797_421	PAC_HT_12_REN	0,98	-8,35 ± 1,57	3,59E-07	
	42,6	PsCam034444_19834_358	PAC_HT_10_REN	0,97	-6,28 ± 1,37	9,58E-06	
	42,8	PsCam023077_12977_819	PAC_Field_ADI2_12_DI	0,96	-0,65 ± 0,13	2,13E-06	
	46,2	PsCam059910_39952_100	PAC_Field_ADI2_10_DI	0,89	-0,32 ± 0,07	1,18E-05	
	57,7	PsCam049829_32444_1381	PAC_FLO2_12_REN	0,99	-2,59 ± 0,38	2,18E-10	
	70,8	Ps115429	PAC_CC_RRI_13_RB84	0,78	-0,35 ± 0,04	4,18E-13	2,51E-12
			PAC_CC_RRI_09_RB84	0,86	-0,32 ± 0,03	3,63E-16	1,40E-15
	73,1	PsCam044935_28677_577	PAC_Field_RRI_12_RI	0,78	-0,16 ± 0,04	2,35E-05	
	86,4	PsCam056236_37092_1071	PAC_Field_ADI1_All	0,81	0,31 ± 0,06	7,73E-07	
VII			PAC_Field_ADI2_All	0,84	0,41 ± 0,07	1,62E-07	1,89E-06
			PAC_Field_ADI2_12_DI	0,96	0,82 ± 0,18	1,55E-05	
			PAC_Field_ADI2_13_DI	0,83	0,57 ± 0,11	7,53E-07	2,54E-05
	87,86	Ps131484	PAC_Field_ADI2_11_RI	0,55	0,45 ± 0,1	1,96E-05	2,20E-05
			PAC_FLO1_10_REN	0,96	-5,42 ± 0,55	4,76E-18	7,59E-11
			PAC_FLO1_12_REN	1	-5,03 ± 0,45	1,29E-21	6,95E-12
			PAC_FLO2_10_REN	0,95	-2,78 ± 0,44	2,60E-09	4,92E-06
			PAC_FLO2_12_REN	0,99	-5,82 ± 0,59	5,55E-18	1,02E-08
			PAC_RIPE_10_REN	0,87	-2,57 ± 0,39	5,44E-10	3,13E-06
			PAC_RIPE_12_REN	0,93	-3,74 ± 0,32	1,48E-22	7,87E-13
			PAC_HT_12_REN	0,98	-10,51 ± 2,27	7,59E-06	
	97,7	PsCam057114_37774_486	PAC_FLO1_10_REN	0,96	-2,21 ± 0,46	4,06E-06	
	98,5	PsCam030828_18189_3163	PAC_Field_RRI_12_RI	0,78	0,23 ± 0,05	1,74E-06	
			PAC_Field_ADI2_10_DI	0,89	0,49 ± 0,1	2,22E-06	

^(a) Groupe de liaison ; ^(b) Position en cM du SNP ; ^(c) Marqueur SNP ; ^(d) Variable phénotypique étudiée ; ^(e) Valeur d'héritabilité de chaque variable calculée par [Desgroux et al. \(2010\)](#) ; ^(f) Effets alléliques et ^(g) p-values calculés pour les SNP de chaque variable, identifiés comme significatifs au sein de l'analyse MLMM ; ^(h) p-values calculées pour les SNP de chaque variable, identifiés comme significatifs au sein de l'analyse MLM.

VI. Description des 18 blocs haplotypiques identifiés ($r^2 > 0,7$) au sein des 172 lignées de pois de la collection Aphanomyces. Une couleur grise signifie que l'haplotype comporte au moins 5% d'individus de la collection. Une couleur verte ou orange signifie que l'haplotype est favorable ou défavorable, respectivement

ID	Marqueur										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
	Pos	1,8	2,2	2,8	2,8	2,8	4,1	4,3	5	5	
	pvalue	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	
		0,70		1	0,86	1	0,72		0,71		
I.5	LG	Pos	Marqueur	Variable							
		2,8	PsCam056019_36905_1595	PAC_Field_AD11_10_DI	PAC_Field_AD11_All	PAC_Field_AD11_12_RI	PAC_Field_AD11_13_DI	PAC_Field_AD12_All	PAC_Field_AD12_13_RI	2,09E-10	
	1	4,1	PsCam044835_28587_1878							1,49E-05	
										3,90E-11	
										7,30E-06	
										3,04E-05	

SNP1	SNP2	SNP3	SNP4	SNP5	SNP6	SNP7	SNP8	SNP9	SNP10	Haplotype	Individu	Individu(%)	PAC_Field_AD11_10_DI	PAC_Field_AD11_All	PAC_Field_AD11_12_RI	PAC_Field_AD11_13_DI	PAC_Field_AD12_All	PAC_Field_AD12_13_RI	
GG	AA	CC	AA	TT	GG	GG	CC	AA	TT	a	60	34,88	2,32 +/- 0,15 A	2,64 +/- 0,07 A	3,72 +/- 0,14 A	2,17 +/- 0,1 A	4,45 +/- 0,08 A	3,43 +/- 0,09 A	
TT	CC	TT	CC	CC	TT	AA	TT	GG	GG	b	76	44,19	3,03 +/- 0,13 B	3,1 +/- 0,06 B	4,08 +/- 0,13 A	3,07 +/- 0,09 B	4,77 +/- 0,07 B	3,88 +/- 0,08 B	
GG	AA	CC	AA	TT	TT	AA	TT	GG	GG	c	4	2,33							
TT	AA	CC	AA	TT	GG	GG	CC	AA	TT	d	4	2,33							
GG	AA	TT	CC	CC	GG	GG	CC	AA	TT	e	4	2,33							
GG	AA	TT	CC	CC	TT	AA	TT	GG	GG	f	2	1,16							
GG	CC	TT	CC	CC	TT	AA	TT	GG	GG	g	1	0,58							
TT	CC	CC	CC	TT	GG	GG	CC	AA	TT	h	1	0,58							
TT	CC	CC	CC	TT	GG	CC	AA	TT	TT	i	3	1,74							
TT	CC	TT	AA	CC	TT	GG	TT	AA	GG	j	1	0,58							
TT	CC	TT	AA	CC	TT	AA	TT	GG	GG	k	1	0,58							
TT	AA	TT	AA	CC	TT	GG	TT	AA	GG	l	1	0,58							
TT	AA	TT	CC	CC	TT	AA	TT	GG	GG	m	2	1,16							
TT	AA	TT	CC	CC	GG	AA	TT	GG	TT	n	2	1,16							
TT	CC	TT	CC	CC	TT	AA	TT	AA	GG	o	1	0,58							
TT	AA	TT	AA	CC	TT	GG	TT	AA	TT	p	1	0,58							
GG	AA	CC	AA	TT	TT	GG	TT	AA	GG	q	1	0,58							
TT	CC	TT	CC	CC	GG	GG	CC	AA	TT	r	1	0,58							
GG	AA	TT	AA	CC	TT	AA	TT	GG	GG	s	1	0,58							
TT	AA	TT	CC	CC	GG	AA	TT	AA	GG	t	1	0,58							
TT	CC	TT	CC	CC	TT	GG	TT	GG	GG	u	1	0,58							
Haplotype Hc											3	1,74							

ID	Marqueur								
	1	2	3	4	5	6	7	8	
	Pos	40,7	41,2305532	41,2484218	41,6133594	41,885241	41,8927446	42,1	42,2112127
	pvalue	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2
		0,73	0,73	0,71	0,82	0,99	0,99	1	0,77
II.1	LG	Pos	Marqueur	Variable					
		2	PsCam033694_19257_1741	PAC_Field_AD11_All	PAC_Field_AD11_12_DI				2,51E-05
									6,57E-06

SNP1	SNP2	SNP3	SNP4	SNP5	SNP6	SNP7	SNP8	Haplotype	Individu	Individu(%)	PAC_Field_AD11_All	PAC_Field_AD11_12_DI
CC	CC	AA	AA	TT	AA	TT	CC	a	59	34,3	2,67 +/- 0,07 A	1,6 +/- 0,08 A
AA	TT	GG	CC	CC	GG	CC	AA	b	86	50	3,08 +/- 0,06 B	2,08 +/- 0,07 B
AA	CC	AA	AA	CC	GG	CC	CC	c	2	1,16		
AA	TT	GG	CC	CC	GG	CC	CC	d	3	1,74		
AA	CC	AA	CC	CC	GG	CC	CC	e	1	0,58		
CC	CC	AA	AA	TT	AA	TT	AA	f	2	1,16		
CC	CC	AA	AA	CC	GG	CC	AA	g	2	1,16		
AA	TT	GG	CC	TT	AA	TT	CC	h	2	1,16		
CC	CC	AA	CC	CC	GG	CC	AA	i	1	0,58		
CC	CC	GG	CC	CC	GG	CC	AA	j	1	0,58		
AA	CC	AA	AA	TT	AA	TT	CC	k	2	1,16		
AA	CC	GG	AA	TT	AA	TT	CC	l	2	1,16		
AA	TT	AA	CC	TT	AA	TT	CC	m	1	0,58		
AA	CC	AA	CC	CC	GG	CC	CC	n	2	1,16		
AA	TT	AA	CC	CC	GG	CC	CC	o	1	0,58		
Haplotype Hc									5	2,9		

ID	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
	PsCam007741_5640_142	PsCam052013_34421_1008	PsCam025485_14596_2858	PsCam00970_827_2033	PsCam030187_24156_997	PsCam059543_39701_683	PsCam050243_32836_1352	PsCam025235_17487_1276	PsCam058401_21322_1511	PsCam039592_24502_3918	PsCam049207_31848_271	PsCam050446_33026_139	PsCam059731_30832_238	PsCam01058_7412_642	PsCam035741_20914_11066	PsCam043401_27414_292	PsCam050806_33451_1641	PsCam060024_19_1205	PsCam002632_21064_200	PsCam022709_12769_180	PsCam034788_20145_774	PsCam05669_31460_234	PsCam010845_7436_412	PsCam017051_10599_277
Pos	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2
HL3	2	45,5	PsCam050446_33026_139		PAC_FLO1_10_REN		PAC_FLO1_12_REN		5,68E-06		1,93E-12													
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	
	0,81	0,79	1	0,81	0,91	1	0,79	0,79	0,81	0,791	0,91	1	1	0,75	0,98	0,86	0,70	1	1	1	0,75	0,93	0,71	0,70

SNP1	SNP2	SNP3	SNP4	SNP5	SNP6	SNP7	SNP8	SNP9	SNP10	SNP11	SNP12	SNP13	SNP14	SNP15	SNP16	SNP17	SNP18	SNP19	SNP20	SNP21	SNP22	SNP23	SNP24
GG	GG	AA	TT	GG	TT	GG	CC	AA	AA	GG	CC	GG	CC	AA	TT	AA	TT	TT	GG	TT	TT	CC	AA
AA	AA	GG	CC	AA	CC	AA	AA	GG	GG	TT	AA	AA	TT	GG	CC	GG	CC	CC	TT	CC	CC	TT	GG
AA	AA	GG	TT	AA	CC	AA	CC	GG	GG	TT	AA	AA	CC	CC	TT	AA	CC	CC	TT	CC	CC	TT	AA
AA	AA	GG	CC	AA	CC	AA	AA	GG	GG	TT	AA	AA	TT	GG	CC	CC	CC	TT	TT	CC	CC	TT	AA
AA	AA	GG	TT	AA	CC	GG	AA	GG	GG	TT	AA	AA	TT	GG	CC	CC	CC	TT	TT	CC	TT	GG	TT
AA	AA	GG	CC	AA	CC	AA	AA	GG	GG	TT	AA	AA	TT	GG	CC	AA	CC	CC	TT	CC	CC	TT	GG
AA	GG	GG	CC	GG	CC	AA	AA	GG	GG	TT	AA	AA	CC	GG	CC	CC	CC	TT	CC	CC	TT	GG	TT
GG	GG	GG	TT	AA	CC	AA	AA	GG	AA	AA	GG	AA	AA	TT	GG	CC	GG	CC	CC	TT	CC	CC	TT
AA	AA	GG	CC	AA	CC	GG	CC	GG	CC	TT	AA	AA	CC	GG	CC	CC	CC	TT	CC	CC	TT	GG	TT
GG	GG	GG	CC	AA	CC	AA	AA	GG	AA	AA	TT	AA	AA	TT	GG	CC	CC	CC	TT	CC	CC	TT	GG
GG	GG	GG	CC	AA	CC	AA	AA	GG	AA	AA	TT	AA	AA	TT	GG	CC	CC	CC	TT	CC	CC	TT	GG
Haplotype	Individu	Individu(%)																					
a	14	8,14	138,88 +/- 0,96 A																				
b	142	82,56	144,8 +/- 0,3 B																				
c	1	0,58																					
d	1	0,58																					
e	4	2,53																					
f	2	1,16																					
g	1	0,58																					
h	1	0,58																					
i	1	0,58																					
j	1	0,58																					
k	1	0,58																					
l	1	0,58																					
Haplotype_Hc	2	1,16																					

ID	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40						
Marqueur	Ps150150	Ps127016	Ps140765	PsCam09584_2221_1847	PsCam04672_3514_1958	PsCam017207_10682_389	PsCam070793_18164_2029	Ps900382	Ps129683	Ps111669	Ps161823	Ps125583	PsCam011480_7823_797	PsCam08107_21256_4618	Ps130406	PsCam014586_19867_1371	Ps160242	PsCam015806_1254_232	Ps161004	Ps117934	Ps900043	Ps156718	PsCam02085_15102_289	PsCam067866_38405_252	Ps143953	Ps122045	PsCam0609_23627_1312	Ps104017	Ps144646	Ps156784	Ps132775	Ps113246	Ps104352	Ps151991	Ps134245	PsCam0202_32797_2026	PsCam06425_4782_144	PsCam043138_27166_413	PsCam057845_38387_158	Ps111545						
Pos	22,1950119	22,2560911	22,3587725	22,4	22,4	22,4	22,4	22,4508476	22,2506665	22,5614096	22,5885179	22,5885179	22,6	22,6	22,6	22,6	22,6366806	23,4	24,3177087	24,8300676	24,8565527	24,8599738	25,5	26,4	26,453484	26,9782331	27,1	27,1384016	27,1384016	27,1384016	27,2311553	27,2516026	27,2516026	27,2516026	27,2516026	27,3	27,3	27,3	27,6	27,6797027						
HL3	3	22,4	PsCam017207_10682_389		PAC_FLO1_12_REN		1,68E-09																																							
		22,45	Ps900382		PAC_FLO2_10_REN		4,00E-12		0,81	0,75	0,80	0,84	0,90	0,75	0,72	1	0,75	0,75	0,75	0,75	0,73	0,81	0,92	0,92	0,75	0,92	1	0,92	0,81	0,75	0,83	0,76	0,76	0,84	0,92	0,90	0,90	0,90	0,76	0,82	0,82	0,82	0,82	0,74	0,86	0,78
		26,98	Ps122045		PAC_FLO2_12_REN		1,26E-14																																							
					PAC_RIPE_10_REN		6,97E-10																																							
					PAC_RIPE_12_REN		9,39E-06																																							

SNP1	SNP2	SNP3	SNP4	SNP5	SNP6	SNP7	SNP8	SNP9	SNP10	SNP11	SNP12	SNP13	SNP14	SNP15	SNP16	SNP17	SNP18	SNP19	SNP20	SNP21	SNP22	SNP23	SNP24	SNP25	SNP26	SNP27	SNP28	SNP29	SNP30	SNP31	SNP32	SNP33	SNP34	SNP35	SNP36	SNP37	SNP38	SNP39	SNP40				
AA	CC	AA	CC	CC	GG	TT	GG	CC	GG	TT	TT	GG	AA	CC	CC	AA	AA	AA	GG	CC	GG	TT	CC	CC	TT	AA	AA	AA	GG	CC	CC	CC	GG	TT	TT	GG	TT	AA	CC	AA	CC		
AA	CC	GG	CC	CC	GG	CC	GG	CC	GG	TT	TT	GG	AA	CC	CC	AA	AA	AA	GG	CC	GG	TT	CC	CC	TT	AA	AA	AA	GG	CC	CC	CC	GG	TT	TT	GG	TT	AA	CC	AA	CC		
GG	GG	GG	TT	AA	GG	TT	AA	TT	CC	CC	AA	GG	TT	AA	GG	GG	GG	AA	TT	AA	GG	TT	AA	GG	TT	GG	CC	GG	GG	AA	TT	AA	TT	CC	CC	AA	CC	GG	TT	GG	TT	GG	TT
GG	GG	GG	TT	AA	GG	TT	AA	TT	CC	CC	AA	GG	TT	AA	GG	GG	GG	AA	TT	AA	GG	TT	GG	CC	GG	GG	AA	TT	AA	TT	CC	CC	CC	CC	CC	GG	TT	GG	TT	AA	CC	GG	TT
AA	CC	AA	CC	CC	GG	TT	GG	CC	GG	TT	TT	GG	AA	CC	CC	AA	AA	AA	GG	CC	GG	TT	CC	CC	TT	AA	AA	AA	GG	CC	CC	CC	CC	GG	TT	TT	GG	TT	AA	CC	GG	TT	
AA	CC	GG	TT	CC	AA	TT	CC	CC	GG	TT	TT	GG	AA	CC	CC	AA	AA	AA	GG	CC	GG	TT	TT	GG	CC	GG	AA	TT	AA	TT	CC	CC	CC	AA	CC	CC	AA	CC	GG	TT	GG	TT	
AA	CC	AA	CC	CC	GG	TT	GG	CC	GG	TT	TT	GG	AA	CC	CC	AA	AA	AA	GG	CC	GG	TT	TT	GG	CC	GG	AA	TT	AA	TT	CC	CC	CC	AA	CC	CC	AA	CC	GG	TT	GG	TT	
GG	GG	GG	CC	AA	GG	CC	AA	CC	TT	CC	CC	AA	GG	TT	AA	GG	GG	GG	AA	TT	GG	GG	TT	GG	GG	AA	TT	GG	GG	AA	TT	AA	TT	CC	CC	GG	CC	AA	CC	GG	TT		
Haplotype	Individu	Individu (%)																																									
a	154	89,53																																									
b	3	1,74																																									
c	1	0,58																																									
d	7	4,07																																									
e	1	0,58																																									
f	1	0,58																																									
g	1	0,58																																									
h	1	0,58																																									
i	1	0,58																																									
Haplotype_Hc	2	1,16																																									

		ID										
		1	2	3	4							
		Marqueur										
		PsCam023109_13003_2421	PsCam028714_17011_171	PsCam004311_3249_1737	PsCam032401_18778_80							
		Pos										
		32,7	36,3	40,1	40,8							
III.4	LG	Pos	Marqueur	Variable	pvalue	R2	R2	R2	R2			
	3	32,7	PsCam023109_13003_2421	PAC_Field_RRI_11_DI	2,89E-06	1	0,75					
					PAC_Field_RRI_12_RI	1,95E-05						
		36,3	PsCam028714_17011_171	PAC_Field_RRI_11_RI	4,03E-09	0,75	1	0,80	0,77			
			PAC_Field_AD12_12_RI	2,57E-05								
		SNP1	SNP2	SNP3	SNP4	Haplotype	Individu	Individu(%)	PAC_Field_RRI_11_DI	PAC_Field_RRI_12_RI	PAC_Field_RRI_11_RI	PAC_Field_AD12_12_RI
		TT	GG	TT	GG	a	52	30,23	2,63 +/- 0,08 A	3,36 +/- 0,06 A	2,86 +/- 0,08 A	5,63 +/- 0,12 A
		CC	AA	CC	AA	b	89	51,74	3,01 +/- 0,06 B	3,68 +/- 0,05 B	3,4 +/- 0,06 B	6,35 +/- 0,09 B
		CC	AA	TT	AA	c	5	2,91				
		TT	GG	TT	AA	d	6	3,49				
		TT	GG	CC	GG	e	2	1,16				
		TT	AA	TT	AA	f	1	0,58				
		TT	AA	CC	AA	g	8	4,65				
		CC	GG	TT	GG	h	2	1,16				
		CC	AA	CC	GG	i	3	1,74				
		Haplotype_Hc					4	2,32				

		ID					
		1	2				
		Marqueur					
		PsCam058449_38886_549	PsCam030789_18160_162				
		Pos					
		43,8	44,6				
III.9	LG	Pos	Marqueur	Variable	pvalue	R2	R2
	3	44,6	PsCam030789_18160_162	PAC_Field_AD11_All	2,92E-06	0,82	1
		SNP1	SNP2	Haplotype	Individu	Individu(%)	PAC_Field_AD11_All
		AA	GG	a	60	34,88	2,59 +/- 0,07 A
		GG	AA	b	101	58,72	3,15 +/- 0,06 B
		AA	AA	c	7	4,07	
		Haplotype_Hc			4	2,32	

		ID						
		1	2					
		Marqueur						
		PsCam012833_8640_2918	PsCam07530_22609_1137					
		Pos						
		65,9	65,9					
III.11	LG	Pos	Marqueur	Variable	pvalue	R2	R2	
	3	65,9	PsCam012833_8640_2918	PAC_HT_10_REN PAC_HT_12_REN	7,32E-07 7,22E-06	1	0,92	
		SNP1	SNP2	Haplotype	Individu	Individu(%)	PAC_HT_10_REN	PAC_HT_12_REN
		GG	CC	a	136	79,07	91,4 +/- 1,45 A	99,65 +/- 1,77 A
		AA	TT	b	33	19,19	98,8 +/- 2,94 B	108,03 +/- 3,59 B
		AA	CC	c	2	1,16		
		Haplotype_Hc			1	0,58		

ID	Marqueur																									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18								
III.17	LG	Pos	Marqueur	Variable	pvalue	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2	R2								
	3	132	PsCam035617_20792_637	PAC_HT_10_REN PAC_HT_12_REN	9,27E-25 1,11E-24	0,74	0,82	0,82	0,82	0,74	0,82	1	1	0,78	0,83	0,76	0,72	0,83	0,74	0,78	0,83					
						SNP1	SNP2	SNP3	SNP4	SNP5	SNP6	SNP7	SNP8	SNP9	SNP10	SNP11	SNP12	SNP13	SNP14	SNP15	SNP16	SNP17	SNP18	Haplotype	Individu	Individu(%)
						AA	GG	CC	GG	TT	AA	AA	TT	TT	CC	AA	AA	TT	CC	GG	GG	CC	CC	a	157	91,28
						AA	GG	CC	AA	CC	AA	GG	CC	TT	CC	AA	AA	TT	CC	GG	GG	CC	CC	b	1	0,58
						AA	TT	TT	AA	CC	CC	GG	CC	CC	TT	GG	GG	CC	TT	AA	TT	AA	TT	c	1	0,58
						CC	TT	TT	AA	CC	CC	GG	CC	CC	TT	GG	GG	CC	TT	AA	TT	AA	TT	d	4	2,33
						CC	TT	TT	AA	CC	AA	GG	CC	CC	TT	GG	GG	CC	TT	AA	TT	AA	TT	e	1	0,58
						AA	GG	CC	GG	TT	AA	AA	TT	CC	TT	GG	GG	CC	TT	AA	TT	AA	TT	f	1	0,58
						AA	GG	CC	GG	CC	CC	GG	CC	CC	TT	GG	GG	CC	TT	AA	TT	AA	TT	g	1	0,58
																								Haplotype_He	6	3,48

ID	Marqueur											
	1	2	3									
IV.2	LG	Pos	Marqueur	Variable	pvalue	R2	R2	R2				
	4	5,9	PsCam050850_33409_1793	PAC_Field_AD12_12_KEN	1,73E-05	0,87	1	0,73				
						SNP1	SNP2	SNP3	Haplotype	Individu	Individu(%)	PAC_Field_AD12_12_KEN
						TT	TT	GG	a	9	5,23	1,99 +/- 0,15 A
						GG	CC	AA	b	158	91,86	2,54 +/- 0,04 B
						TT	CC	AA	c	1	0,58	
						GG	CC	GG	d	3	1,74	
									Haplotype_He	1	0,58	

ID	Marqueur										
	1	2									
IV.5	LG	Pos	Marqueur	Variable	pvalue	R2	R2				
	4	61,6	PsCam039023_24009_852	PAC_CC_RRI_09_Ac109	7,82E-07	1	0,80				
						SNP1	SNP2	Haplotype	Individu	Individu(%)	PAC_CC_RRI_09_Ac109
						GG	AA	a	11	6,4	1,29 +/- 0,15 A
						TT	GG	b	157	91,28	2,91 +/- 0,04 B
						GG	GG	c	2	1,16	
								Haplotype_He	2	1,16	

		ID	1	2	3	4	5	6						
		Marqueur	PsCam035776_20944_3127	PsCam049829_32444_1381	Ps100397	PsCam037467_22549_557	PsCam050135_32740_732	PsCam009607_6409_583						
		Pos	57,5	57,7	58,0673143	58,1	58,6	59						
VII.5	LG	Pos	Marqueur	Variable	pvalue	R2	R2	R2	R2	R2	R2			
	7	57,7	PsCam049829_32444_1381	PAC_FLO2_12_REN	2,18E-10	0,90	1	0,92	0,91	0,83	0,81			
	SNP1	SNP2	SNP3	SNP4	SNP5	SNP6	Haplotype	Individu	Individu(%)	PAC_FLO2_12_REN				
	AA	GG	GG	GG	CC	CC	a	62	36,05	171,96 +/- 0,69 A				
	GG	AA	AA	AA	TT	TT	b	92	53,49	176,33 +/- 0,57 B				
	AA	AA	GG	GG	CC	TT	c	1	0,58					
	GG	AA	AA	GG	TT	TT	d	1	0,58					
	AA	AA	AA	AA	TT	TT	e	2	1,16					
	AA	GG	GG	GG	TT	TT	f	4	2,33					
	AA	GG	GG	GG	CC	TT	g	2	1,16					
	AA	GG	AA	AA	TT	TT	h	1	0,58					
	GG	AA	AA	AA	CC	CC	i	1	0,58					
	GG	GG	GG	GG	CC	CC	j	1	0,58					
												Haplotype He	1	0,58

		ID	1	2	3	4	5	6						
		Marqueur	PsCam049751_32372_1354	PsCam000771_668_1308	PsCam057281_23777_706	PsCam022809_18913_235	PsCam050005_32614_358	Ps115429						
		Pos	66,8	67,6	67,6	68	68	70,8						
VII.8	LG	Pos	Marqueur	Variable	pvalue	R2	R2	R2	R2	R2	R2			
	7	70,8	Ps115429	PAC_CC_RRI_13_RB84 PAC_CC_RRI_09_RB84	4,18E-13 3,63E-16	0,71	0,74	0,74	0,77	0,77	1			
	SNP1	SNP2	SNP3	SNP4	SNP5	SNP6	Haplotype	Individu	Individu(%)	PAC_CC_RRI_13_RB84		PAC_CC_RRI_09_RB84		
	AA	GG	GG	CC	GG	GG	a	59	34,3	2,68 +/- 0,04 A		2,90 +/- 0,05 A		
	GG	AA	AA	TT	AA	CC	b	99	57,56	3,57 +/- 0,03 B		3,67 +/- 0,03 B		
	AA	GG	GG	CC	GG	CC	c	4	2,33					
	GG	AA	AA	TT	AA	GG	d	6	3,49					
	GG	AA	AA	CC	GG	GG	e	1	0,58					
	AA	AA	AA	TT	AA	CC	f	2	1,16					
												Haplotype He	1	0,58

		ID	1	2	3	4	5	6	7					
		Marqueur	PsCam026805_15548_347	PsCam023161_13047_484	PsCam038753_23762_1459	PsCam001904_1552_132	PsCam049935_28677_577	PsCam002863_2264_204	PsCam040656_24871_609					
		Pos	72,7	72,7	72,7	73,1	73,1	73,2	77,5					
VII.11	LG	Pos	Marqueur	Variable	pvalue	R2	R2	R2	R2	R2	R2			
	7	73,1	PsCam049935_28677_577	PAC_Field_RRI_12_RI	2,35E-05	0,93	0,91	0,90	0,71	1	0,81	0,76		
	SNP1	SNP2	SNP3	SNP4	SNP5	SNP6	SNP7	Haplotype	Individu	Individu(%)	PAC_Field_RRI_12_RI			
	AA	TT	GG	CC	AA	CC	CC	a	77	44,77	3,39 +/- 0,05 A			
	GG	CC	AA	CC	GG	TT	AA	b	13	7,56	3,63 +/- 0,13 AB			
	GG	CC	AA	TT	GG	TT	AA	c	60	34,88	3,7 +/- 0,06 B			
	GG	CC	GG	TT	GG	TT	CC	d	1	0,58				
	AA	TT	GG	CC	AA	TT	AA	e	2	1,16				
	AA	TT	GG	CC	AA	TT	CC	f	4	2,33				
	AA	TT	GG	CC	AA	CC	AA	g	5	2,91				
	AA	TT	GG	TT	GG	TT	AA	h	1	0,58				
	GG	CC	AA	TT	GG	TT	CC	i	2	1,16				
	GG	CC	AA	CC	AA	TT	AA	j	1	0,58				
	GG	CC	AA	TT	GG	CC	AA	k	1	0,58				
	AA	CC	AA	CC	GG	TT	AA	l	1	0,58				
	AA	CC	AA	CC	AA	CC	CC	m	1	0,58				
												Haplotype He	3	1,74

ID	1		2		3			
	Pos	R2	R2	R2	R2	R2		
VII.16	7	86,4	PsCam056236_37092_1071	PAC_Field_AD11_All	7,73E-07	0,81	1	0,92
				PAC_Field_AD12_All	1,62E-07			
				PAC_Field_AD12_12_DI	1,55E-05			
				PAC_Field_AD12_13_DI	7,53E-07			
7	87,86	Ps131484	PAC_Field_AD12_11_RI	1,96E-05	0,78	0,92	1	
			PAC_FLO1_10_REN	4,76E-18				
			PAC_FLO1_12_REN	1,29E-21				
			PAC_FLO2_10_REN	2,60E-09				
			PAC_FLO2_12_REN	5,55E-18				
			PAC_RIPE_10_REN	5,44E-10				
			PAC_RIPE_12_REN	1,48E-22				
			PAC_HT_12_REN	7,59E-06				


SNP1	SNP2	SNP3	Haplotype	Individu	Individu(%)	PAC_Field_AD11_All	PAC_Field_AD12_All	PAC_Field_AD12_12_DI	PAC_Field_AD12_13_DI	PAC_Field_AD12_11_RI	PAC_FLO1_10_REN	PAC_FLO1_12_REN	PAC_FLO2_10_REN	PAC_FLO2_12_REN	PAC_RIPE_10_REN	PAC_RIPE_12_REN	PAC_HT_12_REN
TT	AA	GG	a	149	86,63	2,9 +/- 0,05 A	4,64 +/- 0,06 A	3,98 +/- 0,14 A	5,02 +/- 0,10 A	4,46 +/- 0,05 A	145,02 +/- 0,36 B	145,55 +/- 0,36 B	169,78 +/- 0,31 B	175,33 +/- 0,48 B	195,11 +/- 0,26 B	207,88 +/- 0,22 B	102,6 +/- 1,83 A
AA	CC	AA	b	17	9,88	3,24 +/- 0,15 B	4,89 +/- 0,17 A	4,35 +/- 0,43 A	5,06 +/- 0,31 A	5,14 +/- 0,16 B	141,3 +/- 1,06 A	137,49 +/- 1,07 A	166,94 +/- 0,93 A	170,39 +/- 1,42 A	192,08 +/- 0,76 A	203,22 +/- 0,67 A	98,94 +/- 5,42 A
AA	AA	GG	c	3	1,74												
AA	CC	GG	d	1	0,58												
Haplotype_He				2	1,16												

ID	1		2				
Pos	R2	R2	R2	R2			
VII.18	7	98,5	PsCam030828_18189_3163	PAC_Field_RRI_12_RI	1,74E-06	0,74	1
				PAC_Field_AD12_10_DI	2,22E-06		

SNP1	SNP2	Haplotype	Individu	Individu(%)	PAC_Field_RRI_12_RI	PAC_Field_AD12_10_DI
AA	CC	a	144	83,72	3,51 +/- 0,04 A	6,63 +/- 0,07 A
GG	TT	b	22	12,79	3,49 +/- 0,11 A	7,29 +/- 0,21 B
AA	TT	c	5	2,91		
GG	CC	d	1	0,58		

Lignées sélectionnées par le programme de sélection récurrente phénotypique du GSP	AeD99OSW- 39-5-5	b a b b b b b b a a	3,20 4,72 2,49 3,20 3,09	3 8	b a a b a	2 3	
	AeD99OSW- 40-3-3	a a b b b b b a a a	2,41 3,87 2,15 2,60 2,53	6 5	b a b a a	2 3	
	AeD99OSW- 41-7-6	b a a a b b b b a a	2,73 4,14 1,79 2,62 2,43	7 4	b a NA b a	1 3	
	AeD99OSW- 42-3-1	a a b b b b b a a a	2,72 4,78 2,50 2,57 3,04	6 5	b a c b a	1 3	
	AeD99OSW- 43-9-8	d a g b b b b a g a	2,41 3,84 1,84 2,58 2,00	4 4	b a a a a	3 2	
	AeD99OSW- 44-19-1	i b a a b b b b a a	3,30 4,96 2,33 2,30 2,75	4 6	b a b b b	2 3	
	AeD99OSW- 45-8-7	NA a a a b b b a g a a	2,05 3,31 1,81 2,03 2,30	6 3	b a e a a	2 2	
	AeD99OSW- 47-6-1	a a d b b b b a a a	2,09 3,61 1,92 2,29 2,45	6 4	b a b b a	1 4	
	AeD99OSW- 48-5-4	a a a NA b b b a a a	2,17 3,92 2,00 2,53 2,80	7 3	b a b b a	1 4	
	AeD99OSW- 49-5-7	a a a a b b b a a a	2,24 3,45 1,83 3,03 2,57	8 3	b a b a a	2 3	
	AeD99OSW- 50-2-5	a f a a b b b NA a a	2,08 3,31 2,13 1,87 3,02	6 3	b a NA NA a	1 2	
	AeD99OSW- 51-2-10	a a b b b b b c a a	2,19 3,80 2,28 2,07 3,00	5 5	b a a b a	2 3	
	AeD99OSW- 53-3-5	a a a b b b b a a a	2,13 3,83 2,00 2,87 2,36	7 4	b a b b a	1 4	
	AeD99OSW- 54-10-5	b a b b b b b a a a	2,94 4,66 2,46 2,44 2,72	5 6	b a b a a	2 3	
	AeD99OSW- 55-6-4	a b b b b b b a a a	2,27 3,77 2,07 2,67 2,67	5 6	b a b b a	1 4	
	AeD99OSW- 56-19-4	a g a a b b b a a a	1,78 3,81 2,17 3,07 3,20	7 3	b a b b a	1 4	
	AeD99OSW- 57-9-8	c a a a b b b a a c	2,21 3,38 1,92 2,60 2,55	6 3	b a b b c	1 3	
	AeD99OSW- 58-10-5	b a a a b b b a a b	3,00 4,50 2,07 1,99 2,43	4 7	b a b b b	2 3	
	AeD99OSW- 59-7-4	a g b a b b b a b b	4,04 5,63 2,62 2,67 3,11	3 7	b a b b b	2 3	
	AeD99OSW- 60-1-3	a a a a b b b d a b	2,50 4,59 2,26 2,00 2,11	5 5	b a b b b	2 3	
Meilleures RILs issues des programmes de sélection entre l'INRA et l'USDA	BAP8.10	b h b b b b b a a b	2,81 4,94 2,78 3,25 NA	2 8	b a b b b	2 3	
	BAP8.43	b b b b b b b a a b	3,25 4,70 2,66 2,73 NA	2 9	b a a b b	3 2	
	BAP8.128	b b b b b b b a a a	2,28 4,40 3,04 3,83 NA	3 8	b a NA a a	2 2	
	BAP8.184	NA b b b b b b a a	3,57 5,11 2,53 2,67 NA	2 8	b a NA b b	2 2	
	BA55.8	s b a a b b b b c a	3,21 4,58 2,74 3,80 NA	4 6	b a a b a	2 3	
	BA55.26	a a a a b b b b c a	2,38 3,77 2,50 4,00 NA	6 5	b a a a a	3 2	
	BA55.52	a a a a b b b b c a	2,81 4,20 2,45 4,00 NA	6 5	b a a a a	3 2	
	BA55.88	a NA a a b b b b NA a	2,56 3,96 2,48 3,89 NA	5 4	b a a NA a	2 2	
	BA55.161	a b a a b b b b c a	2,95 5,22 2,65 3,92 2,46	5 6	b a a b a	2 3	
	BA55.171	a a a a b b b b c a	2,46 4,09 2,77 4,29 NA	6 5	b a a b a	2 3	
	BA55.233	r a b b b b b b c a	2,28 3,77 2,89 4,35 3,02	3 7	b a a b a	2 3	
	BA55.231	a a a a b b b b c a	2,36 4,52 2,55 3,89 NA	6 5	b a a a a	3 2	
	RIL 846-07	a b b b b b b d a a	2,48 4,19 2,50 2,35 NA	4 6	b a a b a	2 3	
	RIL 847-08	a b b b b b b a a a	2,37 4,14 2,75 2,94 NA	5 6	b a b b a	1 4	
	RIL 847-22	a b b b b b b a a a	2,44 4,52 2,35 2,87 NA	5 6	b a b b a	1 4	
	RIL 847-28	a b b b b b b a g a	2,69 4,61 2,62 2,78 NA	4 6	b a b b a	1 4	
	RIL 847-45	a b b b b b b a a a	2,98 4,70 2,48 3,35 NA	5 6	b a b b a	1 4	
RIL 847-50	a b b b b b b a a a	2,32 3,89 2,63 3,22 3,13	5 6	b a b b a	1 4		
RIL 847-68	a b b b b b b a a a	2,22 4,16 2,52 2,33 NA	5 6	b a b b a	1 4		
RIL 847-53	a b b b b b b a a a	2,64 4,33 2,61 2,60 NA	5 6	b a b b a	1 4		
Lignées parentales ayant servi à la création des populations de RILs	90-2079	d b b b b b a b e c	3,73 5,78 3,17 3,67 1,60	2 6	b a a a c	3 1	
	0-2100	a a b a b b a b c a	2,48 4,92 3,12 3,53 1,09	6 5	b b a b a	1 4	
	90-2131	a b b b b b b c f a	2,48 4,63 2,11 3,13 2,91	3 6	b a b a a	2 3	
	MISTRAL	n d c b b b b b c a	3,77 5,65 3,04 3,87 3,05	1 7	e b b a a	1 3	
	RUSTIC	b a b c b b b b c a	3,72 5,80 3,32 3,32 3,33	3 7	b a a a a	3 2	
	0-2093	a c b a b a c b a a	2,12 3,61 2,83 3,20 2,57	6 3	d b c c a	0 2	
	Mn314	b a b a b a c b a a	3,87 5,43 3,20 3,73 0,76	6 5	a a a b a	3 2	
	PI269802	q n b a b b b b c a	3,70 5,36 2,98 4,00 2,58	3 6	j b a a a	2 2	
	200	a a d a b b b b b a	2,23 3,84 2,96 3,07 3,20	5 5	b a a a a	3 2	
	45	a b a c b b b b b a	2,72 4,11 2,51 4,07 3,11	4 6	b a a a a	3 2	
	CAPELLA	b b b a b b b b c a	3,41 5,18 3,12 3,27 3,32	3 8	b b a b a	1 4	
	DSP (Dark skin perfection)	a b b b b b b b c a	2,97 5,06 2,81 3,67 3,06	3 8	b a a b a	2 3	
	PI180693	b a b b b b b a a b	3,16 4,39 2,39 2,47 2,76	3 8	b a b b a	2 3	
	VICTOR	t a c b b b b b c a	3,72 5,33 3,02 3,40 2,73	2 6	f b b a a	1 3	
	BACCARA	b b b b b b b a a a	3,89 5,47 3,44 3,95 3,83	3 8	b a a a a	3 2	
	PUGET (=PI608010, JI2434)	a b b b b b b b c a	3,10 5,04 3,17 3,75 3,80	3 8	b a a a a	3 2	
	552	a NA a a b b b b NA a	2,14 3,86 2,38 3,73 2,82	5 4	b a a NA a	2 2	
	MN313	a b b b b b b a b e	3,52 5,20 3,21 3,93 1,17	3 6	b NA a a c	2 1	
	Nouvelles sources de résistance	0-2042	a b e b b b b b c a	3,45 4,86 2,77 3,73 2,88	3 7	b a a a a	3 2
		0-2016	NA NA b NA b b b a a	2,16 3,77 2,54 3,00 3,13	4 4	c b a b a	1 3
ROSBLENDE		b a b b b b b a a b	3,00 4,41 2,46 2,40 2,97	3 8	b a b b b	2 3	
VK4888 SPARTANETS		b a b b b b b a a b	3,22 4,67 2,33 2,47 2,73	3 8	b a b b b	2 3	
E11		l k NA NA NANA d d NA a	2,96 4,68 2,90 2,56 3,00	1 0	NA a NA NA a	1 1	
L2782.1		o NA NA c a b b b k a b	3,11 4,10 2,58 2,89 2,65	2 4	NA c g NA a	0 1	
LISA		b m b b b b b b c a	2,80 4,31 2,67 3,37 3,04	2 8	h b i a a	1 2	
ZP141 (=V281)		u o NA NA b b b b m a	2,77 4,71 2,51 3,73 2,80	2 4	l c l a a	1 1	
0-2073		a b a b b b b b c a	2,81 4,57 2,20 3,27 2,49	4 7	b a a a a	3 2	
100		a b c b b b b b c a	3,46 5,26 2,62 3,13 2,47	3 7	a b a a a	3 2	
E186**		- - - - - - - - - -	- - - - - - - - - -	- -	- - - - -	- -	
ETHIOPIA-32 CGN 3255 (=PI196026)		i l b b b c b f b a a	3,00 5,20 2,74 2,57 2,85	2 5	b a h g a	1 2	
FRIGLOO		a d b b a b b b c a	2,84 4,75 2,75 3,27 3,00	3 7	b b b b a	0 5	
GAT 1259		n k i b c NA NA b j a d	3,19 4,59 2,62 3,13 2,89	1 2	g a e g a	1 1	
GSP1023		a f a a b b b b c a	2,39 4,77 2,33 3,45 3,25	5 5	b b a a a	2 3	
LOCAL (=bluish-green, small_B-563)**		- - - - - - - - - -	- - - - - - - - - -	- -	- - - - -	- -	
NEPAL A		p n e b d b b e l a c	4,30 5,97 2,23 3,60 3,41	1 3	i a j f a	1 1	
NO. 9845 (=PI 196032)		i l i b a b b b f b a a	4,27 5,71 3,09 2,27 2,86	3 4	b b k i a	0 3	
W 18903		a a d b d b b b b a a	2,87 4,25 2,43 3,40 2,80	4 5	b a a a a	3 2	
W 18905		a a d b d b b b b a a	3,20 4,90 2,61 3,07 2,67	4 5	b a a a a	3 2	
Variétés de pois d'hiver et de printemps	Odeon	b b b b b b b a a a	3,77 5,60 3,61 3,80 3,14	3 8	b a i a a	2 2	
	Enduro	m a c b b b b b c a	3,56 5,46 3,27 3,67 3,01	2 7	f b b a a	1 3	
	Lumina	b b b b b b b a a a	3,74 5,86 3,66 4,00 3,49	3 8	b a a a a	3 2	
	Astrid	j j c b b b b b a a	3,92 5,79 3,32 3,33 3,07	2 5	b b e a a	1 4	
	Pawnee	c b b b b b b i a a	3,45 5,69 2,58 3,33 2,27	2 6	b b e a a	1 3	
	ISARD	m b b b b b b c a b	3,99 6,05 2,95 3,53 3,03	1 9	b b b h a	0 4	
	EDEN	b b b b b b b a a a	3,93 6,27 3,31 3,33 3,14	3 8	b b b a a	2 3	
	886/01	c d f b b b b b d a a	3,31 4,97 3,00 3,80 3,22	2 5	b b b d a	0 4	
	DOVE HR**	- - - - - - - - - -	- - - - - - - - - -	- -	- - - - -	- -	
	Alixor	b b b b b b b a a a	3,50 5,54 3,36 3,83 3,64	3 8	b a a a a	3 2	
	Amical	b b b a b b b b a a	3,84 5,85 3,22 3,83 3,22	4 7	b a e a a	2 2	
	Antares	f i b b b b b c a a	3,59 5,28 3,60 3,87 3,79	2 7	b a g b a	1 3	
	Belote	k b b b b b b a a a	3,75 5,39 3,08 3,73 3,22	3 7	b a a a a	3 2	
	Marignan	b b b b b b b a a a	3,85 5,86 3,64 4,07 3,82	3 8	b a a a a	3 2	
	Safranos	b c b b b b b a a a	4,63 6,20 3,60 4,13 3,35	3 7	k b a j a	1 2	
	Hardy	b b b b b b b a a a	3,66 5,63 3,60 3,73 3,00	3 8	b b a a a	2 3	

(i) et (iv) Haplotype de résistance à *A. euteiches* et de floraison et/ou de morphologie des lignées de pois de la collection Aphanomyces, respectivement ; (ii) Valeurs des moyennes ajustées des variables synthétiques. Une couleur vert foncé et rouge foncé signifie que les valeurs sont favorables et défavorables, respectivement, pour la résistance à *A. euteiches* ; (iii) et (v) Nombre d'haplotype favorable (couleur verte) et défavorable (couleur rose) pour la résistance à *A. euteiches* et pour la floraison et/ou la morphologie des différentes lignées ; * Haplotype de résistance associé à des variables de résistance, de floraison et de morphologie ; ** Lignée non étudiée lors de l'analyse d'association génétique pour cause de données de génotypage non conformes lors du filtrage des données.

 	Diplôme et Mention : Master Biologie, Agrosociences Parcours : Amélioration, Production et Valorisation du Végétal Option : Génétique, Génomique et Amélioration des Plantes Responsable d'option : Mélanie JUBAULT
Auteur(s) : Théo LEPRÉVOST Date de naissance* : 14/10/1995	Organisme d'accueil : UMR 1349 IGEPP, INRAE–Agrocampus Ouest–Université Rennes 1 Adresse : Domaine de la Motte, Le Rheu (35 650), France.
Nb pages : 25 Annexes : 7	Maître de stage : Marie-Laure PILET-NAYEL et Clément LAVAUD
Année de soutenance : 2020	
Titre français : Diversité des QTL et haplotypes de résistance à <i>Aphanomyces euteiches</i> chez le pois protéagineux (<i>Pisum sativum</i>) Titre anglais : Diversity of QTL and haplotypes associated with resistance to <i>Aphanomyces euteiches</i> in pea (<i>Pisum sativum</i>)	
Résumé : <p><i>Aphanomyces euteiches</i> est l'agent pathogène tellurique du pois le plus préjudiciable en France. La création de variétés résistantes cumulant une diversité de QTL (Quantitative Trait Locus) de résistance partielle est une solution prometteuse du fait des récents acquis de la recherche. Ce travail de stage a visé à analyser la diversité des QTL et haplotypes de résistance à <i>A. euteiches</i> dans de nouvelles sources de résistance chez le pois.</p> <p>Une analyse QTL a été réalisée dans la population de Backcross Avancée « Eden (sensible) x E11 (résistant) », génotypée à l'aide de 993 marqueurs SNP et phénotypée pour la résistance en conditions contrôlées et au champ. Une analyse d'association génome entier (GWA) dans la collection <i>Aphanomyces</i> de pois (Desgroux et al., 2016) a été revisitée avec 1 850 marqueurs SNP supplémentaires dont 440 marqueurs communs à l'analyse de la population Eden x E11.</p> <p>Un total de 14 et 28 QTL de résistance ont été identifiés, respectivement, par analyse QTL et GWA, validant la plupart des QTL précédemment reportés. Aucun nouveau QTL de résistance consistant n'a été détecté dans la population BAv. Une diversité élevée d'haplotypes a été mise en évidence à 11 blocs haplotypique « consistants » au sein de 14 nouvelles sources de résistance présentes dans la collection.</p> <p>Cette étude apporte de nouveaux marqueurs SNPs et de nouveaux haplotypes associés aux QTL de résistance, d'intérêt potentiel pour améliorer les niveaux de résistance à <i>A. euteiches</i> dans les futures variétés de pois.</p>	
Abstract : <p><i>Aphanomyces euteiches</i> is the most damaging soilborne pea pathogen in France. Breeding of resistant varieties combining a diversity of partial resistance QTL is a promising strategy due to recent research achievements. The objective of this study was to analyze the diversity of QTL and haplotypes for resistance to <i>A. euteiches</i> in new sources of resistance in peas.</p> <p>A QTL analysis was performed in the Advanced Backcross population Eden (susceptible) x E11 (resistant), genotyped using 993 SNP markers and phenotyped for resistance in controlled conditions and in the field. A whole genome association analysis (GWA) in the pea <i>Aphanomyces</i> collection (Desgroux et al., 2016) was updated using 1,850 additional SNP markers, including 440 SNPs common to the Eden x E11 population analysis.</p> <p>A total of 14 and 28 resistance QTL were identified by QTL and GWA analysis, respectively, validating most of the previously reported QTL. No new consistent resistance QTL was detected in the Eden x E11 population. A high diversity of haplotypes was identified at 11 consistent haplotype blocks in 14 new sources of resistance present in the <i>Aphanomyces</i> collection. An accumulation of favorable haplotypes at these 11 regions was confirmed in the most resistant lines of the collection.</p> <p>This study provides new SNP markers and new haplotypes associated with resistance QTL, of potential interest for improving resistance levels to <i>A. euteiches</i> in future pea varieties.</p>	
Mots-clés : pourriture racinaire, sources de résistance, GWAS, back-cross avancé, SNPs Key Words: <i>Aphanomyces</i> root rot, sources of resistance, GWAS, advanced back-cross, SNPs	

* Élément qui permet d'enregistrer les notices auteurs dans le catalogue des bibliothèques universitaires