L'ECOLE SUPERIEURE DES AGRICULTURES
55 rue Rabelais - B.P. 748
49007 ANGERS CEDEX 01
TEL. : 02.41.23.55.55

INRAE
42 rue Georges Morel - CS 60057
49007 BEAUCOUZE CEDEX
TEL. : 02.41.22.56.00

Rapport de stage MFE

Déterminisme génétique et métabolites impliqués dans la résistance du pommier au feu bactérien.

Encadrants : Julie FERREIRA DE CARVALHO et Matthieu GAUCHER

Mots clefs : *Malus sp., Erwinia amylovora, résistance génétique, Quantitative Trait Locus (QTL), biphényles et dibenzofuranes*

Lisa DE BUDAY-GOLDBERGER
Promotion 123

Mars 2025

CONFIDENTIALITE ET DIFFUSION

Formation INGENIEUR – MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

NOM/Prénom apprenant : Lisa De Buday - Goldberger

Nous vous remercions de remplir toutes les sections de cette fiche, sans quoi le traitement du mémoire ne peut pas être finalisé.
En cas de besoin, contacter : Aurélie LE PETITCORPS (a.lepetitcorps@groupe-esa.com)

Confidentialité requise par l'organisme d'accueil :

☒ Non ☐ Oui

Si Oui : ☐ 1 an ☐ 3 ans ☐ 5 ans ☐ > 5 ans (durée : .....)
Motif si > 5 ans :

L'ESA s'engage à respecter cette confidentialité.
A la fin de la période de confidentialité, le mémoire sera :

- mis en rayon à la Médiathèque
- diffusé sur le portail documentaire de l'ESA
- en fonction des règles soumises ci-dessous, par l'apprenant et le patron de mémoire

L'ESA demande de prévoir un titre non confidentiel pour le mémoire.

Date - Signature du **Tuteur d'entreprise** - **Cachet de l'organisme** : le 04/09/2025,
J. Ferreira de Carvalho

Conditions de soutenance :

L'organisme d'accueil demande une soutenance confidentielle à huis-clos :
☐ Oui ☒ Non

Date et Signature du **Tuteur d'entreprise** : le 04/09/2025,
J. Ferreira de Carvalho

Droits d'auteur :

L'apprenant s'engage à prévoir un titre non confidentiel pour le mémoire.

Il accepte :

- la mise en rayon du mémoire à la Médiathèque,
- la diffusion du mémoire* sur le **portail documentaire de l'ESA,**

au terme de la période de confidentialité spécifiée ci-dessus, par l'organisme d'accueil :
☒ Oui ☐ Non

Date et Signature de l'Etudiant-Auteur : le 05/09/2025
L. de Buday-Goldberger

**l'auteur atteste que la version numérique est conforme à l'exemplaire remis au Jury*

Attestation de la qualité du mémoire :

Le patron de mémoire estime que le document rendu peut-être cité comme un **mémoire de référence** :
☐ Oui ☐ Non

Date et Signature du **Patron de mémoire** :

Informations particulières :

Notice bibliographique

AUTEUR : Lisa de Buday-Goldberger
Promotion : 123 (2020-2025) Patron de mémoire : Mathieu LORIN

Signalement : Déterminisme génétique et métabolites impliqués dans la résistance du pommier au feu bactérien, 50 pages, 8 tableaux, 27 graphiques, 7 annexes, 94 bibliographies.

Mots-clés : *Malus sp., Erwinia amylovora, résistance génétique, Quantitative Trait Locus (QTL), biphényles et dibenzofuranes*

Résumé de l'auteur

Plan indicatif : Ce rapport est d'abord constitué d'un état de l'art situant la question de recherche dans son contexte. La méthodologie et les résultats sont détaillés à la suite en suivant la structure suivante : (i) Descendance Idared x *Malus baccata* Almey, (ii) Descendance TN10-8 x Fiesta et (iii) Diversité génétique et métabolisme spécialisé. Les résultats obtenus sont ensuite discutés en référence à d'autres travaux scientifiques, afin de les mettre en perspective avec les connaissances existantes.

Buts de l'étude : Cette étude est construite en trois parties distinctes qui consistaient en (i) la cartographie et détection de QTLs dans une descendance issue d'un croisement entre un pommier domestique et un pommier sauvage, (ii) la cartographie fine d'un QTL connu, et (iii) l'identification et quantification des biphényles et dibenzofuranes potentiellement impliqués dans la résistance au feu bactérien dans une diversité génétique. L'objectif de cette étude est donc d'apporter des éléments de compréhension sur les mécanismes génétiques et métaboliques de la résistance du pommier au feu bactérien.

Matériel & Méthodes : Trois types de matériel végétal ont été utilisés dans le cadre de cette étude. (i) La descendance Idared x *Malus baccata* Almey a été phénotypée après inoculation de la bactérie *Erwinia amylovora* pour effectuer une analyse de détection de QTLs. (ii) La descendance TN10-8 x Fiesta a été phénotypée de la même façon que la descendance précédente afin de réaliser une cartographie fine d'un QTL connu. Enfin, les biphényles et dibenzofuranes (iii) d'une diversité génétique de 24 variétés aux réponses contrastées vis-à-vis du feu bactérien ont été extrait puis analysés en GC-MS. Les cartes génétiques des descendances ont été réalisées avec le logiciel JoinMap et les analyses statistiques et de détection QTL ont été effectuées avec Rstudio.

Résultats : Dans cette étude, la descendance Idared x *Malus baccata* Almey a permis de mettre en évidence quatre sources de résistance issues de *Malus baccata Almey*, ainsi que deux sources de sensibilité issues d'Idared. L'analyse spécifique des individus recombinants de la descendance TN10-8 x Fiesta couplée à l'utilisation de différentes variables phénotypiques ont permis de réduire significativement l'intervalle de confiance du QTL présent sur le chromosome 7 de Fiesta. Enfin, l'analyse métabolomique des feuilles n'a permis d'identifier que la noraucuparine comme métabolite impliqué dans la résistance au feu bactérien.

Conclusion : Ce travail a mis en lumière l'intérêt d'exploiter la diversité génétique des *Malus*, qui constitue une ressource précieuse pour la sélection et l'amélioration des pommeraies. L'étude de *Malus baccata* Almey a révélé de nouvelles sources de résistance et l'analyse des individus recombinants de la descendance TN10-8 x Fiesta a permis de préciser la taille du QTL présent sur le chromosome 7 de Fiesta. Par ailleurs, l'exploration de la diversité génétique a conduit à l'identification de la noraucuparine comme une piste prometteuse pour mieux comprendre le rôle des biphényles et dibenzofuranes dans la résistance au feu bactérien. Toutefois, des analyses complémentaires restent nécessaires pour confirmer ces résultats et affiner la compréhension des mécanismes de défenses impliqués. A plus long terme, l'enjeu sera de combiner la résistance du feu bactérien avec celle d'autres maladies, tout en préservant les qualités gustatives et de conservation des fruits. Ce travail constitue une étape, mais de nombreux efforts restent nécessaires pour atteindre l'objectif de pommiers durables, résistants et de haute qualité.

Bibliographic record

AUTHOR : Lisa de Buday-Goldberger
Promotion : 123 (2020-2025) Patron de mémoire : Mathieu LORIN

Report: Genetic determinism and metabolites involved in apple tree resistance to fire blight, 50 pages, 8 tables, 27 graphs, 7 appendices, 94 bibliographies.

Keywords: *Malus sp., Erwinia amylovora, genetic resistance, Quantitative Trait Locus (QTL), biphenyl et dibenzofuran*

Author's summary

Indicative plan: This report begins with a review of the current state of the art, placing the research question in context. The methodology and results are detailed below, following this structure: (i) Idared x *Malus baccata Almey* progeny, (ii) TN10-8 x Fiesta progeny, and (iii) Genetic diversity and specialised metabolism. The results obtained are then discussed with reference to other scientific work, in order to put them into perspective with existing knowledge.

Aims of the study: This study is divided into three distinct parts, consisting of (i) mapping and detection of QTLs in offspring from a cross between a domestic apple tree and a wild apple tree, (ii) fine mapping of a known QTL, and (iii) identification and quantification of biphenyls and dibenzofurans potentially involved in fire blight resistance in genetic diversity. The aim of this study is therefore to provide insights into the genetic and metabolic mechanisms of apple tree resistance to fire blight.

Material & Methods: Three types of plant material were used in this study. (i) The Idared x *Malus baccata Almey* progeny was phenotyped after inoculation with the bacterium *Erwinia amylovora* to perform a QTL detection analysis. (ii) The TN10-8 x Fiesta progeny was phenotyped in the same way as the previous progeny in order to perform detailed mapping of a known QTL. Finally, biphenyls and dibenzofurans (iii) from a genetic diversity of 24 varieties with contrasting responses to fire blight were extracted and analysed by GC-MS. Genetic maps of the progeny were constructed using JoinMap software, and statistical and QTL detection analyses were performed using Rstudio.

Results: In this study, the Idared x *Malus baccata Almey* progeny revealed four sources of resistance from *Malus baccata Almey* and two sources of susceptibility from Idared. Specific analysis of recombinant individuals from the TN10-8 x Fiesta progeny, coupled with the use of different phenotypic variables, significantly reduced the confidence interval of the QTL present on chromosome 7 of Fiesta. Finally, metabolomic analysis of the leaves identified only noraucuparine as a metabolite involved in fire blight resistance.

Conclusion: This work highlighted the value of exploiting the genetic diversity of *Malus*, which is a valuable resource for the selection and improvement of apple orchards. The study of *Malus baccata Almey* revealed new sources of resistance, and analysis of recombinant individuals from the TN10-8 x Fiesta progeny made it possible to determine the size of the QTL present on chromosome 7 of Fiesta. Furthermore, the exploration of genetic diversity led to the identification of noraucuparine as a promising avenue for better understanding the role of biphenyls and dibenzofurans in fire blight resistance. However, further analysis is needed to confirm these results and refine our understanding of the defence mechanisms involved. In the longer term, the challenge will be to combine fire blight resistance with resistance to other diseases, while preserving the taste and shelf life of the fruit. This work is a step in the right direction, but much effort is still needed to achieve the goal of sustainable, resistant, high-quality apple trees.

Remerciements

Je tiens à exprimer toute ma gratitude à l'ensemble des personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce stage de fin d'études. Grâce à eux, cette expérience, à la fois enrichissante et empreinte de bienveillance, vient clore mon parcours académique de la meilleure des manières.

Tout d'abord, je souhaite remercier chaleureusement mes encadrants, Julie et Matthieu, qui m'ont accordé leur confiance pour réaliser ce travail et qui m'ont accompagné tout au long de ce stage avec beaucoup de bienveillance. Je suis ravie d'avoir pu travailler à vos côtés, vous avez toujours été disponibles pour répondre à mes questions et me conseiller avec patience et clarté. Vous m'avez beaucoup appris, et grâce à vous ce stage a été aussi enrichissant qu'agréable.

Un grand merci également à Caroline et Hélène, vous m'avez apporté une aide précieuse pour les analyses de détection de QTLs, et pour la compréhension de certains principes de génétique qui m'étaient encore inconnus avant mon arrivée à l'IRHS. Merci à Romain pour son appui dans l'interprétation des résultats d'analyses de la GC-MS, ainsi qu'à Romane pour ses explications sur la résistance génétique, les QTLs et leur détection.

Je souhaite également exprimer ma reconnaissance à tous ceux qui ont participé au phénotypage lors de l'expérimentation en serre, ainsi qu'à l'équipe PHENOTIC pour leur appui.

Enfin, mes remerciements vont à toute l'équipe ResPom, ainsi qu'à l'ensemble des autres équipes de l'IRHS pour leur accueil chaleureux et bienveillant.

Merci à tous pour ces moments de travail et de convivialité qui ont rendu cette expérience inoubliable.

Liste des abréviations

ACP : Analyse en Composantes Principales
AIC : Critère d'Information d'Akaike
AUDPC : Area Under Disease Progression Curve
ASM : Acibenzolar-S-méthyle
BIC : Critère d'Information Bayésien
BIS : BIphényle Synthase
BLUP : Best Linear Unbiased Prediction
BP : Biphényle
B4H : Biphenyl-4-Hydroxylase
CFU : Colonie Formant Unité
CI : Confidence Interval
CIM : Composite Interval Mapping
cM : centiMorgan
DBF : Dibenzofurane
Ea **:** *Erwinia amylovora*
FAO : Food and Agriculture Organization of the United Nations
FB : Fire Blight ou Feu Bactérien
F_1 / F_2 : Filial 1 (première génération d'un croisement) / Filial 2 (croisement entre deux individus de la F_1)
GC-MS : Chromatographie en phase Gazeuse couplée à un Spectromètre de Masse
GMS : Grande à Moyenne Surface
GWAS : Genome-Wide Association Studies
Id : Idared
Id x MbA : descendance Idared x *Malus baccata* Almey
IFT : Indice de Fréquence de Traitement
J : Jour
LG : Linkage Group (groupe de liaison)
LOD : Logarithm of ODds
MbA : *Malus baccata* Almey
Mbp : Mega base pairs
MSTFA : N-Méthyl-N-(triméthylsilyl)trifluoroacétamide
ng.g FW^{-1} : nanogramme par gramme de poids frais
NBT : New Breedind Technologies
NOR : Noraucuparine
OHAUC2 : 2'hydroxyaucuparine
OMT1 et OMT2 : O-méthyltransferase 1 et O-méthyltransferase 2
pb : paire de base
PLL : Percent Lesion Lenght
pos : position (en cM, pb ou Mbp)
QTL : Quantitative Trait Locus
RAPH : Raphiolepsin
SAM : Sélection Assistée par Marqueur
SDP : Stimulateur de Défense des Plantes
SIM : Simple Interval Mapping
SNP : Single Nucleotide Polymorphisms
TxF : descendance TN10-8 x Fiesta ou Famille F
T3SS : Type 3 Secretion System

Tables des figures

Figure 1 : Représentation schématique des différents groupes fonctionnels de ravageurs du pommier (Lacroix et al., 2023).
Figure 2 : Histogramme de l'Indicateur de Fréquence de Traitement (IFT) moyen en 2018 en fonction des espèces arboricoles et du type de traitement (Agreste, 2024)
Figure 3 : Schéma du cycle de développement du feu bactérien (Erwinia amylovora).
Figure 4 : Schéma de l'interaction entre Erwinia amylovora et une cellule végétale (Chizzali et al., 2013).
Figure 5 : Photographie d'une pousse de pommier entièrement infectée par Erwinia amylovora (feu bactérien).
Figure 6 : Schéma des deux formes de résistance génétique.
Figure 7 : Représentation graphique d'une carte génétique présentant la localisation des gènes majeurs et QTLs de la résistance au feu bactérien.
Figure 8 : Graphiques des biphényles et dibenzofuranes accumulés dans différents organes du pommier en réponse à un stimulateur de défense des plantes (ASM) et à l'infection par Ea.
Figure 9 : Voie établie de la biosynthèse de l'aucuparine et proposition de la voie de biosynthèse de dibenzofurane (Busnena et al., 2021).
Figure 10 : Photographies des mesures 'Longueur totale' (A) et 'Longeur nécrose' (B) pour l'expérimentation de génétique
Figure 11 : Représentation schématique du principe de détection de QTL dans une descendance d'arbres hétérozygotes (Sederoff et al., 2010).
Figure 12 : Carte génétique de l'intervalle de confiance du qF7.
Figure 13 : Représentation graphique du clustering des 330 accessions en fonction de leur sensibilité à la tavelure et au feu bactérien (Galleron, 2024).
Figure 14 : Photographie des prélèvements des différents organes pour l'expérimentation de métabolomique.
Figure 15 : Schéma des principaux éléments constituant une GC-MS (Emwas et al., 2015).
Figure 16 : Histogramme de la sensibilité au feu bactérien de chaque génotype.
Figure 17 : Distribution de la descendance Idared x Malus baccata Almey pour chacune des variables.
Figure 18 : Carte génétique de la descendance Idared x Malus baccata Almey.
Figure 19 : Représentation graphique des SIM et CIM pour chacune des variables phénotypiques pour les jeux de données 'Tous les lots' et 'Lot 1' (Id01 à Id17 correspond aux chromosomes 1 à 17 d'Idared et Al01 à Al17 correspond aux chromosomes 1 à 17 de MbA.
Figure 20 : Résumé des effets alléliques pour les marqueurs au pic du LOD pour chacun des QTLs détectés.
Figure 21 : Distribution de la descendance TN10-8 x Fiesta pour chacune des variables.
Figure 22 : Représentation graphique du groupe de liaison 7 de Fiesta, au niveau de l'intervalle de confiance du qF7 défini par Bénéjam (2021).
Figure 23 : Quantités moyennes des métabolites accumulés selon le génotype.
Figure 24 : Graphique des individus de l'Analyse en Composantes Principales (ACP) des axes 1 et 2.
Figure 25 : Matrice de corrélation de Pearson
Figure 26 : Régression linéaire entre la quantité de noraucuparine accumulée dans les feuilles des plantes inoculées avec Ea et la résistance au feu bactérien.
Figure 27 : Boxplots de la quantité de noraucuparine accumulée dans les feuilles infectées par Ea de chaque génotype.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Pertes économiques causées par le feu bactérien sur les arbres fruitiers dans le monde entre 2018 et 2022 (Salceanu et al., 2023)
Tableau 2 : Allèles attendus chez la descendance selon la ségrégation mendélienne des parents.
Tableau 3 : Bilan de la répartition des marqueurs selon leur conformité mendélienne.
Tableau 4 : Résumé des transformations et ajustements effectués sur la descendance Idared x Malus baccata Almey.
Tableau 5 : Résumé des transformations et ajustements effectués sur la descendance TN10-8 x Fiesta.
Tableau 6 : Synthèse des QTLs détectés dans la descendance Idared x Malus baccata Almey.
Tableau 7 : Synthèse des QTLs détectés sur le LG 7 de Fiesta pour les différentes variables phénotypiques.
Tableau 8 : Résumé statistique des métabolites accumulés dans les feuilles des plantes inoculées avec Ea.

Tables des matières

Introduction générale 2

Synthèse bibliographique 4

Le marché de la pomme en France et dans le monde en quelques chiffres 4
La pomme, une culture gourmande en produits phytosanitaires 5
Pathosystème Malus domestica – Erwinia amylovora 5
Malus domestica 5
Erwinia amylovora, une bactérie à l'origine de pertes considérables 7
Le levier génétique pour la résistance au feu bactérien 9
Voie métabolique des biphényles et dibenzofuranes et résistance induite par les SDP 12

Problématique et hypothèses 15

Matériel et Méthodes 17

Descendances bi-parentales (IdxMbA et TxF) 17
Matériel végétal 17
Dispositif expérimental 18
Méthodes d'analyse ~ Idared x Malus baccata Almey 22
Méthodes d'analyse ~ TN10-8 x Fiesta 25
Diversité génétique et métabolisme spécialisé 26
Matériel végétal 26
Dispositif expérimental 26
Préparation des plants 26
Inoculation 27
Acquisition des données 27
Méthodes d'analyse ~ Diversité génétique et métabolisme spécialisé 27

Résultats 30

Descendance Idared x Malus baccata Almey 30
Descendance TN10-8 x Fiesta ~ qF7 34
Résultats diversité génétique et métabolisme spécialisé 37

Discussion 41

Descendance Idared x Malus baccata Almey 41
Descendance TN10-8 x Fiesta ~ qF7 45
Diversité génétique et métabolisme spécialisé 47

Conclusion 49

Bibliographie 51

Annexes 59

Introduction générale

Contrairement aux animaux, les plantes ne peuvent ni fuir, ni se cacher face aux menaces qu'elles peuvent rencontrer. Pour autant elles ne sont pas complètement démunies. Au moyen d'une longue coévolution des plantes avec leurs bioagresseurs, celles-ci ont su s'adapter et développer un large éventail de mécanismes de défense pour faire face aux agressions extérieures. Ces mécanismes de défense peuvent aussi bien être de nature structurelle, avec une barrière physique (comme la cuticule ou des épines) que biochimique avec la production et l'accumulation de métabolites spécialisés. Comprendre ces mécanismes et ces stratégies de défense vis-à-vis des bioagresseurs est devenu un enjeu majeur pour la recherche agronomique, car cela représente une piste prometteuse pour protéger les cultures tout en limitant le recours aux intrants de synthèse.

Depuis les années 1940-1950, le modèle agricole a connu de profondes transformations au travers de l'intensification agricole, rendue possible par la mécanisation, les progrès de la sélection variétale et l'utilisation croissante des produits phytosanitaires. Ce modèle, basé sur la chimie, a permis une augmentation considérable de la production agricole à l'échelle mondiale, répondant aux besoins alimentaires croissants. Néanmoins, dès les années 1960, les premières limites de ce modèle ont fait leur apparition : pollution des eaux, érosion de la biodiversité, risques sanitaires pour les agriculteurs et les consommateurs, apparition de résistance aux pesticides chez les bioagresseurs, etc … Face à ce constat, les produits phytosanitaires ont été abondamment remis en cause pour leurs effets néfastes, et la mise en œuvre d'une transition du modèle agricole a été entreprise. Aujourd'hui, de plus en plus de recherches et d'initiatives s'orientent vers des pratiques ayant une meilleure valorisation des processus biologiques naturels. Cela ayant comme objectif de construire une agriculture plus durable, plus respectueuse du milieu et moins dépendante des intrants de synthèse. Par conséquent, cette transition nécessite davantage de connaissances scientifiques sur les processus biologiques et écologiques naturels, comme l'a exprimé José Graziano da Silva, l'ancien Directeur Général de la FAO (2018). *« Le futur de l'agriculture n'est pas dans l'intensification des intrants de synthèse mais dans l'intensification des connaissances mobilisées. Pour cela, nous avons besoin de l'approche intégrée que représente l'agroécologie »*. Dans ce contexte, il semble alors essentiel d'améliorer notre compréhension des mécanismes de défense des plantes contre leurs bioagresseurs, afin de limiter l'usage des produits de synthèse tout en assurant une production agricole en quantité et en qualité suffisante.

La combinaison d'un ensemble de leviers constitue probablement la démarche la plus propice pour relever les défis qui s'imposent au monde agricole actuel.

Synthèse bibliographique

Aujourd'hui, le secteur agricole fait face à de nombreux défis majeurs. Il doit, non seulement, produire des aliments sains et de qualité pour assurer la santé publique, mais aussi garantir une production en quantité suffisante pour répondre aux besoins d'une population mondiale croissante. Parallèlement, l'agriculture doit s'adapter aux effets du changement climatique et aux fluctuations économiques, tout en réduisant son propre impact environnemental. De plus, face aux attentes sociétales croissantes, le secteur est également appelé à limiter l'usage des produits phytosanitaires et des engrais de synthèse afin de préserver les ressources naturelles et favoriser des pratiques plus durables.

Le marché de la pomme en France et dans le monde en quelques chiffres

La pomme fait partie des fruits les plus populaires des zones climatiques tempérées en raison de son adaptation à ce climat. Facile à cultiver en Europe (O'Rourke, 2003), la pomme offre une productivité élevée et une disponibilité tout au long de l'année (Konopacka *et al.*, 2010), ce qui contribue à en faire un des fruits les plus consommés en France. La production mondiale de pomme atteint 93,5 millions de tonnes par an (CTIFL, 2024) dont 49 % sont récoltées en Chine (Businesscoot, 2023). L'Union européenne contribue à hauteur de 12,3 millions de tonnes par an (CTIFL, 2024) tandis que la France a produit environ 1,7 million de tonnes de pomme en 2024 (Agreste, 2024). La France se place donc comme le 9ème producteur de pomme mondial et se positionne à la troisième place à l'échelle européenne (derrière la Pologne et l'Italie) (FAOSTAT, 2023).

La pomme est aussi considérée comme un des fruits préférés des Français. Elle représente donc la première espèce fruitière cultivée du pays, et la deuxième à l'échelle mondiale, derrière la banane. Si la balance commerciale des fruits frais en France est largement déficitaire, notamment pour les bananes, les avocats et les agrumes, la pomme constitue une exception. A elle seule, la pomme représente 49 % de la valeur des exportations de fruits français en 2021 (FranceAgriMer, 2023). La pomme est donc un fruit d'importance stratégique pour le secteur arboricole français, tant sur la consommation intérieure que sur l'export.

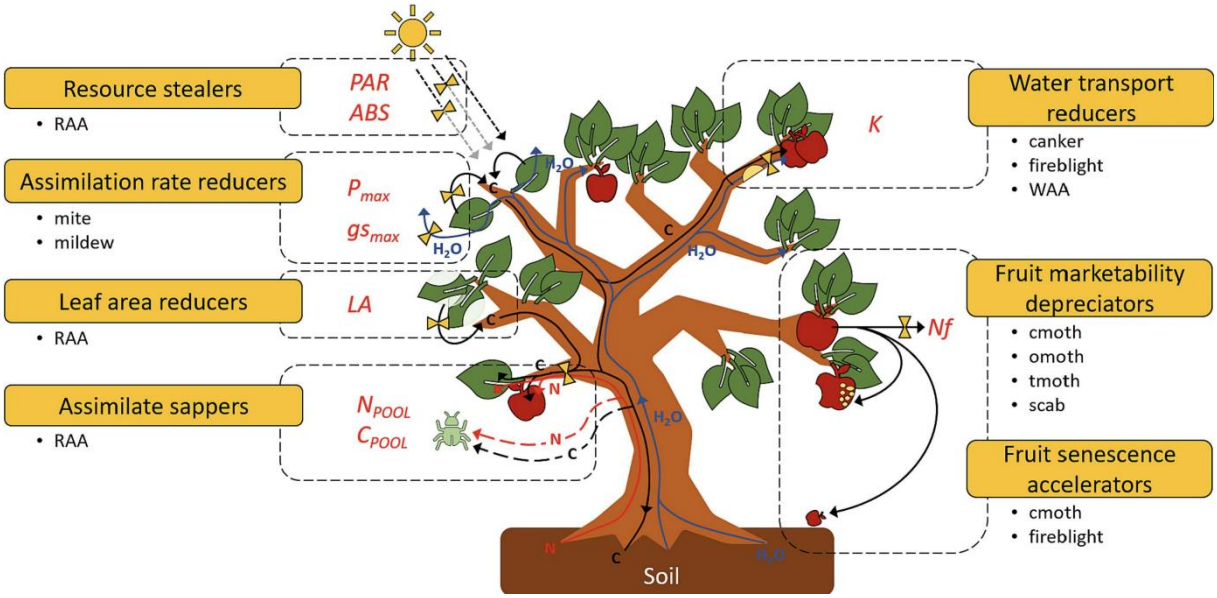


Figure 1 : Représentation schématique des différents groupes fonctionnels de ravageurs du pommier (Lacroix et al., 2023).

Sur ce schéma les groupes fonctionnels sont signifiés par les encadrés jaunes, les ravageurs sont en noir et suivent la notation suivante (RAA : puceron rose du pommier ; mite : acariens, mildew : oïdium ; canker : chancre ; fireblight : feu bactérien ; WAA ; puceron lanigère du pommier ; cmoth : carpocaspe ; omoth : pyrale orientale des fruits ; scab : tavelure ; tmoth : tordeuse).

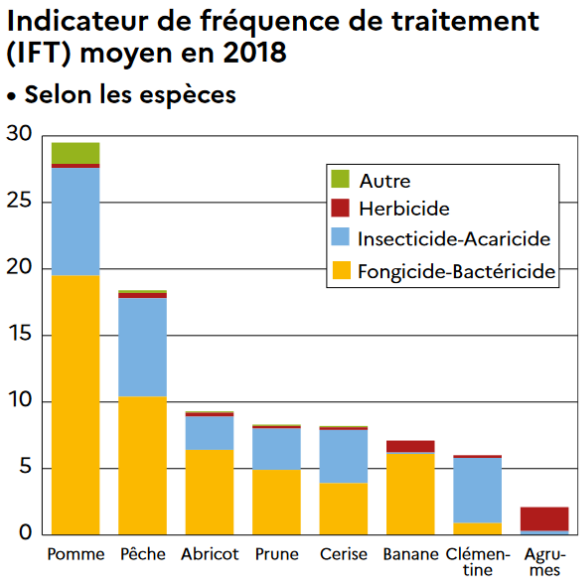


Figure 2 : Histogramme de l'Indicateur de Fréquence de Traitement (IFT) moyen en 2018 en fonction des espèces arboricoles et du type de traitement (Agreste, 2024)

La pomme, une culture gourmande en produits phytosanitaires

Comme nous avons pu le voir, la pomme est un fruit largement cultivé et consommé à l'échelle mondiale, son industrie est donc confrontée à une saturation du marché, provoquant ainsi une concurrence intense, définie également comme une hyperconcurrence (Axelson, Axelson, 2000). La qualité et le prix du fruit apparaissent donc comme les deux facteurs principaux pour assurer la rentabilité de la production et ainsi faire face à cette concurrence. Dans les Grandes et Moyennes Surfaces (GMS), les consommateurs sont très attentifs à l'aspect esthétique des fruits. En effet, la qualité externe des fruits est le premier facteur d'achat (Barman *et al.*, 2015). Les traces de maladies, piqûres d'insectes, pourritures et moisissures sont considérées comme des défauts majeurs pouvant conduire à une dévalorisation économique du fruit (Drogué, DeMaria, 2012; Jaeger *et al.*, 2018). Malheureusement, la culture de pomme est soumise à une forte pression de bioagresseurs augmentant le risque de dommages sur le verger, pouvant également conduire à des pertes économiques élevées (Lacroix *et al.*, 2024) (Figure 1). Pour limiter ces pertes, les agriculteurs sont donc contraints d'utiliser des produits phytosanitaires pour lutter contre les divers bioagresseurs. D'après une étude menée par l'Agreste, le nombre moyen de traitements phytosanitaires pour un verger de pommier est de 29,5 en 2018 (Figure 2). Cet Indicateur de Fréquence de Traitements phytosanitaires (IFT) élevé en fait donc une des cultures arboricoles les plus gourmandes en pesticides en France. Pourtant l'usage des produits phytosanitaires est largement remis en cause. En effet, l'utilisation de ces produits a permis d'augmenter la production agricole, mais ils présentent également un nombre important d'externalités négatives notamment avec des effets néfastes sur l'environnement ainsi que sur la santé humaine (Wilson, Tisdell, 2001). Ainsi pour réduire l'utilisation de ces produits, la France a mis en place le plan Ecophyto I puis II (Guichard *et al.*, 2017) afin de réduire l'usage des pesticides de 50 % d'ici 2030.

Pathosystème Malus domestica – Erwinia amylovora

Malus domestica

Le pommier commun (*Malus domestica*) appartient à la famille des Rosacées (Rosaceae). Cette famille regroupe plus de 100 genres. Parmi laquelle nous retrouvons d'autres espèces fruitières et ornementales d'importance économique, telles que les amandiers, les abricotiers, les cerisiers, les poiriers mais aussi les rosiers ou encore les aubépines. Le pommier

commun est donc issu du genre *Malus*, qui comprend une trentaine d'espèces. Pourtant, *Malus domestica* est la seule espèce du genre à assurer la production de pomme commercialisable.

Le pommier commun est une plante pérenne cultivée pour ses fruits et pouvant vivre entre 15 et 30 ans en vergers et plus d'une centaine d'années à l'état sauvage. En vergers, les pommiers sont généralement taillés de sorte à mesurer entre 2 et 5 m afin de faciliter la conduite du verger et la récolte mais les pommiers sauvages peuvent atteindre 10 à 15 m de hauteur.

Malus domestica présente de fortes similarités morphologiques, génétiques ou encore moléculaires avec plusieurs espèces sauvages. *Malus sieversii* a été identifié à plusieurs reprises, principalement grâce à des preuves morphologiques et moléculaires, comme étant le principal contributeur du génome de *Malus domestica* (Forte *et al.*, 2002; Harris *et al.*, 2002). La théorie la plus largement admise, considère donc *Malus sieversii* comme l'ancêtre principal du pommier domestique (Velasco *et al.*, 2010). Toutefois, *Malus sylvestris* (pommier sauvage européen) a été déterminé comme génétiquement plus proche du pommier domestique que *Malus sieversii* (Cornille *et al.*, 2012), et a également été identifié comme le second contributeur majeur du génome de *Malus domestica*. D'autres auteurs ont également supposé la contribution possible d'autres *Malus* sauvages à la construction du génome de *Malus domestica*, comme *Malus prunifolia*, *orientalis* ou encore *Malus baccata* et *robusta* de façon plus éloignée (Cornille *et al.*, 2012; Gao *et al.*, 2015).

La reproduction des pommiers se fait par reproduction sexuée, avec la présence de fleurs hermaphrodites (Trillot *et al.*, 2002). La grande majorité des variétés de pommiers présente un mécanisme d'auto-incompatibilité gamétophytique interdisant l'autopollinisation. Cette auto-incompatibilité favorise la pollinisation croisée et est à l'origine d'un fort taux d'hétérozygotie pour la plupart des cultivars, qui est généralement supérieur à 0,7 (Velasco *et al.*, 2010). Pour *Malus baccata* ce taux d'hétérozygotie est de 0,5 (Chen *et al.*, 2019). Par conséquent, pour assurer l'identité variétale, la multiplication des pommiers se fait principalement par reproduction végétative et plus particulièrement par greffage.

Le génome de pommier est composé de 17 chromosomes, principalement à l'état diploïde (2n = 34), bien qu'environ 20 % des variétés anciennes soient triploïdes (Lassois *et al.*, 2016). Le génome de pommier domestique a été séquencé intégralement pour la première fois en 2010, permettant d'importants progrès en génomique et en sélection variétale (Velasco *et al.*, 2010). Par la suite trois autres séquençages ont été effectués (Daccord *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2019; Broggini *et al.*, 2020). Depuis d'autres espèces du genre ont pu être séquencées telles que *Malus baccata* ou encore *Malus sylvestris* (Chen *et al.*, 2019; Ruhsam *et al.*, 2022).

Year	Total Global losses (USD Million)	No. of Affected Countries	Yield loss (%)	Management costs (USD million)	Trade Disruptions (USD million)
2018	500	25	30	150	50
2019	600	30	35	180	70
2020	700	35	40	210	100
2021	750	40	45	225	120
2022	800	45	50	240	150

Tableau 1 : Pertes économiques causées par le feu bactérien sur les arbres fruitiers dans le monde entre 2018 et 2022 (Salceanu et al., 2023)

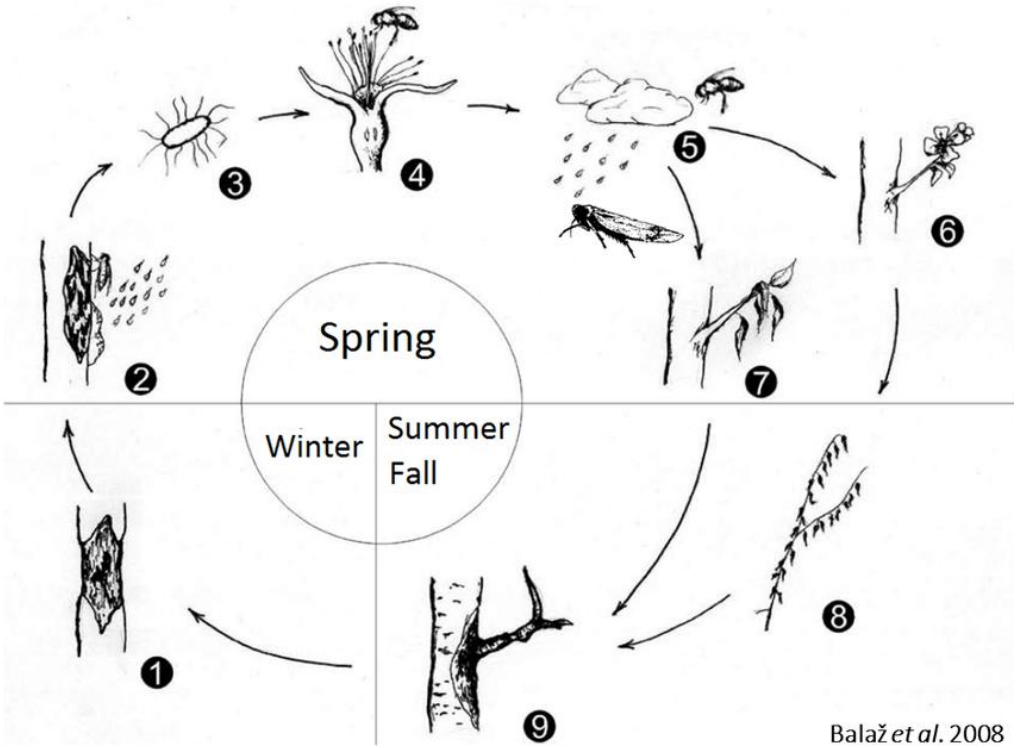


Figure 3 : Schéma du cycle de développement du feu bactérien (Erwinia amylovora).

1 : Hivernage dans les chancres de bois, 2 : Apparition des bactéries à la surface de l'écorce sur les bords des chancres, 3 : Dissémination des bactéries sur les fleurs par les insectes, le vent et la pluie, 4 : Croissance de la population bactérienne sur les fleurs et exposition aux insectes vecteurs, 5 : Dissémination ultérieure des bactéries dans les fleurs et les pousses par la pluie, le vent et les insectes, 6 : Développement de la brûlure des fleurs , 7 : Développement de la brûlure des pousses , 8 : Mort des branches, 9 : Formation de nouveaux chancres et hivernage

Erwinia amylovora, une bactérie à l'origine de pertes considérables

Le feu bactérien est une maladie dévastatrice des vergers de pommiers mais aussi de poiriers et d'autres espèces de la famille des *Rosaceae* et plus particulièrement de la sous-famille des *Maloideae*. Cette maladie est provoquée par la bactérie Gram négative *Erwinia amylovora* (Ea), de la famille des *Enterobactéries*. Cette maladie est susceptible d'engendrer des pertes économiques considérables (Tableau 1). Ces pertes sont difficiles à estimer car elles dépendent de l'intensité de la maladie et les répercussions de cette dernière peuvent perdurer sur plusieurs années (Sălceanu *et al.*, 2023). Le coût associé aux pertes de récolte peut s'élever jusqu'à 100 millions de dollars par an pour l'industrie américaine de la pomme (Curtis, 2024).

Cette maladie originaire de l'Amérique du Nord a été observée pour la première fois en 1780 dans l'Etat de New York (Bonn, Zwet, 2000), elle s'est depuis propagée dans plus de 50 pays du monde, menaçant ainsi, la production de pommes et de poires principalement (Zhao *et al.*, 2019). Cette maladie est apparue pour la première fois en Europe en 1957 et en France en 1972.

Actuellement, il existe peu de produits capables de contrôler le feu bactérien. Les antibiotiques, notamment ceux à base de streptomycine, et les produits à base de cuivre ont pendant longtemps été les principales solutions de lutte contre le feu bactérien. Cependant, ces produits sont largement remis en cause en raison de leur contribution à la pollution de l'environnement et au développement de résistances (Pedroncelli, Puopolo, 2024). De plus, l'utilisation de ces antibiotiques est interdite par la réglementation européenne. Pour l'ensemble de ces raisons, la recherche tente de trouver de nouvelles stratégies de défense au feu bactérien. Les méthodes de lutte alors possibles pour entraver la progression et/ou l'apparition d'*Ea*, sont :

- La lutte génétique avec le déploiement de variétés résistantes
- Le travail du sol et l'entretien des cultures
- La désinfection du matériel de taille
- L'utilisation de produits de biocontrôle homologués (substances naturelles, microorganismes antagonistes…)

La source primaire d'inoculum de la bactérie est présente dans les chancres du bois (Figure 3). Pendant l'hiver, les chancres fournissent un site de survie pour les populations bactériennes en dormance. Au printemps, l'augmentation des températures permet la multiplication rapide des bactéries. La température optimale pour le développement d'*Ea* est de 28°C, mais la maladie est capable de se développer à des températures comprises entre 4 et 37°C (Vanneste, 2000). La dissémination des bactéries se fait principalement via le transport des insectes qui

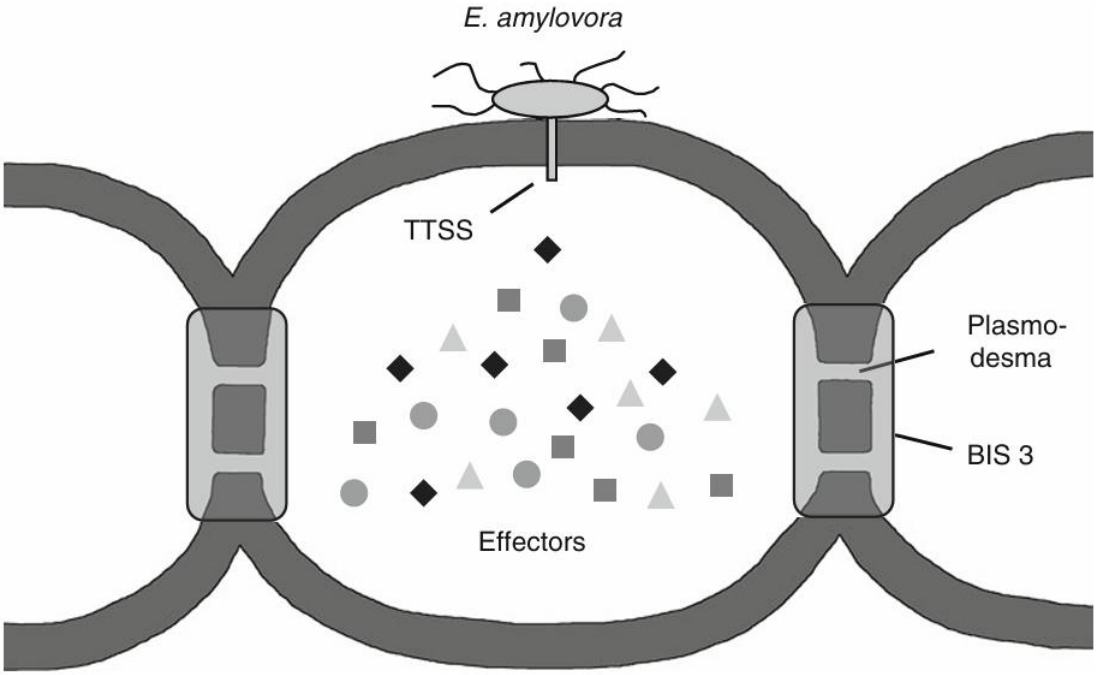


Figure 4 : Schéma de l'interaction entre Erwinia amylovora et une cellule végétale (Chizzali et al., 2013).

Figure 5 : Photographie d'une pousse de pommier entièrement infectée par Erwinia amylovora (feu bactérien).

transitent d'un arbre à l'autre, mais une dissémination via la pluie ou le vent peut également avoir lieu. Les principaux sites d'infection du pommier sont les ouvertures naturelles comme les fleurs ou les jeunes feuilles blessées des pousses en croissance active (Kharadi, Sundin, 2021). Une fois les bactéries entrées dans les tissus intercellulaires, celles-ci se déplacent de façon systémique dans l'arbre en transitant d'une cellule à l'autre, via le parenchyme et le xylème. La colonisation progressive des espaces intercellulaires provoque la mort cellulaire et par conséquent la nécrose des tissus. Le système de sécrétion de type III (T3SS) constitue probablement le facteur de virulence principal d'*Ea*. Ce système de sécrétion possède une structure en forme d'aiguille qui permet à la bactérie d'injecter des protéines effectrices des cellules pathogènes au sein des cellules hôtes (Figure 4), entrainant la suppression de l'immunité de l'hôte et conduisant à la mort des cellules végétales, facilitant ainsi l'infection et la progression de la maladie (Cui *et al.*, 2021a). Les bactéries se déplacent des tissus les plus jeunes vers les tissus les plus vieux via le parenchyme ou certaines fois plus rapidement via les tissus vasculaires. Les pousses atteintes se flétrissent et se recourbent en forme de crosse (Figure 5). A la surface des tissus infectés des exsudats peuvent être sécrétés. Ces exsudats sont composés d'exopolysaccharides (amylovoran, levan et cellulose) et de bactéries, ils contribuent à la mobilité (via les insectes) ainsi qu'à la pathogénicité et à la virulence d'*Ea* et représentent la source d'inoculum secondaire en été (Koczan *et al.*, 2009; Yuan *et al.*, 2022). Le développement de la maladie peut conduire à la mort des branches touchées, voire de l'arbre entier dans le cas de variétés très sensibles. Enfin, à l'automne, de nouveaux chancres sont formés et permettent l'hivernage des populations bactériennes.

Plusieurs facteurs sont impliqués dans le développement du feu bactérien, tels que :

- Les **insectes** présents qui peuvent favoriser la dissémination de la bactérie. Par exemple, il semblerait que les mouches participent davantage à la dissémination de la bactérie que les abeilles pollinisatrices même si leur rôle respectif n'a pas encore été clarifié (Boucher *et al.*, 2021).
- L'**environnement**, dont la température et l'humidité relative. En effet, il a été montré qu'un environnement humide pouvait favoriser la multiplication de la bactérie (Pusey, 2000). De plus, une humidité relative élevée contribue à augmenter la proportion de bactéries présentes sur le stigmate floral exprimant le système de sécrétion T3SS par comparaison avec des conditions d'humidité relative faible (Cui *et al.*, 2021a). De la même manière, comme nous avons pu le voir, la température joue un rôle crucial dans l'infection des fleurs de pommiers au feu bactérien. Le pH est également un facteur influençant la croissance d'*Ea*. Son pH de croissance

optimale est de 7,5 et des conditions acides (pH < 4) supprime l'induction des gènes du T3SS diminuant, ainsi, la virulence de l'infection.

- La **plante hôte**. Selon l'espèce et/ou la variété la réponse de la plante à *Ea* est variable, en fonction des mécanismes de défense qu'elle possède. Certaines plantes expriment une résistance plus élevée liée à des stratégies de défense spécifiques, tandis que d'autres plantes présentent une sensibilité plus forte à l'infection.
- Les **communautés microbiennes** présentent dans les fleurs, qui peuvent entrer en compétition avec *Ea* pour les ressources nutritionnelles (Cui *et al.*, 2021b) et ainsi réduire sa capacité de croissance.

Le levier génétique pour la résistance au feu bactérien

Plus de 10 000 variétés ont été recensées chez *M. domestica* et seulement une dizaine sont représentées à l'échelle de la production mondiale (Gouvernement du Canada, 2014). Parmi les variétés commerciales les plus cultivées, nous retrouvons : Fuji, Gala, Braeburn ou encore Crispps Pink (Pink lady), et la majorité d'entre elles sont sensibles au feu bactérien (Van De Weg *et al.*, 2018). Par contraste, les espèces de pommiers sauvages constituent une source remarquable d'allèles favorables vis-à-vis de divers stress biotiques et abiotiques (Tegtmeier *et al.*, 2025). Parmi différentes espèces de *Malus*, plusieurs locus de caractères quantitatifs ont pu être identifiés avec des variances phénotypiques pouvant aller de 15 à 83 % (Harshman *et al.*, 2017). L'utilisation d'espèces de pommier sauvage dans le cadre de programme de sélection s'avère comme étant un élément essentiel pour améliorer la résistance des pommeraies au feu bactérien, d'autant plus que les sources de résistances génétiques ayant les effets les plus forts ont été détectés sur des *Malus* sauvages (Harshman *et al.*, 2017). Toutefois, l'intégration de ressources génétiques provenant d'espèces apparentées sauvages relève du défi, car leurs performances agronomiques et la qualité de leurs fruits diffèrent souvent fortement de celles du matériel « élite ». L'introduction directe de ressource génétique dans les programmes de sélection est donc très limitée, car l'apport d'allèles favorables issus d'espèces sauvages peut également s'accompagner de l'introduction d'allèles défavorables pour certains traits d'intérêt.

Pour limiter l'usage des produits phytosanitaires et lutter contre les agents phytopathogènes, une des solutions s'appuie sur l'immunité de la plante en utilisant des variétés résistantes. En effet, lorsqu'un agent pathogène attaque une plante, celle-ci est capable de mettre en place des mécanismes de défense. L'immunité végétale se décline en trois grandes étapes. D'abord, la

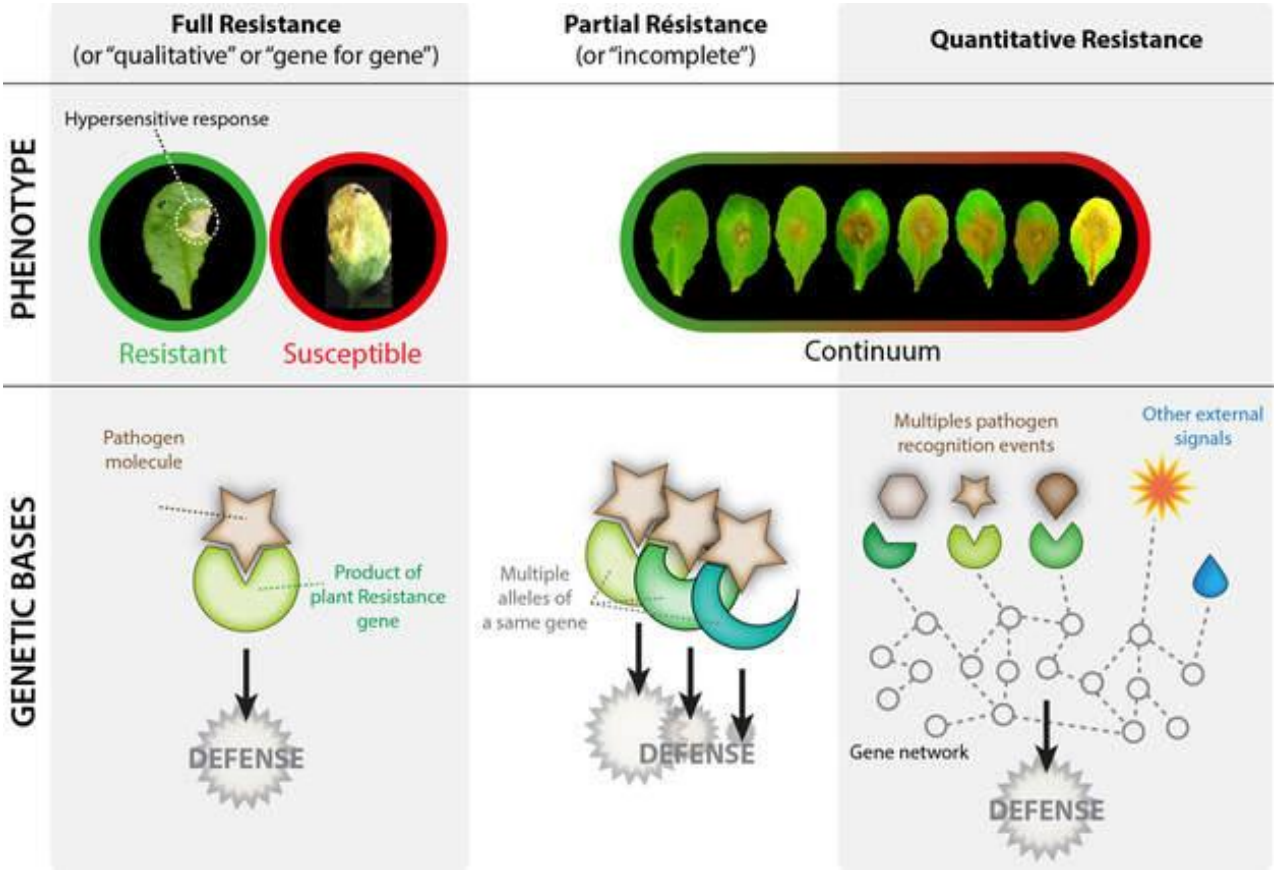


Figure 6 : Schéma des deux formes de résistance génétique.

perception de l'agent pathogène, puis la transmission du signal d'alerte et enfin la mise en place des mécanismes de défense (Andersen *et al.*, 2018).

Il existe deux types de résistance génétique qui peuvent se distinguer en fonction de la distribution du phénotype de résistance (Figure 6). D'une part, les résistances qualitatives, associées à des réponses immunitaires hypersensibles, ont une distribution discontinue. Autrement dit, dans cette situation soit la plante porte un gène de résistance majeur, appelé « R gene » et est complétement résistante au pathogène ou bien elle ne porte pas ce gène et est sensible au pathogène. Dans ce cas, on parle également de résistance complète. D'autre part, les résistances dites quantitatives se distinguent des résistances qualitatives par une distribution continue des phénotypes des plantes sensibles et résistantes. Dans ce cas, on parle également de résistance partielle. Visuellement ce type de résistance se traduit par une diminution des symptômes plus que par une absence complète de la maladie (Poland *et al.*, 2009). Cette résistance s'appuie sur une combinaison de plusieurs gènes (Niks *et al.*, 2015). Globalement, les résistances qualitatives sont associées à un contrôle monogénique, tandis que les résistances quantitatives sont associées à un contrôle polygénique. C'est pourquoi on parle de gène majeur dans le cadre d'une résistance qualitative, et de QTL (Quantitative Trait Locus) pour la résistance quantitative, ce dernier couvrant une région génomique plus large.

Les résistances qualitatives n'ont donc besoin des allèles favorables que d'un seul gène pour induire la résistance, rendant son intégration dans les programmes de sélection plus facile. Cependant, les résistances qualitatives induisent une pression de sélection forte sur les agents pathogènes pouvant favoriser l'émergence de souches capables de les contourner. Par conséquent, plusieurs études ont montré la dégradation de résistances issues de gènes majeurs chez le pommier domestique (Parisi *et al.*, 1993; Rouxel *et al.*, 2003; Caffier, Laurens, 2005). Ainsi, les résistances polygéniques se sont avérées plus durables que les résistances monogéniques (Parlevliet, 2002). Cette durabilité des résistances polygéniques s'explique notamment par une combinaison de différents mécanismes associés à la résistance qui, assemblés, sont plus difficilement surmontables par l'agent pathogène (Pilet-Nayel *et al.*, 2017; Poland *et al.*, 2009). Malgré tout, une érosion de quelques résistances quantitatives a également pu être observée dans certaines études (Caffier *et al.*, 2014; 2016). Par conséquent, une combinaison (ou pyramidage) de gènes majeurs et de QTLs exerçant des pressions de sélection différentielles sur les souches de pathogène pourrait contribuer à prolonger la durabilité des résistances dans les vergers, (Pilet-Nayel *et al.*, 2017; Palloix *et al.*, 2009; Van *et al.*, 2013), tout en limitant l'apparition de souches virulentes.

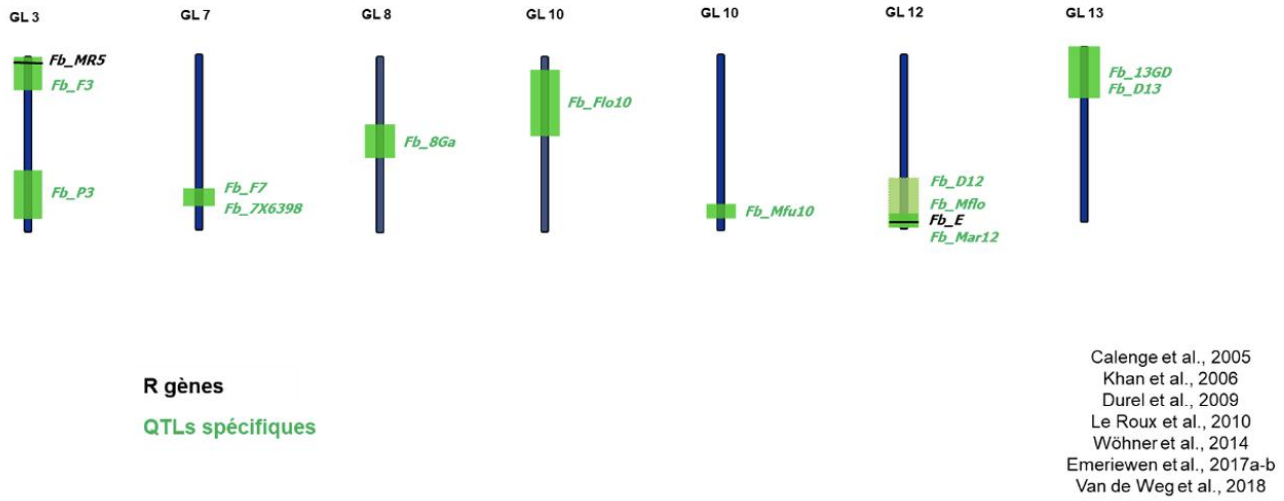


Figure 7 : Représentation graphique d'une carte génétique présentant la localisation des gènes majeurs et QTLs de la résistance au feu bactérien.

A ce jour, un gène majeur (Wöhner *et al.*, 2018) et sept QTLs (Van de Weg *et al.*, 2017; Ofere Emeriewen *et al.*, 2017; Le Roux *et al.*, 2010; Calenge *et al.*, 2005; Khan *et al.*, 2006; Durel *et al.*, 2009; Benejam, 2021) ont pu être mis en évidence concernant la résistance du pommier au feu bactérien (Figure 7). Seul le gène majeur, Fb-Mr5, a été validé fonctionnellement pour le feu bactérien (Broggini *et al.*, 2014). Ce gène majeur est situé sur le groupe de liaison 3 de *Malus robusta5* et a pu être validé grâce à une approche transgénique sur le cultivar Gala. En revanche dans le cas d'un QTL, la validation fonctionnelle est plus complexe en raison de sa nature polygénique. Un travail préalable de cartographie fine est nécessaire afin de réduire l'intervalle de confiance et de préciser sa position sur le groupe de liaison (LG) dans le but de confirmer l'association entre le QTL et la variation phénotypique du caractère d'intérêt.

Plusieurs QTLs à effet majeur, c'est-à-dire expliquant 40 % voire plus de la variation phénotypique, ont été caractérisés grâce à des populations dérivées de matériel génétique sauvage, dont par exemple, Evereste, *Malus floribunda 821* (Durel *et al.*, 2009) ou encore *Malus robusta* (Sarah A. Kostick *et al.*, 2021). Cependant, les sources de résistances génétiques des espèces apparentées sauvages restent encore mal connues et pourraient pourtant contribuer à lutter efficacement contre la maladie. Un intérêt fort est donc porté vers les espèces apparentées sauvage pour identifier de nouvelles sources de résistance génétique. Par exemple en 2014, Peil *et al.* ont montré la présence d'un QTL expliquant jusqu'à 50 % de la variance phénotypique, sur le LG 12 de *Malus baccata*. Ils ont également montré la présence d'un QTL de résistance au feu bactérien sur le LG 10 de *Malus fusca* et d'un QTL sur le LG 3 de *Malus robusta5* (Peil *et al.*, 2014). Une descendance F_2 issues du croisement entre *Malus fusca* (MAL0045) et Idared a également permis de mettre en évidence deux QTLs à effet modéré situé sur les LG 4 et 15 (Emeriewen *et al.*, 2023).

Au sein de la « Famille F », croisement entre les variétés TN10-8 et Fiesta, un QTL de résistance au feu bactérien a pu être détecté sur le LG 7 de Fiesta expliquant entre 34,3 % et 46,6 % de la variation phénotypique (Calenge *et al.*, 2005). Dans sa thèse, Juliette Bénéjam a permis la diminution de l'intervalle de confiance de ce QTL à 4,3 cM, réduisant ainsi le nombre de gènes candidats à 173, parmi lesquels 139 sont annotés comme codant pour des protéines (Benejam, 2021). Parmi les protéines d'intérêts pour la résistance, il peut y avoir entre autres des protéines intervenant dans la signalisation cellulaire (déclenchant les défenses), des protéines à effet antimicrobien (peptides et protéines PR) et des enzymes du métabolisme spécialisé permettant la synthèse de phytoalexines (métabolites antimicrobiens).

Voie métabolique des biphényles et dibenzofuranes et résistance induite par les SDP

Les potentiels de défense des plantes sont nombreux, et l'une de ces stratégies réside dans l'accumulation de phytoalexines (Dixon, 2001). Les phytoalexines correspondent à des composés antimicrobiens synthétisés par les plantes en réponse à une attaque de pathogène. En effet, les plantes sont capables de synthétiser plus de 200 000 composés, dont une partie contribue à la défense des plantes contre leurs pathogènes (Hartmann, 2007). Les espèces fruitières de la famille des Rosacés, telles que le pommier ou le poirier sont en capacité de synthétiser ce type de composés, dont les biphényles (BP) et les dibenzofuranes (DBF), deux groupes de molécules liées à la même voie de biosynthèse mais avec une structure de base distincte. Ces deux groupes de phytoalexines contribuent à la défense des plantes, et s'accumulent chez le pommier en réponse à *Ea* (Chizzali *et al.*, 2012a). Cette même étude a également mis en évidence la présence de ces composés uniquement dans les zones de transition entre les parties nécrosées et les parties saines, suggérant que ces phytoalexines pourraient être impliquées dans l'arrêt de la progression de la maladie (Chizzali *et al.*, 2012a). Actuellement, 46 BPs et 44 DBFs ont pu être détectés sur 44 espèces de Malinae, dont 21 BPs et 21 DBFs ont été démontrés comme étant des phytoalexines (Busnena *et al.*, 2023).

Chez le pommier (*Malus domestica*), 11 biphényles et 5 dibenzofuranes ont été mis en évidence sur différents organes dont les racines, la tige, les pousses, l'aubier ou encore en culture cellulaire (Busnena *et al.*, 2023). L'accumulation de ces phytoalexines apparaît après une exposition à un stress biotique ou abiotique (Jeandet, 2015). La majorité de ces composés possède une activité antimicrobienne (Chizzali, Beerhues, 2012; Busnena *et al.*, 2023). L'activité antifongique de la noraucuparine, l'aucuparine et l'eriobofurane ont montré une inhibition de la germination des conidies de *Venturia inaequalis* (agent pathogène à l'origine de la tavelure), à hauteur de 28 %, 46 % et 34 %, respectivement. De la même manière, le Malusfuran et le 2,4-dimethoxy-3,9-dihydroxydibenzofurane ont la capacité à inhiber la germination des spores de *Venturia inaequalis*. Cependant, moins d'études ont été réalisées sur leur activité antibactérienne (Busnena *et al.*, 2023). Une étude a, toutefois, testé l'activité antibactérienne *in vitro* d'un panel de 13 BPs et de 4 DBFs sur plusieurs souches d'*Ea*. Parmi ce panel 9 BPs et 3 DBFs ont montré des valeurs de CMI (Concentration Minimale Inhibitrice) inférieure à 500 µg/ml (aucune différence de CMI n'a été observée entre les souches d'*Ea*). Cette même étude a également montré l'accumulation de quatre BPs et deux DBFs dans les tiges de pommier après induction par la souche 222 d'*Ea*, dont trois BPs et un DBF, qui font partie des composés ayant présenté une CMI faible *in vitro* (Chizzali *et al.*, 2012a).

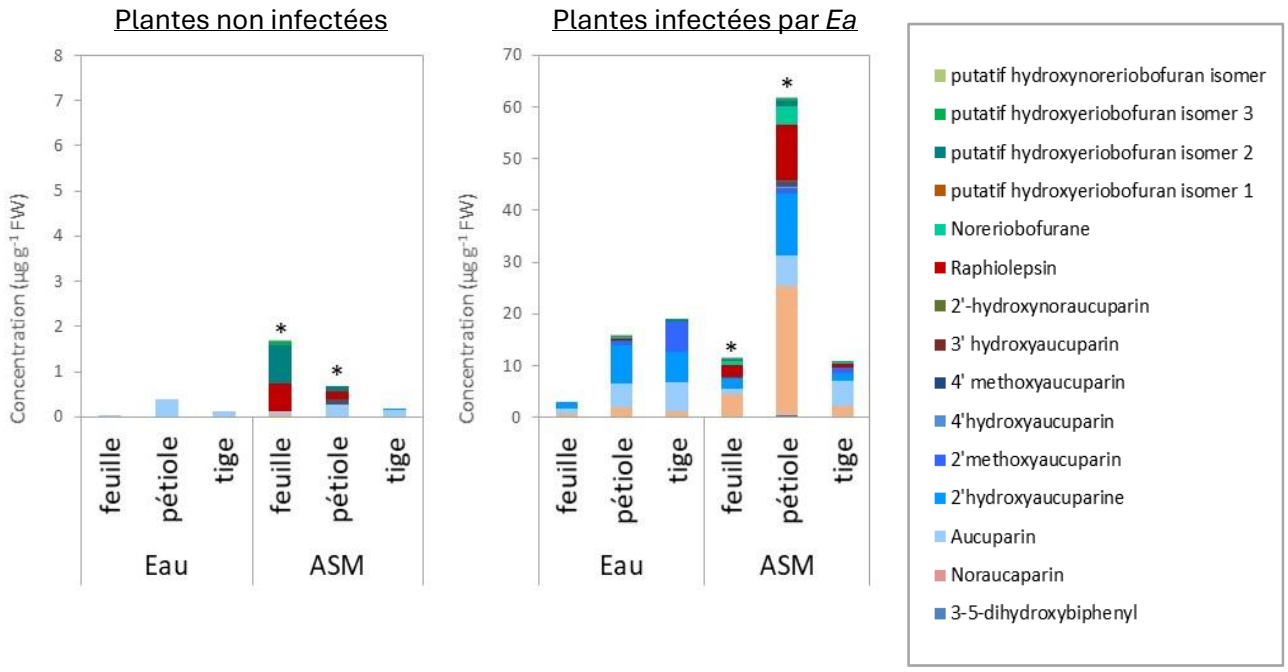


Figure 8 : Graphiques des biphényles et dibenzofuranes accumulés dans différents organes du pommier en réponse à un stimulateur de défense des plantes (ASM) et à l'infection par Ea.

La résistance induite par des Simulateurs de Défense des Plantes (SDP) est une stratégie complémentaire à la résistance génétique, étudiée au sein de l'équipe, pour améliorer la résistance des plantes aux stress biotiques. Le SDP principalement étudié dans l'équipe est le Bion® 50WG contenant de l'ASM (50%) pour acibenzolar-S-méthyl. La matière active ASM est un analogue fonctionnel de l'acide salicylique. L'acide salicylique est impliqué dans la résistance induite des plantes en activant une voie de signalisation en réponse à un pathogène. L'activation de cette voie de signalisation est à l'origine de l'expression de gènes de défense qui permettent à la plante de renforcer ses mécanismes immunitaires, même à distance de la zone d'infection. L'homologie de l'ASM avec l'acide salicylique, lui permet d'induire l'expression des gènes de défense sans la présence du pathogène. C'est, en effet, le principe sur lequel repose le fonctionnement des SDP. Un SDP est défini comme des *« substances ou produits naturels ou non, capables d'induire (ou de préparer à l'induction), chez les plantes traitées, un état de résistance aux bio-agresseurs »* (AFPP-CEB DT n°18). Par conséquent, les éliciteurs ou SDP n'ont pas d'effet direct sur les bioagresseurs mais c'est bien grâce à leur capacité à induire une cascade de réactions chez les plantes traitées que cela va concourir à la rendre plus résistante face aux attaques des pathogènes.

Des travaux de l'équipe ont permis de montrer que l'application de Bion protégeait significativement le pommier contre le feu bactérien (Brisset *et al.*, 2000) même si l'efficacité en vergers est moindre que celle obtenue en serre (Marolleau *et al.*, 2017). Un essai sur semis de Golden (variété sensible au feu bactérien), intégrant au modèle pommier/*Ea* l'application de Bion, a permis de confirmer l'induction de la synthèse des BP/DBF par la bactérie d'une part (avec ou sans SDP), et d'identifier des différences à la fois quantitatives et qualitatives apportées par le Bion d'autre part (avec ou sans *Ea*). En effet, la figure 8 montre une différence significative des quantités de BPs et DBFs pour les feuilles et pétioles entre les plantes traitées à l'eau et celles traitées à l'ASM que ce soit pour les plantes infectées ou non par *Ea*. Sur cette figure nous observons donc des différences quantitatives et qualitatives entre les plantes inoculées ou non avec *Ea* ainsi qu'entre les plantes traitées avec l'ASM ou non. Les plantes traitées et inoculées sont donc les plantes accumulant le plus grand nombre de BPs/DBFs en termes de quantités et de diversité de molécules. Des résultats de données transcriptomiques de l'équipe ont également montré la capacité de l'ASM à induire les gènes codant pour les enzymes BIS et B4H connues et celles hypothétiquement impliquées (OMT et P450s) dans la voie de biosynthèse. Concernant la voie de synthèse des BPs et DBFs, certaines enzymes de biosynthèse ont donc pu être caractérisées, notamment l'enzyme BIS (Biphényle Synthase) ou encore deux O-méthyl-transférases (OMT1 et OMT2) à l'origine de la synthèse de l'aucuparine

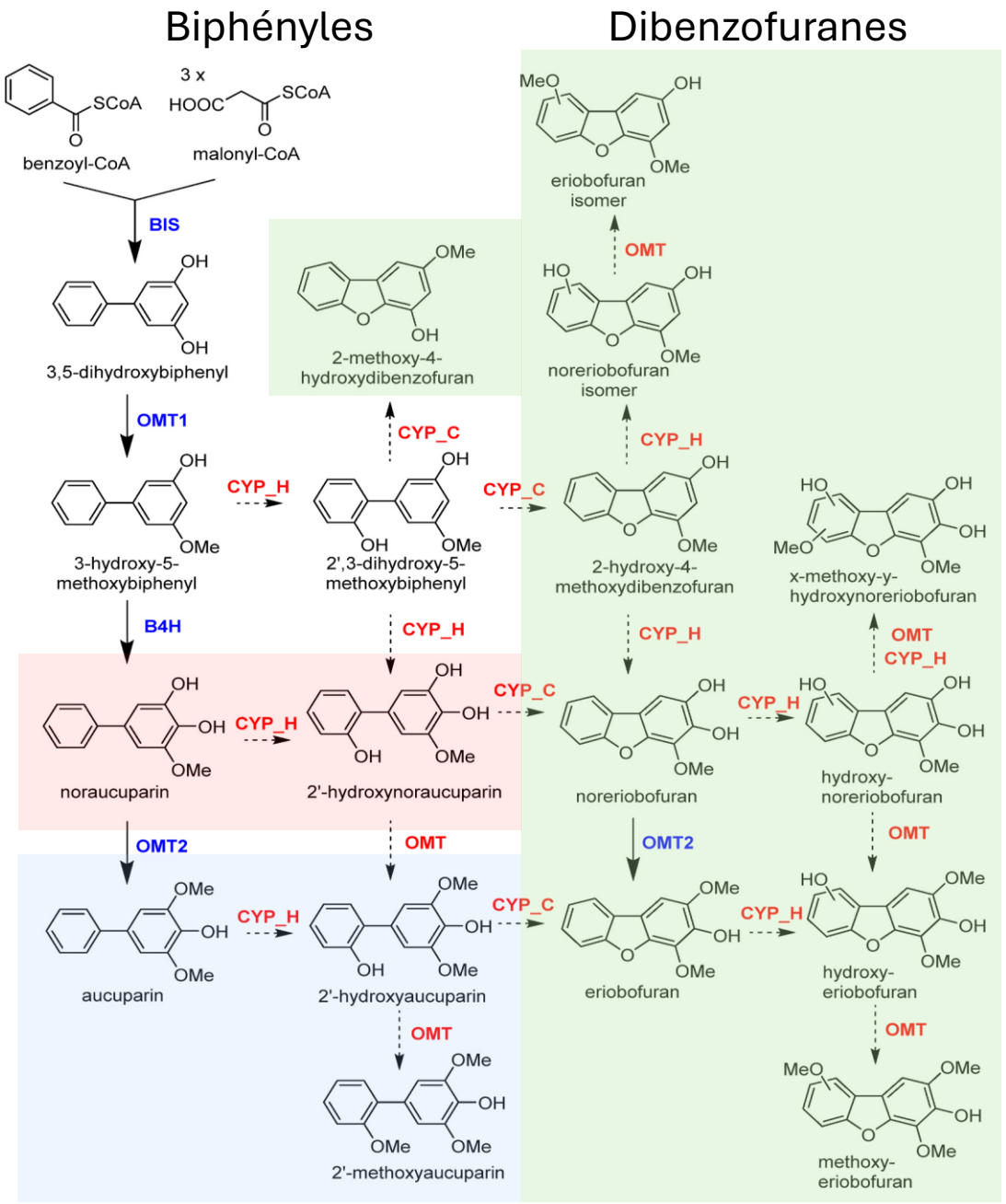


Figure 9 : Voie établie de la biosynthèse de l'aucuparine et proposition de la voie de biosynthèse de dibenzofurane (Busnena et al., 2021).

Sur cette figure, les enzymes en bleu représentent les enzymes qui ont pu être caractérisées, les enzymes en rouge sont les enzymes hypothétiques. Les flèches pleines correspondent aux actions prouvées expérimentalement et les flèches discontinuent sont celles proposées.

(Figure 9). Cependant, le reste de la voie de biosynthèse demeure hypothétique (Busnena *et al.*, 2021).

Problématique et hypothèses

Le feu bactérien, causé par la bactérie Gram négative *Erwinia amylovora* (*Ea*), est une maladie dévastatrice des vergers de pommiers en raison de sa forte pathogénicité et de sa virulence. Peu de solutions existent pour lutter contre cette maladie, les cultivars actuellement utilisés sont majoritairement sensibles et les solutions de lutte existantes sont largement remises en cause en raison de leur impact sur l'environnement et sur leur contribution à l'apparition de résistance à ces produits. De plus, il a été démontré que certaines souches d'*Ea* sont capables de contourner quelques gènes majeurs de résistance (Vogt *et al.*, 2013). A ce jour, les sources de résistance à cette maladie les plus importantes ont été observées sur des espèces apparentées sauvages (Harshman *et al.*, 2017). Il paraît donc essentiel d'explorer plus largement la diversité afin de trouver de nouvelles sources de résistance au feu bactérien et de comprendre le fonctionnement de ces dernières. Cette exploration peut s'effectuer en criblant des populations par différentes approches (génotypage, phénotypage) afin d'identifier des régions génomiques associées aux traits d'intérêt (par cartographie génétique), ou en ciblant des mécanismes moléculaires précis, suspectés d'être impliqués dans la résistance. Certaines études ont notamment mis en évidence l'intérêt de la voie métabolique des biphényles et dibenzofuranes dans la résistance du pommier au feu bactérien. Des analyses préliminaires mises en place au laboratoire montrent l'existence de différences quantitatives et qualitatives pour ces composés en fonction de la sensibilité d'un génotype à la maladie.

L'objectif de ce stage est donc, d'une part, d'explorer de nouvelles sources de résistance au feu bactérien chez un *Malus* sauvage et de préciser l'intervalle de confiance d'un QTL précédemment identifié chez *M. domestica*. Et d'autre part, ce stage a pour objectif d'identifier et de quantifier les biphényles et dibenzofuranes de 24 génotypes de pommiers ayant des niveaux de résistances contrastés. Ces données permettront de comparer les profils métaboliques avec les niveaux de sensibilité des génotypes au feu bactérien. Ainsi, nous proposons de répondre à la problématique suivante :

En quoi l'étude de la diversité génétique des pommiers permet-elle d'identifier des mécanismes génétiques et métaboliques impliqués dans la résistance au feu bactérien ?

Pour répondre à cette problématique nous avons envisagé deux axes complémentaires, chacun d'eux déclinés en plusieurs hypothèses.

Le premier axe est donc d'identifier et de préciser les zones du génome associées à la résistance au feu bactérien au moyen de deux descendances biparentales.

- La descendance biparentale issue du croisement entre une variété cultivée (Idared) et un pommier sauvage (*Malus baccata Almey*) permettra d'identifier de nouvelles sources de résistance au feu bactérien.
- L'analyse spécifique des individus recombinants, issus de la descendance TN10-8 x Fiesta, dans la région du qF7 (QTL porté par le chromosome 7 de Fiesta) permettra d'affiner la position de ce locus, responsable de la résistance au feu bactérien.

Et le deuxième axe est de caractériser quantitativement et qualitativement les BPs/DBFs au sein d'une diversité génétique ayant des réponses contrastées vis-à-vis d'*Ea*.

- Les génotypes résistants synthétisent et accumulent davantage de BPs/DBFs dans leurs tissus.
- Certains métabolites spécifiques contribueraient plus efficacement pour lutter contre *Ea*.

Plus globalement, ce travail permet de mettre en évidence les étapes clés de l'étude génétique et fonctionnelle des résistances chez les plantes permettant l'identification et la compréhension des mécanismes de résistance génétique pour l'amélioration variétale. Ainsi, la première étape s'illustre par une étude de cartographie et de détection de QTL sur une descendance Idared x *Malus baccata Almey* présentant une variabilité de réponse face à *Ea*. La seconde étape permet la cartographie fine d'une région précise du génome (ici qF7) sur la descendance TN10-8 x Fiesta afin d'identifier les gènes candidats à valider fonctionnellement. Enfin, la dernière étape consiste à comprendre l'effet des mécanismes moléculaires sous-jacents via des analyses métabolomiques ciblées.

Matériel et Méthodes

Descendances bi-parentales (IdxMbA et TxF)

Matériel végétal

Les expérimentations ont été menées sur deux descendances biparentales afin d'effectuer deux analyses différentes. La première descendance utilisée est issue du croisement entre la variété Idared (*M. domestica*) et un génotype de *Malus baccata Almey* (MbA). Idared est une variété commerciale connue comme étant sensible au feu bactérien. Plusieurs études ont utilisé ce génotype comme parent sensible pour la détection de QTLs avec des espèces apparentées sauvages (Gardiner *et al.*, 2012; Ofere Francis Emeriewen *et al.*, 2017; Emeriewen *et al.*, 2021; 2023). *Malus baccata Almey* est une variété apparentée sauvage qui a été identifiée comme étant résistante au feu bactérien. Cette descendance inclut 140 génotypes répliqués en 9 copies.

La seconde descendance, nommée « Famille F » est issue d'un croisement entre les génotypes TN10-8 et Fiesta, réalisé dans le cadre du projet européen DARE (Durable Apple Resistance in Europe, 1998-2002). La variété TN10-8 est porteuse des allèles de résistance à la tavelure pour les QTL qT1 et qT13 (Calenge *et al.*, 2004; Benejam, 2021). De façon complémentaire la variété Fiesta porte les allèles de résistance des QTLs qF3, qF11 et qF17 (Durel *et al.*, 2003; Liebhard *et al.*, 2003; Calenge *et al.*, 2004; Benejam, 2021) pour la tavelure. Fiesta porte également l'allèle de résistance du QTL qF7 pour le feu bactérien (Calenge *et al.*, 2005; Khan *et al.*, 2007). Une première série d'environ 200 individus de cette descendance ont été génotypés et phénotypés dans le cadre de la thèse de Juliette Bénéjam (2021). En 2023, 1970 autres individus de cette descendance ont été semés et génotypés, permettant entre autres de diminuer les intervalles de confiance des QTLs liés à la résistance à la tavelure. Dans le cadre de l'expérimentation réalisée durant le stage, seulement les descendants recombinants[1] dans la région du qF7 ont été sélectionnés, soit 106 individus répliqués en 9 copies. L'étude de cette descendance a donc pour objectif de permettre la diminution de l'intervalle de confiance de ce QTL lié à la résistance au feu bactérien. Pour cette expérimentation les plantes sont effeuillées au cours de leur croissance afin de ne conserver qu'une seule pousse par plante.

[1] Les individus dits « recombinants » correspondent aux descendants qui présentent une nouvelle combinaison d'allèles issue du brassage génétique lors de la méiose. Par conséquent, ces individus ne présentent pas le même assemblage d'allèles que les types parentaux.

Dispositif expérimental
Préparation des plants

Pour l'expérimentation en génétique comme pour celle en métabolomique, les expérimentations ont été effectuées sur plantes greffées. Les greffons ont été prélevés en vergers et greffés au porte-greffe MM106 en janvier 2025. Par la suite les greffes ont été rempotées et placées en serre avec les conditions suivantes : une température de 23°C en journée et de 20°C la nuit, une humidité comprise entre 40 et 80 % et si nécessaire de la lumière artificielle pour compléter la lumière naturelle.

L'expérimentation a donc été menée en serre, sous condition contrôlée, dans un module contenant quatre tablettes. Les deux premières tablettes contiennent la Famille F et les deux autres contiennent la descendance IdxMbA (le plan du module est décrit dans l'annexe 5). Cette expérimentation a été divisée en plusieurs lots d'inoculation en fonction du développement foliaire de chaque plante. Tous les lots n'ont pas le même nombre de plantes et le premier lot d'inoculation représente le lot le plus important en termes de nombre de plantes avec 1593 plantes sur 2045. Ce lot possède autant de plantes car il comprend l'ensemble des plantes dont les pousses sont supérieures à 15 cm au premier jour d'inoculation (12/03/2025). Pour ce lot, les individus d'un même génotype sont disposés les uns à la suite des autres. Tandis que pour les autres lots, les individus sont disposés de façon aléatoire. Afin de simplifier les étapes d'inoculation et de notation, les plantes de chaque lot sont regroupées.

Des témoins sensibles et résistants, ainsi que les parents des deux descendances ont été inclus dans le dispositif expérimental.

<u>Pour la descendance Idared x Malus baccata Almey :</u>

Témoin résistant : Evereste

Témoin sensible et parent 1 : Idared

Parent 2 : *Malus baccata Almey*

Descendance : 140 génotypes x 9 copies

<u>Pour la descendance TN10-8 x Fiesta :</u>

Témoin résistant : Evereste

Témoin sensible : Idared

Parent 1 : TN10-8

Parent 2 : Fiesta

Descendance : 106 génotypes x 9 copies

Préparation de l'inoculum

La souche utilisée pour l'inoculation est la souche de référence CFBP1430 d'*Erwinia amylovora*. Avant chaque session d'inoculation, la souche est cultivée la veille sur milieu King B et incubée à 28 °C. L'inoculum est préparé juste avant son utilisation, en diluant les bactéries dans de l'eau distillée stérile afin d'obtenir une suspension bactérienne avec une concentration de 10^7 colonies formant unité (CFU)/mL. Cette étape est commune aux deux expérimentations (génétique et métabolomique).

Inoculation

L'inoculation consiste à couper la plus jeune feuille développée au ¾, à l'aide d'un ciseaux préalablement trempés dans la suspension bactérienne. Les ciseaux sont plongés dans la suspension entre chaque plante et une seule feuille est inoculée par plante. L'inoculation s'effectue sur des pousses d'une longueur ≥ 15 cm. Pour cette raison trois vagues d'inoculation ont été réalisées :

Lot 1 - inoculation à J0, **Lot 2 -** inoculation à J7 et **Lot 3** – inoculation à J21

Par conséquent, les notations sur les différents lots ont été échelonnées de la façon suivante :

	Semaine 1			**Semaine 2**			**Semaine 3**			**Semaine 4**			**Semaine 5**			**Semaine 6**			**Semaine 7**		
Lot	**1**	**2**	**3**	**1**	**2**	**3**	**1**	**2**	**3**	**1**	**2**	**3**	**1**	**2**	**3**	**1**	**2**	**3**	**1**	**2**	**3**
Inoculation																					
Longueur totale J0																					
Longueur totale J7																					
Longueur nécrose J7																					
Longueur totale J14																					
Longueur nécrose J14																					
Longueur totale J21																					
Longueur nécrose J21																					

Les plantes ne présentant pas de pousse ou dont la pousse est inférieure à 10 cm à la troisième inoculation (Semaine 4) ont été exclues de l'expérimentation.

Acquisition des données

Les notations du feu bactérien sont effectuées une fois par semaine pendant trois semaines après inoculation, soit à J7, J14 et J21. La sensibilité au feu bactérien de chaque plante est évaluée par le ratio entre la longueur nécrosée et la longueur totale de la pousse (en cm) à chaque date. Les mesures sont effectuées à l'aide d'une règle et la précision se situe à ± 0,5 cm. Une première mesure de référence pour la longueur totale est également effectuée à J0 en plus

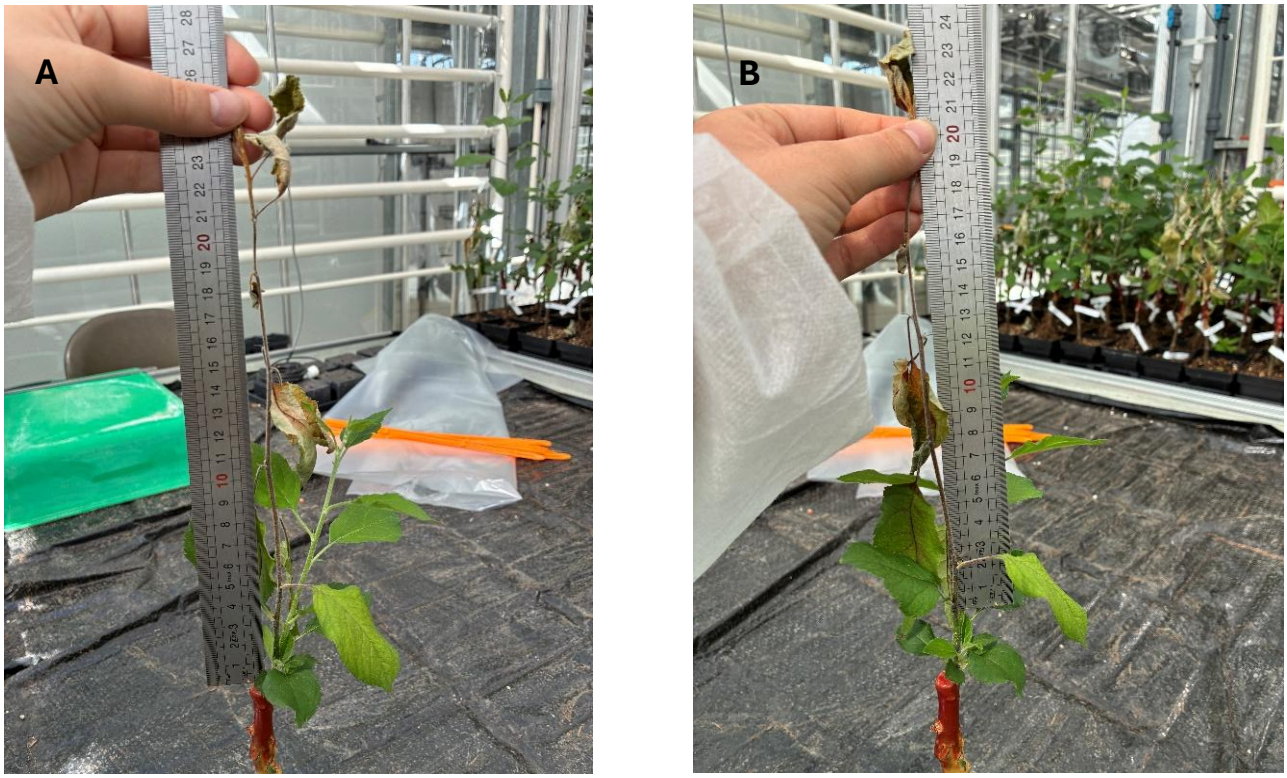


Figure 10 : Photographies des mesures 'Longueur totale' (A) et 'Longeur nécrose' (B) pour l'expérimentation de génétique

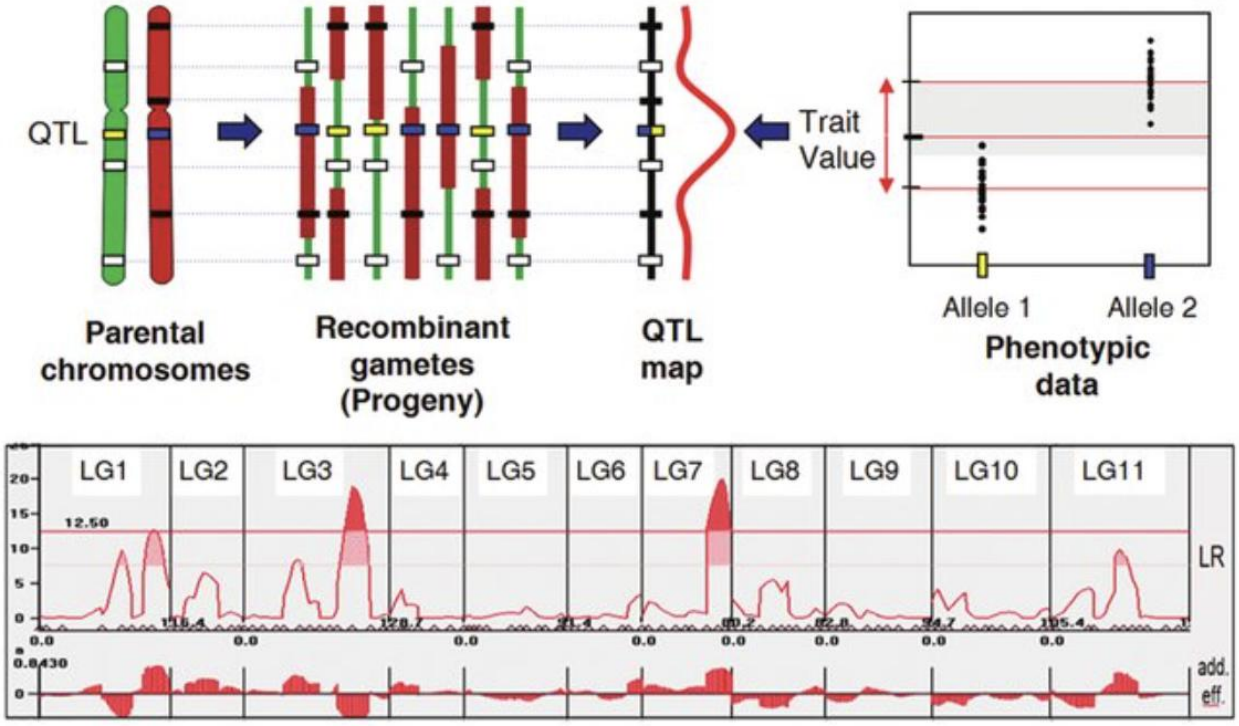


Figure 11 : Représentation schématique du principe de détection de QTL dans une descendance d'arbres hétérozygotes (Sederoff et al., 2010).

des trois autres mesures post-inoculation. La longueur totale est mesurée à partir de la base de la pousse du greffon jusqu'au bourgeon terminal et la longueur de la nécrose prend en compte l'ensemble de la portion visiblement atteinte de la tige (Figure 10).

Les ratios *'Longueur nécrose / Longueur totale'* ont été calculés pour les trois dates de notation (J7, J14 et J21 post-inoculation) et convertis en pourcentage. Ces ratios sont notés PLL7, PLL14 et PLL21 dans l'analyse pour Percent Lesion Length (PLL). Grâce à ces ratios, nous avons, ensuite, pu déterminer l'AUDPC (Area Under Disease Progression Curve), qui se calcule de la façon suivante :

$$A_k = \sum_{i=1}^{N_i-1} \frac{(y_i + y_{i+1})}{2}(t_{i+1} - t_i)$$

Où y_i correspond au ratio de la nécrose au $i^{ème}$ jour, et t_i correspond au nombre de jour après inoculation.

L'AUDPC est régulièrement utilisée en phytopathologie, puisqu'elle permet de résumer plusieurs observations de la maladie au cours du temps en une seule valeur. Cette valeur synthétique nous permet d'apprécier le niveau d'attaque de la maladie sur toute la période de l'infection, puisqu'elle prend en compte les valeurs PLL7 à PLL21.

Principe de la détection de QTLs

La détection de QTLs ou loci de caractère quantitatif vise à identifier la ou les région(s) du génome associée(s) à la variation d'un caractère d'intérêt. Cette analyse repose sur une démarche combinant des données génétiques et des données phénotypiques (Figure 11). L'objectif étant de déterminer s'il existe une différence de performance en fonction de l'allèle transmis. Contrairement aux gènes majeurs, les QTLs sont, en général, associés à un contrôle polygénique (de la variation), cela signifie que c'est l'effet de plusieurs gènes à effet faible ou modéré qui sont à l'origine de la variation du caractère étudié. Ainsi, un QTL ne correspond pas exactement à un gène (ou un ensemble de gènes) mais correspond davantage à une zone du génome dans laquelle se trouve un ou plusieurs gènes impliqués dans la régulation du caractère d'intérêt. Dans le cadre de la sélection variétale, la détection de QTLs permet de faciliter et d'accompagner la Sélection Assistée par Marqueurs (SAM).

La première étape avant de réaliser l'analyse de détection de QTL, consiste à réaliser les cartes génétiques de chaque groupe de liaison pour les deux parents de la descendance. Une

carte génétique est définie comme *« une représentation simplifiée du génome, qui consiste à jalonner l'ensemble des chromosomes de points de repère (appelés marqueurs) et à déterminer les distances qui les séparent »* (Tagu, Moussard, 2003). Une carte génétique est établie en s'appuyant sur deux grandes étapes qui sont : le regroupement par groupe de liaison puis l'ordonnancement des marqueurs au sein d'un groupe de liaison. Ainsi pour qu'un marqueur soit attribué à un groupe de liaison il doit être lié à au moins un autre marqueur du groupe de liaison. Pour déterminer si deux marqueurs sont liés on utilise la probabilité de recombinaison. Si la probabilité de recombinaison est inférieure à 0,5 alors les marqueurs sont liés deux à deux. Autrement, si la probabilité de recombinaison entre deux marqueurs est égale ou supérieure à 0,5, alors les deux marqueurs sont indépendants et ne sont donc pas situés sur le même chromosome. Ensuite, on cherche à trouver l'ordre le plus vraisemblable entre ces marqueurs (Wais, 2012). Généralement, l'ordre des marqueurs est calculé en utilisant la méthode du maximum de vraisemblance ou la régression linéaire, et la distance génétique entre chaque marqueur est calculée en fonction de la fréquence de recombinaison entre chaque paire de marqueurs.

Ensuite, une analyse de détection QTL peut avoir lieu soit par analyse de liaison ou bien par cartographie d'association (GWAS). Dans notre cas nous utilisons l'analyse de liaison qui consiste à croiser deux individus distincts (génotypiquement et phénotypiquement) et à analyser la progéniture afin d'identifier les marqueurs qui co-ségrègent avec le trait d'intérêt. Cette méthode repose sur le fait qu'en cas d'absence de QTL la valeur phénotypique moyenne est indépendante des allèles au marqueur et à l'inverse un QTL est détecté lorsque la valeur phénotypique moyenne est dépendante des allèles au marqueur donné (Wais, 2012).

Peu d'analyse ont été effectuée sur la descendance IdxMbA au sein de l'équipe, par conséquent, ses sources de résistance demeurent inconnues. L'objectif pour cette descendance est donc de réaliser les cartes génétiques de cette descendance, ainsi que d'effectuer la détection QTL par analyse de liaison sur l'ensemble du génome. Cependant, la Famille F est d'ores est déjà bien étudiée au sein de l'équipe. Les cartes génétiques ont déjà été effectuées, et la source de résistance du qF7 à déjà été identifiée et positionnée sur le génome, avec un panel d'environ 200 individus. Par la suite, environ 2000 autres individus de la descendance ont été génotypés et phénotypés, permettant d'identifier une centaine d'individus recombinant dans la région du qF7. Pour cette descendance, nous cherchons alors à affiner la position de ce QTL avec ces descendants spécifiques. Par conséquent, nous cherchons, d'une part, à cartographier

Idared	Malus baccata Almey	Descendance
AA	AA	AA
BB	BB	BB
AA	**AB**	**AA ou AB**
AB	**AA**	**AA ou AB**
BB	**AB**	**BB ou AB**
AB	**BB**	**BB ou AB**
AB	AB	AA ou AB ou BB
AA	BB	AB

Tableau 2 : Allèles attendus chez la descendance selon la ségrégation mendélienne des parents.

Seulement, les marqueurs en gras sont conservés pour réaliser les cartes génétiques et la détection QTL.

	Nombre de marqueurs
Sans erreur Mendélienne	23 181
Avec des erreurs Mendélienne	6 195
Données manquantes *(sur au moins un des deux parents)*	1 558

Tableau 3 : Bilan de la répartition des marqueurs selon leur conformité mendélienne.

uniquement la zone du qF7 avec d'autres marqueurs que ceux utilisés dans la thèse de Bénéjam (2021) puis, d'autre part, à réaliser la détection de QTL de cette zone uniquement.

Méthodes d'analyse ~ Idared x Malus baccata Almey

Tri des données de génotypage

Les données génotypiques ont été générées chez un prestataire en amont de mon stage et sont issues de la puce Axiom 50K. Dans un premier temps, un nettoyage des données de génotypage a été effectué. La puce 50K contenait un total de 48 138 marqueurs SNP (Single Nucleotide Polymorphism). Les marqueurs définis comme étant les plus robustes ont été pré-sélectionnés. Ensuite, nous avons écarté les marqueurs contenant des erreurs Mendéliennes (Tableau 2) cela signifie que si les parents sont tous les deux homozygotes AA, alors la descendance ne peut être qu'homozygote AA. Si ce n'est pas le cas le marqueur est exclu. Idem si les parents sont homozygotes BB. De la même manière si les deux parents sont homozygotes mais qu'un parent est AA et l'autre est BB alors toute la descendance porte les allèles AB. Enfin si un des parents est homozygote AA ou BB et l'autre est hétérozygote la descendance peut être soit AA, soit AB ou BB et AB. Tous les marqueurs ne respectant pas cette règle ont été exclus. Les marqueurs pour lesquelles le génotypage d'un des deux parents est manquant sont également exclus. Nous passons donc de 30 934 marqueurs à 20 750 marqueurs. Trois individus ont été identifiés comme comportant un nombre important d'erreur Mendélienne et ont donc également été exclus permettant d'améliorer le nombre de marqueurs sans erreur, passant ainsi à 23 181 marqueurs (Tableau 3). Par la suite certains marqueurs ont été exclus car ils n'apportent pas d'information pour la détection QTL. C'est le cas des marqueurs où les parents sont tous les deux homozygotes et possèdent donc les ségrégations possibles suivantes : AAxAA ou BBxBB ou bien AAxBB. De la même manière les marqueurs pour lesquels les deux parents sont hétérozygotes et suivent la ségrégation ABxAB ont également été exclu. En effet, dans le cas où les deux parents sont homozygotes, toute la descendance possède les mêmes allèles et ne permet donc pas de faire de différence dans l'analyse de QTL puisque tous les génotypes sont identiques. Dans le cas où les deux parents sont hétérozygotes, la descendance peut soit être AA, BB ou AB mais dans cette situation nous ne pouvons pas différencier les allèles provenant du premier parent ou du second. Ainsi, nous n'avons conservés que les marqueurs où un des parents est homozygote et l'autre est hétérozygote. A la fin de cette étape de tri il ne reste plus que 6 762 marqueurs fiables et informatifs.

Construction de la carte génétique de la descendance IdxMbA

Une fois les marqueurs filtrés, nous avons pu construire les cartes génétiques qui serviront par la suite à la détection QTL. Les cartes génétiques permettent donc d'associer les marqueurs à des groupes de liaison (représentant les chromosomes) et permettent également d'obtenir la position génétique des marqueurs sur le groupe de liaison (en cM). Les cartes génétiques ont été réalisées sur JoinMap 4.1 grâce aux 6 762 marqueurs sélectionnés et à 126 individus de la descendance. En amont de l'élaboration des cartes génétiques, les marqueurs ont été triés et annotés en fonction de leur ségrégation afin de différencier les marqueurs qui ségrégent pour Idared ou pour *Malus baccata Almey*. Les marqueurs qui ségrègent pour Idared (ABxAA ou ABxBB) ont été annotés *'lmxll'* et inversement les marqueurs qui ségrègent pour *Malus baccata Almey* (AAxAB ou BBxAB) ont été annotés *'nnxnp'*. La première étape sur JoinMap a été d'exclure les loci similaires, passant ainsi de 6762 marqueurs à 3396. Ensuite, nous avons utilisé la fonction *« Groupings Tree »* pour rassembler les marqueurs par groupe de liaison. Cette fonction s'appuie sur la méthode du test d'indépendance basé sur le LOD-score. Puis nous avons réalisé les cartes pour chaque groupe de liaison de chaque parent grâce à la fonction *« Create Groups Using the Groupings Tree »*. Cette fonction permet alors d'ordonner les marqueurs sur le groupe de liaison et permet également de déterminer la distance génétique (en cM) entre chaque marqueur. Afin d'attribuer chaque groupe de liaison à un chromosome spécifique et de déterminer le sens du groupe de liaison nous nous sommes appuyés sur le génome de référence de *M. domestica* 'HFTH1'(Zhang *et al.*, 2019).

Transformation et ajustement des données phénotypiques

Plusieurs transformations ont été testées afin d'améliorer la distribution des données de phénotypage. Ainsi, trois transformations ont été testées, dont la transformation log10, racine carrée et la transformation de Yeo-Johnson. Ces transformations ont été appliquées sur chacune des variables afin de pouvoir choisir la meilleure transformation. Finalement, pour les variables PLL7, PLL14 et PLL21 aucune transformation n'a été retenue en raison de la faible amélioration produite par ces transformations par rapport aux données brutes. Par conséquent, pour ces variables nous avons conservé les données brutes. Cependant, l'AUDPC a subi une transformation log10 permettant d'améliorer la distribution des données. Cette transformation logarithmique est la méthode la plus largement utilisée pour les analyses génétiques. Le choix

Jeu de données	**Variable**	**Transformation**	**Modèle d'ajustement**
Complet	***AUDPC***	Log10(x)	AUDPC ~ (1|Genotype)
	PLL7	-	PLL7 ~ Lot + (1|Genotype)
	PLL14	-	PLL14 ~ Lot + (1|Genotype)
	PLL21	-	PLL21 ~ Lot + (1|Genotype)
Lot 1	***AUDPC***	Log10(x)	AUDPC ~ (1|Genotype)
	PLL7	-	PLL7 ~ Tablette + (1|Genotype)
	PLL14	-	PLL14 ~ Tablette + (1|Genotype)
	PLL21	-	PLL21 ~ Tablette + (1|Genotype)

Tableau 4 : Résumé des transformations et ajustements effectués sur la descendance Idared x Malus baccata Almey.

des transformations testées et l'évaluation de ces transformations se sont appuyées sur l'article suivant (Hartono *et al.*, 2025).

Ensuite, pour chacune de ces variables nous leur avons appliqué un ajustement permettant d'obtenir une valeur unique pour chaque génotype à partir des données individuelles de chaque répétition. Pour cet ajustement nous avons utilisé des modèles linéaires mixtes. Pour chacune des variables nous avons choisi le modèle le mieux adapté parmi les suivants :

- X = Lot + (1|Genotype)
- X = Tablette + (1|Genotype)
- X = Lot + Tablette + (1|Genotype)

, avec X la variable phénotypique et (1|Genotype) l'effet aléatoire.

Le modèle le plus approprié a été choisi en fonction de trois critères qui sont l'AIC, le BIC et l'héritabilité. L'héritabilité étant très peu variable entre les modèles d'une même variable, celle-ci n'a pas permis d'éclairer notre choix. Le choix reposait donc principalement sur le BIC et plus particulièrement sur l'AIC. Le modèle avec l'AIC le plus faible est celui qui était favorisé parmi les trois modèles testés.

Après avoir choisi le modèle le plus approprié pour chaque variable, nous avons fait les BLUPS (Best Linear Unbiased Prediction) avec la fonction *'ranef'* du package *'lme4'* puis la valeur de BLUP pour chaque génotype a été additionnée à la valeur moyenne afin d'obtenir une valeur ajustée pour chaque génotype. L'intérêt d'utiliser une valeur ajoutée par rapport à un BLUP réside dans le fait que les valeurs ajoutées permettent de ne conserver que des valeurs positives et ainsi faciliter l'interprétation des résultats en gardant les mêmes ordres de grandeurs que les valeurs initiales. Finalement, les transformations et ajustements réalisés sur chaque variable et sur chaque jeu de données sont résumées dans le tableau 4.

Détection de QTLs pour la descendance Idared x Malus baccata Almey

La détection QTL a été réalisée avec le logiciel R en utilisant le package *'R/qtl'* (Broman *et al.*, 2003). Dans un premier temps, nous avons calculé des probabilités génotypiques à intervalles réguliers de 2 cM à l'aide de la fonction *'sim.geno'*. En effet, la construction des cartes génétiques peut conduire à avoir une densité plus faible de marqueurs sur certaines zones du génome. Cette fonction permet donc d'ajouter des marqueurs fantômes tous les 2 cM le long du génome. Ces marqueurs fantômes sont notés *'cf.loc.pos'*. Les cartographies d'intervalle simple (SIM) et d'intervalle composite (CIM) ont été estimées avec la méthode d'imputation

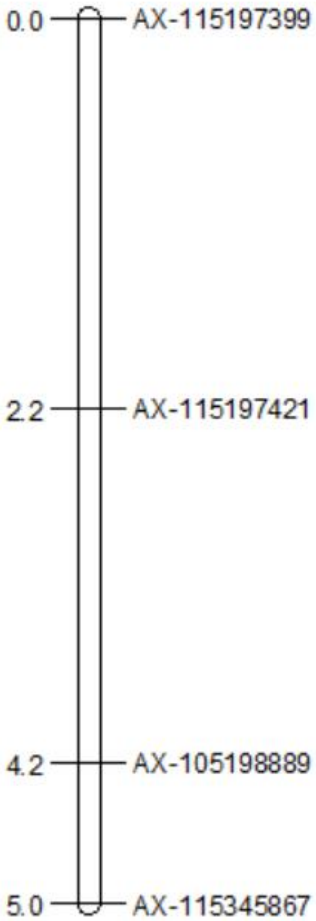


Figure 12 : Carte génétique de l'intervalle de confiance du qF7.

Jeu de données	**Variable**	**Transformation**	**Modèle d'ajustement**
Complet	***AUDPC***	-	AUDPC ~ Tablette + Lot + (1|Genotype)
	PLL7	-	PLL7 ~ Tablette + Lot + (1|Genotype)
	PLL14	-	PLL14 ~ Tablette + Lot + (1|Genotype)
	PLL21	-	PLL21 ~ Tablette + Lot + (1|Genotype)
Lot 1	***AUDPC***	-	AUDPC ~ Tablette + (1|Genotype)
	PLL7	-	PLL7 ~ (1|Genotype)
	PLL14	-	PLL14 ~ (1|Genotype)
	PLL21	-	PLL21 ~ (1|Genotype)

Tableau 5 : Résumé des transformations et ajustements effectués sur la descendance TN10-8 x Fiesta.

multiple. Le seuil du LOD-score a été déterminé, pour toutes les variables, en utilisant 500 permutations afin d'identifier les QTLs statistiquement significatifs au seuil de 5 %. Les bornes des intervalles de confiance ont été déterminées sur la base d'une décroissance de LOD-2. Cela signifie que les bornes de l'intervalle correspondent aux points où la courbe du LOD-score diminue de 2 unités par rapport au pic. Les intervalles de confiance ont donc été calculés grâce à la fonction *'lodint'*. Enfin, la contribution de chaque QTL à la variance phénotypique a été calculée avec la fonction '*fitqtl'*, toujours du package '*R/qtl'*. Pour cette descendance, la détection QTL a, finalement, été effectuée avec 118 génotypes et 3272 marqueurs réels.

Méthodes d'analyse ~ TN10-8 x Fiesta

Tri des données de génotypage

Les données de génotypage pour cette descendance ont été effectuées par l'entreprise LGC Biosearch Technologies™ (Hoddesdon, UK). 1970 individus de la descendance TN10-8 x Fiesta ont été échantillonnés grâce au kit « BioArk™ Leaf collection kit ». Les données ont été triées en amont dans le cadre du stage de Camille Haquet (2023).

Construction de la carte génétique du qF7

La carte génétique du QTL qF7 a été réalisée à partir de quatre marqueurs dont deux se situent aux extrémités de l'intervalle de confiance défini par Bénéjam (2021) et deux autres marqueurs localisés à l'intérieur du QTL. Pour cette carte, 1970 individus ont été utilisés afin d'améliorer la précision de la carte. Cette carte définissant l'intervalle de confiance du qF7 mesurait 4,976 cM (Figure 12). De la même façon que pour la descendance IdxMbA nous avons utilisé JoinMap pour réaliser cette carte génétique.

Transformation et ajustement des données phénotypiques

Pour la Famille F, la même méthode a été utilisée que pour la descendance IdxMbA afin de transformer et d'ajuster les données. Cependant, pour cette descendance aucune des variables n'a subi de transformation de données. Pour l'ensemble des variables du jeu de données complet, soit AUDPC, PLL7, PLL14 et PLL21 tous les BLUP ont pris en compte les tablettes et les lots en effet fixe. Pour les deux jeux de données les transformations et ajustements appliqués aux variables de la Famille F ont été résumés dans le tableau 5.

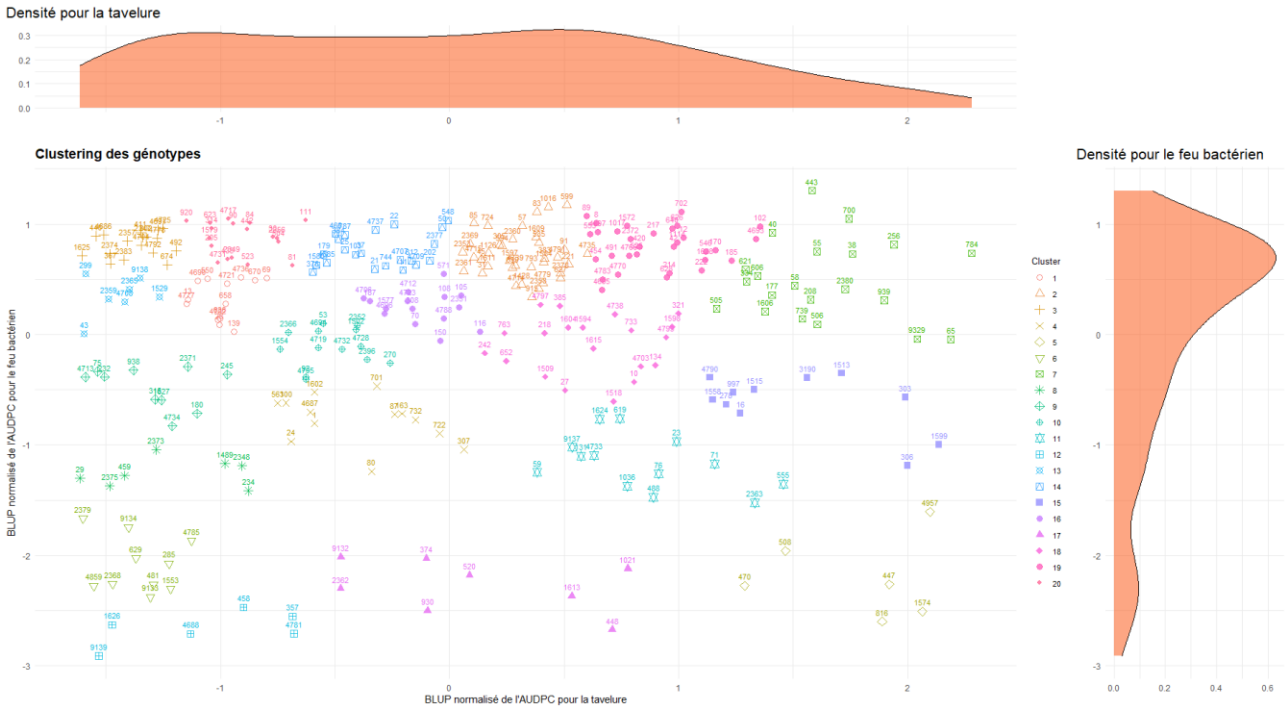


Figure 13 : Représentation graphique du clustering des 330 accessions en fonction de leur sensibilité à la tavelure et au feu bactérien (Galleron, 2024).

Détection de QTLs pour la descendance TN10-8 x Fiesta

Pour effectuer la détection de QTL de cette descendance, nous avons procédé de la même façon que pour la descendance précédente, cependant, nous avons modifié certains arguments afin d'améliorer la détection puisque nous sommes dans le cadre d'une cartographie fine. Par conséquent, pour cette descendance les probabilités génotypiques ont été affinées avec un intervalle régulier de 0,01 cM. Le seuil du LOD-score a été déterminé en utilisant 1000 permutations et les intervalles de confiance ont également été calculés avec une décroissance de LOD-2 afin de comparer nos résultats avec ceux de Bénéjam (2021) toutes choses égales par ailleurs.

Diversité génétique et métabolisme spécialisé

Matériel végétal

Pour cette expérimentation 24 génotypes ont été sélectionnés sur la base de résultats de phénotypage tavelure et feu bactérien de 330 accessions réalisés en 2023 et 2024 au laboratoire. L'ensemble de ces 330 accessions ont, ensuite, été clusterisés en fonction de leurs moyennes ajustées en fonction de leurs réponses à la tavelure et au feu bactérien (Figure 13). Pour chaque cluster un génotype a été sélectionné, comme étant représentatif du cluster auquel il appartient. Finalement, 24 génotypes ont donc été choisis afin d'obtenir un échantillon représentatif, présentant des réponses et des sensibilités contrastées au feu bactérien (Galleron, 2024). De plus, les génotypes sélectionnés ont été choisi de sorte à n'avoir aucun parent en commun, afin d'appréhender au mieux des mécanismes de réponse différents. Ainsi, au sein de cette diversité de 24 génotypes, 16 accessions sont issues du type *'cidre'* et les 8 autres accessions sont issues du type *'dessert ancien'*.

Pour cette expérimentation, les fleurs ainsi que les pousses du porte-greffe sont retirées. Cependant, à l'inverse de l'expérimentation de génétique, l'ensemble des pousses du greffon sont conservées afin d'obtenir suffisamment de matériel végétal pour effectuer les prélèvements de tissus et maximiser ensuite l'extraction des métabolites.

Dispositif expérimental

Préparation des plants

Pour cette expérimentation, nous avons mis en place trois blocs inoculés et un bloc témoin. Chaque bloc inoculé contient les 24 génotypes en 8 copies et le bloc témoin contient les 24

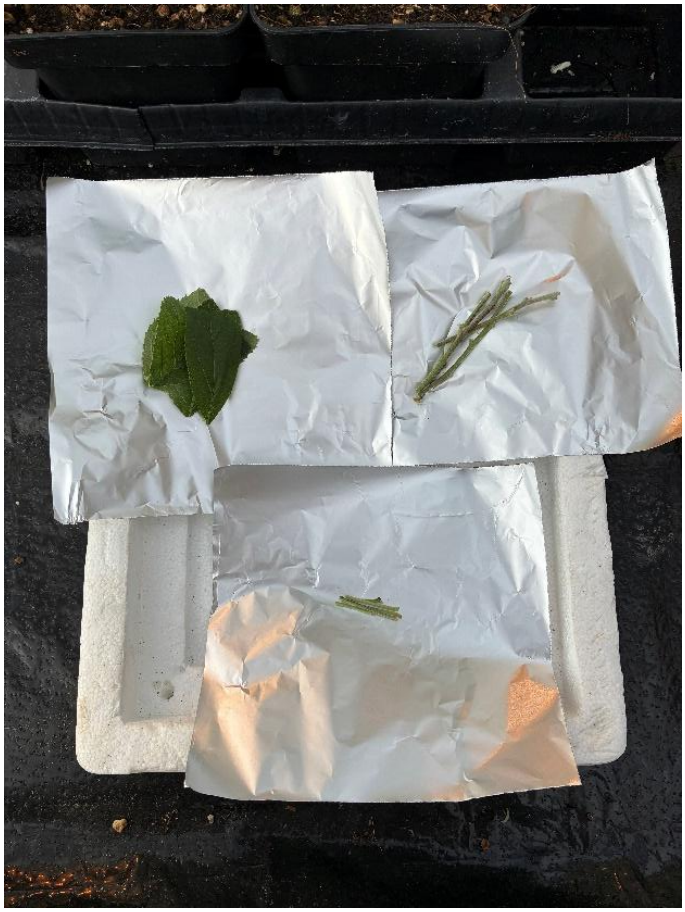


Figure 14 : Photographie des prélèvements des différents organes pour l'expérimentation de métabolomique.

génotypes en 6 copies. Tous les blocs sont disposés de la même façon, et pour chaque bloc les mêmes génotypes sont regroupés.

Inoculation

Tous les blocs de plantes ont été inoculés le même jour. L'inoculation d'*Ea* est effectuée par coupure à la moitié de la plus jeune feuille développée, à l'aide d'une paire de ciseaux préalablement trempée dans la suspension bactérienne. Les ciseaux sont plongés dans la suspension entre chaque coupure et plusieurs pousses d'une même plante peuvent être inoculées. Les plantes du bloc témoin subissent également une coupure mais sans trempage des ciseaux dans l'inoculum. Afin d'éviter la contamination par *Ea*, le bloc témoin est effectué en premier et l'inoculation des autres blocs est réalisée ensuite.

Acquisition des données

Les prélèvements des tissus (feuilles, pétioles et tiges) ont été effectués 14 jours après la date de l'inoculation. Les organes prélevés correspondent aux feuilles coupées (inoculées ou témoins), leur pétiole, ainsi que 4 à 5 cm de la tige à partir de la base du pétiole de la feuille coupée (vers le bas). Pour chaque organe provenant d'un même génotype (8 copies), les tissus sont regroupés et placés dans du papier aluminium (Figure 14), puis plongés dans l'azote liquide. Au final, chaque génotype est représenté par trois échantillons de feuilles infectées, trois échantillons de pétioles infectés et trois échantillons de tiges infectés (correspondant aux trois blocs), ainsi qu'un seul échantillon contrôle pour chacun des trois organes. Les échantillons sont ensuite stockés au congélateur à -80 °C jusqu'à l'extraction des BPs et DBFs. Pour cette expérimentation, le phénotypage de la maladie n'a pas été reconduit, les données d'AUDPC utilisées dans les analyses sont issues du stage de P. Galleron (2024).

Méthodes d'analyse ~ Diversité génétique et métabolisme spécialisé

Extraction des biphényles et dibenzofuranes de la diversité génétique

Dans un premier temps tous les échantillons de feuilles ont été broyés dans de l'azote liquide, puis pesés. Chaque échantillon a été homogénéisé dans 1 mL de méthanol, auquel 1 µL de 4-phénylphénol (standard interne) a été ajouté pour assurer la quantification relative. Après une première centrifugation, les résidus solides ont été extraits une seconde fois avec 1 mL de

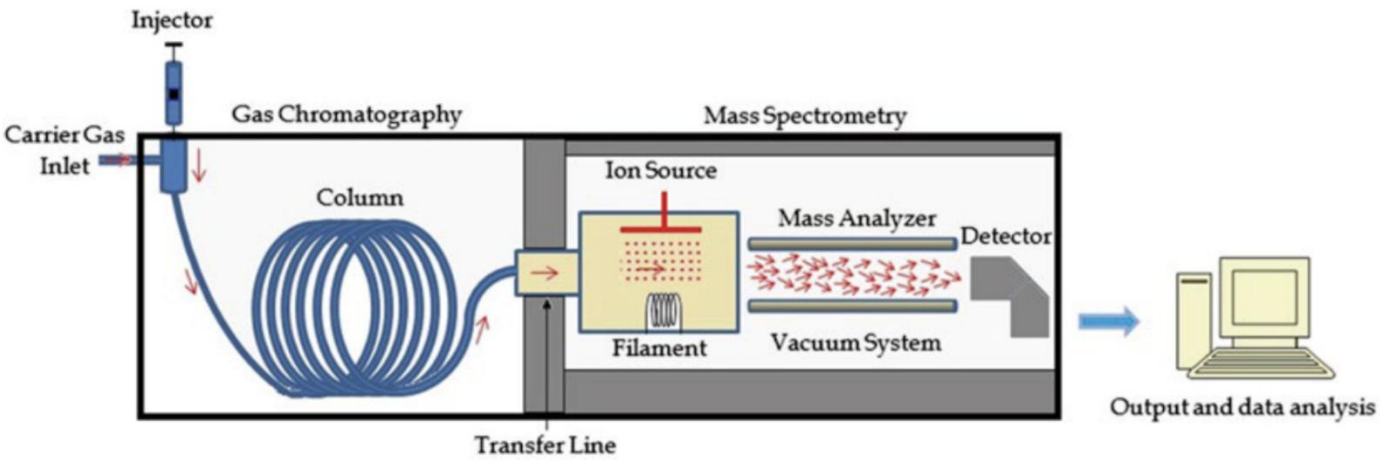


Figure 15 : Schéma des principaux éléments constituant une GC-MS (Emwas et al., 2015).

méthanol sans le standard interne. Les deux surnageants ont ensuite été poolés avant d'être évaporés au concentrateur à vide (Concentrator Plus). Les échantillons ont ensuite été repris dans 1 mL d'un mélange dichlorométhane/chloroforme (1:1) et centrifugés. Le surnageant récupéré est à nouveau évaporé au concentrateur à vide (SpeedVac). Enfin, les échantillons ont été re-suspendus dans 200 µL d'acétate d'éthyle, centrifugés et évaporés au concentrateur à vide (SpeedVac). Avant l'injection en GC-MS les échantillons ont été dérivatisés par ajout de 100 µL de MSTFA et chauffage au bain marie à 60°C pendant 30 minutes. (Le protocole détaillé est présenté en Annexe 6).

Principe de fonctionnement d'une GC-MS

La chromatographie en couche gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (Figure 15) est une technique d'analyse qualitative et quantitative utilisée pour les échantillons volatils. Dans un premier temps la chromatographie sur couche gazeuse permet de séparer les composés présents dans l'échantillon. Puis la spectrométrie de masse permet de détecter et d'identifier ces composés en fonction de leur masse sur charge. Dans notre cas, cette analyse par GC-MS est effectuée à la suite de l'extraction des BPs et DBFs. Premièrement, l'injecteur prélève quelques microlitres de l'échantillon. Ensuite, cet échantillon est transporté vers la phase stationnaire (la colonne) via un gaz transporteur (phase mobile). Les éléments volatils sont séparés au sein de la colonne en fonction de leur volatilité et de leur affinité vis-à-vis de la phase stationnaire. Le temps passé dans la colonne par chaque élément correspond à leur temps de rétention. Une fois que les composés sont séparés, ils vont pouvoir être détectés et identifiés par le spectromètre de masse. Dans ce spectromètre de masse, les molécules présentes dans l'échantillon vont être ionisées et séparées dans l'analyseur de masse en fonction de leur masse sur charge. Enfin, les composés de l'échantillon passent dans un multiplicateur d'électrons qui convertit ces ions en signal électrique et les amplifie afin d'être traités informatiquement. A la suite de ce cheminement dans la GC-MS nous obtenons un chromatogramme pour chaque échantillon. Les chromatogrammes représentent l'intensité de chaque pic à un temps de rétention spécifique pour chaque composé.

Triage des données de GC-MS

Après l'acquisition des données issues de la GC-MS, ces dernières ont été vérifiées et triées afin de ne conserver que les métabolites d'intérêt. Pour chaque échantillon et chaque métabolite le temps de rétention, la masse et le spectre ont été contrôlés. Autrement dit, pour chaque

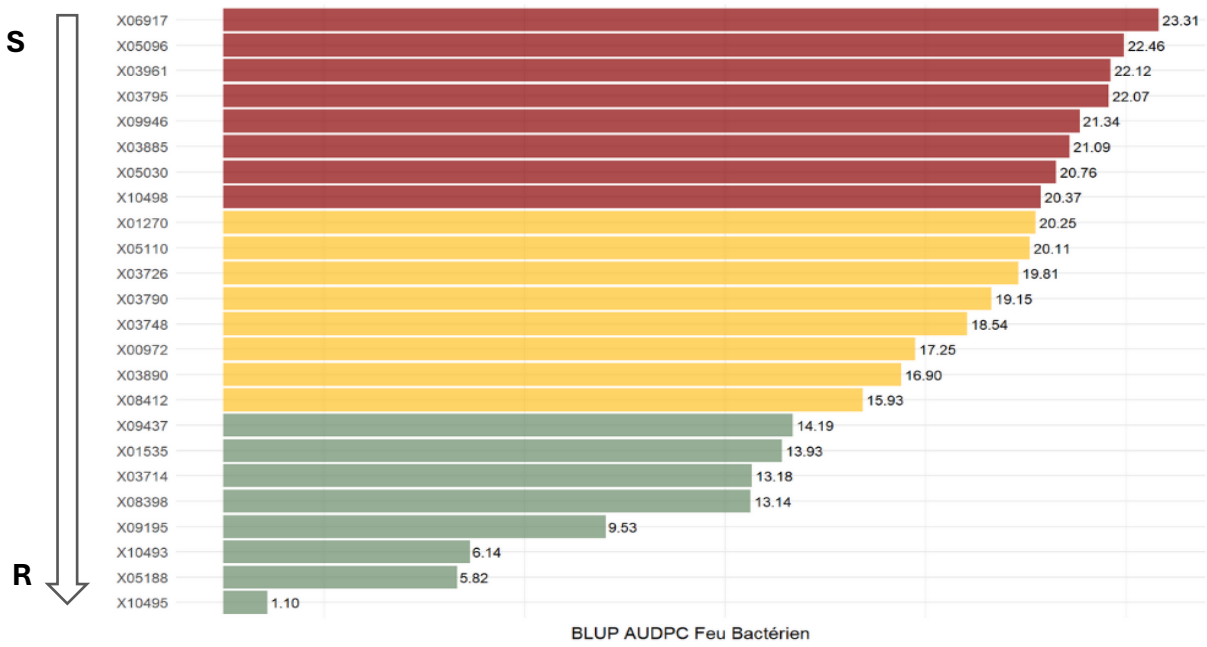


Figure 16 : Histogramme de la sensibilité au feu bactérien de chaque génotype.

*Sur cette figure les génotypes sont ordonnés du plus sensibles (en haut, **S**) au plus résistants (en bas, **R**). Les génotypes en rouges font partie du groupe qualifié de sensible, les jaunes font partie du groupe intermédiaire et les verts font partie du groupe résistant.*

métabolite nous avons confirmé ou non la présence d'un pic caractéristique au temps de rétention attendu et à la masse correspondante. Nous sommes dans le cas d'un métabotypage ciblé. Par conséquent, cette approche repose sur un ensemble de composés préalablement identifiés et pour lesquels des standards purifiés ont également été analysés. Les spectres ainsi obtenus servent alors de référence pour la détection, l'identification et la quantification de ces molécules dans les échantillons de végétaux. Dans notre cas, le SONAS détient 22 standards de BP et DBF que nous pouvons identifier.

Analyses statistiques

Précédemment, chaque composé purifié a été analysé à plusieurs concentrations permettant l'élaboration d'une gamme étalon. Cette gamme étalon a donc permis d'établir une équation de la droite de la forme y=ax. Et le coefficient directeur de la droite (a) contribue au calcul de quantité de métabolite en fonction de l'aire sous la courbe du pic associé. Cette transformation s'appuie sur la formule suivante :

$$\frac{\left(\frac{\left(\frac{A_i}{A_{IS}}\right)}{a}\right) \times 100 \times M_i}{m_i}$$

Avec A_i, l'aire sous la courbe du composé i, A_{IS} correspondant à l'aire sous la courbe du standard interne, M_i la masse molaire du composé i en g.mol-1 et m_i la masse exacte du composé i en mg. La quantité des différents métabolites est exprimée en ng par g de masse fraîche de tissu (ng/g FW).

Les génotypes ont été classés en fonction de leur résistance au feu bactérien, soit en fonction des BLUPs des AUDPC obtenus en 2024 (Figure 16). Nous avons distingué trois classes de résistance (sensible, intermédiaire et résistante) en répartissant les différents génotypes par ordre de résistance et de façon à obtenir un nombre égal de génotypes dans chaque classe. Toutes les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel Rstudio (R version 4.4.2). Les données ont été standardisées afin de pouvoir faire une Analyse en Composantes Principales (ACP). Pour cette analyse les données des témoins ont été exclues. Une matrice de corrélation de Pearson a également été effectuée, avec les individus infectés, afin d'identifier les relations entre les variables indépendantes. Les corrélations significatives ont ensuite été représentées graphiquement par des régressions linéaires.

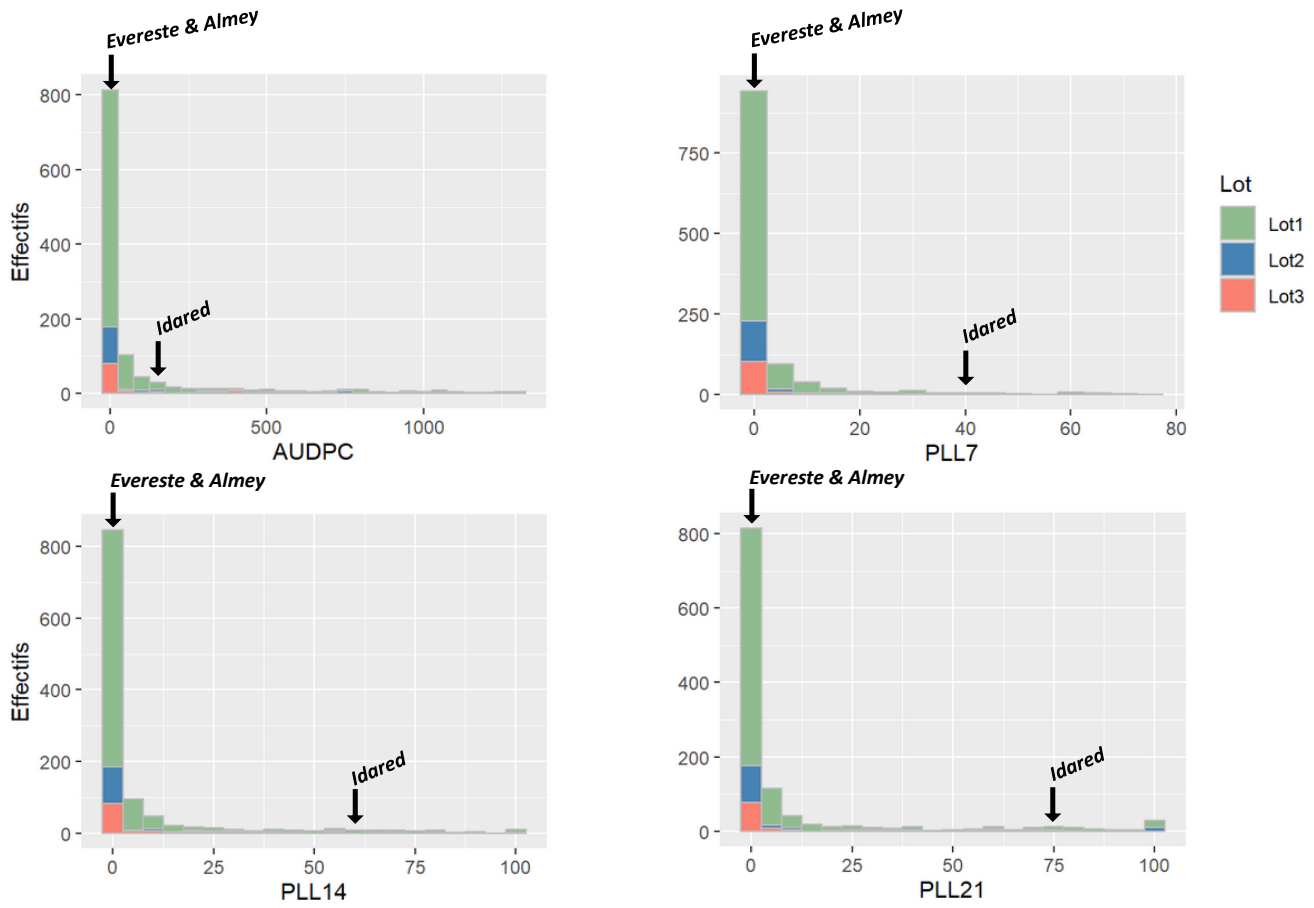


Figure 17 : Distribution de la descendance Idared x Malus baccata Almey pour chacune des variables.

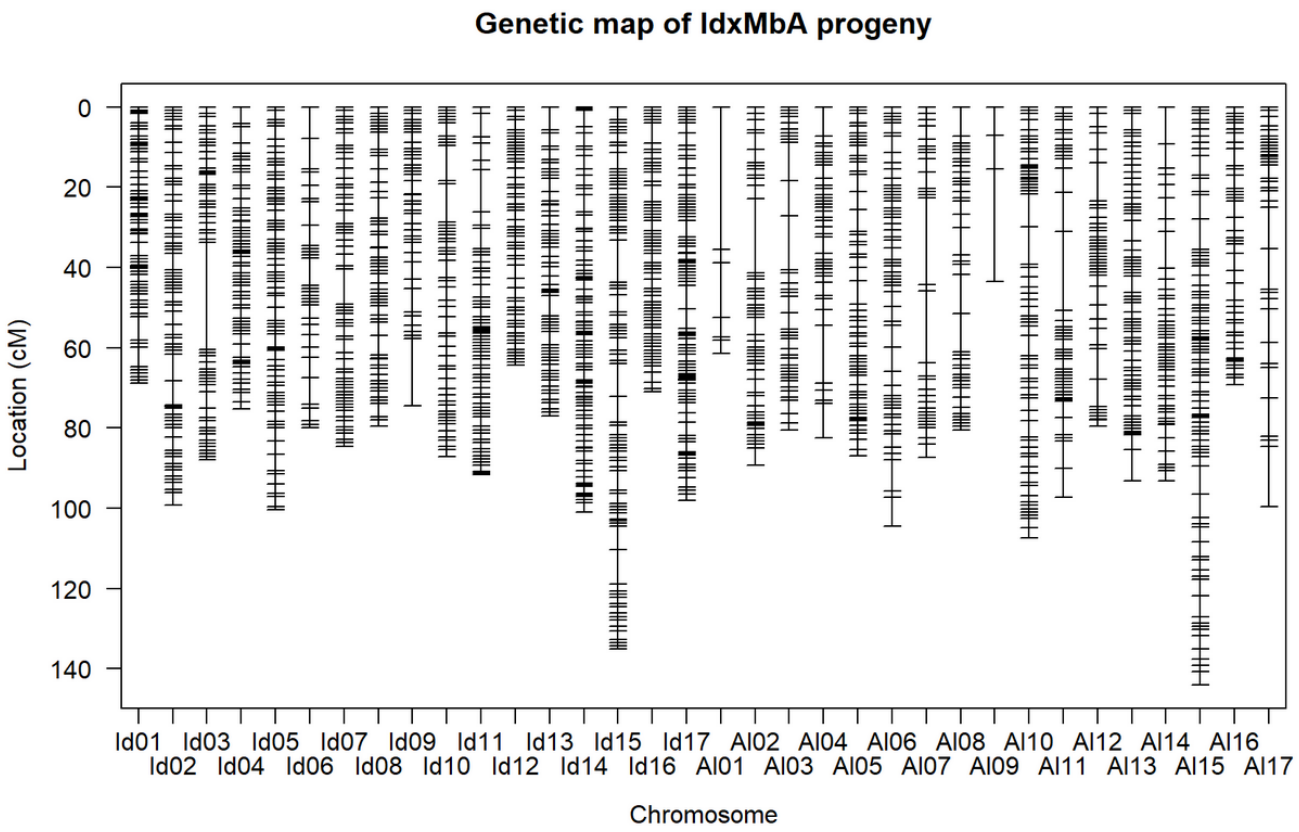


Figure 18 : Carte génétique de la descendance Idared x Malus baccata Almey.

Résultats

Descendance Idared x Malus baccata Almey

L'étude de cette descendance entre un pommier domestique (sensible) et un pommier sauvage (résistant) consiste à identifier et localiser de nouvelles sources de résistance au feu bactérien issues de ressources génétiques sauvages. Cette approche constitue une première étape dans la compréhension des mécanismes de défense impliqués, souvent distincts de ceux des variétés cultivées. Le phénotypage de cette descendance nous a permis de calculer l'AUDPC et les ratios *'Longueur nécrose/ Longueur tige'*, notés PLL7, PLL14 et PLL21 pour chaque date de notation à J7, J14 et J21 post-inoculation. Ce sont ces données ajustées pour chaque génotype, ainsi que les données de génotypage qui ont permis de réaliser les analyses de détection de QTL.

Le phénotypage de cette descendance (Figure 17) a, d'abord, permis d'établir la distribution de l'ensemble de ces individus pour chacune des variables étudiées. La distribution de ces quatre variables présente la même dynamique, soit une distribution avec une très forte asymétrie à gauche. En effet, nous observons que la grande majorité des individus n'a pas ou très peu de nécrose tout au long de l'expérimentation et que le nombre d'individus sensibles semble négligeable en comparaison avec le nombre d'individus résistants.

La première étape pour étudier cette descendance consistait à réaliser la carte génétique des deux parents et ceci pour chaque groupe de liaison (généralement représentant chaque chromosome). La figure 18 est donc une représentation de la carte génétique de cette descendance et le tableau en annexe 7 résume la taille de chaque groupe de liaison en cM et le nombre de marqueurs présents sur chaque groupe de liaison. Ainsi, nous observons que le nombre de marqueurs par groupe de liaison est supérieur pour la carte d'Idared, hormis pour les LG 6 et 13. Au total, 1980 marqueurs ont permis l'élaboration de la carte génétique d'Idared et 1293 pour la carte de *Malus baccata Almey*. Sur la carte de *Malus baccata Almey* nous observons deux chromosomes avec peu de marqueurs. En effet, le chromosome 1 et le chromosome 9 ne possèdent, respectivement, que 9 et 4 marqueurs. D'autres groupes de liaison présentent de larges zones sans marqueurs qui peuvent être expliquées par la présence des centromères et des télomères ou bien par des zones de 'Runs of Homozygosity' qui correspondent à des séquences du génome où plusieurs gènes sont homozygotes.

La figure 19 est issue de l'analyse de détection de QTL, la courbe bleue représente la SIM. Cette méthode permet de tester la présence d'un QTL intervalle par intervalle indépendamment. La CIM (en vert) constitue une amélioration de la SIM en tenant compte des

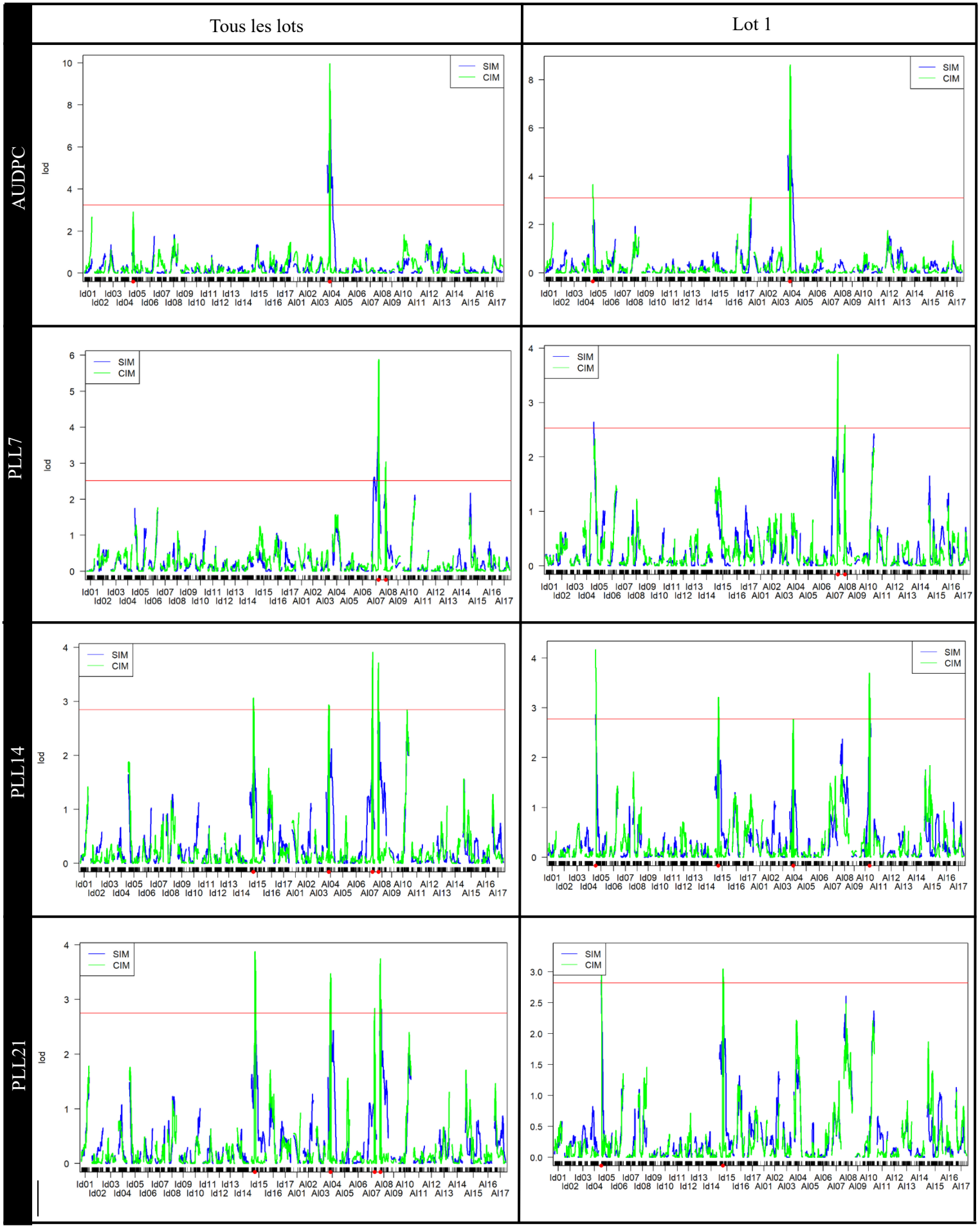


Figure 19 : Représentation graphique des SIM et CIM pour chacune des variables phénotypiques pour les jeux de données 'Tous les lots' et 'Lot 1' (Id01 à Id17 correspond aux chromosomes 1 à 17 d'Idared et Al01 à Al17 correspond aux chromosomes 1 à 17 de MbA.

QTLs détectés ailleurs dans le génome. La ligne horizontale rouge correspond au seuil de LOD, c'est-à-dire la valeur au-delà de laquelle la détection d'un QTL est considérée comme significative avec un niveau de confiance de 95 %. Cette analyse nous permet donc d'identifier les QTLs détectés dans la descendance Idared x *Malus baccata Almey* pour chacune des variables phénotypiques étudiées et pour les deux jeux de données utilisés (*'Tous les lots' vs 'Lot 1'*). Ainsi, nous pouvons voir des différences entre les QTLs détectés en fonction des variables et des jeux de données utilisés. Le tableau 6 intervient de façon complémentaire à cette figure afin de résumer les QTLs détectés.

Le QTL présent sur le LG 5 d'Idared a été détecté, comme étant significatif, à trois reprises. Et à trois reprises ce QTL a été détecté grâce au jeu de données du *'Lot 1'*, avec les variables AUDPC, PLL14 et PLL21. Chaque détection de ce QTL a conduit à la même position en tout début de chromosome (soit vers 0 cM) et à un intervalle de confiance compris entre 0 et 6 cM. Pour ce QTL, le pic de LOD a atteint 3,659, 4,171 et 3,333 et une variance expliquée de 10,86 %, 11,16 % et 14,64 %, pour les variables AUDPC, PLL14 et PLL21, respectivement. Pour ce QTL le LOD le plus élevé a donc été atteint avec la variable PLL14 et la variance expliquée la plus élevée est atteinte avec la variable PLL21.

Le QTL du LG 15 d'Idared a été détecté à quatre reprises, avec les variables PLL14 et PLL21 et avec les deux jeux de données. L'ensemble de ces détections indique une position de 33,106 cM et un intervalle de confiance compris entre 28 et 40 cM. Pour ce QTL le marqueur le plus proche du pic de LOD est AX-115451546. Pour ce marqueur Idared est hétérozygote et MbA est homozygote, il semble que les individus résistants de la descendance soient également homozygotes (Figure 20). Deux explications sont alors possibles, la première étant que l'allèle A est récessif et nécessite donc des deux allèles pour présenter une résistance au feu bactérien. Ou bien, l'allèle porté par Idared est à l'origine de la sensibilité. Le LOD-score le plus élevé de ce QTL est atteint avec la variable PLL21 et le jeu de données complet, avec un LOD de 3,881. La variance expliquée de ce QTL est également plus élevée avec cette variable, avec un R^2 compris entre 10,62 et 13,63 %, tandis que pour la variable PLL14 le R^2 est compris entre 8,39 et 9,03 %.

Concernant la carte génétique de MbA, trois QTLs ont été détectés à plusieurs reprises et un QTL a été détecté une seule fois sur le LG10 de MbA. Ce QTL a été détecté avec la variable PLL14 et le jeu de données *'Lot 1'*. Sa position a été estimée vers 93 cM et son intervalle de confiance est compris entre 88 et 100 cM. Autrement, trois autres QTLs ont été détectés sur les groupes de liaison 4, 7 et 8 de MbA. Le QTL sur le LG4 a été identifié cinq fois avec les variables AUDPC (avec les deux jeux de données), PLL14 (avec les deux jeux de

Trait	Jeu de données	LG	pos (cM)	LOD	R^2	CI (cM)	Marqueur	Allèle
AUDPC	Tous les lots	Al04	24.306	9.966	31.61 %	20.29 – 29.93	AX-115641612	G
AUDPC	Tous les lots	Id05	12.959	2.913	8.69 %	6 – 22	AX-115184017	-
AUDPC	Lot 1	Al04	24.306	8.620	26.97 %	20.29 – 29.93	AX-115641612	G
AUDPC	Lot 1	Id05	0.000	3.659	10.86 %	0.00 – 6	AX-115224140	A
PLL7	Tous les lots	Al07	67.877	5.885	24.33 %	62 – 71.93	AX-115483359	C
PLL7	Tous les lots	**Al08**	19.440	3.040	14.75 %	14 – 26	AX-635451750	G
PLL7	Lot 1	Al07	67.877	3.849	21.15 %	62 – 73.54	AX-115483359	C
PLL7	Lot 1	**Al08**	19.440	2.586	16.13 %	14 – 30	AX-635451750	G
PLL14	Tous les lots	Al04	24.306	2.935	10.34 %	18 – 29.93	AX-115641612	G
PLL14	Tous les lots	Al07	70.317	3.913	10.85 %	62 – 73.54	AX-115205234	G
PLL14	Tous les lots	**Al08**	9.002	3.712	7.77 %	4 – 16	AX-115448568	T
PLL14	Tous les lots	Id15	33.106	3.060	9.30 %	28 – 40	AX-115451546	A
PLL14	Lot 1	Id05	0.000	4.171	11.16 %	0.00 – 6	AX-115224140	A
PLL14	Lot 1	Id15	33.106	3.213	8.39 %	28 – 40	AX-115451546	A
PLL14	Lot 1	Al04	32.346	2.776	7.68 %	26 – 38	AX-115194520	G
PLL14	Lot 1	Al10	93.634	3.703	10.09 %	88 – 100	AX-115417959	G
PLL21	Tous les lots	Al04	24.306	3.476	9.97 %	18 – 29.93	AX-115641612	G
PLL21	Tous les lots	Al07	70.317	2.841	7.72 %	64 – 75.96	AX-115205234	G
PLL21	Tous les lots	**Al08**	9.002	3.745	9.55 %	4 – 16	AX-115448568	T
PLL21	Tous les lots	Id15	33.106	3.881	10.62 %	28 – 40	AX-115451546	A
PLL21	Lot 1	Id05	0.000	3.333	14.64 %	0.00 – 6	AX-115224140	A
PLL21	Lot 1	Id15	33.106	3.050	13.63 %	28 – 40	AX-115451546	A

Tableau 6 : Synthèse des QTLs détectés dans la descendance Idared x Malus baccata Almey.

Les QTLs en bleu ciel correspondent aux QTLs non significatifs (mais proche du seuil). Les QTLs bleus foncé sont les QTLs associés à la sensibilité au feu bactérien, tandis que les QTLs en noir correspondent aux QTLs de résistance au feu bactérien. LG correspond au groupe de liaison, soit au chromosome sur lequel se situe le QTL détecté. pos correspond à la position génétique (en cM) à laquelle se situe le QTL. R^2 correspond à la variance expliquée par le QTL. L'intervalle de confiance des QTLs est précisé dans la colonne CI. La colonne marqueur correspond au marqueur au pic de LOD (soit le marqueur le plus proche du QTL) et l'allèle associé à la résistance du marqueur au pic de LOD est précisé dans la colonne Allèle (cf Figure 22).

données) et PLL21 (seulement avec le jeu de données *'Tous les lots'*). A quatre reprises ce QTL est détecté à la position 24,306 cM, sauf pour la détection avec la variable PLL14 et le jeu de données 'Lot 1', où sa position était de 32,346 cM. Globalement, son intervalle de confiance est compris entre 18 et 38 cM. Et l'intervalle de confiance le plus réduit a été identifié avec la variable AUDPC avec un intervalle de confiance compris entre 20,3 et 29,9 cM. Le LOD-score de ce QTL variait entre 2,776 et 9,966 et sa variance expliquée variait également entre 7,68 et 31,61 %. Le LOD-score et la variance expliquée les plus élevés ont été détecté avec la variable AUDPC.

La variable PLL7 a permis de mettre en évidence deux autres QTLs sur les LG7 et LG8 de MbA. Le QTL sur le LG7 a été détecté à quatre reprises, avec la variable PLL7 et les deux jeux de données, PLL14 avec le jeu de données *'Tous les lots'* et la variable PLL21 et le jeu de données *'Tous les lots'*. Ce QTL a été détecté à deux positions différentes. La variable PLL7 a permis de localiser ce QTL à 67.877 cM et les variables PLL14 et PLL21 ont situé ce QTL à 70.317 cM. Globalement, ce QTL a un intervalle de confiance compris entre 62 et 75,96 cM et l'intervalle de confiance le plus réduit a été identifié avec la variable PLL7 et le jeu de données *'Tous les lots'*, avec un intervalle de confiance compris entre 62 et 71,93 cM. De la même façon, le R^2 le plus élevé a été identifié avec cette même variable avec un R^2 de 24,33 % et son LOD-score a atteint 5,885.

Le QTL identifié sur le LG8 de MbA a été identifié avec les mêmes variables et jeux de données que le QTL du LG7. Ce QTL a été localisé à 19,44 cM, avec un intervalle de confiance compris entre 14 et 30 cM avec la variable PLL7. Cependant, il a été situé à 9,002 cM et avec un intervalle de confiance compris entre 4 et 16 cM pour les variables PLL14 et PLL21. Comme pour le QTL du LG7, ce QTL n'a été détecté qu'avec le jeu de données *'Tous les lots'*, hormis avec la variable PLL7 où ce QTL a été détecté avec les deux jeux de données.

En somme, nous observons trois QTLs de résistance sur les chromosomes 4, 7 et 8 de MbA qui semblent se répéter pour plusieurs variables et un QTL putatif sur le chromosome 10. Et nous observons également, deux QTLs sur les LG 5 et 15 d'Idared qui semblent associés à une sensibilité accrue au feu bactérien (Figure 20). Le QTL qui semble avoir l'effet le plus important est le QTL du LG 4 avec la variable AUDPC. Puis ce sont les QTLs des chromosomes 7 et 8 avec la variable PLL7 qui suivent avec un LOD-score de 5,885 et 3,040 et une variance expliquée de 24,33 et 14,75 %, respectivement. Les variables PLL14 et PLL21 sont très corrélées entre elles (Annexe 4), et détectent chacune les mêmes QTLs avec des ordres de grandeurs de LOD-score et de variance expliquée proches.

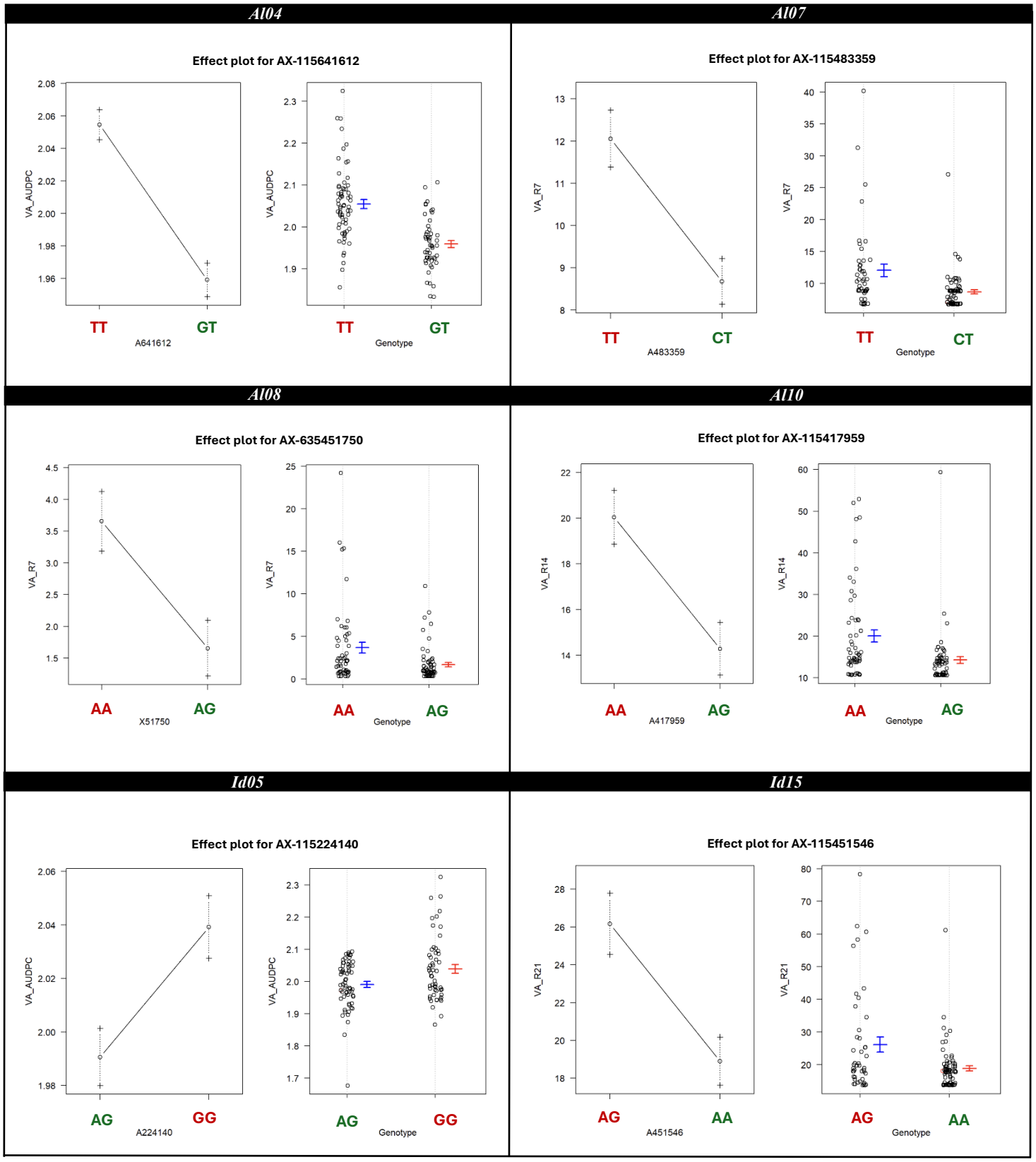


Figure 20 : Résumé des effets alléliques pour les marqueurs au pic du LOD pour chacun des QTLs détectés.

Les allèles notés en verts correspondent aux allèles induisant la résistance et inversement pour les allèles notés en rouges.

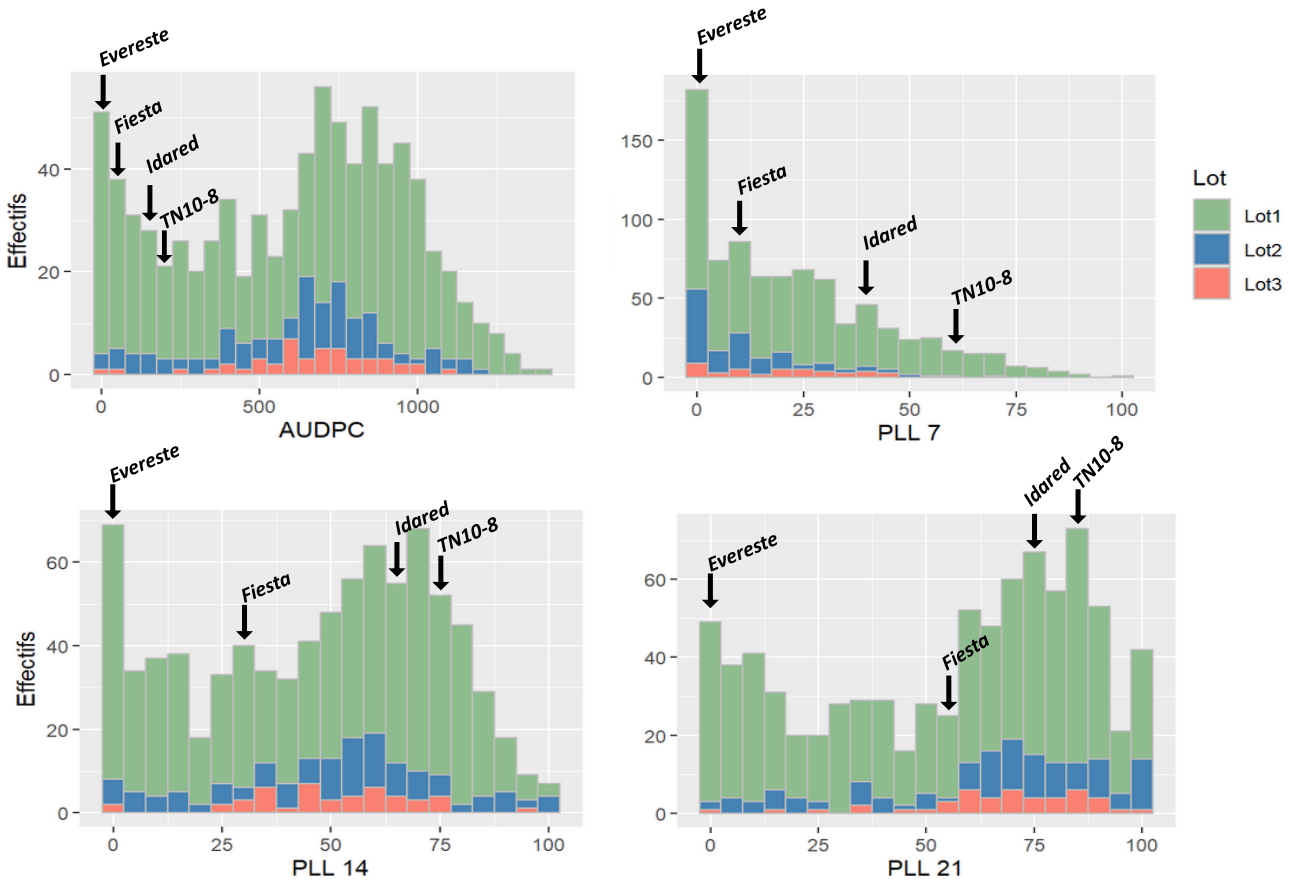


Figure 21 : Distribution de la descendance TN10-8 x Fiesta pour chacune des variables.

Descendance TN10-8 x Fiesta ~ qF7

L'étude de cette descendance a pour objectif de préciser la taille et la position du QTL de résistance au feu bactérien porté par le chromosome 7 de Fiesta. Bien que ce QTL ait déjà été identifié à plusieurs reprises, son positionnement précis reste à affiner pour, à terme, identifier des gènes candidats. L'utilisation d'individus recombinants dans cette zone génomique permet d'explorer plus finement cette zone et ainsi réduire l'intervalle de confiance de ce QTL. Ce travail constitue une seconde étape dans la compréhension des mécanismes sous-jacents aux QTLs, après la détection QTL globale. Pour cette analyse, nous possédons les mêmes variables phénotypiques que pour la descendance précédente, et nous avons également les données génotypiques de quatre marqueurs SNP autour et dans le QTL.

Sur la figure 21, nous observons les distributions de la Famille F pour chacune des variables. Concernant l'AUDPC, nous pouvons voir 2 pics, un pic avec des valeurs très faibles proches de 0 et un autre pic vers des valeurs entre 700 et 750. Ensuite, à 7 jours post-inoculation nous observons une distribution asymétrique positive avec une majorité d'individus ayant un pourcentage de nécrose faible à très faible. 14 jours après l'inoculation on retrouve sensiblement la même distribution que pour l'AUDPC. Un nombre non négligeable d'individus conserve des pourcentages de nécrose très faible, mais la distribution tend à s'étaler vers la droite en comparaison avec la distribution obtenue à J07. Enfin, à 21 jours post-inoculation la majorité des individus sont atteints à plus de 50 %, le nombre d'individus sans ou presque sans nécrose a considérablement diminué entre J14 et J21 passant de presque plus de 70 individus à moins de 50. Dans cette situation (Annexe 1-A), nous observons bien l'effet du QTL avec une distribution continue des génotypes.

Le QTL qF7, provenant du parent 'Fiesta', a été détecté de manière cohérente avec l'ensemble des variables testées suite à l'inoculation par la souche CFBP1430 d'*Ea*. Ce QTL a ainsi pu être mis en évidence avec les variables AUDPC, PLL7, PLL14 et PLL21. Les profils des courbes de LOD-score obtenus pour ces variables sont très similaires, avec des pics localisés dans une même région relativement restreinte du génome, à proximité du marqueur réel AX-115197421 (Figure 22), situé à la position physique 32 323 340 pb. En effet, tous les pics de LOD-score ont été détectés dans une plage comprise entre 32 410 497 et 32 444 485 pb, soit une variation d'environ 35 000 pb. Les bornes inférieures du QTL varient entre 31 903 101 et 32 213 850 pb, tandis que les bornes supérieures varient entre 32 672 692 et 32 752 807 pb. Il est à noter que les positions physiques des marqueurs fantômes sont estimées par rapport aux

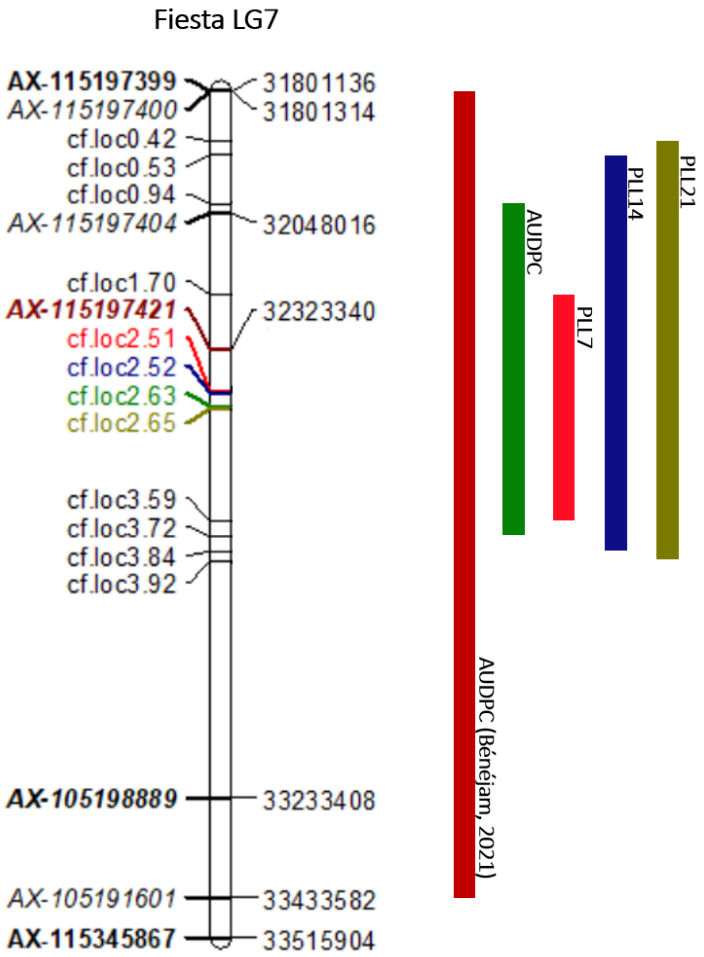


Figure 22 : Représentation graphique du groupe de liaison 7 de Fiesta, au niveau de l'intervalle de confiance du qF7 défini par Bénéjam (2021).

A gauche du groupe de liaison le nom des marqueurs, à droite la position physique des marqueurs réels. Les marqueurs commençant par 'cf.loc' sont des marqueurs fantômes ajouté avec 'rqtl'. Les marqueurs en italique correspondent aux marqueurs utilisés dans la thèse de Bénéjam (2021). Les marqueurs en gras sont les marqueurs utilisés dans la présente analyse avec les 106 recombinants de la région du qF7. Les intervalles de confiance ont été définis avec une décroissance de LOD-2. La position des marqueurs fantômes de l'analyse des recombinants correspond à des valeurs relatives estimée à partir des positions des marqueurs réels.

Variable	Pic LOD	R^2 (%)	Marqueur	Position physique	Intervalle de confiance
AUDPC (Bénéjam, 2021)	18.40	20.10	AX-115197421	32 323 341	31 801 314 – 33 433 582
AUDPC	5.15	20.04	*cf.loc2.63*	*32 439 629*	*32 029 343 – 32 704 252*
AUDPC_Lot1	*4.47*	*17.78*	*cf.loc2.60*	*32 432 346*	*31 968 649 – 32 750379*
PLL7	9.19	32.92	*cf.loc2.51*	*32 410 497*	*32 213 850 – 32 672 692*
PLL7_Lot1	*8.98*	*32.56*	*cf.loc2.68*	*32 451 768*	*32 221 134 – 32 667 836*
PLL14	4.06	16.17	*cf.loc2.52*	*32 412 924*	*31 929 806 – 32 733 385*
PLL14_Lot1	*3.39*	*13.93*	*cf.loc2.45*	*32 395 930*	*31 835 124 – 32 803 789*
PLL21	3.77	15.13	*cf.loc2.65*	*32 444 485*	*31 903 101 – 32 752 807*
PLL21_Lot1	*3.35*	*13.67*	*cf.loc2.52*	*32 412 924*	*31 822 986 – 32 801 361*

Tableau 7 : Synthèse des QTLs détectés sur le LG 7 de Fiesta pour les différentes variables phénotypiques.

marqueurs réels, ces positions sont donc relatives et ne représentent donc pas leur position exacte sur le génome.

Parmi toutes les variables testées, c'est la variable PLL7 qui a permis d'identifier l'intervalle de confiance le plus restreint avec un intervalle de confiance compris entre 32 213 850 et 32 672 692 pb, soit une taille d'environ 458 840 pb (Figure 22, Tableau 7). C'est également cette variable qui indique le pic de LOD le plus élevé avec un pic à 9,19 et qui présente la variation phénotypique la plus importante avec une variance expliquée de 32,92 %, soit près de 13 % de plus que celle expliquée par l'AUDPC.

En effet, l'AUDPC a également permis de mettre en évidence le QTL du groupe de liaison 7 de Fiesta. Pour cette variable, le pic de LOD-score a atteint 5,15, il est donc inférieur au LOD-score obtenu pour la variable PLL7 mais reste supérieur au LOD-score obtenu pour les variables PLL14 et PLL21 qui sont respectivement de 4,06 et de 3,77. De la même façon, la variation phénotypique expliquée par l'AUDPC est de 20,04 % tandis que pour les variables PLL14 et PLL21, les variances expliquées sont de 16,17 % et 15,13 % respectivement.

Ainsi, ces résultats suggèrent un effet du qF7 plutôt en phase précoce de la maladie, étant donné que les valeurs de LOD-score et de variance expliquées diminuent pour les variables PLL14 et PLL21. En parallèle, la variable AUDPC, qui intègre l'ensemble de la dynamique d'évolution de l'infection, présente des résultats intermédiaires, tant du point de vue du LOD-score que de la variation phénotypique. Cette variable permet donc de restreindre l'intervalle de confiance du qF7 par rapport aux variables PLL14 et PLL21, grâce à sa capacité à résumer l'évolution globale des symptômes de l'infection. Toutefois, c'est la variable PLL7 qui fournit la détection la plus fine. D'une part, grâce à l'intervalle de confiance plus resserré et, d'autre part, grâce à une puissance de détection plus élevée. Cela semble donc en faire la variable la plus informative pour la cartographie fine de ce QTL.

Pour limiter les effets liés à l'inoculum (Lot) l'analyse a également été effectuée en ne prenant en compte que les données issues du *'Lot 1'* (inoculé le 12/03/2025). Ce Lot prend en compte l'ensemble des génotypes présents dans l'analyse complète (soit les 106 génotypes) mais ne prend pas en compte l'ensemble des copies. Ces résultats sont semblables aux résultats de l'analyse complète. La variable PLL7 semble également être la plus explicative de la résistance avec un pic de LOD atteignant 8,98 à la position physique 32 451 768 pb. Par conséquent, ce pic de LOD semble être légèrement décalé par rapport à celui obtenu avec l'analyse complète. Cependant, les bornes délimitant l'intervalle de confiance sont très proches de celles obtenues avec l'analyse du jeu complet. Et de la même manière, le QTL détecté avec la variable PLL7 permet d'obtenir une variance expliquée de 32,56 %, très proche de la variance

expliquée du QTL obtenu avec la variable PLL7 avec l'ensemble des données. Les ordres de grandeur obtenus pour les autres variables avec le *'Lot 1'* sont similaires à celles obtenues avec l'analyse complète. Pour l'AUDPC, PLL14 et PLL21 les pics de LOD sont de 4,47, 4,06 et 3,77 et les variances expliquées sont de 17,78 %, 13,93 % et 13,67 % respectivement. Ainsi, de la même façon que pour l'analyse prenant en compte l'ensemble des lots, l'AUDPC présente des résultats intermédiaires. La variable PLL7 permet d'obtenir l'intervalle de confiance le plus restreint et la variance expliquée la plus importante et les résultats pour les variables PLL14 et PLL21 diminuent progressivement. Cette analyse permet de confirmer les résultats obtenus avec tous les lots.

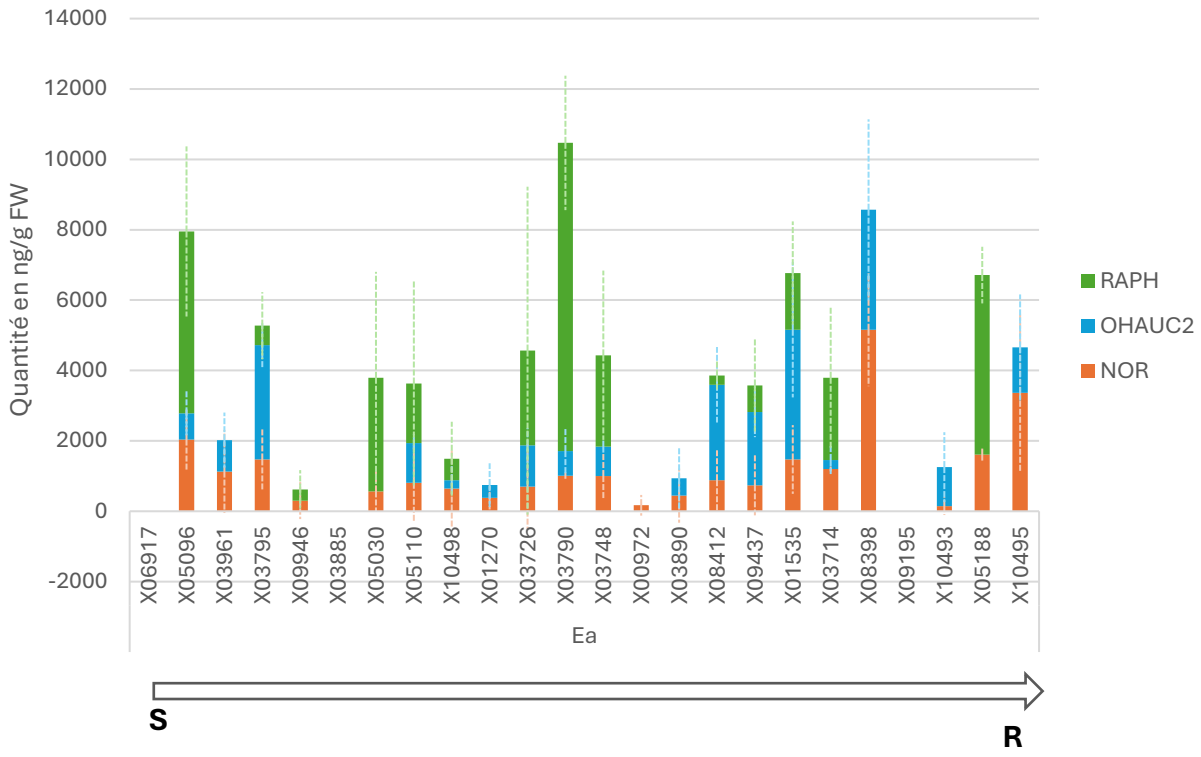


Figure 23 : Quantités moyennes des métabolites accumulés selon le génotype.

*Cette figure ne prend en compte uniquement les plantes inoculées avec Erwinia amylovora. Les génotypes sont classés du plus sensible (gauche, **S**) au plus résistant au feu bactérien (droite, **R**).*

	NOR	OHAUC2	RAPH	*Somme*
Min	0	0	0	*0*
1st Quartile	364.56	0	0	*890.09*
Médiane	772.13	716.17	433.91	*3708.78*
Moyenne	1051.95	1014.43	1486.58	*3552.95*
3rd Quartile	1270.43	1202.34	2403.43	*4808.60*
Max	5161.64	3687.26	8760.23	*10467.53*
Ecart-type	1159.44	1166.96	2218.13	*2973.08*

Tableau 8 : Résumé statistique des métabolites accumulés dans les feuilles des plantes inoculées avec Ea.

Résultats diversité génétique et métabolisme spécialisé

Enfin, l'étude de la diversité génétique et du métabolisme spécialisé constitue la troisième étape de ce rapport et est également une approche complémentaire pour améliorer notre compréhension des mécanismes de défense impliqués dans la résistance au feu bactérien.

Dans cette étude, seuls les échantillons de feuilles provenant des différents génotypes ont été analysés. Les données de GC-MS ont permis de montrer plusieurs éléments. Premièrement, aucun composé n'a été détecté parmi les témoins non inoculés, (données non montrées), les métabolites ne s'accumulant que dans les tissus provenant des plantes inoculées par *Ea*. Ensuite, nous pouvons constater que sur les 22 standards utilisés comme référence, seulement trois composés ont été détectés dans nos échantillons (Figure 23 et Tableau 8). Les métabolites que nous avons identifiés dans cette analyse de métabotypage ciblée correspondent à trois biphényles : la raphiolepsine (RAPH), la noraucuparine (NOR) et le 2-hydroxyaucuparine (OHAUC2). Les génotypes présentés Figure 23 sont classés du plus sensible (à gauche) au plus résistant (à droite). Nous pouvons alors constater que les trois génotypes les plus résistants ne sont pas les génotypes produisant la quantité la plus importante de métabolites. En effet, le génotype X10495 (le plus résistant) n'accumule que de la NOR et du OHAUC2, avec une quantité totale de métabolites avoisinant les 4500 ng/g FW. A titre de comparaison la quantité totale de métabolites est en moyenne de 3553 ng/g FW et le maximum est de 10468 ng/g FW pour le génotype intermédiaire X03790. A contrario, le génotype X05096 fait partie des génotypes les plus sensibles pour autant sa quantité totale de métabolite est d'environ 8000 ng/g FW. Il est donc le troisième génotype produisant la plus grande quantité de métabolites mais il ne semble pas bénéficier de défenses importantes contre *Ea*. Ainsi, nous observons que les trois génotypes X05096, X03790 et X08398 produisent une quantité de métabolites supérieure aux autres génotypes et sont pourtant classés respectivement comme sensible, intermédiaire et résistant. De la même manière, dans chaque classe (sensible, intermédiaire, résistant) nous pouvons identifier des génotypes avec de très faibles quantités de métabolites voire nulle.

Globalement, les quantités détectées sont relativement variables d'un échantillon à l'autre pouvant aller de 0 à plus de 10 000 ng/g FW (nanogramme par gramme de poids frais). En effet, l'écart-type pour la quantité totale de métabolites est de 2973 ng/g FW (Tableau 8). Cette variabilité entre les génotypes est également observée pour chaque métabolite. Concernant la NOR, sa quantité accumulée est, généralement, inférieure à 2000 ng/g FW, sauf pour les génotypes X08398 et X10495, tous les deux classés parmi les génotypes résistants. La

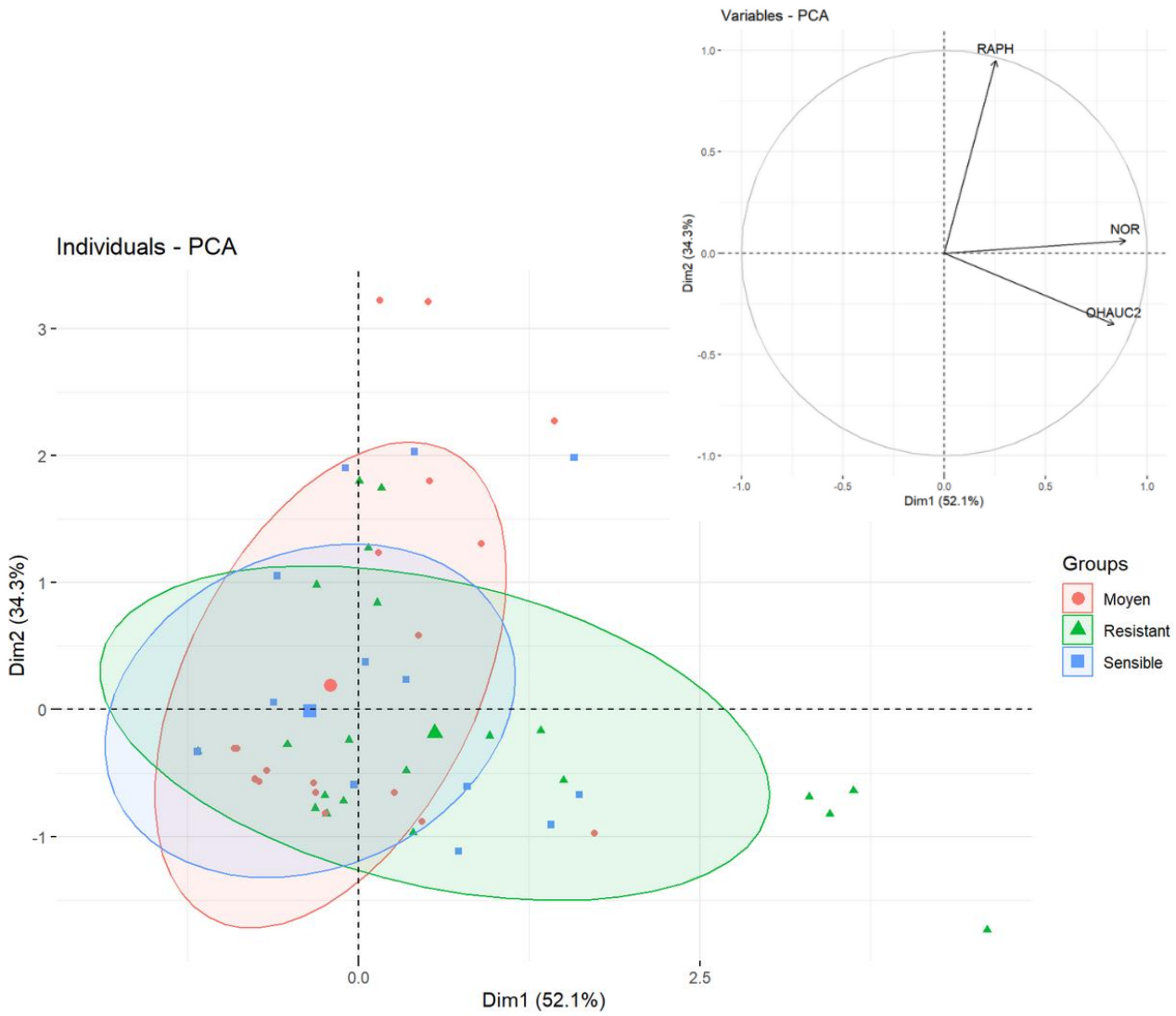


Figure 24 : Graphique des individus de l'Analyse en Composantes Principales (ACP) des axes 1 et 2.

Le graphique en haut à droite de cette figure correspond au cercle des corrélations de l'ACP.

RAPH est particulièrement variable d'un génotype à l'autre avec un écart-type de 2218 ng/g FW et les trois génotypes contenant le plus de RAPH sont situés dans chacune des classes de résistance. Enfin, ces résultats nous montrent que tous les échantillons ne synthétisent pas toujours ces trois composés. Parmi les 24 génotypes, dix ont synthétisé les trois métabolites, cinq n'ont synthétisé que de la NOR et du OHAUC2, deux n'ont synthétisé que de la NOR et de la RAPH (Figure 23). Un seul échantillon n'a produit que de la NOR (et en très faible quantité) et trois échantillons n'ont produit aucun métabolite cible. Parmi ces trois génotypes n'ayant produit aucun métabolite, deux sont classés comme sensible au feu bactérien et le dernier est à l'inverse classé résistant au feu bactérien.

Par conséquent, cette figure ne semble pas montrer de liens évidents entre la quantité totale de métabolites accumulés et la résistance au feu bactérien et ne permet pas non plus de faire d'hypothèse quant aux métabolites les plus probables de limiter l'infection par *Ea*.

Une Analyse en Composantes Principales (ACP) (Figure 24) a ensuite été réalisée à partir des valeurs individuelles de chaque échantillon. Dans un premier temps, cette ACP indique que les deux premiers axes permettent à eux deux d'expliquer 86,4 % de la variabilité (52,1 % et 34,3 % pour les axes 1 et 2 respectivement). L'axe 1 est corrélé avec les variables NOR et OHAUC2 et rend compte d'une corrélation positive entre ces deux variables. Ces deux variables contribuent à hauteur d'environ 52 % et 45 %, respectivement, à la construction de l'axe 1. Tandis que l'axe 2 est principalement construit par la variable RAPH avec une contribution d'environ 80 %. La variable RAPH ne semble pas être corrélée avec les deux autres variables. Ainsi, l'axe 1 résume principalement l'information portée par les variables NOR et OHAUC2 et l'axe 2 reflète davantage l'information portée par la variable RAPH. La projection des échantillons individuels ne permet pas de différencier les génotypes sensibles et intermédiaires. Les barycentres de ces deux groupes sont très proches, la seule différence entre ces deux groupes repose sur quelques échantillons du groupe intermédiaire qui présentent une légère extension vers le haut de l'axe 2 suggérant une tendance à des valeurs plus élevées de RAPH pour ces échantillons. En parallèle le groupe 'Résistant' est davantage étalé le long de l'axe 1 vers la droite, suggérant que certains génotypes résistants ont des valeurs plus élevées de NOR et de OHAUC2.

En résumé, le groupe sensible est davantage concentré à gauche de l'axe 1 suggérant des valeurs faibles de NOR et de OHAUC2. Le groupe intermédiaire occupe une position intermédiaire avec quelques échantillons présentant des valeurs plus élevées de RAPH. Enfin, le groupe résistant semble posséder des échantillons avec des valeurs de NOR et de OHAUC2

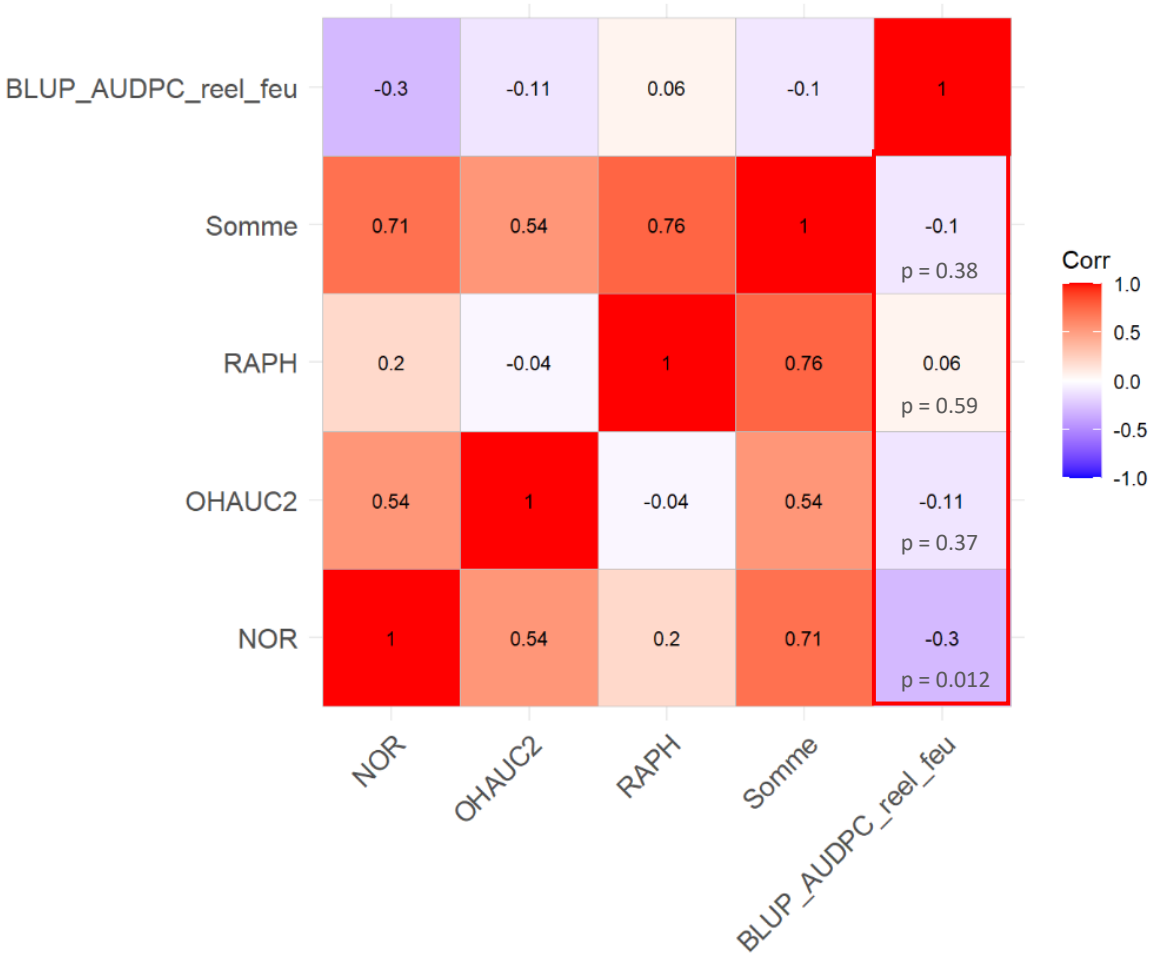


Figure 25 : Matrice de corrélation de Pearson

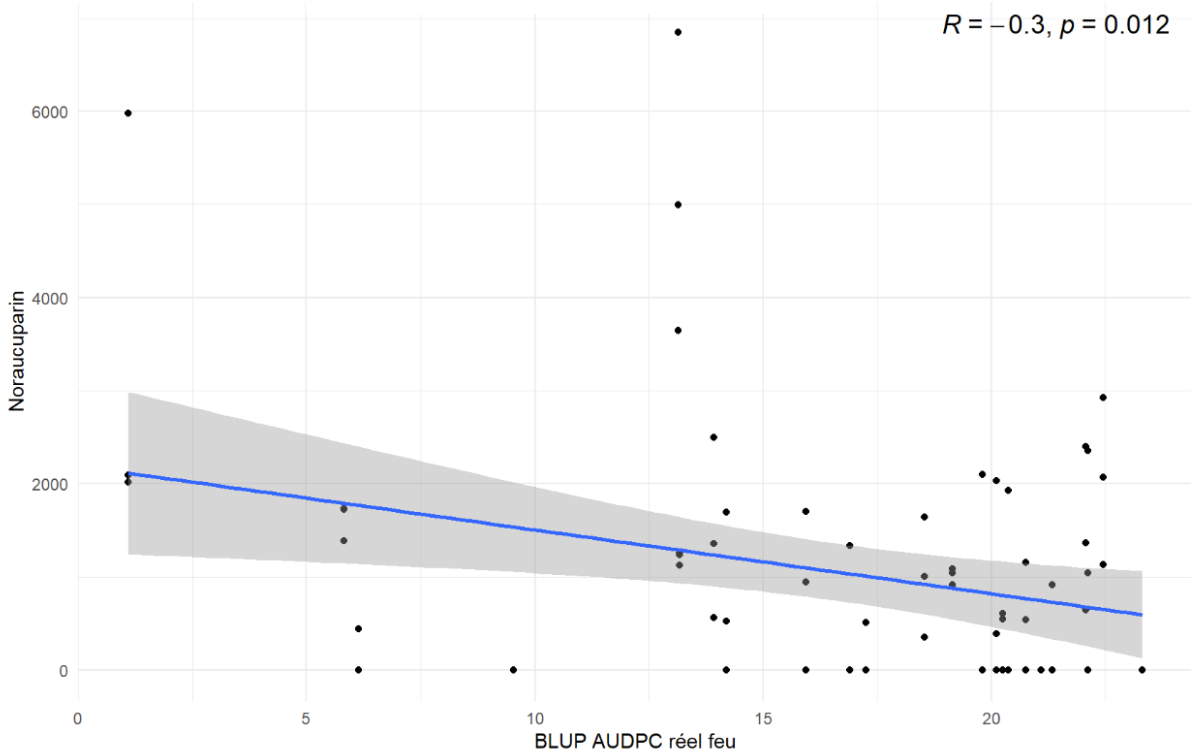


Figure 26 : Régression linéaire entre la quantité de noraucuparine accumulée dans les feuilles des plantes inoculées avec Ea et la résistance au feu bactérien.

plus élevées que dans les autres groupes. Malgré tout, les trois groupes se superposent en partie, et la distinction entre les groupes ne semble pas tout à fait claire. Cette analyse ne permet donc pas tout à fait d'associer certains métabolites à une résistance plus importante au feu bactérien.

Afin de déterminer si certains composés influencent davantage la résistance au feu bactérien, nous avons réalisé une matrice de corrélation de Pearson (Figure 25), dans laquelle nous avons ajouté les trois métabolites détectés dans les échantillons, la quantité totale de métabolites et la résistance au feu bactérien décrite par les 'BLUP_AUDPC'. Cette matrice de corrélation permet de confirmer la corrélation positive entre les deux variables NOR et OHAUC2 observée dans le cercle des corrélations de l'ACP, avec un coefficient de corrélation de 0,54 et une p-value inférieure à 0,001. Cette matrice de corrélation nous indique également que la quantité totale de métabolites n'est pas corrélée avec une résistance plus importante au feu bactérien. De la même manière, les variables OHAUC2 et RAPH ne sont pas non plus associées à une résistance plus forte au feu bactérien. Finalement, seule la NOR présente une corrélation négative significative avec les 'BLUP_AUDPC'. Cela signifie que plus le génotype est résistant, plus il possède un 'BLUP_AUDPC' faible et plus la quantité de NOR produite est importante. Ainsi, nous pouvons dire que seule la NOR influence significativement la résistance au feu bactérien. Cette matrice de corrélation nous permet donc d'affiner les résultats obtenus avec l'ACP. En effet, cette dernière suggérait qu'une quantité plus importante de OHAUC2 et de NOR permettait de distinguer les individus plus résistants.

La figure 26 illustre la corrélation significative entre la quantité de NOR et la résistance des différents génotypes au feu bactérien, mesurée par les BLUP_AUDPC. Ainsi, nous observons une corrélation négative modérée, avec un coefficient de corrélation de -0,3 et une p-value de 0,012 entre ces deux variables. Par conséquent, cela confirme que les génotypes les plus résistants (donc avec les 'BLUP_AUDPC' les plus faibles) ont tendance à accumuler davantage de NOR. Cependant, cette régression linéaire montre une dispersion non homogène des points le long de la droite de régression. Dans un premier temps, nous observons qu'une majorité des échantillons possède des 'BLUP_AUDPC' compris entre 12 et 25, tandis que seulement 8 échantillons ont des 'BLUP_AUDPC' inférieur à 10. De plus, on observe pour les 'BLUP_AUDPC' compris entre 12,5 et 15, une accumulation de NOR plus importante pour certains échantillons. Cela signifie que des génotypes ayant une résistance intermédiaire au feu bactérien présentent des quantités de NOR accumulée très variables. En parallèle, on observe également trois échantillons pour lesquels l'AUDPC est faible (entre 0 et 2,5). Parmi eux, un

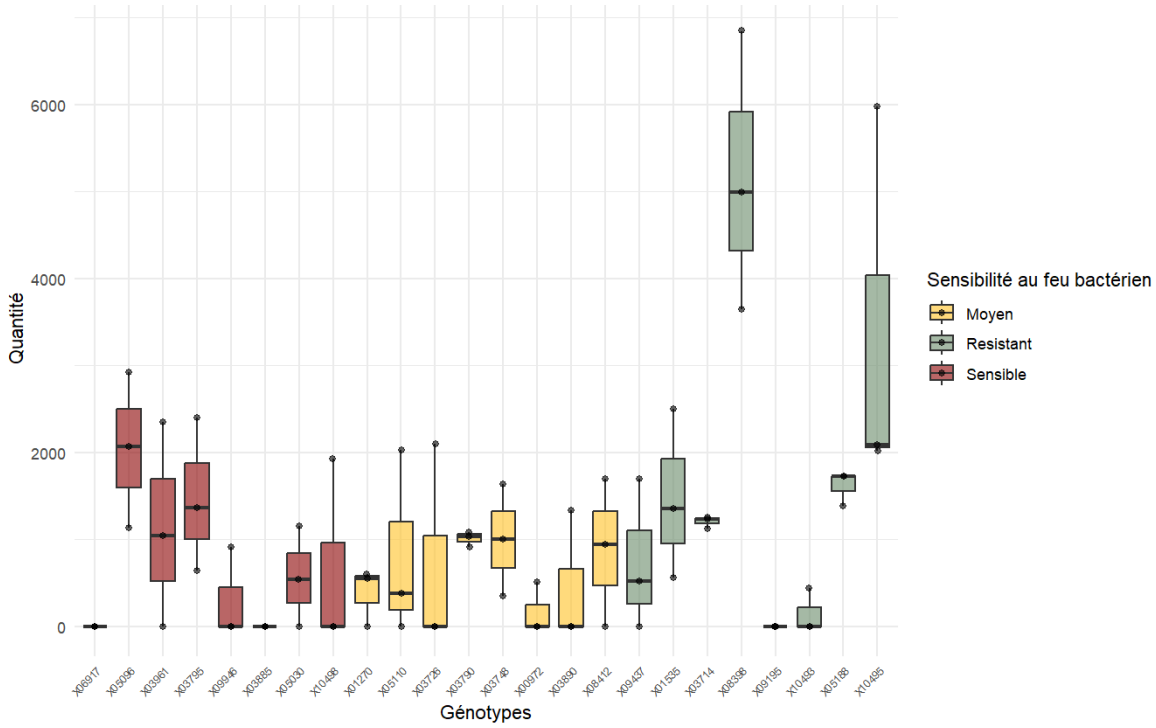


Figure 27 : Boxplots de la quantité de noraucuparine accumulée dans les feuilles infectées par Ea de chaque génotype.

échantillon a accumulé environ 6000 ng/g FW de NOR, ce qui renforce l'hypothèse de son rôle de protection vis-à-vis d'*Ea*. Toutefois, cette relation n'est pas absolue. En effet, les deux autres échantillons du même génotype (à cette même valeur d'AUDPC) ont produit trois fois moins de NOR. Cette variabilité autour de la droite de régression peut laisser penser à un caractère multifactoriel de la résistance au feu bactérien, où la NOR semble jouer un rôle significatif mais non exclusif.

Enfin, dans la figure 27, les génotypes sont ordonnés du plus sensible au plus résistant et sont rassemblés par groupe de sensibilité. Cette figure nous indique que, hormis les génotypes X08398 et X10495, les échantillons dépassent rarement des quantités de NOR supérieures à 2000 ng/g FW. Ainsi, nous pouvons facilement imaginer que ces deux génotypes participent majoritairement à la relation significative entre la quantité de NOR et la résistance au feu bactérien. Cette idée semble se renforcer avec certains génotypes classés sensibles comme X05096, X03961 et X03795, qui semblent en moyenne accumuler plus de NOR que la majorité des génotypes classés intermédiaires.

Discussion

Descendance Idared x Malus baccata Almey

L'un des principaux objectifs de ce stage consistait à découvrir l'existence de nouveaux QTLs de résistance au feu bactérien et de préciser leur position dans une descendance issue d'un croisement entre un pommier domestique et une espèce apparentée sauvage résistante au feu bactérien. Dans le cadre de cette analyse, même si la distribution de cette descendance, ainsi que l'annexe 1-B semblaient plutôt en faveur de l'hypothèse d'un gène majeur, nous avons, tout de même, pu cartographier quatre QTLs de résistance au feu bactérien sur les groupes de liaison 4, 7, 8 et 10 de MbA, ainsi que deux QTLs de sensibilité sur les LG 5 et 15 d'Idared. Ces QTLs ont été cartographiés avec l'aide de différentes variables suggérant qu'ils pourraient être impliqués dans différents mécanismes de résistance. Dans l'ensemble, les résultats obtenus suggèrent que le QTL du chromosome 4 a un effet sur l'ensemble du cycle mais n'est pas visible aux stades précoces. Tandis que les QTLs des chromosomes 7 et 8 semblent avoir un effet plus précoce même si leurs effets sont également visibles à 14 jours post-inoculation. A l'inverse, les QTLs de sensibilité détectés sur les chromosomes 5 et 15 d'Idared, ont davantage été identifiés à partir de 14 jours post-inoculation, suggérant un effet plus tardif.

QTL de résistance sur LG 4 et 10

Le QTL détecté sur le LG 4 de MbA (FB_MbA4) semble présenter un effet sur l'ensemble de la période d'infection, puisque son effet le plus fort a été détecté avec la variable AUDPC. Cependant, son absence de détection avec la variable PLL7 indique que son action pourrait n'intervenir qu'après les premiers stades de l'infection, et en particulier, au moins 7 jours post-inoculation. Ce résultat fait écho à une précédente étude qui avait également mis en évidence un QTL de résistance sur le groupe de liaison 4 de *Malus fusca* MAL0045, une autre espèce apparentée sauvage (Emeriewen *et al.*, 2023). Dans cette étude, la descendance F_1 entre Idared et *Malus fusca* MAL0045 avait permis d'identifier un QTL de résistance au feu bactérien, déjà connu, sur le LG 10 de *Malus fusca*. C'est la descendance F_2 qui a permis de cartographier deux nouveaux QTLs dont un QTL sur le LG 4 et un second sur le LG 15 de *Malus fusca*. Le QTL du LG 4 de *Malus fusca*, localisé sur un intervalle de confiance compris entre 37 et 42 cM, a expliqué 21,9 % de la variation phénotypique avec la souche Ea222 et 11,9 % avec la souche Ea3049. Notre étude nous a également permis d'identifier un QTL sur le LG 4 de MbA, à l'origine d'une variance phénotypique comprise entre 7,7 et 31,6 % et situé entre

8,7 et 19,6 Mpb (GDDH13), alors que le QTL de FB_Mfu4 identifié sur MAL0045 (Emeriewen *et al.*, 2023) est localisé entre 20,6 et 23,5 Mbp. Par conséquent, ces différences de positions indiquent qu'il s'agit probablement de QTLs distincts. Avec notre étude, celle d'Emeriewen *et al.* est la seule à avoir mis en évidence un QTL de résistance sur le LG 4 au sein du genre *Malus*.

Par ailleurs, cette étude d'Emeriewen a également confirmé la forte efficacité du QTL FB_Mfu10, qui est, par ailleurs, supérieure à celle des QTLs FB_Mfu4 et FB_Mfu15 détectés dans cette analyse. Notre analyse a, elle aussi, mis en évidence un QTL sur le LG 10 de MbA (FB_MbA10). Toutefois celui-ci présente une efficacité moins marquée que celui trouvé sur le LG4 dans notre étude. Il est également à noter que ce QTL n'a été identifié comme significatif qu'à une seule reprise, bien que son pic soit apparu avec les variables PLL7, PLL14 et PLL21 celui-ci n'a pas dépassé le seuil de significativité. La comparaison physique des intervalles de confiance entre les QTLs FB_Mfu10 (26-37 Mbp) et FB_MbA10 (36-39 Mbp) suggère un chevauchement, laissant envisager qu'ils puissent correspondre à une même région génomique. Cette légère différence de position peut s'expliquer, par la souche d'*Ea* qui est différente de celle que nous avons utilisée, ou bien du fait que nous n'avons pas utilisé les mêmes espèces de *Malus*.

QTL de résistance sur LG 7 et 8

Enfin, deux autres QTLs de résistances ont été cartographiés sur les LG 7 et 8 de MbA (FB_MbA7 et FB_MbA8). Contrairement au FB_MbA4, ces deux QTLs ont été détectés à chaque date post-inoculation mais n'ont pas été détectés avec la variable AUDPC. Cela révèle l'importance de mobiliser plusieurs variables phénotypiques afin d'optimiser la détection de QTLs. En effet, certaines variables ponctuelles, comme PLL7 dans notre cas, permettent de mettre en évidence des effets génétiques spécifique à un stade de l'infection précoce alors que des mesures intégrées comme l'AUDPC ont tendance à diluer ces effets spécifiques et permettre une vision globale de l'évolution des symptômes. Ainsi, ces deux QTLs semblent être impliqués dans un mécanisme de résistance aux stades précoces de l'infection, comme en témoignent leurs LOD-score et leurs variances expliquées maximales avec la variable PLL7.

Le QTL FB_MbA7 peut également être mis en comparaison avec le qF7 de Fiesta. En effet, Bénéjam (2021) avait situé ce QTL sur intervalle de confiance compris entre 67 et 71 cM et notre étude a permis d'identifier le QTL FB_MbA7 sur un intervalle de confiance compris entre 62 et 72 cM. Nous avons alors comparé les positions physiques de ces deux QTLs sur le génome de référence du pommier domestique 'GDDH13' (Daccord *et al.*, 2017). Le pic de LOD

du qF7, d'après Bénéjam (2021), est situé à 32,3 Mpb, tandis que celui de FB_MbA7 se trouve dans l'intervalle 30-33 Mpb. Ces résultats laissent envisager que ces deux QTLs correspondent à la même région génomique et par conséquent pourraient partager les mêmes gènes sous-jacents impliqués dans la résistance au feu bactérien. En revanche, aucun QTL sur le chromosome 8 de Fiesta n'a été détecté jusqu'à présent.

Par ailleurs, nos résultats indiquent que les QTLs FB_MbA7 et FB_MbA8 sont systématiquement détectés ensemble. Cela pose alors l'hypothèse d'un phénomène d'épistasie entre ces deux QTLs. D'autant plus, qu'une telle interaction, entre deux QTLs situés sur les chromosomes 7 et 8, a déjà été rapportée dans une étude antérieure (van de Weg *et al.*, 2017).

Précédemment, une étude sur la descendance Idared x *Malus baccata* avait identifié un QTL de résistance sur le groupe de liaison 12 de *Malus baccata*, expliquant 31 à 52 % de la variation phénotypique. Ce QTL avait été localisé entre 60 et 75 cM (Peil *et al.*, 2014). Cependant, aucun QTL n'a été identifié à cette position dans notre analyse. Il est alors possible que certains QTLs spécifiques ne puissent être détectés qu'avec certaines souches spécifiques d'*Ea* ou bien l'accession de *Malus baccata* utilisée dans leur étude est génétiquement éloignée de la nôtre.

Deux QTLs de sensibilité identifiés chez Idared

En plus des QTLs de résistance identifiés sur la carte de MbA, notre analyse a également révélé des QTLs de sensibilité sur les LG5 (FB_Id5) et LG15 (FB_Id15) d'Idared. A ce jour, peu d'études ont montré la présence de QTL provoquant une augmentation de la sensibilité au feu bactérien. Néanmoins, une étude de Kostick *et al*. (2021) a distingué des effets contradictoires en fonction de l'allèle transmis sur le chromosome 15. Certains allèles permettraient de réduire la sensibilité au feu bactérien, tandis que d'autres seraient associés à une augmentation de la proportion de nécrose. Par conséquent, cet article montre bien que ce chromosome contient une région polymorphe avec certains haplotypes favorables et d'autres défavorables. Dans cette étude ce QTL a été détecté entre 20 et 37 Mpb (Sarah Kostick *et al.*, 2021). Son intervalle de confiance recouvre, en partie, un autre QTL présent sur le LG15 cartographié dans une descendance F_2 avec *Malus fusca* (Emeriewen *et al.*, 2023). Ce dernier a été identifié entre 33 et 44 Mpb. Cependant, notre analyse a permis d'identifier le pic du LOD-score de FB_Id15 vers 13 Mpb. Ce dernier semble accroitre la sensibilité au feu bactérien lorsque la descendance hérite de l'allèle G d'Idared et de l'allèle A de MbA (sur le marqueur AX-115451546) et à l'inverse la sensibilité au feu bactérien semble réduite lorsque la

descendance est homozygote et hérite des deux mêmes allèles (AA). Deux possibilités semblent alors envisageables, soit l'allèle transmis par Idared est à l'origine de la sensibilité ou bien les allèles de résistance sont récessifs. Ainsi, pour confirmer ce phénomène il serait pertinent d'effectuer une cartographie fine afin de détecter les gènes sous-jacents et identifier les mécanismes à l'origine de la résistance/sensibilité.

Le QTL identifié sur le LG5 d'Idared constitue une autre région potentiellement associée à la sensibilité au feu bactérien. Sa détection ayant principalement eu lieu avec le jeu de données *'Lot 1'* suggère que les corrections liées à la croissance n'ont pas permis de révéler son effet, masqué avec le jeu de données *'Tous les lots'*. Ce QTL de sensibilité du LG5 identifié sur la carte génétique d'Idared, n'a, semble-t-il, jamais été rapporté, alors même qu'Idared est régulièrement utilisé comme parent sensible dans ce type d'analyse. Plusieurs explications sont possibles, dont le fait que le génotype d'Idared utilisé dans les croisements ne soit pas toujours strictement identique, ou bien cela peut également provenir du fait que les souches d'*Ea* utilisées soient différentes. Il est également possible que la descendance entre Idared et MbA, contenant une très forte proportion d'individus résistant (comme nous avons pu le voir dans la distribution de cette descendance) ait permis d'accentuer l'effet des individus sensibles et ainsi de mettre en avant ces QTLs de sensibilité. Enfin, il est également probable que ces QTLs ne soient pas directement associés à une sensibilité au feu bactérien, mais qu'ils contribuent indirectement à la virulence et/ou à la pathogénicité d'*Ea*.

Cette étude a permis la mise en évidence de plusieurs régions génomiques probablement impliquées dans la résistance et la sensibilité au feu bactérien. Toutefois, un certain nombre de questions restent à approfondir afin de mieux comprendre les mécanismes sous-jacents et d'envisager leur introduction dans les programmes de sélection.

Tout d'abord, la confirmation de ces QTLs et de leur position nécessiterait la mise en place d'une nouvelle analyse de détection QTLs afin de comparer des résultats obtenus sur plusieurs années de phénotypage. De plus, l'intervalle de confiance de ces QTLs demeurent encore trop large, une cartographie fine des groupes de liaison portant ces QTLs permettrait d'affiner leur position afin de cibler les gènes sous-jacents. D'autres analyses complémentaires pourraient également être envisagées, notamment l'utilisation de plusieurs souches d'*Ea*. En effet, la variabilité observée selon les souches d'*Ea* utilisées dans différentes études souligne l'importance d'élargir les tests de résistance à un panel représentatif de souches. Une telle démarche permettrait de déterminer si les QTLs détectés sont spécifiques à la souche CFPB1430 ou bien si ce sont des QTLs à spectre large et interviennent avec d'autres souches d'*Ea*. Ensuite, la détection conjointe des QTLs sur les LG7 et LG8 suggère un phénomène

d'épistasie qu'il conviendrait d'explorer plus en détail, afin de clarifier la nature de cette interaction et son impact sur le phénotype global de résistance. A terme, la compréhension et la combinaison de ces différents QTLs, idéalement portés par des gènes aux mécanismes d'action distincts, pourrait permettre de développer des cultivars de pommier présentant une résistance plus durable et efficace au feu bactérien via l'intégration des QTLs les plus robustes comme ceux détectés sur les LG4, LG7 et LG8 et en évitant l'introgression d'allèles défavorables comme ceux identifiés sur les LG15 et LG5 d'Idared.

Descendance TN10-8 x Fiesta ~ qF7

Le second objectif de ce stage consistait à réduire l'intervalle de confiance du QTL de résistance au feu bactérien porté par le chromosome 7 de Fiesta (qF7). Dans sa thèse, Bénéjam (2021) a identifié le qF7 à la position génétique 69,46 cM et avec un intervalle de confiance de 4,32 cM (67,10 à 71,42 cM), grâce à la variable AUDPC. Le pic de LOD avait été localisé au niveau du marqueur génétique AX-115197421. L'analyse menée, dans le cadre de ce stage, avec les individus recombinants a permis de confirmer la présence de ce QTL, puisque le pic de LOD a été retrouvé à proximité de ce même marqueur pour chacune des variables. De plus, la variation phénotypique de ces deux études est particulièrement proche, avec un R^2 de 20,10 dans l'étude de Bénéjam et un R^2 de 20,04 avec l'analyse des recombinants. La position physique de ce QTL déterminée par Bénéjam (2021) est située à 32 323 341 pb contre 32 439 629 pb dans l'analyse des recombinants. La taille de l'intervalle de confiance a été significativement réduite en passant de 1 632 268 pb dans l'analyse de référence à 674 909 pb avec l'analyse des recombinants, toute chose égale par ailleurs. Ainsi, ces résultats révèlent que l'usage des individus recombinants issus de la descendance TN10-8 x Fiesta constitue une stratégie efficace pour affiner la localisation du qF7. De plus, l'analyse complémentaire avec le jeu de données *'Lot 1'* aboutit à des résultats très proches, assurant la reproductibilité de cette analyse.

Néanmoins, toutes les variables ne présentent pas la même capacité de détection pour identifier ce QTL. En effet, la variable PLL7 s'est révélée particulièrement informative. Le LOD-score obtenu avec cette variable est presque deux fois supérieur aux résultats obtenus avec l'AUDPC et la variance expliquée atteint 32,92 %. Cette valeur est donc non seulement nettement supérieure aux résultats obtenus avec l'AUDPC, mais elle se rapproche également davantage des estimations rapportées dans l'étude de Calenge et al. (2005). Cette étude situait la contribution du qF7 entre 34,3 et 46,6 %. Ainsi, l'utilisation de cette variable a permis de

réduire l'intervalle de confiance à 458 842 pb, ce qui constitue un progrès significatif pour la cartographie fine. A l'inverse, les analyses des variables PLL14 et PLL21 ont montré des résultats moins performants avec une diminution progressive des LOD-score et des R^2 couplés avec de plus grands intervalles de confiance. Ces résultats suggèrent, ainsi, que l'effet du qF7 pourrait être principalement exprimé aux stades précoces de l'infection, même si cet effet atténué reste détectable à des stades plus tardifs. Cette diminution avec les variables PLL14 et PLL21 peut également être expliquée par d'autres éléments, comme l'effet environnemental.

Certaines nuances doivent toutefois être apportées à l'interprétation de ces résultats. En effet, la comparaison entre l'étude de référence et l'analyse des recombinants s'est appuyée sur la base des positions physique, car les cartes génétiques utilisées pour ces deux études différaient. Par conséquent, les positions génétiques ne permettaient pas de faire des correspondances directes entre ces deux analyses. De plus, dans les nouvelles analyses, les pics de LOD correspondent à des marqueurs fantômes. Ces marqueurs ne présentent donc pas de position physique. Leur localisation a donc été estimée à partir des marqueurs réels adjacents, conduisant à une incertitude vis-à-vis de la position et de la taille des QTLs détectés. La fiabilité des résultats pourrait être améliorée avec quelques analyses supplémentaires. Dans un premier temps, il serait souhaitable d'utiliser une carte génétique commune entre les deux études. Cela consisterait à établir une carte génétique qui comprenne les marqueurs utilisés dans la thèse de Bénéjam (2021) et également les marqueurs utilisés dans la nouvelle analyse. La robustesse de la carte pourrait être améliorée avec l'utilisation de l'ensemble des individus de la descendance. Cela permettrait d'améliorer la qualité de la carte génétique et également de garantir une meilleure comparaison entre les deux études. Dans un second temps, il serait pertinent d'ajouter de nouveaux marqueurs, notamment entre les marqueurs AX-115197421 et AX-105198889, afin d'affiner la carte génétique dans cette région pour, à terme, identifier des gènes candidats et améliorer la compréhension des mécanismes sous-jacents.

En résumé, cette analyse a permis de montrer que l'usage des recombinants de la région du qF7 et de différentes variables ont permis de réduire de façon significative l'intervalle de confiance de ce QTL. De plus, ces résultats ont également permis de confirmer la présence et l'importance de ce QTL dans la résistance au feu bactérien. Toutefois, de nouvelles analyses avec des marqueurs supplémentaires permettraient de s'assurer de la position de ce QTL avant d'identifier les gènes sous-jacents impliqués dans la résistance.

Diversité génétique et métabolisme spécialisé

Un des objectifs de ce stage consistait à identifier les BPs et DBFs susceptibles de limiter voire d'inhiber la propagation d'*Ea*, ainsi que d'identifier les quantités de métabolites nécessaires pour limiter l'infection. Ainsi, la diversité génétique utilisée pour l'étude des métabolites issus de la voie des BPs et DBFs a permis de mettre en évidence, la NOR comme métabolite corrélé à la résistance au feu bactérien. Il est intéressant de noter que des résultats de l'équipe ont montré l'efficacité de ce composé vis-à-vis d'*Ea in vitro* (Annexe 2), avec l'inhibition de la croissance d'*Ea* en présence de ce composé. Cependant, même si les résultats de l'analyse *in planta* que nous avons effectuée vont également dans ce sens, certains génotypes classés sensibles au feu bactérien, comme le génotype X05096, présentent une accumulation de NOR dans la feuille, plus élevée que d'autres génotypes classés résistants. Seuls, deux génotypes (X08398 et X10495) accumulent en moyenne plus de NOR dans leurs feuilles que les autres génotypes et sont classés résistants.

Plusieurs hypothèses pourraient alors permettre de confirmer ou d'infirmer ce résultat. Dans un premier temps, il est possible que l'efficacité de ces métabolites soit visible uniquement après avoir atteint un certain seuil, suggérant qu'une nouvelle analyse avec un prélèvement des organes plus tardif permettrait de mieux distinguer les différences d'accumulation entre les génotypes sensibles et résistants. En effet, plusieurs études ont montré que l'accumulation des BPs et DBFs n'intervenait qu'au-delà de 28 jours post-inoculation (Chizzali *et al.*, 2012a; 2013), tandis que dans notre étude nous avons prélevé les organes à 14 jours post-inoculation. Cependant, les timings de prélèvements sont fortement dépendants des génotypes étudiés, de la souche d'*Ea* choisie et de la concentration d'inoculum utilisée. Il serait donc nécessaire de comparer différents temps de prélèvement dans les conditions appliquées par l'équipe. Ensuite, il est également possible que la feuille ne soit pas l'organe le plus pertinent à analyser pour le dosage de ces métabolites. En effet, les études de Chizzali *et al*. ont également montré à plusieurs reprises que les BPs et DBFs dans les pommiers greffés ne se retrouvent que dans les tiges, et plus précisément dans les zones de transitions entre la partie saine et la partie nécrosée de la tige. Cependant, des analyses préalables au laboratoire avaient permis d'obtenir des résultats probants sur des feuilles de semis de pommier. Il pourrait alors exister une réponse différentielle selon le matériel végétal utilisé, c'est-à-dire entre des semis et des plants greffés d'un même génotype. Afin de répondre à la question de l'organe cible, nous avons réalisé les analyses de GC-MS sur le pétiole et la tige de trois génotypes de l'étude, incluant un sensible, un intermédiaire et un résistant au feu bactérien. Ces résultats sont présents dans l'annexe 3 et

montrent bien que le génotype sensible ne produit aucun métabolite pour tous les organes étudiés. Seul le génotype intermédiaire et le génotype résistant synthétisent des métabolites et il semblerait que ces métabolites s'accumulent davantage dans les pétioles. Ces résultats semblent également confirmer l'impact de l'accumulation de la NOR dans la résistance au feu bactérien. En effet, la production de NOR est plus importante dans la feuille et le pétiole du génotype résistant que dans ceux du génotype intermédiaire. Ainsi, il semblerait que l'analyse des pétioles, dans le cadre de cette expérimentation, serait un premier pas pour confirmer ou non les résultats obtenus dans les feuilles. Enfin, notre étude a reposé sur une analyse de métabotypage ciblée, par conséquent, il est possible que certains métabolites ne figurant pas dans les standards présents au laboratoire n'aient pas été détectés alors même qu'ils pourraient être présents dans l'échantillon, comme le malusfuran (Busnena *et al.*, 2023).

En résumé, les résultats obtenus suggèrent que la NOR joue un rôle dans la résistance au feu bactérien, même si sa contribution semble dépendre à la fois du niveau d'accumulation et de l'organe étudié. Ces observations renforcent l'idée que l'étude des phytoalexines et en particulier des BPs et DBFs constitue une piste prometteuse pour mieux comprendre les mécanismes de défense du pommier. De plus, l'étude d'une diversité génétique est essentielle pour mieux comprendre la variabilité qu'il peut exister entre différents génotypes.

A l'avenir, il pourrait être pertinent de combiner ces approches de métabotypage ciblé avec des approches non ciblées afin d'identifier d'autres composés potentiellement impliqués dans la résistance, mais aussi d'évaluer la dynamique temporelle de leur accumulation. Par ailleurs, relier ces données métaboliques aux QTLs de résistance pourrait également permettre d'associer la production de phytoalexines ou métabolites spécifiques aux gènes sous-jacents de ces QTLs.

Conclusion

Le feu bactérien, causé par *Erwinia amylovora*, constitue une menace majeure pour la filière pomme en raison de sa capacité à provoquer des pertes économiques considérables et de la difficulté à mettre en place des moyens de lutte efficaces, tout en diminuant la dépendance aux produits phytosanitaires. Dans ce contexte, l'amélioration génétique et la compréhension des mécanismes de résistance représentent une piste prometteuse pour répondre à ces enjeux. Ainsi, l'objectif de ce stage s'inscrit dans cette démarche en cherchant à comprendre comment l'étude de la diversité génétique du genre *Malus* peut mettre en lumière certains mécanismes de résistance au feu bactérien encore inconnus, et par conséquent contribuer à la mise au point de nouvelles stratégies de sélection plus durable.

Au cours de ce travail, nous avons pu aborder trois étapes complémentaires de l'identification et de la compréhension des mécanismes impliqués dans la résistance au feu bactérien. Dans un premier temps, nous avons réalisé une carte génétique de la descendance Idared x *Malus baccata Almey* qui a conduit à l'identification de quatre régions génomiques associées à la résistance au feu bactérien. Ces quatre régions ont été localisées sur les groupes de liaison 4, 7, 8 et 10 de MbA, suggérant la mobilisation de plusieurs mécanismes ayant des effets distincts au cours de l'infection. Deux QTLs de sensibilité, situés sur les LG5 et LG15 d'Idared, ont également été détectés, mettant en lumière l'importance de considérer les allèles défavorables au même titre que les QTLs de résistance, au risque d'accroitre la susceptibilité de ces génotypes au feu bactérien. Ainsi, ces résultats illustrent la richesse de la diversité génétique du genre *Malus* et prouvent l'intérêt de mobiliser des espèces sauvages afin d'élargir les connaissances sur les différents mécanismes de résistance.

La seconde étape de ce travail consistait en une cartographie fine du QTL qF7, déjà décrit à plusieurs reprises dans la littérature. L'utilisation d'individus spécifiques, recombinants dans la région de ce QTL a permis de réduire l'intervalle de confiance. L'utilisation de différentes variables phénotypiques a également contribué à réduire davantage cet intervalle de confiance et cibler un peu mieux l'impact de ce QTL sur la période d'infection. Une confirmation de la position de ce QTL avec des analyses supplémentaires permettra, à terme, de rapprocher l'identification de gènes candidats potentiellement impliqués dans la résistance pour, ensuite, effectuer une étape de validation fonctionnelle, avant de pouvoir être intégré dans des programmes de sélection assistée par marqueur. D'autant plus qu'un nouveau génome de référence de Fiesta est en cours d'élaboration et permettra d'identifier les gènes annotés dans l'intervalle de confiance réduit. Ainsi, le développement d'un marqueur, associé au gène de

résistance, pour la sélection assistée par marqueur conduira, à terme, à l'utilisation de ce QTL dans les programmes d'amélioration végétale à l'INRAE.

Enfin, l'étude de la diversité génétique, portant sur la voie des BPs et DBFs, a permis d'identifier la noraucuparine comme métabolite pouvant contribuer à limiter l'infection par *Ea*. Elle permet ainsi de confirmer l'intérêt d'étudier cette voie du métabolisme spécialisé au sein d'une diversité génétique, mais plusieurs paramètres expérimentaux (organe cible, timing) nécessitent encore d'être déterminés afin d'approfondir les analyses.

Ces découvertes constituent une étape vers la compréhension des mécanismes de résistance du pommier au feu bactérien, mais ne représentent qu'un premier pas avant de retrouver ses sources de résistance dans les variétés commercialisées. Un ensemble d'analyses complémentaires sont encore nécessaires pour confirmer ces résultats. De plus, il faut également garder à l'esprit que l'utilisation d'apparentés sauvages dans les programmes de sélection représente un véritable défi pour les sélectionneurs. En effet, l'utilisation de ressources génétiques sauvages pour permettre la réintroduction de diversité génétique dans les programmes de sélection pourrait assurer une résistance plus durable contre les bioagresseurs ou encore améliorer leur adaptation au changement climatique, grâce au transfert d'allèles favorables vers du matériel « élite ». Cependant, les performances agronomiques et organoleptiques des variétés sauvages sont souvent très éloignées de celles du matériel « élite ». Par conséquent, l'apport d'allèles favorables issus d'espèces sauvages peut également s'accompagner de l'introduction d'allèles défavorables pour certains traits d'intérêt. Toute la difficulté repose donc sur le compromis entre la résistance et la qualité des fruits. Enfin, l'objectif d'une résistance durable à long terme repose sur le pyramidage de différents mécanismes de résistance ayant un spectre d'action diversifié, non seulement vis-à-vis du feu bactérien mais aussi contre d'autres maladies du verger.

Ainsi, l'étude de la diversité génétique du genre *Malus* couplée à l'émergence d'outils de sélection comme le *fast breeding* et les nouvelles techniques de sélection (NBT) offrent une véritable opportunité pour accélérer l'introgression et la combinaison de différents gènes de résistance tout en conservant la qualité organoleptique des fruits, dans un contexte fluctuant du point de vue de la réglementation des produits phytosanitaires et du changement climatique.

Bibliographie

AGRESTE, 2024. Pomme. Production de pommes 2024 : une production en hausse, et des prix toujours soutenus|Agreste, la statistique agricole. [en ligne]. 2024. [Consulté le 12 mars 2025]. Disponible à l'adresse : https://agreste.agriculture.gouv.fr/agreste-web/disaron/IraFru24145/detail/

ANDERSEN, Ethan J., ALI, Shaukat, BYAMUKAMA, Emmanuel, YEN, Yang et NEPAL, Madhav P., 2018. Disease Resistance Mechanisms in Plants. *Genes*. juillet 2018. Vol. 9, n° 7, pp. 339. DOI 10.3390/genes9070339.

AXELSON, L. et AXELSON, J., 2000. HYPERCOMPETITION ON HORTICULTURAL MARKETS. *Acta Horticulturae*. 1 septembre 2000. pp. 485-492. DOI 10.17660/ActaHortic.2000.536.58.

BARMAN, K., AHMAD, M. et SIDDIQUI, M.W., 2015. Factors Affecting the Quality of Fruits and Vegetables: Recent Understandings. In : *Postharvest Biology and Technology of Horticultural Crops*. Apple Academic Press. ISBN 978-0-429-17369-1.

BENEJAM, Juliette, 2021. *Résistances du pommier à la tavelure et au feu bactérien : interactions entre les résistances génétiques et induites par les SDP* [en ligne]. These de doctorat. Angers. [Consulté le 10 mars 2025]. Disponible à l'adresse : https://theses.fr/2021ANGE0013

BONN, W. G. et ZWET, T. van der, 2000. Distribution and economic importance of fire blight. In : *Fire blight: the disease and its causative agent, Erwinia amylovora.* [en ligne]. pp. 37-53. CABI Books. [Consulté le 14 février 2025]. ISBN 978-0-85199-294-5. Disponible à l'adresse : https://www.cabidigitallibrary.org/doi/abs/10.1079/9780851992945.0037

BOUCHER, Matthew, COLLINS, Rowan, HARLING, Kayli, BRIND'AMOUR, Gabrielle, HESLER, Stephen, WENTWORTH, Karen, COX, Kerik et LOEB, Greg, 2021. Field Evaluation of Interactions Between Insects and Erwinia amylovora in a New York Apple Orchard. *PhytoFrontiers™*. avril 2021. Vol. 1, n° 2, pp. 94-103. DOI 10.1094/PHYTOFR-10-20-0032-R.

BRISSET, Marie-Noëlle, CESBRON, Sophie, THOMSON, Sherman V. et PAULIN, Jean-Pierre, 2000. Acibenzolar-S-methyl Induces the Accumulation of Defense-related Enzymes in Apple and Protects from Fire Blight. *European Journal of Plant Pathology*. 1 juillet 2000. Vol. 106, n° 6, pp. 529-536. DOI 10.1023/A:1008728119087.

BROGGINI, G.A.L., KOST, T., FAHRENTRAPP, J., PATOCCHI, A., WÖHNER, T., FLACHOWSKY, H., PEIL, A., HANKE, M.-V. et GESSLER, C., 2014. FB-MR5 IS AN APPLE GENE PROVIDING RESISTANCE TO FIRE BLIGHT. *Acta Horticulturae*. octobre 2014. N° 1056, pp. 273-276. DOI 10.17660/actahortic.2014.1056.46.

BROGGINI, Giovanni A. L., SCHLATHÖLTER, Ina, RUSSO, Giancarlo, COPETTI, Dario, YATES, Steven A., STUDER, Bruno et PATOCCHI, Andrea, 2020. *Chromosome-scale de novo diploid assembly of the apple cultivar 'Gala Galaxy'* [en ligne]. 25 avril 2020. bioRxiv. [Consulté le 29 juillet 2025]. Disponible à l'adresse : https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.04.25.058891v2

BROMAN, Karl W., WU, Hao, SEN, Śaunak et CHURCHILL, Gary A., 2003. R/qtl: QTL mapping in experimental crosses. *Bioinformatics*. 1 mai 2003. Vol. 19, n° 7, pp. 889-890. DOI 10.1093/bioinformatics/btg112.

BUSINESSCOOT, 2023. Le marché des pommes - France (09.2023) | Businesscoot. [en ligne]. 15 septembre 2023. [Consulté le 17 février 2025]. Disponible à l'adresse : https://www.businesscoot.com/fr/etude/le-marche-des-pommes-france

BUSNENA, Belnaser A., BEERHUES, Ludger et LIU, Benye, 2023. Biphenyls and dibenzofurans of the rosaceous subtribe Malinae and their role as phytoalexins. *Planta*. 2023. Vol. 258, n° 4, pp. 78. DOI 10.1007/s00425-023-04228-7.

BUSNENA, Belnaser A., BEUERLE, Till, MAHNKOPP-DIRKS, Felix, WINKELMANN, Traud, BEERHUES, Ludger et LIU, Benye, 2021. Formation and exudation of biphenyl and dibenzofuran phytoalexins by roots of the apple rootstock M26 grown in apple replant disease soil. *Phytochemistry*. 1 décembre 2021. Vol. 192, pp. 112972. DOI 10.1016/j.phytochem.2021.112972.

CAFFIER, V. et LAURENS, F., 2005. Breakdown of Pl2, a major gene of resistance to apple powdery mildew, in a French experimental orchard. *Plant Pathology*. 2005. Vol. 54, n° 2, pp. 116-124. DOI 10.1111/j.1365-3059.2005.01147.x.

CAFFIER, Valérie, LASSERRE-ZUBER, Pauline, GIRAUD, Michel, LASCOSTES, Matthieu, STIEVENARD, René, LEMARQUAND, Arnaud, VAN DE WEG, Eric, EXPERT, Pascale, DENANCÉ, Caroline, DIDELOT, Frédérique, LE CAM, Bruno et DUREL, Charles-Eric, 2014. Érosion de la résistance quantitative de l'hôte dans le pathosystème pomme × Venturia inaequalis . *Infection, Genetics and Evolution*. 1 octobre 2014. Vol. 27, pp. 481-489. DOI 10.1016/j.meegid.2014.02.003.

CAFFIER, Valérie, LE CAM, Bruno, AL RIFAÏ, Mehdi, BELLANGER, Marie-Noëlle, COMBY, Morgane, DENANCÉ, Caroline, DIDELOT, Frédérique, EXPERT, Pascale, KERDRAON, Tifenn, LEMARQUAND, Arnaud, RAVON, Elisa et DUREL, Charles-Eric, 2016. Slow erosion of a quantitative apple resistance to *Venturia inaequalis* based on an isolate-specific Quantitative Trait Locus. *Infection, Genetics and Evolution*. 1 octobre 2016. Vol. 44, pp. 541-548. DOI 10.1016/j.meegid.2016.07.016.

CALENGE, F., DROUET, D., DENANCÉ, C., VAN DE WEG, W. E., BRISSET, M.-N., PAULIN, J.-P. et DUREL, C.-E., 2005. Identification of a major QTL together with several minor additive or epistatic QTLs for resistance to fire blight in apple in two related progenies. *TAG. Theoretical and applied genetics. Theoretische und angewandte Genetik*. juin 2005. Vol. 111, n° 1, pp. 128-135. DOI 10.1007/s00122-005-2002-z.

CALENGE, F., FAURE, A., GOERRE, M., GEBHARDT, C., VAN DE WEG, W. E., PARISI, L. et DUREL, C.-E., 2004. Quantitative Trait Loci (QTL) Analysis Reveals Both Broad-Spectrum and Isolate-Specific QTL for Scab Resistance in an Apple Progeny Challenged with Eight Isolates of Venturia inaequalis. *Phytopathology®*. avril 2004. Vol. 94, n° 4, pp. 370-379. DOI 10.1094/PHYTO.2004.94.4.370.

CHEN, Xilong, LI, Shiming, ZHANG, Dong, HAN, Mingyu, JIN, Xin, ZHAO, Caipin, WANG, Songbo, XING, Libo, MA, Juanjuan, JI, Jingjing et AN, Na, 2019. Sequencing of a Wild Apple (Malus baccata) Genome Unravels the Differences Between Cultivated and Wild Apple Species Regarding Disease Resistance and Cold Tolerance. *G3 Genes|Genomes|Genetics*. 1 juillet 2019. Vol. 9, n° 7, pp. 2051-2060. DOI 10.1534/g3.119.400245.

CHIZZALI, Cornelia et BEERHUES, Ludger, 2012. Phytoalexins of the Pyrinae: Biphenyls and dibenzofurans. *Beilstein journal of organic chemistry*. 24 avril 2012. Vol. 8, pp. 613-20. DOI 10.3762/bjoc.8.68.

CHIZZALI, Cornelia, GAID, Mariam M., BELKHEIR, Asma K., BEUERLE, Till, HÄNSCH, Robert, RICHTER, Klaus, FLACHOWSKY, Henryk, PEIL, Andreas, HANKE, Magda-Viola, LIU, Benye et BEERHUES, Ludger, 2013. Phytoalexin formation in fire blight-infected apple. *Trees*. juin 2013. Vol. 27, n° 3, pp. 477-484. DOI 10.1007/s00468-012-0808-2.

CHIZZALI, Cornelia, KHALIL, Mohammed N. A., BEUERLE, Till, SCHUEHLY, Wolfgang, RICHTER, Klaus, FLACHOWSKY, Henryk, PEIL, Andreas, HANKE, Magda-Viola, LIU, Benye et

BEERHUES, Ludger, 2012a. Formation of biphenyl and dibenzofuran phytoalexins in the transition zones of fire blight-infected stems of Malus domestica cv. « Holsteiner Cox » and Pyrus communis cv. « Conference ». *Phytochemistry*. mai 2012. Vol. 77, pp. 179-185. DOI 10.1016/j.phytochem.2012.01.023.

CORNILLE, Amandine, GLADIEUX, Pierre, SMULDERS, Marinus J M, ROLDÁN-RUIZ, Isabel, LAURENS, François, LE CAM, Bruno, NERSESYAN, Anush, CLAVEL, Joanne, OLONOVA, Marina, FEUGEY, Laurence, GABRIELYAN, Ivan, ZHANG, Xiu-Guo, TENAILLON, Maud et GIRAUD, Tatiana, 2012. New Insight into the History of Domesticated Apple: Secondary Contribution of the European Wild Apple to the Genome of Cultivated Varieties. *PLoS genetics*. 1 mai 2012. Vol. 8, pp. e1002703. DOI 10.1371/journal.pgen.1002703.

CTIFL, 2024. Fruits - Pomme - Mémento Fruits et Légumes - CTIFL. [en ligne]. 2024. [Consulté le 14 février 2025]. Disponible à l'adresse : https://memento.ctifl.fr/fiche/fruits/pomme

CUI, Zhouqi, HUNTLEY, Regan B., SCHULTES, Neil P, KAKAR, Kaleem U., YANG, Ching-Hong et ZENG, Quan, 2021a. Expression of the Type III Secretion System Genes in Epiphytic Erwinia amylovora Cells on Apple Stigmas Benefits Endophytic Infection at the Hypanthium. *Molecular Plant-Microbe Interactions®*. octobre 2021. Vol. 34, n° 10, pp. 1119-1127. DOI 10.1094/MPMI-06-21-0152-R.

CUI, Zhouqi, HUNTLEY, Regan B., SCHULTES, Neil P., STEVEN, Blaire et ZENG, Quan, 2021b. Inoculation of Stigma-Colonizing Microbes to Apple Stigmas Alters Microbiome Structure and Reduces the Occurrence of Fire Blight Disease. *Phytobiomes Journal*. janvier 2021. Vol. 5, n° 2, pp. 156-165. DOI 10.1094/PBIOMES-04-20-0035-R.

CURTIS, Kathleen, 2024. Genetic mapping may lead to fire blight-resistant apples | CALS. [en ligne]. 28 février 2024. [Consulté le 26 février 2025]. Disponible à l'adresse : https://cals.cornell.edu/news/2024/02/genetic-mapping-may-lead-fire-blight-resistant-apples

DACCORD, Nicolas, CELTON, Jean-Marc, LINSMITH, Gareth, BECKER, Claude, CHOISNE, Nathalie, SCHIJLEN, Elio, VAN DE GEEST, Henri, BIANCO, Luca, MICHELETTI, Diego, VELASCO, Riccardo, DI PIERRO, Erica Adele, GOUZY, Jérôme, REES, D. Jasper G., GUÉRIF, Philippe, MURANTY, Hélène, DUREL, Charles-Eric, LAURENS, François, LESPINASSE, Yves, GAILLARD, Sylvain, AUBOURG, Sébastien, QUESNEVILLE, Hadi, WEIGEL, Detlef, VAN DE WEG, Eric, TROGGIO, Michela et BUCHER, Etienne, 2017. High-quality de novo assembly of the apple genome and methylome dynamics of early fruit development. *Nature Genetics*. juillet 2017. Vol. 49, n° 7, pp. 1099-1106. DOI 10.1038/ng.3886.

DIXON, Richard, 2001. Natural products and plant disease resistance. *Nature*. 1 juillet 2001. Vol. 411, pp. 843-7. DOI 10.1038/35081178.

DROGUÉ, Sophie et DEMARIA, Federica, 2012. Pesticide residues and trade, the apple of discord? *Food Policy*. 1 décembre 2012. Vol. 37, n° 6, pp. 641-649. DOI 10.1016/j.foodpol.2012.06.007.

DUREL, C E, PARISI, L, LAURENS, F, VAN DE WEG, W E, LIEBHARD, R et JOURJON, M F, 2003. Genetic dissection of partial resistance to race 6 of Venturia inaequalis in apple. *Genome*. avril 2003. Vol. 46, n° 2, pp. 224-234. DOI 10.1139/g02-127.

DUREL, C.-E., DENANCÉ, C. et BRISSET, M.-N., 2009. Two distinct major QTL for resistance to fire blight co-localize on linkage group 12 in apple genotypes « Evereste » and Malus floribunda clone 821. *Genome*. février 2009. Vol. 52, n° 2, pp. 139-147. DOI 10.1139/g08-111.

EMERIEWEN, Ofere Francis, PEIL, Andreas, RICHTER, Klaus, ZINI, Elena, HANKE, Magda-Viola et MALNOY, Mickael, 2017. Fire blight resistance of Malus ×arnoldiana is controlled by a quantitative

trait locus located at the distal end of linkage group 12. *European Journal of Plant Pathology*. 1 août 2017. Vol. 148, n° 4, pp. 1011-1018. DOI 10.1007/s10658-017-1152-6.

EMERIEWEN, Ofere Francis, RICHTER, Klaus, FLACHOWSKY, Henryk, MALNOY, Mickael et PEIL, Andreas, 2021. Genetic Analysis and Fine Mapping of the Fire Blight Resistance Locus of Malus ×arnoldiana on Linkage Group 12 Reveal First Candidate Genes. *Frontiers in Plant Science* [en ligne]. 20 avril 2021. Vol. 12. [Consulté le 30 juillet 2025]. DOI 10.3389/fpls.2021.667133. Disponible à l'adresse : https://www.frontiersin.org/journals/plant-science/articles/10.3389/fpls.2021.667133/full

EMERIEWEN, Ofere Francis, RICHTER, Klaus, FLACHOWSKY, Henryk et PEIL, Andreas, 2023. Quantitative Trait Locus Mapping for Fire Blight Resistance in an F2 Population of Malus fusca MAL0045 Uncovers Novel Resistance Loci. *Phytopathology®*. décembre 2023. Vol. 113, n° 12, pp. 2222-2229. DOI 10.1094/PHYTO-05-23-0159-SA.

EMERIEWEN, Ofere, RICHTER, Klaus, HANKE, Magda-Viola, MALNOY, Mickael et PEIL, Andreas, 2017. Further insights into malus fusca fire blight resistance. *Journal of Plant Pathology*. 5 août 2017. Vol. 99. DOI 10.4454/jpp.v99i0.3908.

EMWAS, Abdul-Hamid, AL-TALLA, Zeyad, YANG, Yang et KHARBATIA, Najeh, 2015. Gas Chromatography–Mass Spectrometry of Biofluids and Extracts. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*. 14 février 2015. Vol. 1277, pp. 91-112. DOI 10.1007/978-1-4939-2377-9_8.

FAOSTAT, 2023. FAOSTAT. [en ligne]. 2023. [Consulté le 12 mars 2025]. Disponible à l'adresse : https://www.fao.org/faostat/fr/#data/QCL/visualize

FORTE, A. V., IGNATOV, A. N., PONOMARENKO, V. V., DOROKHOV, D. B. et SAVELYEV, N. I., 2002. Phylogeny of the Malus (Apple Tree) Species, Inferred from the Morphological Traits and Molecular DNA Analysis. *Russian Journal of Genetics*. 1 octobre 2002. Vol. 38, n° 10, pp. 1150-1161. DOI 10.1023/A:1020648720175.

FRANCEAGRIMER, 2023. *Fruits frais* [en ligne]. 2023. [Consulté le 14 février 2025]. Disponible à l'adresse : https://www.franceagrimer.fr/content/download/70365/document/FICHE_FILIERE_FRUITS_2023.pdf

GAO, Yuan, LIU, Fengzhi, WANG, Kun, WANG, Dajiang, GONG, Xin, LIU, Lijun, RICHARDS, Christopher M., HENK, Adam D. et VOLK, Gayle M., 2015. Genetic diversity of Malus cultivars and wild relatives in the Chinese National Repository of Apple Germplasm Resources. *Tree Genetics & Genomes*. 24 septembre 2015. Vol. 11, n° 5, pp. 106. DOI 10.1007/s11295-015-0913-7.

GARDINER, Susan E, NORELLI, John L, SILVA, Nihal de, FAZIO, Gennaro, PEIL, Andreas, MALNOY, Mickael, HORNER, Mary, BOWATTE, Deepa, CARLISLE, Charmaine, WIEDOW, Claudia, WAN, Yizhen, BASSETT, Carole L, BALDO, Angela M, CELTON, Jean-Marc, RICHTER, Klaus, ALDWINCKLE, Herb S et BUS, Vincent GM, 2012. Putative resistance gene markers associated with quantitative trait loci for fire blight resistance in Malus 'Robusta 5' accessions. *BMC Genetics*. 3 avril 2012. Vol. 13, pp. 25. DOI 10.1186/1471-2156-13-25.

GOUVERNEMENT DU CANADA, 2014. La biologie du Malus domestica Borkh. (pommier commun). [en ligne]. 8 juillet 2014. [Consulté le 2 juillet 2025]. Disponible à l'adresse : http://inspection.canada.ca/fr/varietes-vegetales/vegetaux-caracteres-nouveaux/demandeurs/directive-94-08/documents-biologie/malus-domestica

GUICHARD, Laurence, DEDIEU, François, JEUFFROY, Marie-Hélène, MEYNARD, Jean-Marc, REAU, Raymond et SAVINI, Isabelle, 2017. Le plan Ecophyto de réduction d'usage des pesticides en

France : décryptage d'un échec et raisons d'espérer. *Cahiers Agricultures*. 1 janvier 2017. Vol. 26, n° 1, pp. 14002. DOI 10.1051/cagri/2017004.

HARRIS, Stephen A., ROBINSON, Julian P. et JUNIPER, Barrie E., 2002. Genetic clues to the origin of the apple. *Trends in Genetics*. 1 août 2002. Vol. 18, n° 8, pp. 426-430. DOI 10.1016/S0168-9525(02)02689-6.

HARSHMAN, Julia M., EVANS, Kate M., ALLEN, Haley, POTTS, Ryan, FLAMENCO, Jade, ALDWINCKLE, Herb S., WISNIEWSKI, Michael E. et NORELLI, John L., 2017. Fire Blight Resistance in Wild Accessions of Malus sieversii. *Plant Disease*. octobre 2017. Vol. 101, n° 10, pp. 1738-1745. DOI 10.1094/PDIS-01-17-0077-RE.

HARTMANN, Thomas, 2007. From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry*. 1 novembre 2007. Vol. 68, n° 22, pp. 2831-2846. DOI 10.1016/j.phytochem.2007.09.017.

HARTONO, Evan, WILLEMS, Owen W., BAI, Xuechun, WOOD, Benjamin J., REKAYA, Romdhane et AGGREY, Samuel E., 2025. Effect of Transformation of Non-Normal Fitness Trait Data on the Estimation of Genetic Parameters in Turkeys. *Journal of Animal Breeding and Genetics* [en ligne]. 2025. Vol. n/a, n° n/a. [Consulté le 29 juillet 2025]. DOI 10.1111/jbg.12935. Disponible à l'adresse : https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jbg.12935

JAEGER, Sara R., ANTÚNEZ, Lucía, ARES, Gastón, SWANEY-STUEVE, Marianne, JIN, David et HARKER, F. Roger, 2018. Quality perceptions regarding external appearance of apples: Insights from experts and consumers in four countries. *Postharvest Biology and Technology*. 1 décembre 2018. Vol. 146, pp. 99-107. DOI 10.1016/j.postharvbio.2018.08.014.

JEANDET, Philippe, 2015. Phytoalexins: Current Progress and Future Prospects. *Molecules*. février 2015. Vol. 20, n° 2, pp. 2770-2774. DOI 10.3390/molecules20022770.

KHAN, Muhammad A., DUFFY, Brion, GESSLER, Cesare et PATOCCHI, Andrea, 2006. QTL mapping of fire blight resistance in apple. *Molecular Breeding*. 1 juillet 2006. Vol. 17, n° 4, pp. 299-306. DOI 10.1007/s11032-006-9000-y.

KHAN, Muhammad A., DUREL, Charles-Eric, DUFFY, Brion, DROUET, Damien, KELLERHALS, Markus, GESSLER, Cesare et PATOCCHI, Andrea, 2007. Development of molecular markers linked to the 'Fiesta' linkage group 7 major QTL for fire blight resistance and their application for marker-assisted selection. *Genome*. juin 2007. Vol. 50, n° 6, pp. 568-577. DOI 10.1139/G07-033.

KHARADI, Roshni R. et SUNDIN, George W., 2021. Dissecting the process of xylem colonization through biofilm formation in Erwinia amylovora. *Journal of Plant Pathology*. août 2021. Vol. 103, n° S1, pp. 41-49. DOI 10.1007/s42161-020-00635-x.

KOCZAN, Jessica M., MCGRATH, Molly J., ZHAO, Youfu et SUNDIN, George W., 2009. Contribution of Erwinia amylovora exopolysaccharides amylovoran and levan to biofilm formation: implications in pathogenicity. *Phytopathology*. novembre 2009. Vol. 99, n° 11, pp. 1237-1244. DOI 10.1094/PHYTO-99-11-1237.

KONOPACKA, D., JESIONKOWSKA, K., KRUCZYŃSKA, D., STEHR, R., SCHOORL, F., BUEHLER, A., EGGER, S., CODARIN, S., HILAIRE, C., HÖLLER, I., GUERRA, W., LIVERANI, A., DONATI, F., SANSAVINI, S., MARTINELLI, A., PETIOT, C., CARBÓ, J., ECHEVERRIA, G., IGLESIAS, I. et BONANY, J., 2010. Apple and peach consumption habits across European countries. *Appetite*. 1 décembre 2010. Vol. 55, n° 3, pp. 478-483. DOI 10.1016/j.appet.2010.08.011.

KOSTICK, Sarah A., TEH, Soon Li et EVANS, Kate M., 2021. Contributions of Reduced Susceptibility Alleles in Breeding Apple Cultivars with Durable Resistance to Fire Blight. *Plants*. 22 février 2021. Vol. 10, n° 2, pp. 409. DOI 10.3390/plants10020409.

KOSTICK, Sarah, TEH, Soon Li, NORELLI, J.L., VANDERZANDE, Stijn, PEACE, Cameron et EVANS, Kate, 2021. Fire blight QTL analysis in a multi-family apple population identifies a reduced-susceptibility allele in 'Honeycrisp'. *Horticulture Research*. 1 décembre 2021. Vol. 8, pp. 28. DOI 10.1038/s41438-021-00466-6.

LACROIX, Octave, LESCOURRET, Françoise, GÉNARD, Michel, MEMAH, Mohamed-Mahmoud, VERCAMBRE, Gilles, VALSESIA, Pierre, BEVACQUA, Daniele et GRECHI, Isabelle, 2024. Modeling the effect of multiple pests on ecosystem services provided by fruit crops: Application to apple. *Agricultural Systems*. 1 janvier 2024. Vol. 213, pp. 103808. DOI 10.1016/j.agsy.2023.103808.

LASSOIS, Ludivine, DENANCÉ, Caroline, RAVON, Elisa, GUYADER, Arnaud, GUISNEL, Rémi, HIBRAND-SAINT OYANT, Laurence, PONCET, Charles, LASSERRE-ZUBER, Pauline, FEUGEY, Laurence et DUREL, Charles-Eric, 2016. Genetic Diversity, Population Structure, Parentage Analysis, and Construction of Core Collections in the French Apple Germplasm Based on SSR Markers. *Plant Molecular Biology Reporter*. 1 août 2016. Vol. 34. DOI 10.1007/s11105-015-0966-7.

LE ROUX, P.-M. F., KHAN, M. A., BROGGINI, G. a. L., DUFFY, B., GESSLER, C. et PATOCCHI, A., 2010. Mapping of quantitative trait loci for fire blight resistance in the apple cultivars « Florina » and « Nova Easygro ». *Genome*. septembre 2010. Vol. 53, n° 9, pp. 710-722. DOI 10.1139/g10-047.

LIEBHARD, R., KOLLER, B., PATOCCHI, A., KELLERHALS, M., PFAMMATTER, W., JERMINI, M. et GESSLER, C., 2003. Mapping Quantitative Field Resistance Against Apple Scab in a 'Fiesta' × 'Discovery' Progeny. *Phytopathology®*. avril 2003. Vol. 93, n° 4, pp. 493-501. DOI 10.1094/PHYTO.2003.93.4.493.

MAROLLEAU, Brice, GAUCHER, Matthieu, HEINTZ, Christelle, DEGRAVE, Alexandre, WARNEYS, Romain, ORAIN, Gilles, LEMARQUAND, Arnaud et BRISSET, Marie-Noëlle, 2017. When a Plant Resistance Inducer Leaves the Lab for the Field: Integrating ASM into Routine Apple Protection Practices. *Frontiers in Plant Science* [en ligne]. 4 décembre 2017. Vol. 8. [Consulté le 6 août 2025]. DOI 10.3389/fpls.2017.01938. Disponible à l'adresse : https://www.frontiersin.org/journals/plant-science/articles/10.3389/fpls.2017.01938/full

NIKS, Rients E., QI, Xiaoquan et MARCEL, Thierry C., 2015. Quantitative Resistance to Biotrophic Filamentous Plant Pathogens: Concepts, Misconceptions, and Mechanisms. *Annual Review of Phytopathology*. 4 août 2015. Vol. 53, n° Volume 53, 2015, pp. 445-470. DOI 10.1146/annurev-phyto-080614-115928.

O'ROURKE, D., 2003. World production, trade, consumption and economic outlook for apples. In : *Apples: botany, production and uses* [en ligne]. pp. 15-29. Botany, Production and Uses. [Consulté le 17 février 2025]. ISBN 978-0-85199-592-2. Disponible à l'adresse : https://www.cabidigitallibrary.org/doi/abs/10.1079/9780851995922.0015

PALLOIX, A., AYME, V. et MOURY, B., 2009. Durability of plant major resistance genes to pathogens depends on the genetic background, experimental evidence and consequences for breeding strategies. *New Phytologist*. 2009. Vol. 183, n° 1, pp. 190-199. DOI 10.1111/j.1469-8137.2009.02827.x.

PARISI, L., LESPINASSE, Y., GUILLAUMES, J. et KRÜGER, J., 1993. A New Race of Venturia inaequalis Virulent to Apples with Resistance due to the Vf Gene. *Phytopathology*. 1993. Vol. 83, n° 5, pp. 533-537.

PARLEVLIET, Jan E., 2002. Durability of resistance against fungal, bacterial and viral pathogens; present situation. *Euphytica*. 1 mars 2002. Vol. 124, n° 2, pp. 147-156. DOI 10.1023/A:1015601731446.

PEDRONCELLI, Anna et PUOPOLO, Gerardo, 2024. This tree is on fire: a review on the ecology of Erwinia amylovora, the causal agent of fire blight disease. *Journal of Plant Pathology*. 1 août 2024. Vol. 106, n° 3, pp. 823-837. DOI 10.1007/s42161-023-01397-y.

PEIL, A., WÖHNER, T., HANKE, M.-V., FLACHOWSKY, H., RICHTER, K., WENSING, A., EMERIEWEN, O., MALNOY, M., LEROUX, P.-M., PATOCCHI, A. et KILIAN, A., 2014. COMPARATIVE MAPPING OF FIRE BLIGHT RESISTANCE IN MALUS. *Acta Horticulturae*. octobre 2014. N° 1056, pp. 47-51. DOI 10.17660/ActaHortic.2014.1056.4.

PILET-NAYEL, Marie-Laure, MOURY, Benoît, CAFFIER, Valérie, MONTARRY, Josselin, KERLAN, Marie-Claire, FOURNET, Sylvain, DUREL, Charles-Eric et DELOURME, Régine, 2017. Quantitative Resistance to Plant Pathogens in Pyramiding Strategies for Durable Crop Protection. *Frontiers in Plant Science*. 27 octobre 2017. Vol. 8, pp. 1838. DOI 10.3389/fpls.2017.01838.

POLAND, Jesse A., BALINT-KURTI, Peter J., WISSER, Randall J., PRATT, Richard C. et NELSON, Rebecca J., 2009. Shades of gray: the world of quantitative disease resistance. *Trends in Plant Science*. 1 janvier 2009. Vol. 14, n° 1, pp. 21-29. DOI 10.1016/j.tplants.2008.10.006.

PUSEY, P. L., 2000. The Role of Water in Epiphytic Colonization and Infection of Pomaceous Flowers by Erwinia amylovora. *Phytopathology®*. décembre 2000. Vol. 90, n° 12, pp. 1352-1357. DOI 10.1094/PHYTO.2000.90.12.1352.

ROUXEL, Thierry, PENAUD, Annette, PINOCHET, Xavier, BRUN, Hortense, GOUT, Lilian, DELOURME, Régine, SCHMIT, Jacques et BALESDENT, Marie-Hélène, 2003. A 10-year Survey of Populations of Leptosphaeria maculans in France Indicates a Rapid Adaptation Towards the Rlm1 Resistance Gene of Oilseed Rape. *European Journal of Plant Pathology*. 1 octobre 2003. Vol. 109, n° 8, pp. 871-881. DOI 10.1023/A:1026189225466.

RUHSAM, Markus, BELL, David, HART, Michelle et HOLLINGSWORTH, Peter, 2022. The genome sequence of the European crab apple, Malus sylvestris (L.) Mill., 1768. *Wellcome Open Research*. 7 décembre 2022. Vol. 7, pp. 296. DOI 10.12688/wellcomeopenres.18645.1.

SĂLCEANU, Călin, PARASCHIVU, Mirela, COTUNA, Otilia, SĂRĂȚEANU, Veronica, OLARU, Aurel Liviu et PĂUNESCU, Ramona Aida, 2023. ECONOMIC IMPORTANCE AND PHYTOSANITARY MONITORING OF FIRE BLIGHT. . 2023. Vol. 23, n° 3.

SEDEROFF, Ronald, MYBURG, Alexander et KIRST, Matias, 2010. Genomics, Domestication, and Evolution of Forest Trees. *Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology*. 1 avril 2010. Vol. 74, pp. 303-17. DOI 10.1101/sqb.2009.74.040.

TAGU, Denis et MOUSSARD, Christian, 2003. *Principes des techniques de biologie moléculaire*. 2e éd. rev. et augm. Paris : Institut national de la recherche agronomique. Mieux comprendre. ISBN 978-2-7380-1067-4. 572.8

TEGTMEIER, Richard, ŠVARA, Anže, GRITSENKO, Dilyara et KHAN, Awais, 2025. Malus sieversii: a historical, genetic, and conservational perspective of the primary progenitor species of domesticated apples. *Horticulture Research*. 6 janvier 2025. Vol. 12, n° 1, pp. uhae244. DOI 10.1093/hr/uhae244.

TRILLOT, M., MASSERON, A., MATHIEU, Vincent, BERGOUGNOUX, F., HUTIN, Christian et LESPINASSE, Yves, 2002. *Le pommier. Monographie*.

VAN, Amandine Lê, CAFFIER, Valérie, LASSERRE-ZUBER, Pauline, CHAUVEAU, Aurélie, BRUNEL, Dominique, LE CAM, Bruno et DUREL, Charles-Eric, 2013. Differential selection pressures

exerted by host resistance quantitative trait loci on a pathogen population: a case study in an apple × enturia inaequalis pathosystem. *New Phytologist*. 2013. Vol. 197, n° 3, pp. 899-908. DOI 10.1111/nph.12086.

VAN DE WEG, Eric, DI GUARDO, Mario, JÄNSCH, Melanie, SOCQUET-JUGLARD, Didier, COSTA, Fabrizio, BAUMGARTNER, Isabelle, BROGGINI, Giovanni A. L., KELLERHALS, Markus, TROGGIO, Michela, LAURENS, François, DUREL, Charles-Eric et PATOCCHI, Andrea, 2018. Epistatic fire blight resistance QTL alleles in the apple cultivar 'Enterprise' and selection X-6398 discovered and characterized through pedigree-informed analysis. *Molecular Breeding*. janvier 2018. Vol. 38, n° 1, pp. 5. DOI 10.1007/s11032-017-0755-0.

VAN DE WEG, Eric, DI GUARDO, Mario, JÄNSCH, Melanie, SOCQUET-JUGLARD, Didier, COSTA, Fabrizio, BAUMGARTNER, Isabelle Olivia, BROGGINI, Giovanni, KELLERHALS, Markus, TROGGIO, Michela, LAURENS, François, DUREL, Charles-Eric et PATOCCHI, Andrea, 2017. Epistatic fire blight resistance QTL alleles in the apple cultivar 'Enterprise' and selection X-6398 discovered and characterized through pedigree-informed analysis. *Molecular Breeding*. 11 décembre 2017. Vol. 38. DOI 10.1007/s11032-017-0755-0.

VAN DE WEG, Eric, DI GUARDO, Mario, JÄNSCH, Melanie, SOCQUET-JUGLARD, Didier, COSTA, Fabrizio, BAUMGARTNER, Isabelle, BROGGINI, Giovanni A. L., KELLERHALS, Markus, TROGGIO, Michela, LAURENS, François, DUREL, Charles-Eric et PATOCCHI, Andrea, 2017. Epistatic fire blight resistance QTL alleles in the apple cultivar 'Enterprise' and selection X-6398 discovered and characterized through pedigree-informed analysis. *Molecular Breeding*. 11 décembre 2017. Vol. 38, n° 1, pp. 5. DOI 10.1007/s11032-017-0755-0.

VANNESTE, Joël L. (éd.), 2000. *Fire blight: the disease and its causative agent, Erwinia amylovora*. Wallingford, Oxon, UK ; New York, NY, USA : CABI Pub. ISBN 978-0-85199-294-5. SB741.F6 F57 2000

VELASCO, Riccardo, ZHARKIKH, Andrey, AFFOURTIT, Jason, DHINGRA, Amit, CESTARO, Alessandro, KALYANARAMAN, Ananth, FONTANA, Paolo, BHATNAGAR, Satish K., TROGGIO, Michela, PRUSS, Dmitry, SALVI, Silvio, PINDO, Massimo, BALDI, Paolo, CASTELLETTI, Sara, CAVAIUOLO, Marina, COPPOLA, Giuseppina, COSTA, Fabrizio, COVA, Valentina, DAL RI, Antonio, GOREMYKIN, Vadim, KOMJANC, Matteo, LONGHI, Sara, MAGNAGO, Pierluigi, MALACARNE, Giulia, MALNOY, Mickael, MICHELETTI, Diego, MORETTO, Marco, PERAZZOLLI, Michele, SI-AMMOUR, Azeddine, VEZZULLI, Silvia, ZINI, Elena, ELDREDGE, Glenn, FITZGERALD, Lisa M., GUTIN, Natalia, LANCHBURY, Jerry, MACALMA, Teresita, MITCHELL, Jeff T., REID, Julia, WARDELL, Bryan, KODIRA, Chinnappa, CHEN, Zhoutao, DESANY, Brian, NIAZI, Faheem, PALMER, Melinda, KOEPKE, Tyson, JIWAN, Derick, SCHAEFFER, Scott, KRISHNAN, Vandhana, WU, Changjun, CHU, Vu T., KING, Stephen T., VICK, Jessica, TAO, Quanzhou, MRAZ, Amy, STORMO, Aimee, STORMO, Keith, BOGDEN, Robert, EDERLE, Davide, STELLA, Alessandra, VECCHIETTI, Alberto, KATER, Martin M., MASIERO, Simona, LASSERRE, Pauline, LESPINASSE, Yves, ALLAN, Andrew C., BUS, Vincent, CHAGNÉ, David, CROWHURST, Ross N., GLEAVE, Andrew P., LAVEZZO, Enrico, FAWCETT, Jeffrey A., PROOST, Sebastian, ROUZÉ, Pierre, STERCK, Lieven, TOPPO, Stefano, LAZZARI, Barbara, HELLENS, Roger P., DUREL, Charles-Eric, GUTIN, Alexander, BUMGARNER, Roger E., GARDINER, Susan E., SKOLNICK, Mark, EGHOLM, Michael, VAN DE PEER, Yves, SALAMINI, Francesco et VIOLA, Roberto, 2010. The genome of the domesticated apple (Malus × domestica Borkh.). *Nature Genetics*. octobre 2010. Vol. 42, n° 10, pp. 833-839. DOI 10.1038/ng.654.

VOGT, Isabelle, WÖHNER, Thomas, RICHTER, Klaus, FLACHOWSKY, Henryk, SUNDIN, George W., WENSING, Annette, SAVORY, Elizabeth A., GEIDER, Klaus, DAY, Brad, HANKE, Magda-Viola et PEIL, Andreas, 2013. Gene-for-gene relationship in the host–pathogen system Malus × robusta 5–Erwinia amylovora. *New Phytologist*. 2013. Vol. 197, n° 4, pp. 1262-1275. DOI 10.1111/nph.12094.

WAIS, Mohamed Kileh, 2012. *Méthodes statistiques pour la détection de QTL : nouveaux développements et applications chez le canard mulard* [en ligne]. phdthesis. AgroParisTech. [Consulté le 6 août 2025]. Disponible à l'adresse : https://pastel.hal.science/pastel-00947028

WILSON, Clevo et TISDELL, Clem, 2001. Why farmers continue to use pesticides despite environmental, health and sustainability costs. *Ecological Economics*. 1 décembre 2001. Vol. 39, n° 3, pp. 449-462. DOI 10.1016/S0921-8009(01)00238-5.

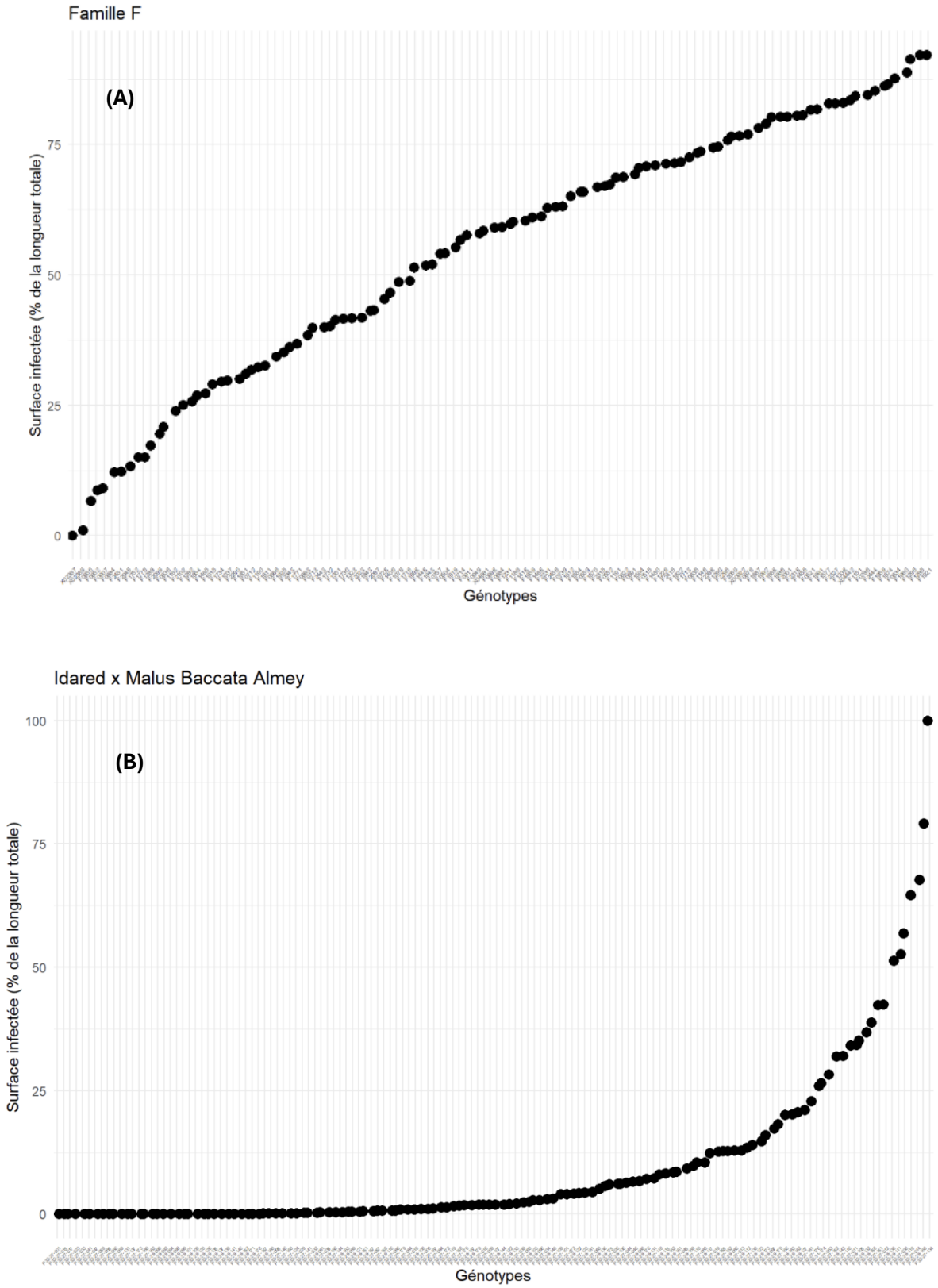
WÖHNER, T.w., RICHTER, K., SUNDIN, G. W., ZHAO, Y., STOCKWELL, V. O., SELLMANN, J., FLACHOWSKY, H., HANKE, M.-V. et PEIL, A., 2018. Inoculation of Malus genotypes with a set of Erwinia amylovora strains indicates a gene-for-gene relationship between the effector gene eop1 and both Malus floribunda 821 and Malus 'Evereste'. *Plant Pathology*. 2018. Vol. 67, n° 4, pp. 938-947. DOI 10.1111/ppa.12784.

YUAN, Xiaochen, ELDRED, Lauren I. et SUNDIN, George W., 2022. Exopolysaccharides amylovoran and levan contribute to sliding motility in the fire blight pathogen Erwinia amylovora. *Environmental Microbiology*. octobre 2022. Vol. 24, n° 10, pp. 4738-4754. DOI 10.1111/1462-2920.16193.

ZHANG, Liyi, HU, Jiang, HAN, Xiaolei, LI, Jingjing, GAO, Yuan, RICHARDS, Christopher M., ZHANG, Caixia, TIAN, Yi, LIU, Guiming, GUL, Hera, WANG, Dajiang, TIAN, Yu, YANG, Chuanxin, MENG, Minghui, YUAN, Gaopeng, KANG, Guodong, WU, Yonglong, WANG, Kun, ZHANG, Hengtao, WANG, Depeng et CONG, Peihua, 2019. A high-quality apple genome assembly reveals the association of a retrotransposon and red fruit colour. *Nature Communications*. 2 avril 2019. Vol. 10, pp. 1494. DOI 10.1038/s41467-019-09518-x.

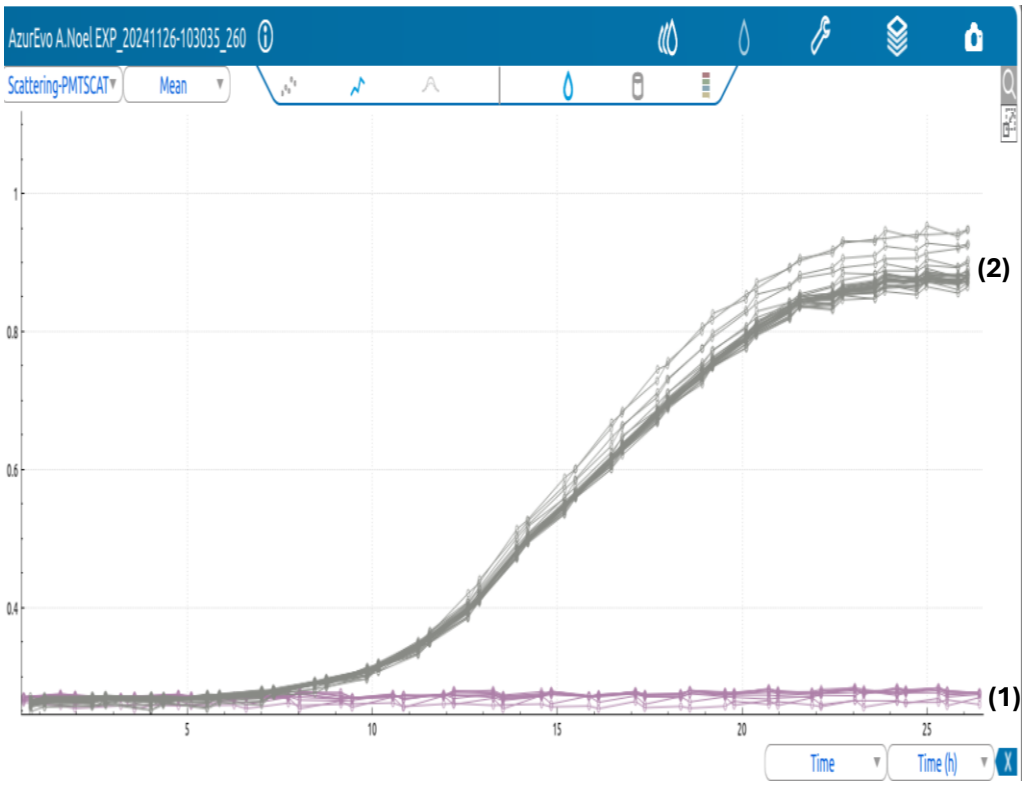
ZHAO, Yu-qiang, TIAN, Yan-li, WANG, Li-min, GENG, Guo-min, ZHAO, Wen-jun, HU, Bai-shi et ZHAO, You-fu, 2019. Fire blight disease, a fast-approaching threat to apple and pear production in China. *Journal of Integrative Agriculture*. 1 avril 2019. Vol. 18, n° 4, pp. 815-820. DOI 10.1016/S2095-3119(18)62033-7.

Annexes

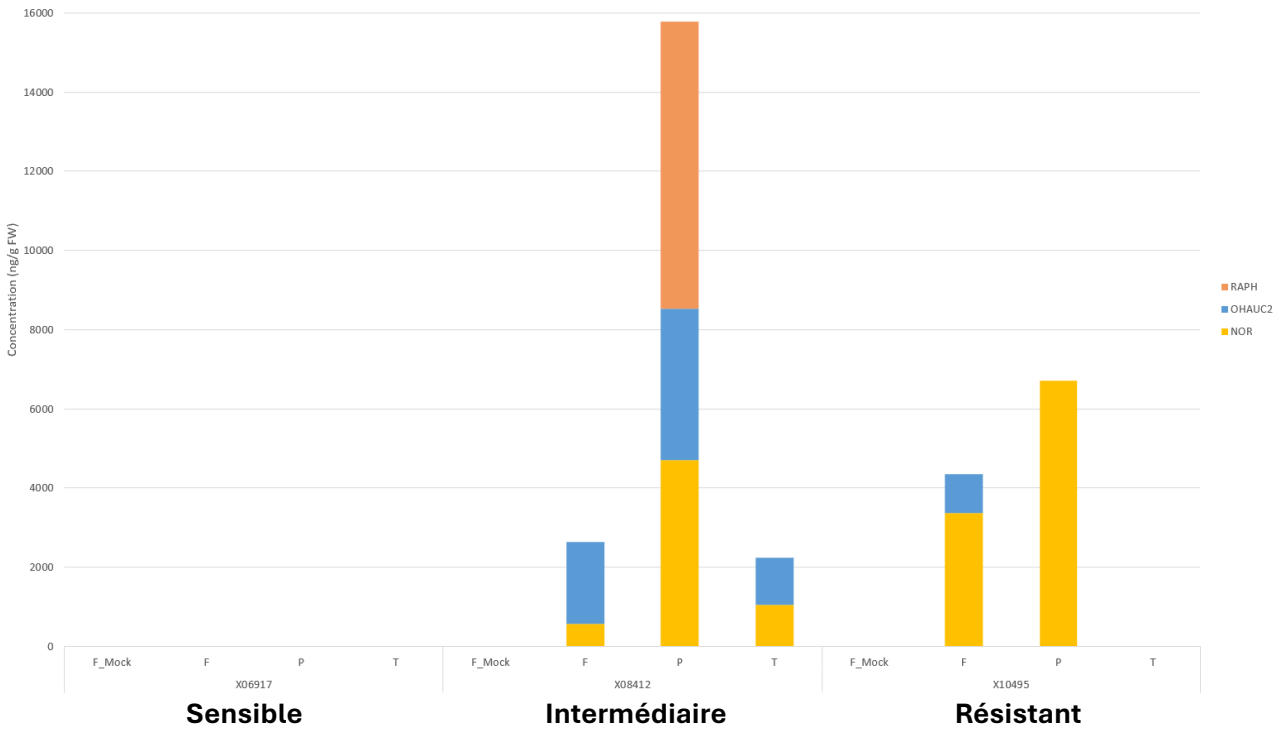


Annexe 1 : Moyenne du pourcentage de surface infectée pour chaque génotype.

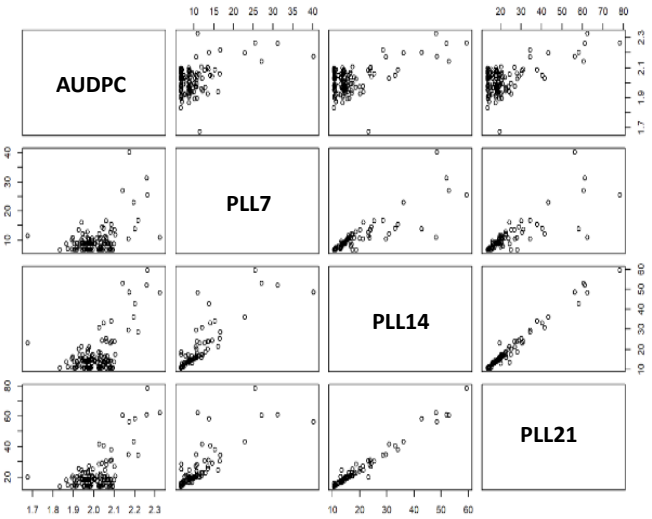
La figure (A) correspond à la descendance bi-parentale TN10-8 x Fiesta, la figure (B) correspond à la descendance bi-parentale Idared x Malus baccata Almey.



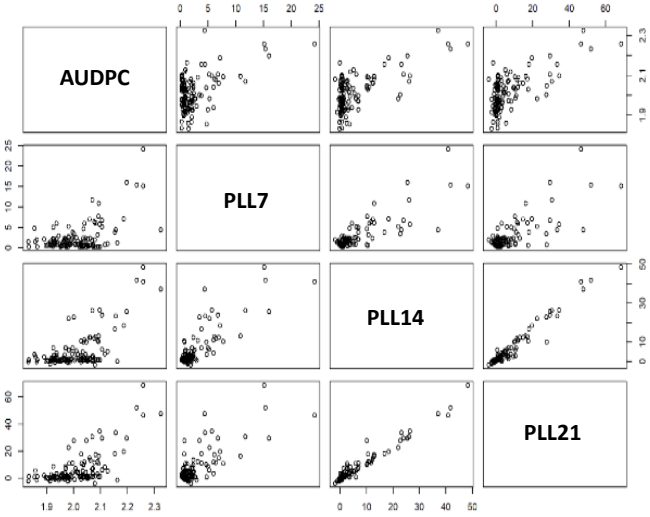
Annexe 2 : Activité microbienne d'Erwinia amylovora avec (1) et sans (2) noraucuparin.



Annexe 3 : Concentration des métabolites identifiés par GC-MS pour trois génotypes à réponses constratées au feu bactérien.

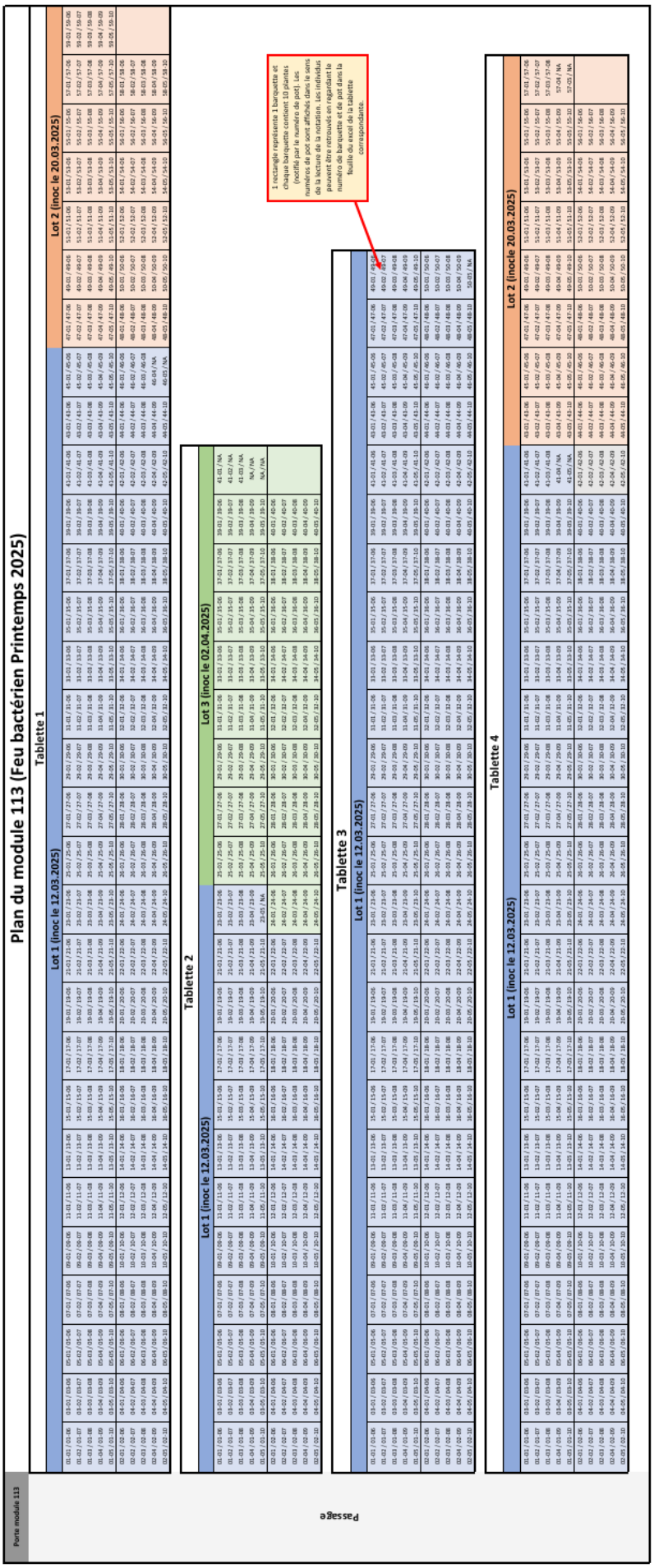


Tous les lots



Lot 1

Annexe 4 : Matrice des corrélations des variables utilisées pour la détection QTL avec les deux jeux de données.



Annexe 5 : Plan du module d'expérimentation génétique.

IRHS Institut de Recherche en Horticulture et Semences INRAE	**Mode opératoire**	Réf : **FB-MO-BIO-28** Version 1 date : 06/08/2024 page **78/2**
	Extraction des biphényles et dibenzofuranes pour analyses GC-MS	

1. Objet et domaine d'application

Extraction de phytoalexines du pommier pour identification et quantification par GC-MS

2. Documents de référence

Busnena et al., 2021. Formation and exudation of biphenyl and dibenzofuran phytoalexins by roots of the apple rootstock M26 grown in apple replant disease soil. Phytochemistry, 192, 112972.

3. Liste de diffusion et si nécessaire niveau de confidentialité

4. Hygiène et sécurité

- Travailler sous sorbonne avec des gants pour la manipulation des solvants.

5. Principe de la méthode

Extraction en série dans du méthanol, dichlorométhane/chloroforme, acétate d'éthyle. Resolubilisation dans du MSTFA afin de rendre les composés volatiles.

6. Matériels nécessaires

- Mortiers et pilons
- Tubes eppendorf de 1,5 et 2 ml
- Balance de précision
- Broyeur à billes
- Centrifugeuse
- Système de concentration sous vide placé sous sorbonne : Concentrator Plus (Eppendorf, ResPom, pour MeOH), un deuxième à SMS (CH_2-Cl_2 : CH-Cl_3 et $C_4H_8O_2$)
- Inserts (Macherey Nagel Cat. No **702818**), vials (Macherey Nagel Cat. No **702282**) et capuchons (Macherey Nagel Cat. No **702026**)
- GC-MS (plateforme du SONAS)

7. Réactifs (chimiques et biologiques ; pour 12 échantillons)

- 4-phénylphénol (4-hydroxybiphenyl, Sigma-Aldrich Cat. No **134341**)
- méthanol (Sigma-Aldrich Cat. No **34860**)
- dichlorométhane (Sigma-Aldrich Cat. No **34856**)
- chloroforme (Sigma-Aldrich Cat. No **650498**)
- acétate d'éthyle (Sigma-Aldrich Cat. No **34858**)
- MSTFA (Macherey Nagel Cat. No **701270-201**)

8. Contraintes de la méthode

Réservation du SpeedVac de l'équipe SMS et de la GC-MS de la plateforme du SONAS.

9. Contenu du mode opératoire

Remarque : Le mode opératoire peut être interrompu après chaque évaporation. Les échantillons secs seront alors stockés au congélateur (-20°C) tubes fermés.

1) Broyer finement les tissus dans un mortier en présence d'azote liquide et placer la poudre dans des tubes Eppendorf 2 ml.
2) Dans un nouveau tube eppendorf 2 ml, peser environ 150-200 mg pour les feuilles et tiges, et 50-100 mg pour les pétioles (selon la poudre disponible). **Noter la masse exacte pesée pour chaque échantillon.**
3) Ajouter 1 ml de **méthanol** + 1 µl d'une solution stock de **4-phénylphénol** concentrée à 8,5 mg/ml (soit 8,5 µg de standard interne / ml de méthanol).
4) Agiter dans le broyeur à bille Retsch 15 min à 15 battements/s.
5) Centrifuger 10 min à 13000g, récupérer le surnageant dans un nouveau tube Eppendorf 2 ml.
6) Répéter l'opération sur le culot avec 1 ml de **méthanol** sans le standard interne.
7) Pooler les surnageants et évaporer au Concentrator Plus (ResPom) à RT durant 4 à 5 h (ou alternativement une nuit).
8) Reprendre le culot dans 1 ml de mélange **dichlorométhane/chloroforme** (1:1).
9) Centrifuger 10 min à 13000g, récupérer le surnageant dans un tube Eppendorf 1,5 ml.
10) Evaporer le surnageant au SpeedVac (SMS) à RT durant 1 à 2 h. Contacter Caroline CUKIER (caroline.cukier@univ-angers.fr) pour la réservation.
11) Reprendre le culot dans 200 µl d'**acétate d'éthyle**.
12) Centrifuger 10 min 13000g et transférer le surnageant dans un insert placé dans un tube Eppendorf 2 ml.
13) Evaporer le surnageant au Concentrator Plus (ResPom) durant environ 1 h.
14) Transférer l'insert dans un vial.
15) Avant injection en GC-MS : reprendre le culot dans 100 µl de **MSTFA (flacon 1 ml à usage unique, optimiser l'usage)**, chauffer 30 min à 60°C.
16) Analyser les échantillons :

- Réserver la GC-MS auprès de Dimitri Bréard (dimitri.breard@univ-angers.fr). Le rack de l'appareil contient 12 emplacements, il faut remplacer manuellement les échantillons.
- Ouvrir le logiciel de gestion de l'appareil (nom), Cliquer sur File > Open Batch (si n'apparait pas cliquer sur TOP sur la barre menu de gauche), le fichier se trouve dans C/data/dimitri/dibenzofurane.
- Ajouter des lignes sur le batch en rentrant les numéros de vials (1 à 12) ou « add rows ». Entrer le nom des échantillons, ajouter la méthode (Busnena octobre 2023) et le tune par clic droit « fil down ».
- Sélectionner les lignes à analyser (Attention si cela n'est pas fait les 12 premières lignes du batch et fichiers associés seront écrasées) et cliquer sur Run sur la barre menu en haut. Vérifier les lignes du batch indiquées et cliquer sur ok à toutes les étapes.

Carte Idared *(ségrégation ABxAA)*			**Carte Malus baccata Almey *(ségrégation AAxAB)***		
LG	Taille LG (cM)	Nb marqueurs	LG	Taille LG (cM)	Nb marqueurs
Id01	68.785	111	Al01	61.521	9
Id02	99.300	139	Al02	89.218	90
Id03	87.883	113	Al03	80.430	69
Id04	75.201	108	Al04	82.506	74
Id05	100.337	147	Al05	86.921	98
Id06	79.863	58	Al06	104.394	102
Id07	84.520	108	Al07	87.288	48
Id08	79.627	111	Al08	80.426	66
Id09	74.480	75	Al09	43.467	4
Id10	87.054	110	Al10	107.395	96
Id11	91.662	118	Al11	97.207	83
Id12	64.448	112	Al12	79.474	78
Id13	76.925	103	Al13	93.079	112
Id14	101.044	125	Al14	93.121	96
Id15	135.017	176	Al15	144.008	146
Id16	71.027	117	Al16	69.200	72
Id17	98.010	149	Al17	99.638	50
Total	**-**	**1980**	**Total**	**-**	**1293**

Annexe 7 : Synthèse de la taille (en cM) et du nombre de marqueurs utilisés pour la carte génétique de la descendance Idared x Malus baccata Almey.