

CARTOGRAPHIE GENETIQUE CHEZ LE COLZA : RECHERCHE DE MARQUEURS DE CARACTERES AGRONOMIQUES

Nathalie FOISSET, Régine DELOURME, Pierre BARRET et Michel RENARD

INRA - Station d'Amélioration des Plantes

Boîte Postale 29

35650 LE RHEU

L'utilisation des marqueurs génétiques dans les programmes de sélection existant offre la possibilité de cibler, transférer et combiner des gènes d'intérêt à une vitesse et avec une précision qui semblent supérieures aux méthodes de sélection classiques. Dans cette optique, l'unité de Recherche Colza, INRA de Rennes, a souhaité intégrer l'outil Biologie Moléculaire dans ses programmes de recherche, l'objectif final étant d'aboutir à une sélection assistée par marqueur.

Le travail entrepris consiste donc à mettre en place une carte génétique du colza (*Brassica napus L.*) et à l'exploiter en y localisant des gènes contrôlant des caractères d'intérêt agronomique.

1. PRODUCTION D'UNE DESCENDANCE EN SEGREGATION

Les critères suivants ont été recherchés :

- Disposer de lignées parentales ayant un bon niveau de polymorphisme ;
- Observer le maximum de caractères agronomiques intéressants en ségrégation dans la descendance ;
- Choisir un type de descendance offrant une bonne estimation du pourcentage de recombinaison, quel que soit le type de marqueur utilisé (Dominant - Codominant) et permettant de se limiter à un effectif de taille raisonnable ;
- Pouvoir, si possible, multiplier facilement le matériel obtenu.

L'inventaire du matériel végétal disponible au laboratoire ainsi que les données acquises tant sur le plan morphologique qu'agronomique et génotypique a permis de retenir les lignées Darmor nain et Yudal en vue de la production d'une descendance de type Haploïde Doublé (HD) pour l'élaboration de la carte génétique.

Plus de 400 lignées HD ont été obtenues à partir d'une seule plante F1 grâce à la technique d'androgénèse *in vitro*. Ce matériel ségrège pour divers caractères entrant en ligne directe dans les objectifs de la sélection du colza. Ce sont, d'une part, des caractères polygéniques (précocité, résistance au phoma au stade adulte, teneur en acide érucique de l'huile, teneur en glucosinolates du tourteau) et, d'autre part, un caractère monogénique (nanisme). Le nanisme et la teneur en glucosinolates sont principalement étudiés.

2. EXPERIMENTATION AU CHAMP

Afin de mieux estimer les différents caractères à marquer, 174 lignées HD ont été placées dans un dispositif expérimental, à la fois dans les régions de Rennes et de Lille, lors de la saison 93/94. Les notations de nanisme (nain/normal), de hauteur (mesure en centimètres), de précocité, de résistance au phoma (uniquement sur Rennes) ont été réalisées et des récoltes de semences ont été effectuées en vue des analyses de la teneur en glucosinolates.

3. CARTE GENETIQUE

Parmi les 174 lignées de l'essai au champ, 152 sont utilisées pour construire la carte génétique. Réalisée à partir de marqueurs isozymes, RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) et RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) et élaborée à l'aide du logiciel Mapmaker (LANDER *et al.*, 1987), cette carte se décompose actuellement en 23 groupes de liaisons de 2 à 24 marqueurs chacun. Les sondes RFLP employées ont déjà été cartographiées sur la carte génétique colza publiée par B. LANDRY *et al.* (1991). Des marqueurs régulièrement espacés ont été utilisés de manière à couvrir le plus rapidement possible notre carte génétique. De nouveaux marqueurs RAPD sont actuellement ajoutés pour essayer de saturer le génome.

4. MARQUAGE DU GENE DE NANISME

Le caractère nanisme étudié correspond à un caractère monogénique obtenu par mutagenèse chimique. L'utilisation de la technique des lignées isogéniques (YOUNG *et al.*, 1988) ainsi que celle de la méthode BSA (Bulked Segregant Analysis) (MICHELMORE *et al.*, 1991) ont été employées pour accélérer le marquage de ce gène. La méthode BSA a permis d'encadrer le gène de nanisme par 4 marqueurs RAPD.

La construction de la carte génétique se poursuit et servira à la détection des QTL's (Quantitative Trait Loci), l'ensemble des données de l'expérimentation au champ étant en cours d'exploitation. La détection des QTL's se fera à l'aide du logiciel Mapmaker /QTL (LINCOLN *et al.*, 1990).

BIBLIOGRAPHIE

- LANDER E.S., GREEN P., ABRAHAMSON J., *et al.* 1987. Mapmaker : An Interactive Computer Package for Constructing Primary Genetic Linkage Maps of Experimental and Natural Populations. *Genomics*, 1 : 174-181.
- LANDRY B.S., HUBERT N., ETOH T., *et al.* 1991. A Genetic Map for *Brassica napus* Based on Restriction Fragment Length Polymorphisms Detected with Expressed DNA Sequences. *Genome*, 34 : 543-552.
- LINCOLN S.E., DALY M.J., and LANDER E.S., 1990. Mapping Genes Controlling Quantitative Traits Using MAPMAKER/QTL.. 2nd ed. A Whitehead Institute for Biomedical Research Technical Report.
- MICHELMORE R.W., PARAN I., KESSELI R.V., 1991. Identification of Markers Linked to Disease-Resistance Genes by Bulked Segregant Analysis : A Rapid Method to Detect Markers in Specific Genomic Regions by Using Segregating Populations. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA* 88 : 9828-9832.
- YOUNG N.D., ZAMIR D., GANAL M.W., TANKSLEY S.D., 1988. Use of Isogenic Lines and Simultaneous Probing to Identify DNA Markers Tightly Linked to the Tm-2a Gene in Tomato. *Genetics* 120 : 579-585.