

Programme « Relance de la culture de la moutarde en Bourgogne »

Projet « Création de génotypes de type hiver chez la moutarde brune (*Brassica juncea*) »

Rapport d'activités année 2016 (Janvier 2016-Décembre 2016)

Résumé

Le projet consiste à la création de génotypes de moutarde brune de type hiver par introduction de facteurs génétiques déterminant le caractère de vernalisation. Deux approches sont menées : premièrement, réalisation de croisements interspécifiques entre la moutarde brune et des variétés de colza d'hiver et deuxièmement, étude de la variabilité de la phase végétative chez des écotypes de moutarde brune et sélection de type résistants à l'hiver. Des travaux sont également entrepris pour identifier les gènes responsables de la vernalisation et ainsi permettre de « suivre » leur introduction au cours du processus de sélection. Les travaux effectués durant les années 2011 à 2015 avaient permis d'obtenir des hybrides inter- et intraspécifiques de première génération (F1) rétrocroisés trois fois à cinq fois (BC3=backcross 3, BC5=backcross 5).

Le travail réalisé en 2016 nous a permis d'atteindre les objectifs fixés. Au total, 48 familles BC5 (5ème année de rétrocroisement), BC4 (4ème année de rétrocroisement) ou BC4/BC5 (double autofécondation des hybrides F1 puis rétrocroisements) de 30 graines, choisies parmi les 67 familles interspécifiques obtenues par rétrocroisement, ont été semées en champ le 2 septembre 2016. Cinq familles BC5AF1 (autofécondations des premières générations BC5 obtenues en serre) et cinq familles BC3AF2 (issues des autofécondations du semis de printemps 2016) de 2 fois 75 graines chacune ont aussi été semées. En décembre 2016, 192 plantes de cet essai avaient été prélevées et 96 génotypées.

Un semis de printemps en champ de 4 populations autofécondées a été effectué en avril 2016 afin de sélectionner des plantes homozygotes pour le gène majeur de floraison BnFLC1 et valider les marqueurs moléculaires.

Parallèlement à l'essai en champ, un semis de 154 plantes BC5 et BC4 a été effectué en serre le 8 février 2016. Trente plantes possédant les gènes d'intérêt et présentant un retard de floraison ont été placées en conditions froides dans des serres (vernalisation) puis autofécondées et/ou rétrocroisées avec 12 lignées de moutarde condimentaire. Les croisements ont permis de récolter 3318 graines BC5 et BC6. Les populations BC5 autofécondées ont été semées au champ le 2 septembre 2016. 127 graines BC5 ont été ensuite semées le 7 septembre 2016. Trente plantes possédant les gènes d'intérêt et présentant un retard de floraison ont été choisies en décembre 2016. Elles seront placées en vernalisation en serres hors gel en janvier et février 2017 puis autofécondées. Le but de cet essai en serre et d'accélérer le processus de sélection, avec l'objectif de réaliser trois générations en deux ans.

L'utilisation en routine de 17 marqueurs moléculaires a permis le criblage moléculaire de plus de 820 plantes issues des différents croisements. Nous avons pu, grâce à ces marqueurs, confirmer la présence du gène d'intérêt FLC1 pour 576 plantes interspécifiques (dont 360 ont aussi conservé le gène FRIGIDA). Les nouveaux marqueurs développés l'année dernière pour le gène de photopériode Constans (Co) et le gène de vernalisation Vernalization Insensitive 3 (Vin3) ont été utilisés en routine. Parmi les plantes criblées, 121 ont conservé BnFLC1, BnFri et BnVin3 et 10 ont conservé BnFLC1 et BnCo. Environ 97 % du génome C du colza a été éliminé pour la quatrième génération de rétrocroisements (BC4). En BC5, la plupart des lignées ont éliminés 100% des marqueurs du génome du colza.

Enfin, concernant l'analyse de la variabilité intraspécifique de la phase végétative d'écotypes « exotiques » de *B. juncea*, les tests conduits au champ depuis 2012 ont validé les résultats observés en chambres climatisées. Deux écotypes ont été choisis et les BC3 obtenus l'année précédente ont été recroisés avec de la moutarde condimentaire. La variété Red Giant est plus tardive à l'automne (risque d'induction florale moins élevé) que les variétés bourguignonnes. L'écotype USDA 14 est très précoce au printemps (floraison en même temps que le colza d'hiver aux printemps 2012 et 2013) et résistant au froid. Cependant, elles ne possèdent pas de caractère de vernalisation. Des croisements ont également été réalisés sur les écotypes Osaka Purple (phase végétative similaire à celle de Red Giant) et Bau Sin (très ramifié) pour un développement possible en variétés CIPAN

Introduction

Compte tenu de la nécessité de semer la moutarde brune à l'automne pour augmenter le potentiel de production (plus de 90% des parcelles de moutarde brune sont implantées à l'automne en Bourgogne), les variétés disponibles aujourd'hui possèdent, à des degrés divers, une bonne résistance au froid, qui leur permet dans la majorité des cas de subsister pendant les périodes de froid hivernaux. Cependant, la résistance au froid, n'est pas le seul facteur en cause pour avoir une bonne « résistance à l'hiver ». En effet, les moutardes semées actuellement en automne n'ont aucun besoin de vernalisation et peuvent être détruites en partie par une induction précoce de la floraison ou un enracinement trop faible. Une nouvelle étape sera donc franchie lorsque la sélection génétique conduira à la création de véritables variétés de types « hiver » résistantes au froid mais aussi nécessitant une vernalisation donc sans risque de floraison précoce.

Le projet consiste à la création de génotypes de moutarde brune de type hiver par introduction de facteurs génétiques déterminant le caractère de vernalisation. Ce caractère n'existant pas actuellement chez les variétés cultivées de moutarde brune, le caractère de vernalisation sera donc introduit chez les variétés cultivées par croisement interspécifiques entre la moutarde brune et des variétés de colza d'hiver. De plus, une étude de la variabilité de la phase végétative chez des génotypes de moutarde non utilisées pour la transformation en pâte de moutarde (génotypes dits « exotiques »), sera réalisée pour tenter d'identifier le caractère de vernalisation.

Ce projet, qui se déroule sur plusieurs années, s'articule sur plusieurs phases : réalisation de croisements inter et intra-spécifiques, étude des caractéristiques génétiques et agronomiques des hybrides obtenus, rétrocroisements des hybrides avec les variétés de moutarde brune de bonne valeur agronomique.

Objectifs 2016 :

Sur la base des hybridations interspécifiques réalisées en 2011-2012, le premier objectif était de continuer la stratégie de rétrocroisements successifs commencée en 2012, avec des lignées de moutarde condimentaire.

Le deuxième objectif était l'étude de la variabilité de la phase végétative des génotypes « exotiques » de moutarde brune au champ, et la réalisation des croisements et rétrocroisements moutarde brune condimentaire x moutardes exotiques.

Enfin, le troisième objectif était de poursuivre l'étude du polymorphisme des gènes responsables de la précocité de floraison/vernalisation chez les Brassicacées et le développement de marqueurs moléculaires.

Résultats obtenus

1. Hybrides interspécifiques entre la moutarde brune et des variétés de colza d'hiver

1.1. Matériel biologique utilisé dans les croisements

- 23 lignées de moutarde condimentaire (fournies par T. Guinet, AgroSup Dijon) : Ficita, Etamine, Corolle (AZ147/5), AO118/2, AZ58/1, AZ60/1, AZ116/4, AX42/1, BP43/7, BY60/1, CA55/1, CB84/4, CI114/2, CI63/1, CJ35/2, CT57/2, DA49/1, DA69/3, DD125/1, DD84/2, DH60/2, DI82/5 et DZ100
- la variété commerciale canadienne Brown.
- la lignée nord-coréenne USDA14 et la lignée américaine Green Wave frisée
- 3 variétés de colza d'hiver: Alamir, Rendezvous et Catalina
- 20 familles d'hybrides putatifs moutarde x colza

1.2. Schéma de sélection et rappel des résultats des années précédentes

Objectif:
Introduire des gènes de vernalisation par croisement interspécifique avec le colza d'hiver

Saison 2015-2016:

Plantes en **BC3 et BC4**

Génotypage
Croisements,
Autofécondations
Printemps 2016

Semis BC4 et BC5
Semis BC5AF1 (serre)
Semis BC3AF2
Automne 2016

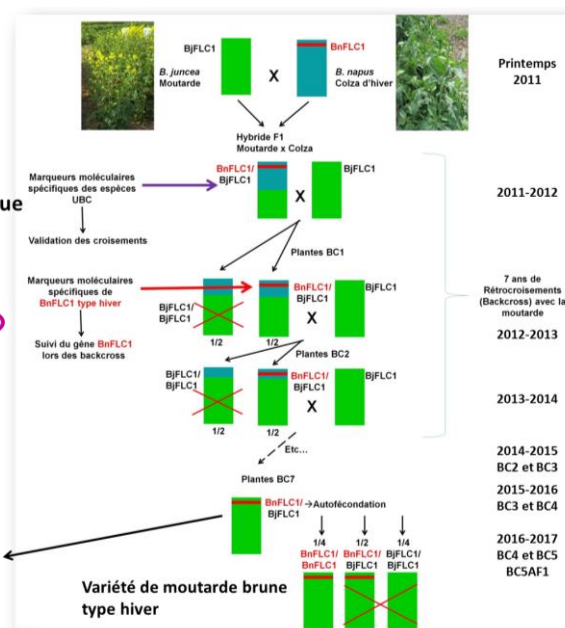


Figure 1 schéma de sélection par rétrocroisements successifs, et stade de rétrocroisement des hybrides interspécifiques à l'automne 2016

Le schéma de sélection utilisé est présenté dans la figure 1. Les croisements réalisés au printemps 2016 ont permis d'obtenir des BC4, des BC5, des BC3AF2 et des BC5AF1 semés à l'automne 2016. Les résultats présentés dans ce rapport concernent la période allant de janvier 2016 à décembre 2016.

Rappel des résultats de des années précédentes décembre 2010- décembre 2015

Des croisements interspécifiques (160 croisements *B. juncea* X *B. napus* et 382 croisements *B. napus* X *B. juncea*) ont été réalisés au cours de la première année du projet pour obtenir des graines dites F1-2011. Des semis de ces graines F1-2011 ont été réalisés au champ à l'automne 2011. Le génotype des hybrides F1 a été vérifié durant l'hiver 2011-2012 grâce à des marqueurs moléculaires espèce-spécifiques (développés au cours de ce projet). Les hybrides F1 ont été ensuite « vernalisés » au champ, notés pour leur précocité de floraison puis rétrocroisés avec la moutarde brune ou autofécondés au printemps 2012.

Les graines obtenues (Backcross = BC1) ont été semées à l'automne 2012 en parcelle. Ces plantes ont été génotypées avec les marqueurs espèce-spécifiques et un marqueur (A7) lié au gène majeur de floraison FLC1 du colza d'hiver (développé sur moutarde en 2012). 51 plantes sélectionnées sur la base de ce marqueur et des dates de floraison ont été rétrocroisées avec de la moutarde condimentaire au printemps 2013. Un second génotypage a eu lieu en juillet 2013 sur les plantes retenues avec 2 nouveaux marqueurs du gène FLC1 (BnA10R2 et Exon7) qui ont permis d'éliminer 21 plantes. Des graines issues du second rétrocroisement (BC2), du premier rétrocroisement (BC1) ou de l'autofécondation des BC1 (BC1/BC2) ont été semées à l'automne 2013 en parcelle. Des expérimentations similaires ont également été réalisées sur 20 familles d'hybrides naturels (BC1) récoltés en 2010 et 2011 sur la parcelle de sélection. Les graines obtenues après rétrocroisements des individus les plus intéressants (floraison similaire à celle du colza d'hiver, présence du marqueur A7) ont été semées à l'automne 2012 en parcelle et génotypées puis à nouveau rétrocroisées avec de la moutarde condimentaire au printemps 2013. Les graines issues de ce second rétrocroisement (=BC2) ont été semées à l'automne 2013 en parcelle. Entre octobre 2013 et mars 2014, 258 plantes ont été génotypées. 39 plantes ont été rétrocroisées, ce qui a permis d'obtenir 3177 graines appartenant à 31 Familles BC3, 29 Familles BC2/BC3 et 15 Familles BC2.

Deux semis ont eu lieu, le premier le 26 Août 2014 en serre avec repiquage au champ et le second le 26 septembre 2014, directement au champ. Entre octobre 2014 et le mars 2015, 529 plantes issues de 19 de ces familles ont été génotypées avec 2 à 15 marqueurs moléculaires. Cinquante-et-une plantes sélectionnées ont été étiquetées, autofécondées et rétrocroisées avec 22 lignées de moutarde issues de la sélection AgroSup, déjà cultivées (dont Ficita et Corolle) ou parmi les plus prometteuses ou servant de géniteurs pour certaines caractéristiques comme la qualité de la pâte, la résistance au froid ou à la rouille blanche, déjà utilisées l'année précédente (CH25/1, BY60/1, AZ60/1, A0118/2, et DA69/3, CA55/1, DA49/1, AZ116/4, CI114/2, DH60/2, AZ60/1 et CT57/2) ou non (CB84/4, CJ35/2, DD125/1, DD84/2, DI82/5 et DZ100/1, ainsi qu'avec l'écotype USDA14. 93 rétrocroisements interspécifiques ont été réalisés et 1325 fleurs ont été croisées, ce qui a permis d'obtenir 8289 graines appartenant à : 34 familles BC4, 39 familles BC3/BC4 et 20 familles BC3. Un semis de printemps en champ de 8 populations autofécondées a été effectué en avril 2015 pour valider les marqueurs moléculaires.

Tableau 1 Plan de la parcelle : hybrides interspécifiques de la saison 2015-2016 : 55 rangs de 5 mètres de long et espacés de 0,25 mètre.

n° de famille	Génotype	Génération	nombre de graines semées	écartement (m)	longueur de l'essai (m)	date semis
Bordure Etamine	Bordure Etamine	lignée	75	0,25	0,25	4-sept.-15
BJ15-063	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1 x CH25/1	BC4	25	0,75	1	4-sept.-15
BJ15-065	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1 x DD84/2	BC4	25	0,75	1,75	4-sept.-15
BJ15-068	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x Corolle x DI82/5	BC4	25	0,75	2,5	4-sept.-15
BJ15-069	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x Corolle x CI114/2	BC4	25	0,75	3,25	4-sept.-15
BJ15-070	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x Corolle x Corolle	BC4	25	0,75	4	4-sept.-15
BJ15-075	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x USDA14 x DI82/5	BC4	25	0,75	4,75	4-sept.-15
BJ15-079	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x AZ116/4 x AZ116/4	BC4	25	0,75	5,5	4-sept.-15
BJ15-081	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x CT57/2 x CT57/2	BC3/BC4	25	0,75	6,25	4-sept.-15
BJ15-087	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x Etamine x Etamine	BC3/BC4	25	0,75	7	4-sept.-15
BJ15-088	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x Etamine x DA49/1	BC3/BC4	20	0,75	7,75	4-sept.-15
BJ15-090	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x DA69/3 x DD84/2	BC3/BC4	25	0,75	8,5	4-sept.-15
BJ15-091	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x DA69/3 x CI114/2	BC3/BC4	10	0,75	9,25	4-sept.-15
BJ15-092	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x DA69/3 x BY60/1	BC3/BC4	25	0,75	10	4-sept.-15
BJ15-095	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x DA69/3 x DA69/3	BC3/BC4	25	0,75	10,75	4-sept.-15
BJ15-097	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x DA69/3 x CJ35/2	BC3/BC4	10	0,75	11,5	4-sept.-15
BJ15-100	((Alamir x Corolle) ² FL) ² FL x Corolle x Corolle	BC3/BC4	25	0,75	12,25	4-sept.-15
BJ15-101	((Alamir x Corolle) ² FL) ² FL x Corolle x DD84/2	BC3/BC4	25	0,75	13	4-sept.-15
BJ15-105	((Alamir x Corolle) ² FL) ² FL x AZ58/1 x AZ58/1	BC3/BC4	25	0,75	13,75	4-sept.-15
BJ15-109	((Alamir x Corolle) ² FL) ² FL x AO118/2 x DD84/2	BC3/BC4	25	0,75	14,5	4-sept.-15
BJ15-110	((Alamir x Corolle) ² FL) ² FL x AO118/2 x DZ100/1	BC3/BC4	25	0,75	15,25	4-sept.-15
BJ15-111	((Alamir x Corolle) ² FL) ² FL x AO118/2 x AO118/2	BC3/BC4	25	0,75	16	4-sept.-15
BJ15-117	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x Ficita x DI82/5	BC3	25	0,75	16,75	4-sept.-15
BJ15-118	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x Ficita x HT frisée	BC3	20	0,75	17,5	4-sept.-15
BJ15-119	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x Ficita x Ficita	BC3	25	0,75	18,25	4-sept.-15
BJ15-120	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x Ficita x CJ35/2	BC3	25	0,75	19	4-sept.-15
BJ15-121	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x CA55/1 x CA55/1	BC3	25	0,75	19,75	4-sept.-15
BJ15-123	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x USDA14 x DD125/1	BC3	25	0,75	20,5	4-sept.-15
BJ15-124	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x USDA14 x USDA14	BC3	25	0,75	21,25	4-sept.-15
BJ15-125	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x USDA14 x CB84/4	BC3	25	0,75	22	4-sept.-15
BJ15-127	((Etamine x Catalina) x DA69/3) x Corolle x DA69/3 x CB84/4	BC4	25	0,75	22,75	4-sept.-15
BJ15-130	(Etamine x Alamir) ² x BP43/7 x DH60/2 x DD125/1	BC3	25	0,75	23,5	4-sept.-15
BJ15-131	(Etamine x Alamir) ² x BP43/7 x DH60/2 x DH60/2	BC3	25	0,75	24,25	4-sept.-15
BJ15-134	(BC1 nat BJ12-52-20) ² x AZ58/1 x AZ58/1 x AZ60/1	BC4	25	0,75	25	4-sept.-15
BJ15-135	(BC1 nat BJ12-52-20) ² x AZ58/1 x AZ58/1 x AZ58/1	BC4	25	0,75	25,75	4-sept.-15
BJ15-136	(BC1 nat BJ12-52-20) ² x AZ58/1 x AZ58/1 x AZ116/4	BC4	25	0,75	26,5	4-sept.-15
BJ15-139	(BC1 nat BJ12-52-20) ² x AZ58/1 x AZ58/1 x CI114/2	BC4	25	0,75	27,25	4-sept.-15
BJ15-141	(Etamine x Alamir) ² x AZ60/1 x AZ60/1	BC3	7	0,75	28	4-sept.-15
BJ15-142	(Etamine x Alamir) ² x AZ60/1 x DD125/1	BC3	25	0,75	28,75	4-sept.-15
BJ15-143	(Alamir x Ficita) ² FL x Ficita x Ficita x Ficita	BC4	25	0,75	29,5	4-sept.-15
BJ15-144	((Etamine x Catalina) x DA69/3) x DA69/3 x DA69/3 x DA69/3	BC4	25	0,75	30,25	4-sept.-15
BJ15-145	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x CT57/2 x CT57/2	BC4	25	0,75	31	4-sept.-15
BJ15-148	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x AO118/2 x AO118/2	BC3/BC4	20	0,75	31,75	4-sept.-15
BJ15-149	((Alamir x Corolle) ² FL) ² FL x USDA14 x Corolle	BC3/BC4	25	0,75	32,5	4-sept.-15
BJ15-150	((Alamir x Corolle) ² FL) ² FL x USDA14 x USDA14	BC3/BC4	25	0,75	33,25	4-sept.-15
BJ15-151	(Etamine x Catalina) ² FL x AZ58/1 x AZ58/1 x AZ58/1	BC4	25	0,75	34	4-sept.-15
BJ15-152	((Etamine x Catalina) x DA69/3) x Corolle x DA69/3 x Corolle	BC4	25	0,75	34,75	4-sept.-15
BJ15-153	((Etamine x Catalina) x DA69/3) x Corolle x DA69/3 x DA69/3	BC4	25	0,75	35,5	4-sept.-15
BJ15-155	(Etamine x Alamir) ² x BY60/1 x BY60/1 x BY60/1	BC3	25	0,75	36,25	4-sept.-15
BJ15-210	((Etamine x Catalina) x DA69/3) x DA69/3 x DA69/3) ²	BC3AF1	70	0,75	37	4-sept.-15
BJ15-226	((Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1) ²	BC3AF1 FL	70	0,75	37,75	4-sept.-15
BJ15-291	((BC1 nat BJ12-52-20) ² x AZ58/1 x AZ58/1) ²	BC3AF1 FL	70	0,75	38,5	4-sept.-15
BJ15-295	((Alamir x Ficita) ² FL x Ficita x Ficita) ²	BC3AF1 FL	70	0,75	39,25	4-sept.-15
BJ15-306	((Etamine x Catalina) ² FL x AZ58/1 x AZ58/1) ²	BC3AF1 FL	70	0,75	40	4-sept.-15
Bordure Etamine	Bordure Etamine	lignée	75	0,75	40,75	4-sept.-15

Pour la saison 2015-2016 et celles à venir, notre essai a été implanté à Tart-Le-Bas, sur les terres de la ferme pédagogique du Lycée Agricole Olivier de Serre de Quetigny, contrairement aux années précédentes où la parcelle d'expérimentation se trouvait sur une parcelle de la ferme du Bois de Change à Quetigny. 1500 graines issues des rétrocroisements et des autofécondations du printemps 2015 ont été semées à l'automne 2015, soit 18 familles BC4 (hybrides F1 rétrocroisés 4 fois avec de la

moutarde brune), 13 familles BC3, 17 familles BC3/BC4 et 5 familles BC3AF1 issues de l'autofécondation libre de 5 plantes BC3. Le semis a eu lieu en semis direct au champ le 4 septembre 2015. Une liste des familles semées est disponible dans le tableau 1. Les familles surlignées ont été rétrocroisées avec au moins deux fois la même variété. Les témoins moutarde brune (Corolle, Ficita, DA69/3 et Etamine) ainsi que les témoins colza (Rendevous et Catalina) ont été semés à la suite des familles intraspécifiques, toujours le 4 septembre 2015. L'ensemble des lignées de moutarde brune utilisées dans les croisements ont été semées fin septembre à la suite de l'essai. En décembre 2015, 176 plantes de cet essai avaient été prélevées et génotypées.

Parallèlement, un semis de 170 plantes BC1 et BC2 a été effectué en serre le 4 avril 2014. Vingt-et-une plantes possédant les gènes d'intérêt et ne montant pas à fleur ont été vernalisées durant l'été 2014 puis rétrocroisées avec 8 lignées de moutarde condimentaire. Elles ont donné 793 graines, dont 125 graines ont été semées en serre le 26 novembre 2014. Suite à l'étape de génotypage, 75 plantes possédant BnFLC1 ont été vernalisées en serre froide du 10 janvier 2015 au 10 mars 2015. Parmi ces plantes, 15 ont gardé BnFLC1 et BnFri, 12 ont gardé BnFLC1, BnFri et BnVin3 et deux ont gardé BnFLC1 et BnCo. Concernant le génome C du colza, avec trois rétrocroisements, en moyenne, 83% des marqueurs ont été éliminés. Suite à l'étape de vernalisation, les plantes ont été repotées en pots de 7 L. Parallèlement, 11 lignées en sélection ont été semées en serre en février 2015, afin qu'elles fleurissent en même temps que les hybrides, début avril 2015. Ce set de lignées comprend les lignées déjà utilisées en rétrocroisement l'année précédente ainsi que trois nouvelles lignées avec une bonne qualité de pâte de moutarde : DD125/1, DD84/2 et CB84/4. Une partie des graines obtenues a été semée en serre le 12 juin 2015. Vingt-et-une plantes BC3 et BC4 possédant les gènes d'intérêt et ne montant pas à fleur ont été vernalisées en chambre climatisée durant l'été 2015 puis rétrocroisées avec les mêmes 11 lignées de moutarde condimentaire en novembre 2015.

1.3. Suivi des hybrides interspécifiques entre la moutarde brune et des variétés de colza d'hiver, semés à l'automne 2015

Génotypage :

- Plantes issues des rétrocroisements (BC3, BC3/BC4 et BC4)

Entre octobre 2015 et avril 2016, 562 plantes ont été génotypées avec 3 marqueurs moléculaires :

- Le marqueur BnA10R2 pour suivre la conservation du gène BnFLC1 (chromosome A10)
- Le marqueur BnFriR3 pour suivre la conservation du gène BnFrigida (chromosome A03).
- Le marqueur BnVin3 pour suivre la conservation d'un autre gène impliqué dans le processus de vernalisation, le gène Vernalization Insensitive 3 (chromosome A03).

Neuf marqueurs microsatellites spécifiques du génome du colza ont été passés une fois l'ensemble des plantes génotypées et seulement sur les plantes possédant les caractères de vernalisation. Le développement et la validation des marqueurs est détaillé dans le chapitre « Développement de nouveaux marqueurs moléculaires ».

En réponse à un mois de décembre très doux, certains hybrides mesuraient jusqu'à 20 cm de haut et ont commencé leur transition florale. Les génotypages à partir de décembre n'ont été réalisés que sur les plantes restées au stade rosette.

BnFLC1 est présent dans 40 familles sur 41. Ces 40 familles comptent au total 556 plantes. 272 plantes ont conservé BnFLC1 soit 49 % des plantes, ce qui correspond au ratio de 50% habituellement observé en rétrocroisement pour un gène. 126 plantes de ces 272 plantes ont conservé en plus BnFri soit 46 % des plantes ce qui est proche des 50 % attendus. Parmi ces 126 plantes, 83 ont un parent possédant BnVin3. 74 plantes ont les trois gènes soit 89 % des plantes, ce qui est largement supérieur au ratio de 50 % attendus. Cela est dû à la localisation des gènes BnFri et BnVin3 sur le même QTL de floraison sur le chromosome A03 du colza (hypothèse validée l'année dernière). Ils sont liés génétiquement et la probabilité de recombinaisons est donc moins importante.

Les neuf marqueurs du génome C du colza ont été testés en avril 2016 sur les 31 plantes BC4 et les 30 plantes BC3 sélectionnées sur la présence des 3 premiers gènes, soit 2043 réactions PCR. Selon les plantes, entre 67 % et 100 % du génome C du colza a été éliminé avec une moyenne de 85,2 % de marqueurs C éliminés pour la troisième génération de rétrocroisements (BC3) et une moyenne à 96,9 % de marqueurs C éliminés pour la quatrième génération de rétrocroisements (BC4).

En résumé, 42 plantes ont conservé BnFLC1 et BnFri et 74 plantes ont BnFLC1, BnFri et BnVin3.

- **Plantes issues des autofécondations des BC3 = BC3AF1**

Entre mars 2016 et avril 2016, les plantes restées en rosette ont été génotypées avec 4 marqueurs moléculaires :

- Les marqueurs BnA10R2, BnFriR3 et BnVin3 comme précédemment.
- le marqueur BnA10 pour suivre la présence du gène BjFLC1 (type printemps) et ainsi différencier les individus homozygotes pour BnFLC1 des hétérozygotes BnFLC1/BjFLC1.

BnFLC1 est présent dans 3 familles sur 4. Ces 4 familles comptent au total 55 plantes. 41 plantes ont conservé BnFLC1 soit 75 % des plantes, ce qui correspond au ratio de 75% habituellement observé pour un gène après une autofécondation. Parmi elles, 10 plantes sont homozygotes pour BnFLC1. 28 plantes de ces plantes ont conservé en plus BnFri. Parmi ces 28 plantes, 9 ont un parent possédant BnVin3. Huit de ces neuf plantes ont conservé BnVin3.

Les neuf marqueurs du génome C du colza ont été testés en avril 2016 sur 31 plantes présélectionnées. Selon les plantes, entre 78 % et 100 % du génome C du colza a été éliminé avec une moyenne de 91,2 % de marqueurs C éliminés pour cette troisième génération de rétrocroisements (BC3) suivie d'une autofécondation.

En résumé, 20 plantes ont conservé BnFLC1 et BnFri dont 4 sont homozygotes pour BnFLC1 et 8 plantes ont BnFLC1, BnFri et BnVin3 dont 3 sont homozygotes pour BnFLC1.

Les résultats de génotypage sur les plantes sélectionnées sont disponibles dans les trois tableaux suivants.

Tableau 2 Résultats du génotypage avec les marqueurs BnVin3 et C1 à C9 des plantes BC3, BC3/BC4 et BC4 sélectionnées après génotypage avec les marqueurs BnA10R2 et BnFri chez les familles dont le parent hybride possédait BnVin3. Les cases vertes, violettes, rose et jaunes indiquent respectivement la présence de BnFLC1, BnFri, BnVin3 et des marqueurs C.

Masternumbers	G°	Génotype	BnA10 R2	Fri	Vin3	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9
BJ15-075-07	BC4	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x USDA14 x D182/5	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-075-11	BC4	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x USDA14 x D182/5	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-075-12	BC4	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x USDA14 x D182/5	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-087-03	BC3/BC4	((Etamine x Catalina) ² FL x Etamine x Etamine	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	2	1
BJ15-087-17	BC3/BC4	((Etamine x Catalina) ² FL x Etamine x Etamine	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	2	1
BJ15-088-07	BC3/BC4	((Etamine x Catalina) ² FL x Etamine x DA49/1	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-090-01	BC3/BC4	((Etamine x Catalina) ² FL x DA69/3 x DD84/2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	2	1
BJ15-090-04	BC3/BC4	((Etamine x Catalina) ² FL x DA69/3 x DD84/2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-090-14	BC3/BC4	((Etamine x Catalina) ² FL x DA69/3 x DD84/2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-090-19	BC3/BC4	((Etamine x Catalina) ² FL x DA69/3 x DD84/2	2	2	2	1	1	2	1	1	1	1	1	1
BJ15-091-04	BC3/BC4	((Etamine x Catalina) ² FL x DA69/3 x C1114/2	2	2	2	1	1	2	1	1	1	1	2	1
BJ15-091-08	BC3/BC4	((Etamine x Catalina) ² FL x DA69/3 x C1114/2	2	2	2	1	1	2	1	1	1	1	2	1
BJ15-092-10	BC3/BC4	((Etamine x Catalina) ² FL x DA69/3 x BY60/1	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	2	1
BJ15-092-17	BC3/BC4	((Etamine x Catalina) ² FL x DA69/3 x BY60/1	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-092-19	BC3/BC4	((Etamine x Catalina) ² FL x DA69/3 x BY60/1	2	2	2	1	1	2	1	1	1	1	2	1
BJ15-092-21	BC3/BC4	((Etamine x Catalina) ² FL x DA69/3 x BY60/1	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	2	1
BJ15-097-02	BC3/BC4	((Etamine x Catalina) ² FL x DA69/3 x C135/2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	2	1
BJ15-100-01	BC3/BC4	((Alamir x Corolle) ² FL ² FL x Corolle x Corolle	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	2	1
BJ15-100-07	BC3/BC4	((Alamir x Corolle) ² FL ² FL x Corolle x Corolle	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-100-12	BC3/BC4	((Alamir x Corolle) ² FL ² FL x Corolle x Corolle	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	2	1
BJ15-100-19	BC3/BC4	((Alamir x Corolle) ² FL ² FL x Corolle x Corolle	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-100-21	BC3/BC4	((Alamir x Corolle) ² FL ² FL x Corolle x Corolle	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	2	1
BJ15-100-24	BC3/BC4	((Alamir x Corolle) ² FL ² FL x Corolle x Corolle	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	2	1
BJ15-101-06	BC3/BC4	((Alamir x Corolle) ² FL ² FL x Corolle x DD84/2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	2	1
BJ15-105-10	BC3/BC4	((Alamir x Corolle) ² FL ² FL x AZ58/1 x AZ58/1	2	2	2	1	2	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-110-01	BC3/BC4	((Alamir x Corolle) ² FL ² FL x AO118/2 x DZ100/1	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-110-06	BC3/BC4	((Alamir x Corolle) ² FL ² FL x AO118/2 x DZ100/1	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-117-15	BC3	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x Ficit x D182/5	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-118-06	BC3	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x Ficit x HT frisée	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-118-07	BC3	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x Ficit x HT frisée	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-118-09	BC3	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x Ficit x HT frisée	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-119-02	BC3	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x Ficit x Ficit	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-119-03	BC3	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x Ficit x Ficit	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-121-01	BC3	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x CA55/1 x CA55/1	2	2	2	1	2	1	1	1	1	1	3	1
BJ15-121-03	BC3	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x CA55/1 x CA55/1	2	2	2	1	2	1	1	1	1	1	3	1
BJ15-121-05	BC3	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x CA55/1 x CA55/1	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	2	1
BJ15-121-07	BC3	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x CA55/1 x CA55/1	2	2	2	1	2	1	1	1	1	1	3	1
BJ15-121-10	BC3	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x CA55/1 x CA55/1	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	3	1
BJ15-121-11	BC3	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x CA55/1 x CA55/1	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	3	1
BJ15-121-12	BC3	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x CA55/1 x CA55/1	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	3	1
BJ15-121-14	BC3	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x CA55/1 x CA55/1	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	3	1
BJ15-121-17	BC3	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x CA55/1 x CA55/1	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	3	1
BJ15-124-03	BC3	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x USDA14 x USDA14	2	2	2	1	2	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-124-04	BC3	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x USDA14 x USDA14	2	2	2	1	2	1	1	1	1	1	2	1
BJ15-124-05	BC3	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x USDA14 x USDA14	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	2	1
BJ15-124-06	BC3	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x USDA14 x USDA14	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	2	1
BJ15-124-10	BC3	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x USDA14 x USDA14	2	2	2	1	na	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-124-12	BC3	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x USDA14 x USDA14	2	2	2	1	2	1	1	1	1	1	2	1
BJ15-124-14	BC3	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x USDA14 x USDA14	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	na	1
BJ15-125-04	BC3	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x USDA14 x CB84/4	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-127-04	BC4	((Etamine x Catalina) x DA69/3) x Corolle x DA69/3 x CB84/4	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-134-02	BC4	((BC1 nat BJ12-52-20) ² x AZ58/1 x AZ58/1 x AZ60/1	2	2	2	1	2	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-134-03	BC4	((BC1 nat BJ12-52-20) ² x AZ58/1 x AZ58/1 x AZ60/1	2	2	2	1	1	1	1	1	1	2	1	1
BJ15-134-05	BC4	((BC1 nat BJ12-52-20) ² x AZ58/1 x AZ58/1 x AZ60/1	2	2	2	1	2	1	1	1	1	1	2	1
BJ15-135-03	BC4	((BC1 nat BJ12-52-20) ² x AZ58/1 x AZ58/1 x AZ58/1	2	2	2	1	2	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-135-04	BC4	((BC1 nat BJ12-52-20) ² x AZ58/1 x AZ58/1 x AZ58/1	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	2	1
BJ15-136-01	BC4	((BC1 nat BJ12-52-20) ² x AZ58/1 x AZ58/1 x AZ116/4	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-139-09	BC4	((BC1 nat BJ12-52-20) ² x AZ58/1 x AZ58/1 x C1114/2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	2	1
BJ15-144-02	BC4	((Etamine x Catalina) x DA69/3) x DA69/3 x DA69/3 x DA69/3	2	2	2	1	1	1	1	1	1	2	1	1
BJ15-144-05	BC4	((Etamine x Catalina) x DA69/3) x DA69/3 x DA69/3 x DA69/3	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-144-06	BC4	((Etamine x Catalina) x DA69/3) x DA69/3 x DA69/3 x DA69/3	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-148-05	BC3/BC4	((Etamine x Catalina) ² FL x AO118/2 x AO118/2	2	2	2	1	1	2	1	1	1	1	2	1
BJ15-148-07	BC3/BC4	((Etamine x Catalina) ² FL x AO118/2 x AO118/2	2	2	2	1	1	2	1	1	1	2	3	1
BJ15-148-08	BC3/BC4	((Etamine x Catalina) ² FL x AO118/2 x AO118/2	2	2	2	1	1	2	1	1	1	1	2	1
BJ15-148-09	BC3/BC4	((Etamine x Catalina) ² FL x AO118/2 x AO118/2	2	2	2	1	1	2	1	1	1	1	2	1
BJ15-148-10	BC3/BC4	((Etamine x Catalina) ² FL x AO118/2 x AO118/2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	2	2	1
BJ15-148-11	BC3/BC4	((Etamine x Catalina) ² FL x AO118/2 x AO118/2	2	2	2	1	1	2	1	1	1	1	2	1
BJ15-149-05	BC3/BC4	((Alamir x Corolle) ² FL ² FL x USDA14 x Corolle	2	2	2	1	na	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-150-05	BC3/BC4	((Alamir x Corolle) ² FL ² FL x USDA14 x USDA14	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-150-13	BC3/BC4	((Alamir x Corolle) ² FL ² FL x USDA14 x USDA14	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-150-15	BC3/BC4	((Alamir x Corolle) ² FL ² FL x USDA14 x USDA14	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-150-16	BC3/BC4	((Alamir x Corolle) ² FL ² FL x USDA14 x USDA14	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-152-04	BC4	((Etamine x Catalina) x DA69/3) x Corolle x DA69/3 x Corolle	2	2	2	1	1	2	1	1	1	1	2	1
BJ15-152-05	BC4	((Etamine x Catalina) x DA69/3) x Corolle x DA69/3 x Corolle	2	2	2	1	1	2	1	1	1	1	1	1
BJ15-153-06	BC4	((Etamine x Catalina) x DA69/3) x Corolle x DA69/3 x DA69/3	2	2	2	1	1	2	1	1	1	1	1	1
BJ15-153-07	BC4	((Etamine x Catalina) x DA69/3) x Corolle x DA69/3 x DA69/3	2	2	2	1	na	2	1	1	1	1	1	1
BJ15-153-10	BC4	((Etamine x Catalina) x DA69/3) x Corolle x DA69/3 x DA69/3	2	2	2	1	na	1	2	1	1	1	1	2

Tableau 3 Résultats du génotypage avec les marqueurs C1 à C9 des plantes BC3, BC3/BC4 et BC4 sélectionnées après génotypage avec les marqueurs BnA10R2 et BnFri chez les familles dont le parent hybride ne possédait pas BnVin3. Les cases vertes, violettes et jaunes indiquent respectivement la présence de BnFLC1, BnFri et des marqueurs C.

Masternumbers	G°	semis	Génotype	BnA10R2	Fri	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9
BJ15-063-01	BC4	04/09/2015	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1 x CH25/1	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-065-03	BC4	04/09/2015	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1 x DD84/2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-065-08	BC4	04/09/2015	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1 x DD84/2	2	2	1	1	1	1	1	1	2	1	1
BJ15-065-09	BC4	04/09/2015	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1 x DD84/2	2	2	1	1	1	1	1	1	2	1	1
BJ15-065-10	BC4	04/09/2015	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1 x DD84/2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-065-11	BC4	04/09/2015	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1 x DD84/2	2	2	1	1	1	1	1	1	2	1	1
BJ15-065-12	BC4	04/09/2015	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1 x DD84/2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-065-15	BC4	04/09/2015	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1 x DD84/2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-068-05	BC4	04/09/2015	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x Corolle x DI82/5	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-068-11	BC4	04/09/2015	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x Corolle x DI82/5	2	2	1	1	1	1	1	1	2	1	1
BJ15-068-12	BC4	04/09/2015	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x Corolle x DI82/5	2	2	1	1	1	1	1	1	2	1	1
BJ15-068-14	BC4	04/09/2015	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x Corolle x DI82/5	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-068-16	BC4	04/09/2015	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x Corolle x DI82/5	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-069-01	BC4	04/09/2015	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x Corolle x C1114/2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-069-06	BC4	04/09/2015	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x Corolle x C1114/2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-069-12	BC4	04/09/2015	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x Corolle x C1114/2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-070-04	BC4	04/09/2015	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x Corolle x Corolle	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-070-05	BC4	04/09/2015	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x Corolle x Corolle	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-070-06	BC4	04/09/2015	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x Corolle x Corolle	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-070-09	BC4	04/09/2015	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x Corolle x Corolle	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-070-10	BC4	04/09/2015	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x Corolle x Corolle	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-070-14	BC4	04/09/2015	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x Corolle x Corolle	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-079-05	BC4	04/09/2015	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x AZ116/4 x AZ116/4	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-079-10	BC4	04/09/2015	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x AZ116/4 x AZ116/4	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-079-13	BC4	04/09/2015	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x AZ116/4 x AZ116/4	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-079-15	BC4	04/09/2015	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x AZ116/4 x AZ116/4	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-079-18	BC4	04/09/2015	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x AZ116/4 x AZ116/4	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-079-19	BC4	04/09/2015	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x AZ116/4 x AZ116/4	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-081-03	BC3/BC4	04/09/2015	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x CT57/2 x CT57/2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-081-18	BC3/BC4	04/09/2015	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x CT57/2 x CT57/2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-081-21	BC3/BC4	04/09/2015	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x CT57/2 x CT57/2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-131-01	BC3	04/09/2015	(Etamine x Alamir) ² x BP43/7 x DH60/2 x DH60/2	2	2	1	1	1	1	1	2	1	1	1
BJ15-131-09	BC3	04/09/2015	(Etamine x Alamir) ² x BP43/7 x DH60/2 x DH60/2	2	2	1	1	2	1	1	2	1	1	1
BJ15-141-01	BC3	04/09/2015	(Etamine x Alamir) ² x AZ60/1 x AZ60/1	2	2	1	1	2	1	1	1	1	1	1
BJ15-142-07	BC3	04/09/2015	(Etamine x Alamir) ² x AZ60/1 x DD125/1	2	2	1	1	1	1	1	2	1	2	1
BJ15-145-10	BC4	04/09/2015	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x CT57/2 x CT57/2	2	2	1	1	2	1	1	1	1	1	1
BJ15-151-01	BC4	04/09/2015	(Etamine x Catalina) ² FL x AZ58/1 x AZ58/1 x AZ58/1	2	2	1	na	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-151-04	BC4	04/09/2015	(Etamine x Catalina) ² FL x AZ58/1 x AZ58/1 x AZ58/1	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-151-06	BC4	04/09/2015	(Etamine x Catalina) ² FL x AZ58/1 x AZ58/1 x AZ58/1	2	2	1	1	2	1	1	1	1	1	1
BJ15-155-03	BC3	04/09/2015	(Etamine x Alamir) ² x BY60/1 x BY60/1 x BY60/1	2	2	1	na	1	1	1	2	1	1	1
BJ15-155-10	BC3	04/09/2015	(Etamine x Alamir) ² x BY60/1 x BY60/1 x BY60/1	2	2	1	na	2	1	1	1	1	2	1
BJ15-130-02	BC3	04/09/2015	(Etamine x Alamir) ² x BP43/7 x DH60/2 x DD125/1	2	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1

Tableau 4 Résultats du génotypage avec les marqueurs C1 à C9 des plantes BC3AF1 sélectionnées après génotypage avec les marqueurs BnA10R2, BnA10, BnFri et BnVin3. Les cases vertes, violettes, rose et jaunes indiquent respectivement la présence de BnFLC1, BnFri, BnVin3 et des marqueurs C. Les cases bleues (marqueur BnA10) indiquent l'absence de l'allèle de la moutarde brune BnFLC1, ce qui signifie que les plantes sont homozygotes pour l'allèle venant du colza d'hiver BnFLC1.

Plante	Génotype	BnA10 R2	BnA10	Fri	Vin3	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9
BJ15-210-02	((Etamine x Catalina) x DA69/3) x DA69/3 x DA69/3) ²	2	2	2	1	1	na	1	1	1	1	2	1	1
BJ15-210-03	((Etamine x Catalina) x DA69/3) x DA69/3 x DA69/3) ²	2	2	2	2	1	na	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-226-02	((Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1) ²	2	2	2		1	1	1	1	1	1	2	1	1
BJ15-226-03	((Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1) ²	2	2	2		1	1	1	1	1	1	2	1	1
BJ15-226-04	((Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1) ²	2	1	2		1	1	1	1	1	1	2	1	1
BJ15-226-05	((Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1) ²	2	2	2		1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-226-07	((Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1) ²	2	2	2		1	1	1	1	1	1	2	1	1
BJ15-226-08	((Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1) ²	2	2	2		1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-226-10	((Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1) ²	2	2	2		1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-226-11	((Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1) ²	2	2	2		1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-226-12	((Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1) ²	2	1	1		1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-226-16	((Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1) ²	2	1	2		1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-226-18	((Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1) ²	2	2	2		1	1	1	1	1	1	2	1	1
BJ15-226-19	((Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1) ²	2	2	2		1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-226-20	((Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1) ²	2	1	2		1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-226-21	((Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1) ²	2	2	2		1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-226-22	((Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1) ²	2	2	2		1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-291-02	((BC1 nat BJ12-52-20) ² x AZ58/1 x AZ58/1) ²	2	2	2	2	1	na	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-291-03	((BC1 nat BJ12-52-20) ² x AZ58/1 x AZ58/1) ²	2	2	2	2	1	na	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-291-04	((BC1 nat BJ12-52-20) ² x AZ58/1 x AZ58/1) ²	2	1	2	2	1	na	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-291-05	((BC1 nat BJ12-52-20) ² x AZ58/1 x AZ58/1) ²	2	1	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-291-06	((BC1 nat BJ12-52-20) ² x AZ58/1 x AZ58/1) ²	2	2	2	2	1	na	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-291-10	((BC1 nat BJ12-52-20) ² x AZ58/1 x AZ58/1) ²	2	2	2	2	1	2	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-291-11	((BC1 nat BJ12-52-20) ² x AZ58/1 x AZ58/1) ²	2	1	1		1	2	1	1	1	1	na	1	1
BJ15-291-12	((BC1 nat BJ12-52-20) ² x AZ58/1 x AZ58/1) ²	2	1	2	2	1	2	1	1	1	1	na	1	1
BJ15-306-03	((Etamine x Catalina) ² FL x AZ58/1 x AZ58/1) ²	2	1	2		1	1	1	1	1	1	1	1	1
BJ15-306-05	((Etamine x Catalina) ² FL x AZ58/1 x AZ58/1) ²	2	2	2		1	1	2	1	1	1	1	1	1
BJ15-306-06	((Etamine x Catalina) ² FL x AZ58/1 x AZ58/1) ²	2	2	2		1	1	2	1	1	1	1	1	1
BJ15-306-08	((Etamine x Catalina) ² FL x AZ58/1 x AZ58/1) ²	2	2	2		1	1	2	1	1	1	1	1	1
BJ15-306-09	((Etamine x Catalina) ² FL x AZ58/1 x AZ58/1) ²	2	1	1		1	1	2	1	1	1	1	1	1
BJ15-306-11	((Etamine x Catalina) ² FL x AZ58/1 x AZ58/1) ²	2	2	2		1	1	2	1	1	1	1	1	1

Phénotypage et croisements

Les plantes sélectionnées après génotypage ont ensuite été phénotypées au printemps 2016, entre autres pour leur vigueur, leur port, leur date de floraison ainsi que leur tolérance à la rouille blanche. Les plantes BC4, BC3/BC4, BC3 et BC3AF1 sélectionnées ont été autofécondées et rétrocroisées pour obtenir des BC5, des BC4/BC5 et des BC4. Les plantes BC3AF1 homozygotes pour BnFLC1 ont seulement été autofécondées pour donner des lignées BC3AF2 homozygotes pour ce gène l'année prochaine.

- précocité de floraison des hybrides interspécifiques.

Au niveau du phénotypage, le comportement au champ pour la précocité de floraison est désormais similaire à celui de la moutarde brune. Les lignées de colza ont commencé à fleurir (au moins 50 % de la lignée au stade 1ère fleur) le 25 Avril 2016. Les lignées de témoins moutarde condimentaire ont commencé à fleurir entre le 20 Avril et le 11 Mai 2016. Les plantes interspécifiques (BC3, BC4, BC3/BC4 et BC3AF1) ont commencé à fleurir entre le 25 Avril et le 17 Mai 2016.

- Notation de dégâts de rouille blanche des crucifères

Des dégâts de rouille blanche sont observés depuis quelques années dans les cultures de moutarde brune, entraînant des baisses de rendements. Des notations rouille blanche avaient été réalisées le 19 Mai 2015 sur l'ensemble des plantes croisées, les témoins moutarde condimentaire et le colza. Les variétés les plus touchées étaient Espérance, Brown et CH25/1. Le colza est totalement résistant. Des notes de 0 à 4 avaient été attribuées, 0 correspondant à une absence de rouille, 4 à des plantes très touchées comme Espérance. 14 des 51 hybrides sélectionnés avaient obtenu une note supérieure ou égale à 2 et 37 une note inférieure ou égale à 1 et étaient donc potentiellement tolérants à la rouille blanche. Des échantillons de rouille blanche avaient été prélevés en juin 2015 et stockés au congélateur à -20°C. La parcelle d'expérimentation qui se trouvait alors sur une parcelle de la ferme du Bois de Change à Quétigny, comme les années précédentes.

Cette année, les conditions climatiques (fortes précipitations et temps froid) n'ont pas permis le développement de l'oomycète. Aucun dégât de rouille blanche n'a été observé au printemps 2016. Toutes les plantes sélectionnées se sont vu attribuer la note de 0 sauf la plante BC4 BJ15-079-05 (croisement avec AZ116/4) qui avait quelques fleurs atteintes et qui a reçu la note de 1.

- Croisements

Sur la parcelle d'expérimentation, après sélection, 46 plantes BC4, 38 plantes BC3/BC4, 27 plantes BC3 et 29 plantes BC3AF1 ont été autofécondées de fin Avril à Mi-Mai 2016 grâce à la pose de sachets d'autofécondations (BC4, BC3/BC4 et BC3) ou de housses (BC3AF1). Les plantes BC3AF1 homozygotes pour BnFLC1 autofécondées ont été mises sous housses d'autofécondation et récoltées pour obtenir des lignées BC3AF2 homozygotes pour le gène BnFLC1.

Parmi ces plantes, 22 plantes BC4, 24 plantes BC3/BC4, 15 plantes BC3 et 6 plantes BC3AF1 ont été rétrocroisées en Mai 2016 avec 23 lignées de moutarde issues de la sélection AgroSup, déjà cultivées (Ficita, Corolle, Etamine) ou parmi les plus prometteuses ou servant de géniteurs pour certaines caractéristiques comme la qualité de la pâte, la résistance au froid ou à la rouille blanche, déjà utilisées l'année précédente (CH25/1, BY60/1, AZ60/1, A0118/2, DA69/3, CA55/1, DA49/1, AZ116/4, CI114/2, DH60/2, AZ60/1, CT57/2, CB84/4, CJ35/2, DD125/1, DD84/2, DI82/5 et DZ100/1) ainsi qu'avec les écotypes USDA14 et GW frisée.



Figure 2 Croisements et autofécondations des plantes en sélection sur la parcelle. Mai 2016.

1152 fleurs ont été croisées et 5513 graines ont été récoltées suite à ces croisements. Les graines BC5, BC4/BC5 et BC4 obtenues ont été semées en parcelle le 4 septembre 2016. Elles seront génotypées pendant l'hiver 2016-2017 puis phénotypées au printemps 2017. Les plantes BC4 sélectionnées seront recroisées avec les lignées de moutarde brune correspondantes. Les plantes BC5 seront, elles, autofécondées.

Tableau 5 Liste des lignées de moutarde condimentaire issues de la sélection d'AgroSup Dijon et utilisées dans les croisements interspécifiques du programme vernalisation

Corolle	variété inscrite condimentaire, IGP, qualité, résistance au froid et productivité correcte
Ficita	variété inscrite condimentaire, IGP, bonne qualité condimentaire, productivité moyenne, résistance au froid faible à moyenne
Etamine	Variété inscrite CIPAN, productive, bonne résistance au froid, pb qualité
CH25/1	Très bonne résistance au froid, très productive, riche en huile, pauvre en protéines, riche acide érucique
DI82/5	Très bonne résistance au froid, qualité moyenne (correcte en R2015), bonne productivité, bonne vigueur
DA69/3	Très bonne résistance au froid, riche en huile, pauvre en protéines, très bon état sanitaire, productive
CI63/1	bonne résistance au froid, productive, courte, abandonnée par les industriels en 2015 (couleur et pâte médiocre)
DH60/2	lignée fin sélection, Tb résistance au froid, pauvre en huile, riche protéines, bonne productivité
CA55/1	lignée fin sélection, bonne résistance au froid, bonne productivité, à tester par les industriels
DA49/1	lignée fin sélection, bonne résistance au froid, abandonnée par les industriels en 2015
AZ58/1	lignée fin sélection, bonne résistance au froid, bonne productivité, abandonnée par industriels cause pâtes tendance liquide
AZ60/1	lignée fin sélection, précoce, productive en situation sèche, éliminée par industriels à cause protéines trop basses
CB84/4	Productive, Précoce, bon comportement au champ, résistance au froid moyenne
CT57/2	Assez productive, refusée par les industriels en 2014
DD125/1	Résistante rouille blanche, productive, R2014: riche protéines, basse en huile, bonne résistance au froid
AZ116/4	Qualité R2014 et 2015 OK, résistance au froid moyenne, productivité correcte
BY60/1	R2014: riche protéines, basse huile (pas en 2015), process OK (R2014 et 2015), TB résistance au froid
CI114/2	Coup de cœur industriels R2014, R froid, PMG OK, peu sensible rouille blanche
DD84/2	Qualité 2014 OK, teneur en protéines élevée, faible en huile, bonne résistance au froid, très bon état sanitaire
AO118/2	lignée fin sélection, résistance au froid moyenne, productivité moyenne, qualité moyenne, abandonnée par les industriels en 2015
CJ35/2	0 érucique, protéines et huile OK, bonne résistance au froid
DZ100/1	albinos fleurs rose/orange

La fertilité des plantes cette année était d'en moyenne 39 graines obtenues pour 10 fleurs croisées en BC3 et de 52 graines obtenues pour 10 fleurs croisées en BC4. Pour rappel, les hybrides F1 étaient quasiment stériles avec 0,44 graines pour 10 fleurs croisées. L'année suivante les plantes BC1 étaient cent fois plus fertiles que les hybrides F1 avec en moyenne un rendement de 12 graines pour 10 fleurs croisées.

Tableau 6 Récapitulatif des rétrocroisements des 67 plantes interspécifiques sélectionnées. Les cases vertes, violettes et rose indiquent respectivement la présence de BnFLC1, BnFri et BnVin3. Les cases bleues (marqueur BnA10) indiquent l'absence de l'allèle de la moutarde brune BjFLC1, ces plantes sont homozygotes BnFLC1. Les notations rouille blanche, les dates d'apparition des fleurs et de croisement sont disponibles respectivement dans les colonnes « Rbl 1/06 », « date 1^{ère} fleur » et « date Xmt ».

n° plante	G°	Génotype	BnA10 R2	BnA10	Fri	Vin3	date 1ère fleur	Rbl 1/06	Xmt	date Xmt	nb de fleurs	nb de graines	parcelle 09/ 2016	n° sachet
BJ15-063-01	BC4	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1 x CH25/1	2	2	2	1	06-mai	0	CH25/1	18-mai	20	125	X	Bj16-050
BJ15-065-12	BC4	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1 x DD84/2	2	2	2	1	06-mai	0	DD84/2	20-mai	20	89	X	Bj16-051
BJ15-068-11	BC4	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x Corolle x DI82/5	2	2	2	1	09-mai	0	DI82/5	20-mai	17	55	X	Bj16-052
BJ15-069-01	BC4	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x Corolle x CI114/2	2	2	2	1	04-mai	0	CI114/2	20-mai	17	91	X	Bj16-053
BJ15-070-04	BC4	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x Corolle x Corolle	2	2	2	1	28-avr	0	Corolle	04-mai	14	58		Bj16-054
BJ15-070-06	BC4	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x Corolle x Corolle	2	2	2	1	29-avr	0	Corolle	04-mai	8	90	X	Bj16-055
BJ15-075-07	BC4	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x USDA14 x DI82/5	2	2	2	1	20-avr	0	DI82/5	20-mai	19	151	X	Bj16-056
BJ15-079-05	BC4	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x AZ116/4 x AZ116/4	2	2	2	1	09-mai	1	AZ116/4	20-mai	17	104		Bj16-057
BJ15-079-10	BC4	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x AZ116/4 x AZ116/4	2	2	2	1	09-mai	0	AZ116/4	26-mai	21	112	X	Bj16-058
BJ15-081-03	BC3/BC4	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x CT57/2 x CT57/2	2	2	2	1	09-mai	0	CT57/2	20-mai	13	65	X	Bj16-059
BJ15-087-17	BC3/BC4	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x Etamine x Etamine	2	2	2	2	04-mai	0	Etamine	20-mai	19	82	X	Bj16-060
BJ15-088-07	BC3/BC4	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x Etamine x DA49/1	2	2	2	2	09-mai	0	DA49/1	18-mai	15	91	X	Bj16-061
BJ15-090-04	BC3/BC4	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x DA69/3 x DD84/2	2	2	2	2	06-mai	0	DD84/2	20-mai	16	132	X	Bj16-062
BJ15-090-14	BC3/BC4	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x DA69/3 x DD84/2	2	2	2	2	04-mai	0	DD84/2	26-mai	21	105		Bj16-063
BJ15-091-04	BC3/BC4	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x DA69/3 x CI114/2	2	2	2	2	06-avr	0	CI114/2	20-mai	21	126	X	Bj16-064
BJ15-092-19	BC3/BC4	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x DA69/3 x BY60/1	2	2	2	2	06-mai	0	BY60/1	20-mai	19	126		Bj16-065
BJ15-092-21	BC3/BC4	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x DA69/3 x BY60/1	2	2	2	2	04-mai	0	BY60/1	26-mai	14	143	X	Bj16-066
BJ15-097-02	BC3/BC4	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x DA69/3 x CJ35/2	2	2	2	2	04-mai	0	CJ35/2	18-mai	10	58	X	Bj16-067
BJ15-100-12	BC3/BC4	((Alamir x Corolle) ² FL) ² FL x Corolle x Corolle	2	2	2	2	12-mai	0	Corolle	26-mai	15	52		Bj16-068
BJ15-100-19	BC3/BC4	((Alamir x Corolle) ² FL) ² FL x Corolle x Corolle	2	2	2	2	04-mai	0	Corolle	17-mai	18	79	X	Bj16-069
BJ15-101-06	BC3/BC4	((Alamir x Corolle) ² FL) ² FL x Corolle x DD84/2	2	2	2	2	04-mai	0	DD84/2	20-mai	21	55	X	Bj16-070
BJ15-105-10	BC3/BC4	((Alamir x Corolle) ² FL) ² FL x AZ58/1 x AZ58/1	2	2	2	2	09-mai	0	AZ58/1	18-mai	18	99	X	Bj16-071
BJ15-110-01	BC3/BC4	((Alamir x Corolle) ² FL) ² FL x AO118/2 x DZ100/1	2	2	2	2	29-avr	0	DZ100/1	20-mai	23	67	X	Bj16-072
BJ15-117-15	BC3	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x Ficita x DI82/5	2	2	2	2	12-mai	0	DI82/5	18-mai	15	59	X	Bj16-073
BJ15-118-07	BC3	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x Ficita x HT frisée	2	2	2	2	06-mai	0	HT frisée	24-mai	17	64		Bj16-074
BJ15-118-09	BC3	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x Ficita x HT frisée	2	2	2	2	09-mai	0	HT frisée	26-mai	19	67	X	Bj16-075
BJ15-119-03	BC3	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x Ficita x Ficita	2	2	2	2	04-mai	0	Ficita	20-mai	14	67	X	Bj16-076
BJ15-121-10	BC3	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x CA55/1 x CA55/1	2	2	2	2	17-mai	0	CA55/1	24-mai	16	51	X	Bj16-077
BJ15-121-14	BC3	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x CA55/1 x CA55/1	2	2	2	2	09-mai	0	CA55/1	26-mai	18	0		Bj16-078
BJ15-124-03	BC3	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x USDA14 x USDA14	2	2	2	2	06-mai	0	USDA14	06-mai	17	57		Bj16-079
BJ15-124-04	BC3	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x USDA14 x USDA14	2	2	2	2	27-avr	0	USDA14	06-mai	19	15		Bj16-080
BJ15-124-05	BC3	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x USDA14 x USDA14	2	2	2	2	20-avr	0	USDA14	06-mai	21	88	X	Bj16-081
BJ15-124-10	BC3	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x USDA14 x USDA14	2	2	2	2	04-mai	0	USDA14	06-mai	23	83		Bj16-082
BJ15-125-04	BC3	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x USDA14 x CB84/4	2	2	2	2	04-mai	0	CB84/4	18-mai	15	56	X	Bj16-083
BJ15-127-04	BC4	((Etamine x Catalina) x DA69/3) x Corolle x DA69/3 x CB84/4	2	2	2	2	09-mai	0	CB84/4	18-mai	19	62	X	Bj16-084
BJ15-130-02	BC3	((Etamine x Alamir) ² x BP43/7 x DH60/2 x DD125/1	2	2	1	1	04-mai	0	DD125/1	18-mai	19	85		Bj16-085
BJ15-131-01	BC3	((Etamine x Alamir) ² x BP43/7 x DH60/2 x DH60/2	2	2	2	1	04-mai	0	DH60/2	24-mai	20	128	X	Bj16-086
BJ15-134-02	BC4	((BC1 nat BJ12-52-20) ² x AZ58/1 x AZ58/1 x AZ60/1	2	2	2	2	09-mai	0	AZ60/1	26-mai	16	37		Bj16-087
BJ15-134-03	BC4	((BC1 nat BJ12-52-20) ² x AZ58/1 x AZ58/1 x AZ60/1	2	2	2	2	29-avr	0	AZ60/1	18-mai	15	83	X	Bj16-088
BJ15-135-04	BC4	((BC1 nat BJ12-52-20) ² x AZ58/1 x AZ58/1 x AZ58/1	2	2	2	2	09-mai	0	AZ58/1	20-mai	19	92	X	Bj16-089
BJ15-136-01	BC4	((BC1 nat BJ12-52-20) ² x AZ58/1 x AZ58/1 x AZ116/4	2	2	2	1	09-mai	0	AZ116/4	18-mai	20	104	X	Bj16-090
BJ15-139-09	BC4	((BC1 nat BJ12-52-20) ² x AZ58/1 x AZ58/1 x CI114/2	2	2	2	2	29-avr	0	CI114/2	18-mai	22	109	X	Bj16-091
BJ15-142-07	BC3	((Etamine x Alamir) ² x AZ60/1 x DD125/1	2	2	2	1	29-avr	0	DD125/1	18-mai	15	109	X	Bj16-092
BJ15-144-02	BC4	((Etamine x Catalina) x DA69/3) x DA69/3 x DA69/3 x DA69/3	2	2	2	2	04-mai	0	DA69/3	17-mai	15	71	X	Bj16-093
BJ15-145-10	BC4	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x CT57/2 x CT57/2	2	2	2	1	04-mai	0	CT57/2	18-mai	19	112	X	Bj16-094
BJ15-148-05	BC3/BC4	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x AO118/2 x AO118/2	2	2	2	2	25-avr	0	AO118/2	06-mai	19	90	X	Bj16-095
BJ15-148-08	BC3/BC4	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x AO118/2 x AO118/2	2	2	2	2	25-avr	0	AO118/2	06-mai	18	82		Bj16-097
BJ15-148-09	BC3/BC4	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x AO118/2 x AO118/2	2	2	2	2	25-avr	0	AO118/2	06-mai	16	63		Bj16-098
BJ15-148-10	BC3/BC4	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x AO118/2 x AO118/2	2	2	2	2	29-avr	0	AO118/2	06-mai	20	90		Bj16-099
BJ15-148-11	BC3/BC4	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x AO118/2 x AO118/2	2	2	2	2	29-avr	0	AO118/2	06-mai	20	25		Bj16-100
BJ15-149-05	BC3/BC4	((Alamir x Corolle) ² FL) ² FL x USDA14 x Corolle	2	2	2	2	25-avr	0	Corolle	17-mai	15	125	X	Bj16-101
BJ15-150-05	BC3/BC4	((Alamir x Corolle) ² FL) ² FL x USDA14 x USDA14	2	2	2	2	20-avr	0	USDA14	06-mai	18	217	X	Bj16-102
BJ15-150-15	BC3/BC4	((Alamir x Corolle) ² FL) ² FL x USDA14 x USDA14	2	2	2	2	25-avr	0	USDA14	06-mai	21	66		Bj16-103
BJ15-150-16	BC3/BC4	((Alamir x Corolle) ² FL) ² FL x USDA14 x USDA14	2	2	2	2	20-avr	0	USDA14	06-mai	18	112		Bj16-104
BJ15-151-01	BC4	((Etamine x Catalina) ² FL x AZ58/1 x AZ58/1 x AZ58/1	2	2	2	1	29-avr	0	AZ58/1	20-mai	14	113		Bj16-105
BJ15-151-04	BC4	((Etamine x Catalina) ² FL x AZ58/1 x AZ58/1 x AZ58/1	2	2	2	1	09-mai	0	AZ58/1	26-mai	15	55	X	Bj16-106
BJ15-152-04	BC4	((Etamine x Catalina) x DA69/3) x Corolle x DA69/3 x Corolle	2	2	2	2	04-mai	0	Corolle	04-mai	19	82		Bj16-107
BJ15-152-05	BC4	((Etamine x Catalina) x DA69/3) x Corolle x DA69/3 x Corolle	2	2	2	2	06-mai	0	Corolle	26-mai	17	54	X	Bj16-108
BJ15-153-07	BC4	((Etamine x Catalina) x DA69/3) x Corolle x DA69/3 x DA69/3	2	2	2	2	09-mai	0	DA69/3	17-mai	17	43	X	Bj16-109
BJ15-155-03	BC3	((Etamine x Alamir) ² x BY60/1 x BY60/1 x BY60/1	2	2	2	1	12-mai	0	BY60/1	20-mai	12	40	X	Bj16-110
BJ15-210-03	BC3AF1	((Etamine x Catalina) x DA69/3) x DA69/3 x DA69/3	2	2	2	2	12-mai	0	DA69/3	17-mai	16	97		Bj16-135
BJ15-226-04	BC3AF1	((Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1)	2	1	2	1	04-mai	0	CH25/1	17-mai	14	71		Bj16-136
BJ15-226-20	BC3AF1	((Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1)	2	1	2	1	09-mai	0	CH25/1	17-mai	20	148		Bj16-137
BJ15-291-04	BC3AF1	((BC1 nat BJ12-52-20) ² x AZ58/1 x AZ58/1)	2	1	2	2	09-mai	0	AZ58/1	17-mai	13	37		Bj16-138
BJ15-291-12	BC3AF1	((BC1 nat BJ12-52-20) ² x AZ58/1 x AZ58/1)	2	1	2	2	09-mai	0	AZ58/1	17-mai	16	49		Bj16-139
BJ15-306-03	BC3AF1	((Etamine x Catalina) ² FL x AZ58/1 x AZ58/1)	2	1	2	1	17-mai	0	AZ58/1	17-mai	16	37		Bj16-140

Analyse des graines (plantes inter- et intra-spécifiques)

Les graines de 33 autofécondations de 28 plantes interspécifiques BC3, BC3/BC4, BC4 ou BC3AF1 sélectionnées parmi celles utilisées pour les rétrocroisements, de 5 hybrides intraspécifiques F1 et des témoins moutardes brunes Ficita et Etamine (moyenne sur 9 plantes pour chaque variété) ont été analysées en septembre 2016 pour le poids de mille grains (PMG) au moyen d'un compteur à grains et pour la qualité de la pâte (matière grasse, protéines, viscosité, teneur en sinigrine, teneur en acide érucique) au moyen d'un spectrophotomètre en proche infrarouge (NIRS). Les résultats montrés ci-après comprennent également les données des parents femelles des hybrides inter et intraspécifiques en 2015 (BC2 à BC3), de l'écotype exotique GW frisée, du colza Rendezvous et de deux moutardes brunes Ficita et Corolle.

Tableau 7 Génotype des autofécondations dont les graines ont été analysées au NIRS

N° de plante	Génotype	Génération
BJ15-090-04	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x DA69/3 x DD84/2	BC3/BC4
BJ15-063-01	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1 x CH25/1	BC4
BJ15-065-12	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1 x DD84/2	BC4
BJ15-068-11	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x Corolle x DI82/5	BC4
BJ15-069-01	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x Corolle x CI114/2	BC4
BJ15-079-10	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x AZ116/4 x AZ116/4	BC4
BJ15-081-21	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x CT57/2 x CT57/2	BC3/BC4
BJ15-087-17	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x Etamine x Etamine	BC3/BC4
BJ15-090-14	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x DA69/3 x DD84/2	BC3/BC4
BJ15-091-04	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x DA69/3 x CI114/2	BC3/BC4
BJ15-092-19	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x DA69/3 x BY60/1	BC3/BC4
BJ15-100-19	((Alamir x Corolle) ² FL) ² FL x Corolle x Corolle	BC3/BC4
BJ15-110-01	((Alamir x Corolle) ² FL) ² FL x AO118/2 x DZ100/1	BC3/BC4
BJ15-118-07	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x Ficita x HT frisée	BC3
BJ15-134-02	(BC1 nat BJ12-52-20) ² x AZ58/1 x AZ58/1 x AZ60/1	BC4
BJ15-135-04	(BC1 nat BJ12-52-20) ² x AZ58/1 x AZ58/1 x AZ58/1	BC4
BJ15-139-09	(BC1 nat BJ12-52-20) ² x AZ58/1 x AZ58/1 x CI114/2	BC4
BJ15-144-02	(Etamine x Catalina) x DA69/3 x DA69/3 x DA69/3 x DA69/3	BC4
BJ15-145-10	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x CT57/2 x CT57/2	BC4
BJ15-148-05	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x AO118/2 x AO118/2	BC3/BC4
BJ15-148-10	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x AO118/2 x AO118/2	BC3/BC4
BJ15-149-05	((Alamir x Corolle) ² FL) ² FL x USDA14 x Corolle	BC3/BC4
BJ15-151-01	(Etamine x Catalina) ² FL x AZ58/1 x AZ58/1 x AZ58/1	BC4
BJ15-151-04	(Etamine x Catalina) ² FL x AZ58/1 x AZ58/1 x AZ58/1	BC4
BJ15-210-03	((Etamine x Catalina) x DA69/3) x DA69/3 x DA69/3) ²	BC3AF1
BJ15-226-03	((Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1) ²	BC3AF1
BJ15-291-06	((BC1 nat BJ12-52-20) ² x AZ58/1 x AZ58/1) ²	BC3AF1
BJ15-306-08	((Etamine x Catalina) ² FL x AZ58/1 x AZ58/1) ²	BC3AF1
BJ15-158-01	(AX42/1 x USDA 14) x Ficita x Ficita	BC3
BJ15-158-02	(AX42/1 x USDA 14) x Ficita x Ficita	BC3
BJ15-158-03	(AX42/1 x USDA 14) x Ficita x Ficita	BC3
BJ15-163-01	GW frisée x Osaka Purple	F1
BJ15-164-01	GW frisée x DD125/1	F1
Ficita		
Corolle		
Etamine		
Rendezvous		
GW frisée		

- Estimation du poids de mille graines (PMG)

Le PMG a été obtenu en mesurant le poids de 1000 graines comptées grâce à un compteur à grains.

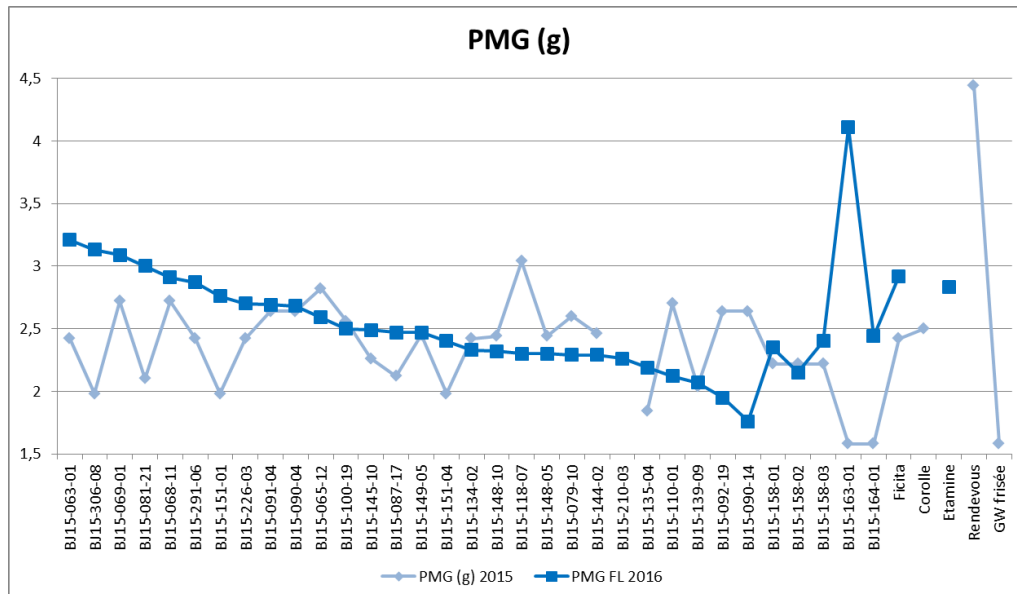


Figure 3 Poids de mille graines exprimé en grammes de 28 hybrides interspécifiques BC3, BC3/BC4, BC4 ou BC3AF1, de 5 hybrides intraspécifiques F1 ou BC3, d'un écotype exotique GW frisée, d'un colza Rendevous et de trois moutardes brunes Ficita, Etamine et Corolle. Résultats 2016 et 2015.

Les PMG obtenus pour les hybrides BC2 et BC3 sont compris entre 1,76 g et 3,21 g. Le colza possède un PMG de 4.4 g, les deux témoins moutarde sont autour de 2,5 g. Nous nous apercevons que les PMG observés ont des valeurs plus proches de celles de la moutarde que du colza avec 22 plantes hybrides ayant un PMG supérieur ou égal à 2.3 g qui est la norme basse d'acceptation pour les industriels. Aucune plante interspécifique n'a de PMG équivalent à celui du colza, ce qui prouve bien le retour au fond génétique de la moutarde pour ce caractère. En regardant les deux années, nous observons un effet année. Les plantes avec un PMG supérieur à 2.5 grammes avaient un PMG inférieur l'année dernière est inversement pour les plantes avec un PMG inférieur à 2.5 g.

Concernant les hybrides intraspécifiques, ceux-ci sont proches des valeurs des moutardes condimentaire sauf la plante Bj15-163-01 qui est un hybride F1 entre une variété asiatique Osaka Purple est une variété américaine GW Frisée et sont donc génétiquement assez éloignées. Ces variétés n'ont pas un PMG élevé (les données 2015 correspondent à la plante mère GW) mais combinées, nous observons un fort effet d'hétérosis qui disparaîtra dans les générations suivantes.

- Estimation du taux de matière grasse, du taux de protéines et de la consistance.

Ils ont été mesurés par spectrophotométrie proche infrarouge. Les taux de matière grasse (MG) et de protéines sont exprimés en pourcentage de matière sèche (MS). La consistance est mesurée par NIRS suite à un étalonnage à partir de données obtenues avec un consistomètre et correspondent à la distance d'écoulement en cm (0 à 24 cm) de la pâte pendant 30 secondes. Plus la note augmente, plus la consistance diminue.

En 2015, le colza Rendevous est à 39.1 % de MG, 21.8 % de protéines et a une consistance évaluée à 16. En 2016, Ficita et Etamine sont respectivement à 35.07 % et 36.8 % de MG et à 31.53 % et 29.07

% de protéines et possèdent des notes de consistance de 11,88 et 16. Pour rappel, Etamine n'est pas utilisée comme moutarde condimentaire car elle donne de la pâte de moutarde trop liquide. Cette année, toutes les plantes testées ont une teneur en huile inférieure à 40%, valeur à ne pas dépasser pour la sélection, combinée à une teneur en protéines supérieure à 25 %, ce qui correspond aux valeurs observées pour les lignées du programme de sélection principal. Six plantes ont un taux de MG supérieur à 36 %. Parmi ces plantes, trois ont été croisées avec CH25/1, connue pour être riche en huile (39,64 % et 40,04 % pour les deux plantes du programme de sélection testées). Cela montre clairement l'influence des variétés utilisées lors des derniers croisements.

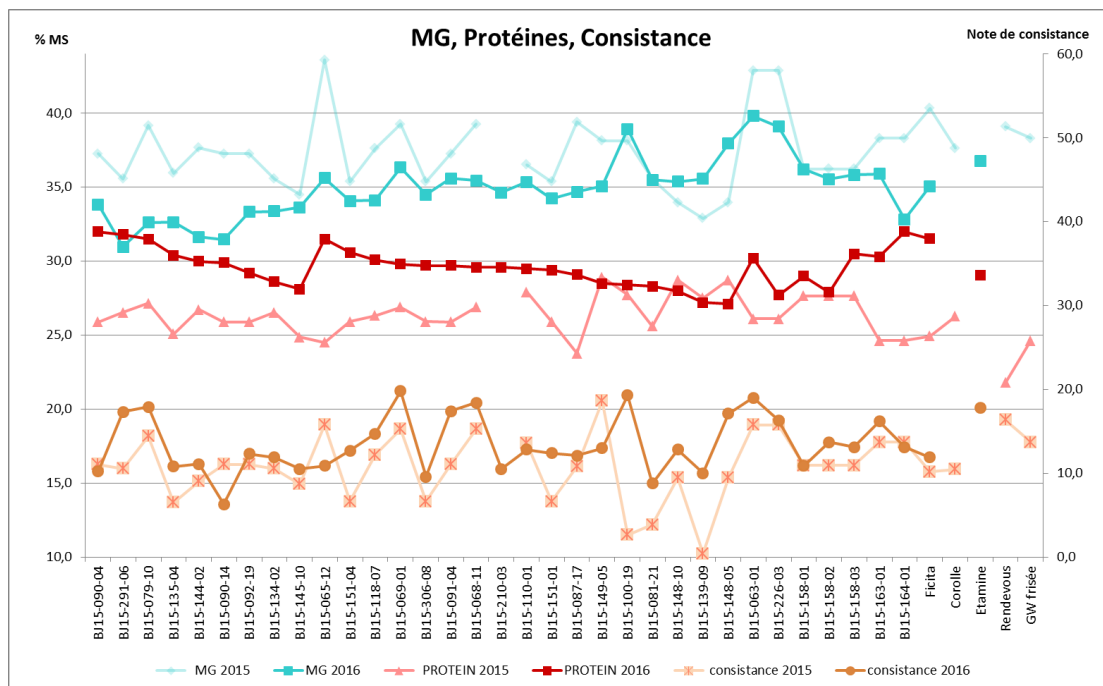


Figure 4 Teneurs en matière grasse (MG) et en protéines (en % de MS) et notes de consistance de 28 hybrides interspécifiques BC3, BC3/BC4, BC4 ou BC3AF1, de 5 hybrides intraspécifiques F1 ou BC3, d'un écototype exotique GW frisée, d'un colza Rendezvous et de trois moutardes brunes Ficita, Etamine et Corolle. Résultats 2016 et 2015.

Nous pouvons observer une corrélation négative entre teneur en matière grasse et teneur en protéines. Quand la teneur en matière grasse augmente, celle en protéines a tendance à diminuer. Nous pouvons voir un effet année avec des taux de matières grasses inférieurs et des taux de protéines supérieurs à ceux de l'année dernière. Cela est dû aux conditions climatiques de cette année (même tendance pour l'ensemble des récoltes de moutarde 2016) mais peut-être aussi au retour au fond génétique de la moutarde chez nos hybrides. Par contre les notes de consistance ne suivent pas ces tendances, les valeurs sont assez similaires à celles de l'année dernière en fonction des variétés, ce qui montre un effet génétique en partie dû à d'autres paramètres que les teneurs en MG et protéines.

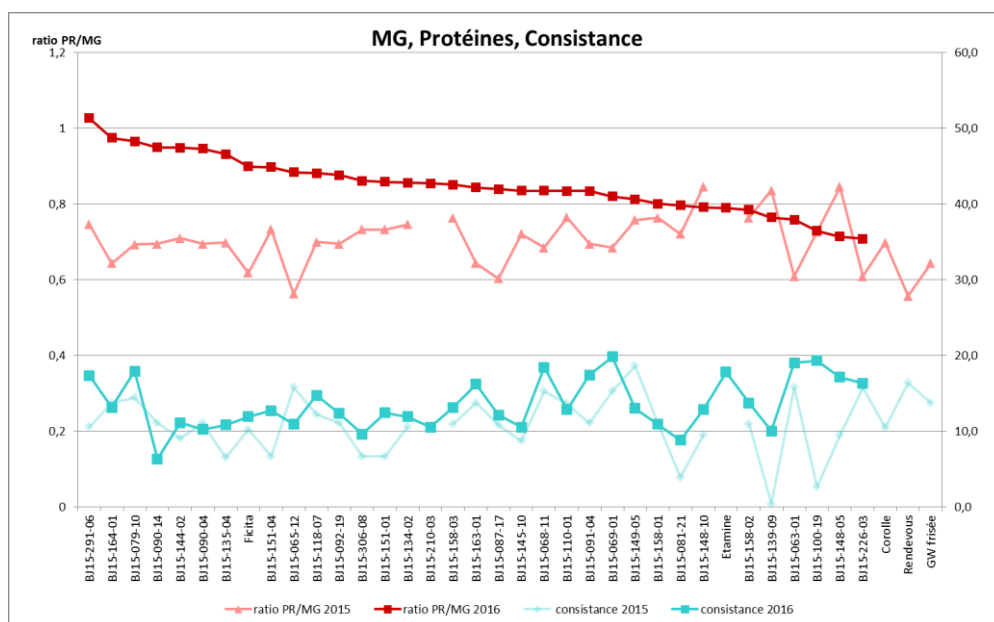


Figure 5 Ratio des teneurs en protéines sur les teneurs en matière grasse (en % de MS) et notes de consistance de 28 hybrides interspécifiques BC3, BC3/BC4, BC4 ou BC3AF1, de 5 hybrides intraspécifiques F1 ou BC3, d'un écotpe exotique GW frisée, d'un colza Rendevous et de trois moutardes brunes Ficita, Etamine et Corolle. Résultats 2016 et 2015.

- Estimation du taux de sinigrine

Le sélectionneur a fixé la limite basse à 85 $\mu\text{mol/g}$ de sinigrine pour sélectionner ses lignées. Cette année, de façon générale, le taux de sinigrine est plus élevé qu'en 2015, même chez les témoins. Quatre plantes hybrides ont encore des taux de sinigrine inférieur à 85 $\mu\text{mol/g}$ mais elles ont tout de même une teneur supérieure à 61 $\mu\text{mol/g}$ alors que le colza ne contient pas ou très peu de sinigrine (6,7 $\mu\text{mol/g}$ mesuré chez Rendevous). Sur ce point, nous pouvons dire que les rétrocroisements ont un effet positif sur le taux de sinigrine (valeurs équivalentes à celles de la moutarde condimentaire).

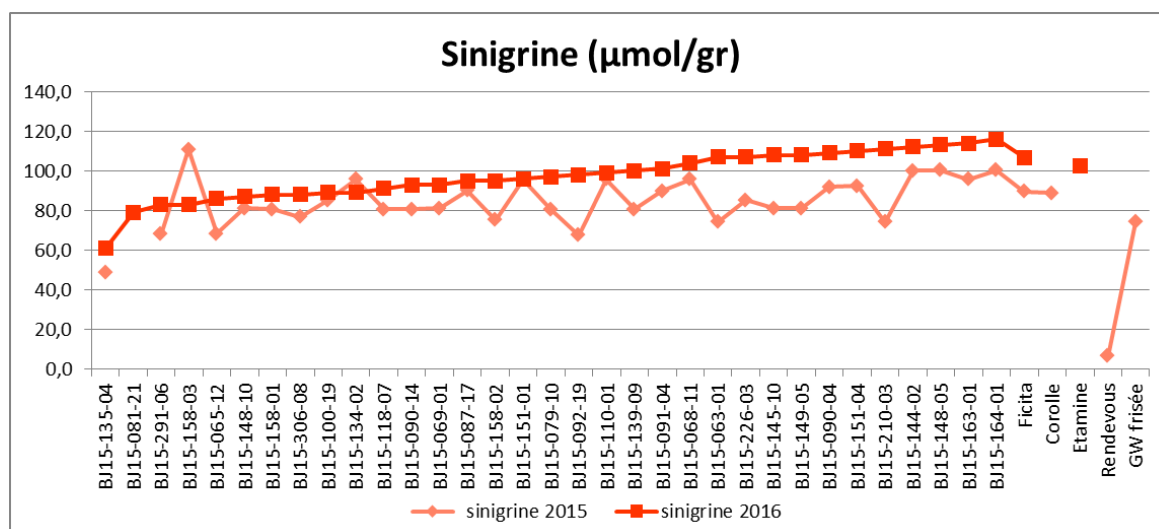


Figure 6 Teneurs en sinigrine en $\mu\text{mol/g}$ de 28 hybrides interspécifiques BC3, BC3/BC4, BC4 ou BC3AF1, de 5 hybrides intraspécifiques F1 ou BC3, d'un écotpe exotique GW frisée, d'un colza Rendevous et de trois moutardes brunes Ficita, Etamine et Corolle. Résultats 2016 et 2015.

- Teneur en acide érucique

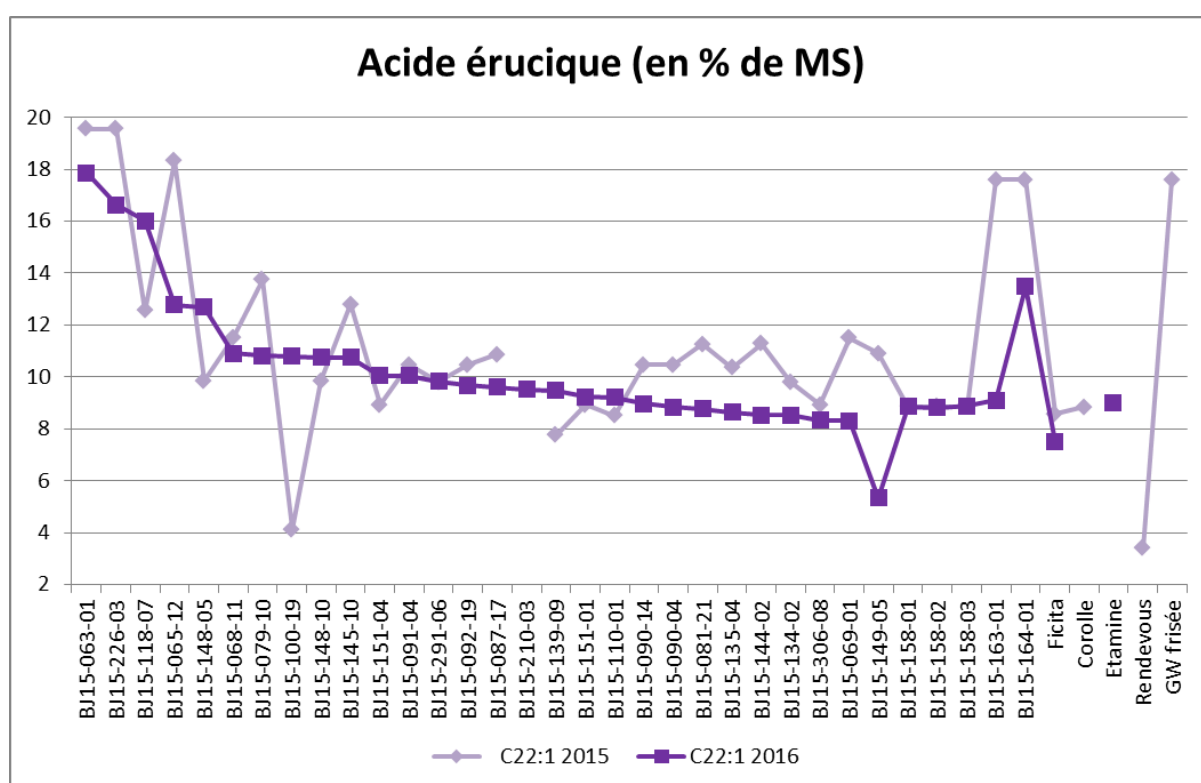


Figure 7 Teneurs en acide érucique en pourcentage de matière sèche de 28 hybrides interspécifiques BC3, BC3/BC4, BC4 ou BC3AF1, de 5 hybrides intraspécifiques F1 ou BC3, d'un écotype exotique GW frisée, d'un colza Rendezvous et de trois moutardes brunes Ficita, Etamine et Corolle. Résultats 2016 et 2015.

La teneur en acide érucique est exprimée en pourcentage du taux de matière sèche. Les lignées de moutarde condimentaire contiennent généralement entre 0 et 13 % d'acide érucique, le sélectionneur s'étant fixé une limite maximum de 13%. Cependant, certains géniteurs intéressants sur le plan agronomique, comme CH25/1 ou GW frisée, sont riches en acide érucique. Cinq de nos plantes ont un taux en acide érucique supérieur à 13%, trois sont croisées avec CH25/1 (Bj15-063-01, Bj15-226-03 et Bj15-065-12) et deux avec GW (Bj15-118-07 ainsi que l'hybride F1 Bj15-164-01). Les autres hybrides ont des teneurs comprises entre 8.3 % et 12.6 % et n'ont pas conservé le trait « 0 érucique » du colza d'hiver.

1.4. Suivi des hybrides interspécifiques entre la moutarde brune et des variétés de colza d'hiver, en semis de printemps en serre

Parallèlement au semis en parcelle, nous avons mis en place un essai en serre avec vernalisation en chambre climatisée ou en serre hors gel selon la saison. Le but de cet essai en serre est d'accélérer le processus de sélection, avec l'objectif de réaliser trois générations en deux ans. Les graines sont semées en pots de 1,5 L dans un mélange terreau horticole/vermiculite avec une température de culture de 23°C. Après génotypage et phénotypage (durée de la phase végétative), les plantes sont vernalisées puis repotées en pots de 7 L. Les lignées de moutarde condimentaire à croiser avec les hybrides sont semées en serre en décalé, afin qu'elles fleurissent en même temps que les hybrides.

Ce set de lignées comprend les lignées déjà utilisées en rétrocroisement l'année précédente : Corolle, Ficita, A0118/2, AZ58/1, DA69/3, DH60/2, CI63/1 et AZ60/1 dont trois lignées avec une bonne qualité de pâte de moutarde : DD125/1, DD84/2 et CB84/4.



Figure 8 Photographies de l'essai serre du 8 février 2016. En haut à gauche : sortie de vernalisation des plantes sélectionnées. A droite : croisements, juin 2016.

179 graines ont été semées en pots le 12 juin 2015 et génotypées 12 marqueurs moléculaires : BnFLC1, BnFri, BnVin3, BnCo et les marqueurs des chromosomes C1 à C9. Parmi ces plantes, vingt-six plantes représentant toutes les familles et possédant les gènes d'intérêt ont été vernalisées en chambre climatisée à l'INRA de Dijon, du 22 juillet 2015 au 8 octobre 2015. Elles étaient toutes au stade rosette le 22 juillet 2015. Cinq plantes sont montées à fleurs pendant la vernalisation et ont été éliminées. Suite à l'étape de vernalisation, les vingt-et-une plantes restantes ont été rempotées et replacées en serre. Parallèlement, 11 lignées en sélection ont été semées en serre en septembre 2015, afin qu'elles fleurissent en même temps que les hybrides. Ce set de lignées est le même que celui déjà utilisé en rétrocroisement pour le semis en serre précédent (Corolle, Ficita, A0118/2, AZ58/1, AZ60/1, DA69/3, DD84/2, DD125/1, DH60/2, CB84/4 et CI63/1).

717 fleurs ont été croisées entre le 28 octobre 2015 et le 19 novembre 2015. Les croisements ont eu lieu à la fois sur les hybrides (32 croisements ont fonctionné) et sur les lignées (17 croisements ont fonctionné), ce qui nous a permis de récolter 2097 graines en janvier 2016 pour 49 croisements différents.

Suite à cette récolte, 8 Familles BC5 (50 graines) et 11 Familles BC3 (104 plantes) ainsi que les témoins colza (variété Catalina) et moutarde (variétés Corolle et DA69/3) ont été semées le 8 février 2016. Elles ont été transférées en hangar non chauffé pour vernalisation le 7 mars 2016. Les lignées utilisées en rétrocroisement sont les mêmes que pour l'essai précédent auxquelles s'ajoute CH25/1. Elles ont été semées le 1er avril 2016.

Après génotypage avec les marqueurs BnA10R2 (BnFLC1), BnFri, BnVin3, BnCoC9 et C1 à C9 et phénotypage, trente plantes ont été sélectionnées. Parmi elles, une lignée BC4 a conservé le gène BnCoC9 impliqué dans la voie de la photopériode. Les plantes ont été rétrocroisées et autofécondées entre le 13 et le 22 juin 2016. Les rétrocroisements sont disponibles dans le tableau 8.

Tableau 8 Récapitulatif du génotypage (C1 à C9 non montrés) et des rétrocroisements des 30 plantes interspécifiques sélectionnées du semis du 8 février 2016. Les cases vertes, violettes, rose et marron indiquent la présence de BnFLC1, BnFri, BnVin3 et BnCo.

famille	n° plante	G°	génotype	FLC1	Fri	Vin3	CoC 9	1er Fleur	Croisements	Date	Nombre de fleurs	nbre graines Xts
Bj16-001	3	BC5	(Alamir x Corolle) ² FL x Corolle x Corolle x CB84/4 x CB84/4	2	2			13-juin	CB84/4	16-juin	17	34
Bj16-001	7	BC5	(Alamir x Corolle) ² FL x Corolle x Corolle x CB84/4 x CB84/4	2	2			13-juin	CB84/4	16-juin	19	86
Bj16-002	12	BC5	(Alamir x Corolle) ² FL x Corolle x Corolle x CB84/4 x Corolle	2	2			13-juin	Corolle	16-juin	18	84
Bj16-002	15	BC5	(Alamir x Corolle) ² FL x Corolle x Corolle x CB84/4 x Corolle	2	2			20-juin	Corolle	22-juin	22	92
Bj16-004	19	BC5	(Alamir x Ficita) ² FL x Ficita x Ficita x DD84/2 x DD84/2	2	2			13-juin	DD84/2	16-juin	14	54
Bj16-004	20	BC5	(Alamir x Ficita) ² FL x Ficita x Ficita x DD84/2 x DD84/2	2	2			10-juin	DD84/2	16-juin	13	102
Bj16-005	24	BC5	(Alamir x Ficita) ² FL x Ficita x Ficita x Ficita x Ficita	2	2	1		10-juin	Ficita	15-juin	15	136
Bj16-005	25	BC5	(Alamir x Ficita) ² FL x Ficita x Ficita x Ficita x Ficita	2	2	1		10-juin	Ficita	15-juin	15	93
Bj16-006	31	BC5	(Alamir x Ficita) ² FL x Ficita x DA69/3 x DA69/3 x DA69/3	2	2			08-juin	DA69/3	15-juin	15	86
Bj16-006	34	BC5	(Alamir x Ficita) ² FL x Ficita x DA69/3 x DA69/3 x DA69/3	2	2			10-juin	DA69/3	15-juin	16	68
Bj16-010	51	BC4	((Alamir x Corolle) ² FL ² FL x Corolle x DD84/2 x DD84/2	2	2	1	2	10-juin	DD84/2	16-juin	16	148
Bj16-013	56	BC4	((Alamir x Corolle) ² FL ² FL x Corolle x Corolle x Corolle	2	2	1	2	13-juin	Corolle	16-juin	19	63
Bj16-013	57	BC4	((Alamir x Corolle) ² FL ² FL x Corolle x Corolle x Corolle	2	2	1	2	17-juin	Corolle	20-juin	15	132
Bj16-019	64	BC4	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x DH60/2 x DA69/3 x DA69/3	2	2	2		13-juin	DA69/3	15-juin	18	122
Bj16-021	66	BC4	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x DH60/2 x DH60/2 x DH60/2	2	2	2		13-juin	DH60/2	20-juin	17	62
Bj16-021	69	BC4	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x DH60/2 x DH60/2 x DH60/2	2	2	2		20-juin	DH60/2	22-juin	23	84
Bj16-023	78	BC4	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x AZ60/1 x AZ60/1 x AZ60/1	2	2	2		13-juin	AZ60/1	16-juin	20	98
Bj16-023	80	BC4	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x AZ60/1 x AZ60/1 x AZ60/1	2	2	2		13-juin	AZ60/1	16-juin	19	90
Bj16-024	86	BC4	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x AO118/2 x DD125/1 x DD125/1	2	2	2		13-juin	DD125/1	16-juin	19	181
Bj16-024	87	BC4	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x AO118/2 x DD125/1 x DD125/1	2	2	2		13-juin	DD125/1	16-juin	21	102
Bj16-026	96	BC4	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x AO118/2 x DD84/2 x DD84/2	2	2	2		14-juin	DD84/2	16-juin	19	81
Bj16-026	100	BC4	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x AO118/2 x DD84/2 x DD84/2	2	2	2		13-juin	DD84/2	16-juin	14	71
Bj16-031	103	BC4	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x AO118/2 x CB84/4 x AO118/2	2	2	2		13-juin	AO118/2	16-juin	29	288
Bj16-032	113	BC4	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x AO118/2 x CB84/4 x CB84/4	2	2	1	1	13-juin	CB84/4	16-juin	19	107
Bj16-042	121	BC5	AZ58/1 x ((Alamir x Corolle) ² FL ² FL x AZ58/1 x AZ58/1	2	2	1	1	13-juin	AZ58/1	16-juin	17	78
Bj16-042	122	BC5	AZ58/1 x ((Alamir x Corolle) ² FL ² FL x AZ58/1 x AZ58/1	2	2	1	1	10-juin	AZ58/1	16-juin	15	118
Bj16-043	129	BC4	CI63/1 x ((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x CI63/1 x CI63/1	2	2	1	1	13-juin	CI63/1	16-juin	20	217
Bj16-043	131	BC4	CI63/1 x ((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x CI63/1 x CI63/1	2	2	1	1	13-juin	CI63/1	20-juin	19	179
Bj16-045	140	BC4	DA69/3 x ((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x DH60/2 x DA69/3	2	2	2		10-juin	DA69/3	15-juin	15	102
Bj16-063	148	BC4	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1 x CH25/1	2	2	1		13-juin	CH25/1	20-juin	18	160
	154		1 colza (Catalina)	2	2	2		20-juin				

Les autofécondations libres des BC5 (= BC5AF1) ont été semées en parcelle le 4 septembre 2016. Elles seront génotypées pendant l'hiver 2016-2017 puis phénotypées au printemps 2017. Les plantes homozygotes pour BnFLC1 seront autofécondées.

Les graines BC5 obtenues à partir des BC4 ont été semées en serre le 7 septembre 2016. Après génotypage et phénotypage (durée de la phase végétative), vingt-sept ont été sélectionnées et placées en vernalisation le 1er décembre 2016. Les résultats de génotypage sont présentés dans le tableau 9. Elles seront ensuite autofécondées en 2017. A partir de la génération BC5, les plantes seront également autofécondées 2 fois pour obtenir des individus homozygotes pour l'ensemble des gènes d'intérêt. Les populations obtenues à partir de ces individus pourront ensuite être utilisés en sélection généalogique classique, pour la création de lignées isogéniques ou encore la création d'une population source type hiver.

Tableau 9 Récapitulatif du génotypage des 27 plantes interspécifiques du semis du 7 septembre 2016 sélectionnées. Les cases vertes, violettes, rose et marron indiquent respectivement la présence de BnFLC1, BnFri, BnVin3 et BnCo. Les cases jaune indiquent l'absence des marqueurs du génome C.

Famille	n° plante	G°	génotype	BnFLC1	Fri	Vin3	CO	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9
Bj16-452	7	BC5	((Alamir x Corolle) ² FL) ² FL x Corolle x DD84/2 x DD84/2 x DD84/2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Bj16-452	8	BC5	((Alamir x Corolle) ² FL) ² FL x Corolle x DD84/2 x DD84/2 x DD84/2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Bj16-454	12	BC5	((Alamir x Corolle) ² FL) ² FL x Corolle x Corolle x Corolle x Corolle	2	1	1	2	1	1	1	2	1	1	1	1	2
Bj16-454	15	BC5	((Alamir x Corolle) ² FL) ² FL x Corolle x Corolle x Corolle x Corolle	2	1	1	2	1	1	1	2	1	1	1	1	2
Bj16-454	16	BC5	((Alamir x Corolle) ² FL) ² FL x Corolle x Corolle x Corolle x Corolle	2	1	1	2	1	1	1	2	1	1	1	1	2
Bj16-454	18	BC5	((Alamir x Corolle) ² FL) ² FL x Corolle x Corolle x Corolle x Corolle	2	1	1	2	1	1	1	2	1	1	1	1	2
Bj16-455	21	BC5	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x DH60/2 x DA69/3 x DA69/3 x DA69/3	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Bj16-455	27	BC5	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x DH60/2 x DA69/3 x DA69/3 x DA69/3	2	2	2	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1
Bj16-455	29	BC5	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x DH60/2 x DA69/3 x DA69/3 x DA69/3	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Bj16-455	30	BC5	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x DH60/2 x DA69/3 x DA69/3 x DA69/3	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Bj16-456	33	BC5	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x DH60/2 x DH60/2 x DH60/2 x DH60/2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Bj16-456	36	BC5	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x DH60/2 x DH60/2 x DH60/2 x DH60/2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Bj16-458	49	BC5	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x AZ60/1 x AZ60/1 x AZ60/1 x AZ60/1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Bj16-458	52	BC5	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x AZ60/1 x AZ60/1 x AZ60/1 x AZ60/1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Bj16-458	56	BC5	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x AZ60/1 x AZ60/1 x AZ60/1 x AZ60/1	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Bj16-460	58	BC5	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x AO118/2 x DD125/1 x DD125/1 x DD125/1	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Bj16-460	59	BC5	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x AO118/2 x DD125/1 x DD125/1 x DD125/1	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Bj16-462	70	BC5	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x AO118/2 x DD84/2 x DD84/2 x DD84/2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Bj16-462	79	BC5	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x AO118/2 x DD84/2 x DD84/2 x DD84/2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Bj16-464	83	BC5	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x AO118/2 x CB84/4 x AO118/2 x AO118/2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Bj16-464	91	BC5	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x AO118/2 x CB84/4 x AO118/2 x AO118/2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Bj16-465	93	BC5	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x AO118/2 x CB84/4 x CB84/4 x CB84/4	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Bj16-465	96	BC5	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x AO118/2 x CB84/4 x CB84/4 x CB84/4	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Bj16-465	97	BC5	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x AO118/2 x CB84/4 x CB84/4 x CB84/4	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Bj16-468	100	BC5	CI63/1 x ((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x CI63/1 x CI63/1 x CI63/1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Bj16-468	103	BC5	CI63/1 x ((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x CI63/1 x CI63/1 x CI63/1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Bj16-471	121g	BC5	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1 x CH25/1 x CH25/1	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	127	Lignée	DA69/3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	128	Lignée	Corolle	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	129	Colza	Catalina	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2

1.5.Suivi des hybrides interspécifiques entre la moutarde brune et des variétés de colza d'hiver, semés à l'automne 2016

1230 graines issues des rétrocroisements du printemps 2015 ont été semées en semis direct au champ le 2 septembre 2016, soit 17 familles BC5 (hybrides F1 rétrocroisés 5 fois avec de la moutarde brune), 8 familles BC4 et 14 familles BC3/BC4. Le détail des populations semées est disponible dans le tableau 10.

Cinq familles BC5AF1 (autofécondations des premières générations BC5 obtenues en serre) et Cinq familles BC3AF2 (issues des autofécondations du semis de printemps 2016) de 2 fois 75 graines chacune ont aussi été semées, en intercalant les lignées moutarde condimentaire utilisées dans les croisements. Le détail des populations semées est disponible dans le tableau 11. L'ensemble des lignées de moutarde brune utilisées dans les croisements ont été semées fin septembre à la suite de l'essai.

Tableau 10 Plan de la parcelle : populations interspécifiques BC4 à BC5 de la saison 2016-2017 : 41 rangs de 5 mètres de long et espacés de 0,75 mètre

n° de famille	Génotype	Génération	nombre de graines semées	écartement (m)	longueur de l'essai (m)	date semis
Bordure Etamine	Etamine	lignée	75	0,25	0,25	2-sept.-16
Bj16-050	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1 x CH25/1 x CH25/1	BC5	30	0,75	1	2-sept.-16
Bj16-051	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1 x DD84/2 x DD84/2	BC5	30	0,75	1,75	2-sept.-16
Bj16-052	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x Corolle x DI82/5 x DI82/5	BC5	30	0,75	2,5	2-sept.-16
Bj16-053	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x Corolle x CI114/2 x CI114/2	BC5	30	0,75	3,25	2-sept.-16
Bj16-055	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x Corolle x Corolle x Corolle	BC5	30	0,75	4	2-sept.-16
Bj16-056	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x USDA14 x DI82/5 x DI82/5	BC5	30	0,75	4,75	2-sept.-16
Bj16-058	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x AZ116/4 x AZ116/4 x AZ116/4	BC5	30	0,75	5,5	2-sept.-16
Bj16-059	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x CT57/2 x CT57/2 x CT57/2	BC4/BC5	30	0,75	6,25	2-sept.-16
Bj16-060	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x Etamine x Etamine x Etamine	BC4/BC5	30	0,75	7	2-sept.-16
Bj16-061	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x Etamine x DA49/1 x DA49/1	BC4/BC5	30	0,75	7,75	2-sept.-16
Bj16-062	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x DA69/3 x DD84/2 x DD84/2	BC4/BC5	30	0,75	8,5	2-sept.-16
Bj16-064	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x DA69/3 x CI114/2 x CI114/2	BC4/BC5	30	0,75	9,25	2-sept.-16
Bj16-066	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x DA69/3 x BY60/1 x BY60/1	BC4/BC5	30	0,75	10	2-sept.-16
Bj16-067	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x DA69/3 x CJ35/2 x CJ35/2	BC4/BC5	30	0,75	10,75	2-sept.-16
Bj16-069	((Alamir x Corolle) ² FL) ² FL x Corolle x Corolle x Corolle	BC4/BC5	30	0,75	11,5	2-sept.-16
Bj16-070	((Alamir x Corolle) ² FL) ² FL x Corolle x DD84/2 x DD84/2	BC4/BC5	30	0,75	12,25	2-sept.-16
Bj16-071	((Alamir x Corolle) ² FL) ² FL x AZ58/1 x AZ58/1 x AZ58/1	BC4/BC5	30	0,75	13	2-sept.-16
Bj16-072	((Alamir x Corolle) ² FL) ² FL x AO118/2 x DZ100/1 x DZ100/1	BC4/BC5	30	0,75	13,75	2-sept.-16
Bj16-073	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x Ficita x DI82/5 x DI82/5	BC4	30	0,75	14,5	2-sept.-16
Bj16-075	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x Ficita x HT frisée x HT frisée	BC4	30	0,75	15,25	2-sept.-16
Bj16-076	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x Ficita x Ficita x Ficita	BC4	30	0,75	16	2-sept.-16
Bj16-077	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x CA55/1 x CA55/1 x CA55/1	BC4	30	0,75	16,75	2-sept.-16
Bj16-081	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x USDA14 x USDA14 x USDA14	BC4	30	0,75	17,5	2-sept.-16
Bj16-083	((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x USDA14 x CB84/4 x CB84/4	BC4	30	0,75	18,25	2-sept.-16
Bj16-084	((Etamine x Catalina) x DA69/3) x Corolle x DA69/3 x CB84/4 x CB84/4	BC5	30	0,75	19	2-sept.-16
Bj16-086	(Etamine x Alamir) ² x BP43/7 x DH60/2 x DH60/2 x DH60/1	BC4	30	0,75	19,75	2-sept.-16
Bj16-088	(BC1 nat BJ12-52-20) ² x AZ58/1 x AZ58/1 x AZ60/1 x AZ60/1	BC5	30	0,75	20,5	2-sept.-16
Bj16-089	(BC1 nat BJ12-52-20) ² x AZ58/1 x AZ58/1 x AZ58/1 x AZ58/1	BC5	30	0,75	21,25	2-sept.-16
Bj16-090	(BC1 nat BJ12-52-20) ² x AZ58/1 x AZ58/1 x AZ116/4 x AZ116/4	BC5	30	0,75	22	2-sept.-16
Bj16-091	(BC1 nat BJ12-52-20) ² x AZ58/1 x AZ58/1 x CI114/2 x CI114/2	BC5	30	0,75	22,75	2-sept.-16
Bj16-092	(Etamine x Alamir) ² x AZ60/1 x DD125/1 x DD125/1	BC4	30	0,75	23,5	2-sept.-16
Bj16-093	((Etamine x Catalina) x DA69/3) x DA69/3 x DA69/3 x DA69/3 x DA69/3	BC5	30	0,75	24,25	2-sept.-16
Bj16-094	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x CT57/2 x CT57/2 x CT57/2	BC5	30	0,75	25	2-sept.-16
Bj16-095	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x AO118/2 x AO118/2 x AO118/2	BC4/BC5	30	0,75	25,75	2-sept.-16
Bj16-101	((Alamir x Corolle) ² FL) ² FL x USDA14 x Corolle x Corolle	BC4/BC5	30	0,75	26,5	2-sept.-16
Bj16-102	((Alamir x Corolle) ² FL) ² FL x USDA14 x USDA14 x USDA14	BC4/BC5	30	0,75	27,25	2-sept.-16
Bj16-106	(Etamine x Catalina) ² FL x AZ58/1 x AZ58/1 x AZ58/1 x AZ58/1	BC5	30	0,75	28	2-sept.-16
Bj16-108	((Etamine x Catalina) x DA69/3) x Corolle x DA69/3 x Corolle x Corolle	BC5	30	0,75	28,75	2-sept.-16
Bj16-109	((Etamine x Catalina) x DA69/3) x Corolle x DA69/3 x DA69/3 x DA69/3	BC5	30	0,75	29,5	2-sept.-16
Bj16-110	(Etamine x Alamir) ² FL x BY60/1 x BY60/1 x BY60/1 x BY60/1	BC4	30	0,75	30,25	2-sept.-16
Bordure Etamine		lignée	75	0,75	31	2-sept.-16

Tableau 11 Plan de la parcelle : populations interspécifiques BC3AF2 et BC5AF1 de la saison 2016-2017 : 18 doubles rangs de 5 mètres de long.

n° de famille	Génotype	Génération	nombre de graines semées	écartement (m)	longueur de l'essai (m)	date semis
Bj16-578	(((Etamine x Catalina) x DA69/3) x DA69/3 x DA69/3) ² FL	BC3AF1 FL	75	0,5	42,7	2-sept.-16
Bj16-578	(((Etamine x Catalina) x DA69/3) x DA69/3 x DA69/3) ² FL	BC3AF1 FL	75	0,3	43	2-sept.-16
DA69/3	DA69/3	Lignée	75	0,5	43,5	2-sept.-16
DA69/3	DA69/3	Lignée	75	0,3	43,8	2-sept.-16
Bj16-480	(Alamir x Ficita) ² FL x Ficita x DA69/3 x DA69/3 x DA69/3 FL	BC5 FL	75	0,5	44,3	2-sept.-16
Bj16-480	(Alamir x Ficita) ² FL x Ficita x DA69/3 x DA69/3 x DA69/3 FL	BC5 FL	75	0,3	44,6	2-sept.-16
Bj16-596	(((Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1) ² FL ² FL	BC3 AF1 FL	75	0,5	45,1	2-sept.-16
Bj16-596	(((Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1) ² FL ² FL	BC3 AF1 FL	75	0,3	45,4	2-sept.-16
CH25/1	CH25/1	Lignée	75	0,5	45,9	2-sept.-16
CH25/1	CH25/1	Lignée	75	0,3	46,2	2-sept.-16
Bj16-605	(((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x Ficita) ² FL ² FL	BC2 AF1 FL	75	0,5	46,7	2-sept.-16
Bj16-605	(((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x Ficita) ² FL ² FL	BC2 AF1 FL	75	0,3	47	2-sept.-16
Ficita	Ficita	Lignée	75	0,5	47,5	2-sept.-16
Ficita	Ficita	Lignée	75	0,3	47,8	2-sept.-16
Bj16-478	(Alamir x Ficita) ² FL x Ficita x Ficita x Ficita x Ficita FL	BC5 FL	75	0,5	48,3	2-sept.-16
Bj16-478	(Alamir x Ficita) ² FL x Ficita x Ficita x Ficita x Ficita FL	BC5 FL	75	0,3	48,6	2-sept.-16
Bj16-617	(((BC1 nat BJ12-52-20) ² x AZ58/1 x AZ58/1) ² FL ² FL	BC3 AF1 FL	75	0,5	49,1	2-sept.-16
Bj16-617	(((BC1 nat BJ12-52-20) ² x AZ58/1 x AZ58/1) ² FL ² FL	BC3 AF1 FL	75	0,3	49,4	2-sept.-16
Bj16-627	(((Etamine x Catalina) ² FL x AZ58/1 x AZ58/1) ² FL ² FL	BC3 AF1 FL	75	0,5	49,9	2-sept.-16
Bj16-627	(((Etamine x Catalina) ² FL x AZ58/1 x AZ58/1) ² FL ² FL	BC3 AF1 FL	75	0,3	50,2	2-sept.-16
AZ58/1	AZ58/1	Lignée	75	0,5	50,7	2-sept.-16
AZ58/1	AZ58/1	Lignée	75	0,3	51	2-sept.-16
Bj16-497	AZ58/1 x ((Alamir x Corolle) ² FL) ² FL x AZ58/1 x AZ58/1 FL	BC5 FL	75	0,5	51,5	2-sept.-16
Bj16-497	AZ58/1 x ((Alamir x Corolle) ² FL) ² FL x AZ58/1 x AZ58/1 FL	BC5 FL	75	0,3	51,8	2-sept.-16
Bj16-472	(Alamir x Corolle) ² FL x Corolle x Corolle x CB84/4 x CB84/4 FL	BC5 FL	75	0,5	52,3	2-sept.-16
Bj16-472	(Alamir x Corolle) ² FL x Corolle x Corolle x CB84/4 x CB84/4 FL	BC5 FL	75	0,3	52,6	2-sept.-16
CB84/4	CB84/4	Lignée	75	0,5	53,1	2-sept.-16
CB84/4	CB84/4	Lignée	75	0,3	53,4	2-sept.-16
Bj16-474	(Alamir x Corolle) ² FL x Corolle x Corolle x CB84/4 x Corolle FL	BC5 FL	75	0,5	53,9	2-sept.-16
Bj16-474	(Alamir x Corolle) ² FL x Corolle x Corolle x CB84/4 x Corolle FL	BC5 FL	75	0,3	54,2	2-sept.-16
Corolle	Corolle	Lignée	75	0,5	54,7	2-sept.-16
Corolle	Corolle	Lignée	75	0,3	55	2-sept.-16
Bj16-476	(Alamir x Ficita) ² FL x Ficita x Ficita x DD84/2 x DD84/2 FL	BC5 FL	75	0,5	55,5	2-sept.-16
Bj16-476	(Alamir x Ficita) ² FL x Ficita x Ficita x DD84/2 x DD84/2 FL	BC5 FL	75	0,3	55,8	2-sept.-16
DD84/2	DD84/2	Lignée	75	0,5	56,3	2-sept.-16
DD84/2	DD84/2	Lignée	75	0,3	56,6	2-sept.-16

En décembre 2016, 192 plantes de cet essai avaient été prélevées après phénotypage (rosettes bien plaquées au sol contrairement aux témoins type printemps dont les feuilles sont plus érigées) et 96 ont été génotypées.

Génotypage :

Entre novembre 2016 et décembre 2016, 93 plantes appartenant à 7 familles BC5 et 5 familles BC4/BC5 ont été génotypées avec 3 marqueurs moléculaires :

- Le marqueur BnA10R2 pour suivre la conservation du gène BnFLC1 (chromosome A10)
- Le marqueur BnFriR3 pour suivre la conservation du gène BnFrigida (chromosome A03).
- Le marqueur BnVin3 pour suivre la conservation d'un autre gène impliqué dans le processus de vernalisation, le gène Vernalization Insensitive 3 (chromosome A03).
- Les 10 marqueurs microsatellites spécifiques du génome du colza seront passés une fois que l'ensemble des plantes seront génotypées et seulement sur les plantes possédant les caractères de vernalisation. Le développement et la validation des marqueurs est détaillé dans le chapitre « Développement de nouveaux marqueurs moléculaires ».

BnFLC1 est présent dans 11 familles sur les 12 familles testées. Par contre, les plantes de la famille ayant perdu BnFLC1 possèdent toutes BnFri. Ces 11 familles comptent au total 83 plantes. Cinquante plantes ont conservé BnFLC1, soit 54 % des plantes, ce qui est un peu supérieur au ratio de 50% habituellement observé en rétrocroisement pour un gène, sans phénotypage préalable. Trente-huit de ces plantes ont conservé BnFLC1 et BnFri, soit 70% des plantes ayant BnFLC1, ce qui au-dessus du ratio espéré de 50% habituellement observé en rétrocroisement sans phénotypage préalable. Parmi ces 38 plantes, 18 appartiennent à des familles issues de plantes possédant BnVin3 l'année précédente. Elles ont toutes également conservé BnVin3 soit 100% des plantes. Ce ratio, largement supérieur au 50% attendu nous confirme l'hypothèse émise il y a deux ans, à savoir que BnVin3 et BnFri serait sur le même QTL de floraison sur le chromosome A03 du colza et donc liés génétiquement.

Les résultats de génotypage sont dans les tableaux 12 et 13.

Tableau 12 Résultats du génotypage des plantes BC5 et BC4/BC5 prélevées en novembre 2016. Les cases vertes, violettes et rose indiquent respectivement la présence de BnFLC1, BnFri et BnVin3.

Masternumbers	G°	semis	Génotype	BnA10R2	Fri	Vin3
Bj16-050-01	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1 x CH25/1 x CH25/1	2	2	1
Bj16-050-02	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1 x CH25/1 x CH25/1	2	2	1
Bj16-050-03	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1 x CH25/1 x CH25/1	1	1	1
Bj16-050-04	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1 x CH25/1 x CH25/1	1	2	1
Bj16-050-05	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1 x CH25/1 x CH25/1	2	2	1
Bj16-050-06	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1 x CH25/1 x CH25/1	1	2	1
Bj16-050-07	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1 x CH25/1 x CH25/1	1	1	1
Bj16-050-08	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1 x CH25/1 x CH25/1	2	2	1
Bj16-050-09	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1 x CH25/1 x CH25/1	1	2	1
Bj16-051-01	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1 x DD84/2 x DD84/2	1	2	1
Bj16-051-02	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1 x DD84/2 x DD84/2	2	2	1
Bj16-051-03	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1 x DD84/2 x DD84/2	2	2	1
Bj16-051-04	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1 x DD84/2 x DD84/2	2	1	1
Bj16-051-05	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1 x DD84/2 x DD84/2	2	2	1
Bj16-051-06	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1 x DD84/2 x DD84/2	2	1	1
Bj16-051-07	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1 x DD84/2 x DD84/2	2	2	1
Bj16-051-08	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1 x DD84/2 x DD84/2	2	1	1
Bj16-052-01	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x Corolle x DI82/5 x DI82/5	2	1	1
Bj16-052-02	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x Corolle x DI82/5 x DI82/5	2	2	1
Bj16-052-03	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x Corolle x DI82/5 x DI82/5	1	1	1
Bj16-052-04	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x Corolle x DI82/5 x DI82/5	2	1	1
Bj16-052-05	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x Corolle x DI82/5 x DI82/5	1	1	1
Bj16-052-06	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x Corolle x DI82/5 x DI82/5	2	2	1
Bj16-053-01	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x Corolle x CI114/2 x CI114/2	1	1	1
Bj16-053-02	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x Corolle x CI114/2 x CI114/2	2	1	1
Bj16-053-03	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x Corolle x CI114/2 x CI114/2	2	2	1
Bj16-053-04	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x Corolle x CI114/2 x CI114/2	1	1	1
Bj16-053-05	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x Corolle x CI114/2 x CI114/2	2	2	1
Bj16-053-06	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x Corolle x CI114/2 x CI114/2	1	2	1
Bj16-053-07	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x Corolle x CI114/2 x CI114/2	1	1	1
Bj16-053-08	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x Corolle x CI114/2 x CI114/2	1	2	1
Bj16-053-09	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x Corolle x CI114/2 x CI114/2	1	1	1
Bj16-053-10	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x Corolle x CI114/2 x CI114/2	1	2	1
Bj16-055-01	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x Corolle x Corolle x Corolle	1	1	1
Bj16-055-02	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x Corolle x Corolle x Corolle	2	2	1
Bj16-055-03	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x Corolle x Corolle x Corolle	2	2	1
Bj16-055-04	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x Corolle x Corolle x Corolle	2	2	1
Bj16-055-05	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x Corolle x Corolle x Corolle	1	1	1
Bj16-055-06	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x Corolle x Corolle x Corolle	1	2	1
Bj16-055-07	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x Corolle x Corolle x Corolle	1	2	1

Tableau 13 Suite des résultats du génotypage des plantes BC5 et BC4/BC5 prélevées en novembre 2016. Les cases vertes, violettes et rose indiquent respectivement la présence de BnFLC1, BnFri et BnVin3.

Bj16-056-01	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x USDA14 x DI82/5 x DI82/5	1	1	1
Bj16-056-02	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x USDA14 x DI82/5 x DI82/5	2	1	1
Bj16-056-03	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x USDA14 x DI82/5 x DI82/5	2	1	1
Bj16-056-04	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x USDA14 x DI82/5 x DI82/5	1	2	1
Bj16-056-05	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x USDA14 x DI82/5 x DI82/5	1	1	1
Bj16-058-01	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x AZ116/4 x AZ116/4 x AZ116/4	1	2	1
Bj16-058-02	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x AZ116/4 x AZ116/4 x AZ116/4	1	2	1
Bj16-058-03	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x AZ116/4 x AZ116/4 x AZ116/4	1	2	1
Bj16-058-04	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x AZ116/4 x AZ116/4 x AZ116/4	1	2	1
Bj16-058-05	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x AZ116/4 x AZ116/4 x AZ116/4	1	2	1
Bj16-058-06	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x AZ116/4 x AZ116/4 x AZ116/4	1	2	1
Bj16-058-07	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x AZ116/4 x AZ116/4 x AZ116/4	1	2	1
Bj16-058-08	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x AZ116/4 x AZ116/4 x AZ116/4	1	2	1
Bj16-058-09	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x AZ116/4 x AZ116/4 x AZ116/4	1	2	1
Bj16-058-10	BC5	04/09/2016	(Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x AZ116/4 x AZ116/4 x AZ116/4	1	2	1
Bj16-059-01	BC4/BC5	04/09/2016	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x CT57/2 x CT57/2 x CT57/2	1	1	1
Bj16-059-01	BC4/BC5	04/09/2016	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x CT57/2 x CT57/2 x CT57/2	1	2	1
Bj16-059-01	BC4/BC5	04/09/2016	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x CT57/2 x CT57/2 x CT57/2	1	1	1
Bj16-059-01	BC4/BC5	04/09/2016	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x CT57/2 x CT57/2 x CT57/2	2	2	1
Bj16-059-01	BC4/BC5	04/09/2016	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x CT57/2 x CT57/2 x CT57/2	2	2	1
Bj16-059-01	BC4/BC5	04/09/2016	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x CT57/2 x CT57/2 x CT57/2	2	2	1
Bj16-059-01	BC4/BC5	04/09/2016	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x CT57/2 x CT57/2 x CT57/2	2	2	1
Bj16-060-01	BC4/BC5	04/09/2016	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x Etamine x Etamine x Etamine	1	1	1
Bj16-060-02	BC4/BC5	04/09/2016	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x Etamine x Etamine x Etamine	1	2	2
Bj16-060-03	BC4/BC5	04/09/2016	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x Etamine x Etamine x Etamine	2	2	2
Bj16-060-04	BC4/BC5	04/09/2016	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x Etamine x Etamine x Etamine	2	1	1
Bj16-060-05	BC4/BC5	04/09/2016	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x Etamine x Etamine x Etamine	1	1	1
Bj16-060-06	BC4/BC5	04/09/2016	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x Etamine x Etamine x Etamine	1	2	2
Bj16-061-01	BC4/BC5	04/09/2016	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x Etamine x DA49/1 x DA49/1	2	2	2
Bj16-061-02	BC4/BC5	04/09/2016	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x Etamine x DA49/1 x DA49/1	2	2	2
Bj16-061-03	BC4/BC5	04/09/2016	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x Etamine x DA49/1 x DA49/1	2	2	2
Bj16-061-04	BC4/BC5	04/09/2016	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x Etamine x DA49/1 x DA49/1	2	2	2
Bj16-061-05	BC4/BC5	04/09/2016	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x Etamine x DA49/1 x DA49/1	2	2	2
Bj16-061-06	BC4/BC5	04/09/2016	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x Etamine x DA49/1 x DA49/1	2	2	2
Bj16-061-07	BC4/BC5	04/09/2016	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x Etamine x DA49/1 x DA49/1	2	2	2
Bj16-061-08	BC4/BC5	04/09/2016	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x Etamine x DA49/1 x DA49/1	2	1	1
Bj16-062-01	BC4/BC5	04/09/2016	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x DA69/3 x DD84/2 x DD84/2	1	1	1
Bj16-062-02	BC4/BC5	04/09/2016	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x DA69/3 x DD84/2 x DD84/2	1	1	1
Bj16-062-03	BC4/BC5	04/09/2016	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x DA69/3 x DD84/2 x DD84/2	2	1	1
Bj16-062-04	BC4/BC5	04/09/2016	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x DA69/3 x DD84/2 x DD84/2	2	1	1
Bj16-062-05	BC4/BC5	04/09/2016	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x DA69/3 x DD84/2 x DD84/2	1	1	1
Bj16-062-06	BC4/BC5	04/09/2016	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x DA69/3 x DD84/2 x DD84/2	2	2	2
Bj16-062-07	BC4/BC5	04/09/2016	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x DA69/3 x DD84/2 x DD84/2	2	2	2
Bj16-062-08	BC4/BC5	04/09/2016	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x DA69/3 x DD84/2 x DD84/2	2	2	2
Bj16-062-09	BC4/BC5	04/09/2016	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x DA69/3 x DD84/2 x DD84/2	1	1	1
Bj16-062-10	BC4/BC5	04/09/2016	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x DA69/3 x DD84/2 x DD84/2	2	2	2
Bj16-064-01	BC4/BC5	04/09/2016	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x DA69/3 x CI114/2 x CI114/2	2	2	2
Bj16-064-02	BC4/BC5	04/09/2016	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x DA69/3 x CI114/2 x CI114/2	2	2	2
Bj16-064-03	BC4/BC5	04/09/2016	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x DA69/3 x CI114/2 x CI114/2	2	2	2
Bj16-064-04	BC4/BC5	04/09/2016	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x DA69/3 x CI114/2 x CI114/2	2	2	2
Bj16-064-05	BC4/BC5	04/09/2016	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x DA69/3 x CI114/2 x CI114/2	2	2	2
Bj16-064-06	BC4/BC5	04/09/2016	((Etamine x Catalina) ² FL) ² FL x DA69/3 x CI114/2 x CI114/2	2	2	2

2. Développement de nouveaux marqueurs moléculaires

2.1. Résultats 2011-2015

Afin de vérifier le statut hybride des plantes F1, la conservation du gène BnFLC1 et le retour au fond génétique de la moutarde, nous avons développé en 2011 des marqueurs moléculaires spécifiques du colza et de la moutarde, soit espèces spécifiques (RAPD, ISSR ou SSR) soit spécifiques du gène de floraison FLC1 (A7 et A11) comme montré dans le tableau 5. Les trois premiers marqueurs du gène de vernalisation FLC1 ont été développés conjointement avec Cyril Falentin (INRA de Rennes). Les autres marqueurs du gène FLC1, ceux des gènes Frigida, Vernalization Insensitive 3 (Vin3) et Constans (Co) ont été exclusivement développés à AgroSupDijon, en 2013 et 2015.

Tableau 14 Récapitulatif des marqueurs développés en 2011-2015

Marqueur	Référence	Nature	Type	Taille
UBC 812	Huangfu et al. 2011	ISSR	codominant	7 bandes de ~400 à ~1250 pb
UBC 849	Huangfu et al. 2011	ISSR	codominant	~600 et ~1000pb
UBC 891	Huangfu et al. 2011	ISSR	codominant	4 bandes de ~600 à ~1250 pb
pBNBH35	Schelfhout et al. 2004	Spécifique du génome B	dominant	329 pb
Bn83B1	Szewc-McFadden et al. 1996	SSR	dominant	194 pb
A7	Cyril Falentin (INRA Rennes)/AgroSup/Welience	Spécifique du gène FLC1	dominant	1160 pb
A11	Cyril Falentin (INRA Rennes)/AgroSup/Welience	Spécifique du gène FLC1	codominant	1611 pb ou ~ 2500 pb
BnA10	Cyril Falentin (INRA Rennes)/AgroSup/Welience	Spécifique du gène FLC1	récessif	660 pb
BnA10R2	AgroSup Dijon/Welience	Spécifique du gène FLC1	dominant	693 pb
Exon 7	AgroSup Dijon/Welience	Spécifique du gène FLC1	dominant	126 pb
BnFri-R3	AgroSup Dijon/Welience	Spécifique du gène BnFrigida	dominant	460 pb
BnVin3A03 F1-R2	AgroSup Dijon/Welience	Spécifique du gène BnVin3 A03	dominant	~500 pb
BnCo C09	AgroSup Dijon/Welience	Spécifique du gène BnConstans C09	codominant	100 pb ou 105 pb

Nous avons identifié en 2011, chez la moutarde, une copie du gène FLC orthologue de BnFLC1 du colza (données non publiées) que nous avons nommé BjFLC1. Il est composé de 7 exons et 6 introns. Quatre marqueurs ont été développés, un au début du gène (A7), un sur une zone codante à la fin du gène (Exon7), et deux situés sur la zone promotrice du gène (BnA10 et BnA10R2). Cette zone a été identifiée en 2012 comme la zone différenciant les types hiver et les types printemps chez le colza ((Hou et al. 2012). Ces marqueurs permettent de vérifier l'introgression de la totalité du gène. Un test en champ au printemps 2013 sur une population BC1 non vernalisée a permis de valider ces marqueurs mais a aussi mis en évidence le fait que BnFLC1 ne serait pas le seul gène impliqué dans le processus de vernalisation même s'il est cité dans les publications comme le gène majeur. En effet,

certaines plantes possédant BnFLC1 sont quand même montées à fleur avec un retard de 2 semaines par rapport à celles ayant perdu BnFLC1.

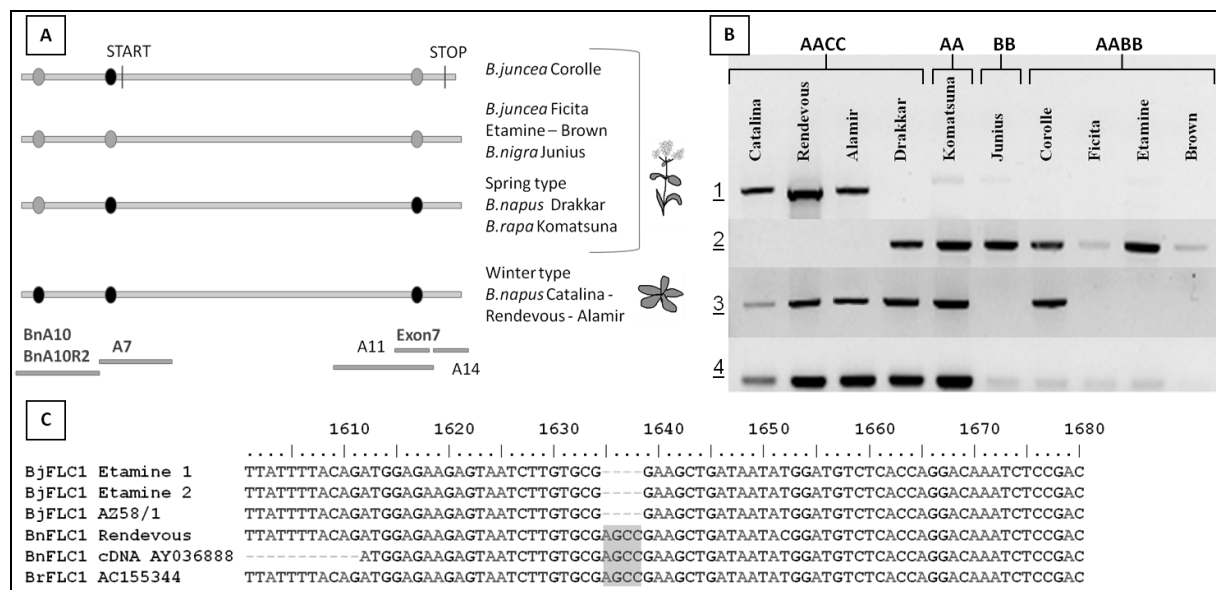


Figure 9 Analyse du polymorphisme de FLC1. **A.** Représentation schématique de la localisation des différents marqueurs développés sur le gène FLC1. Les polymorphismes sont figurés par des points ovales. "START" et "STOP" représentent le codon start et le codon stop. Seuls les marqueurs situés sur zone BnA10 permettent de discriminer les types printemps des types hiver. Les marqueurs A7 et Exon 7 permettent de suivre BnFLC1 en fonction de la moutarde utilisée en croisement. **B.** Amplification des quatre fragments dans les différents génotypes. 1: BnA10R2, 2: BnA10, 3: Amplicon7 et 4: Exon7. La composition du génome de chaque espèce est donnée en haut de l'image: AACC pour *B. napus*, AA pour *B. rapa*, BB pour *B. nigra* et AABB pour *B. juncea*. Les variétés de colza Catalina, Rendezvous et Alimir sont des types hiver, Drakkar est un type printemps. **C.** Alignement des séquences de l'amplicon 11 de *B. juncea* (cv. Etamine et AZ58 / 1), *B. napus* type hiver (cv. Rendezvous et BnFLC1 ADNc AY036888) et *B. rapa* (BrFLC1 AC155344). L'insertion/délétion de quatre paires de bases AGCC est mis surligné en gris.

Il a été montré que FLC1 n'était pas le seul gène impliqué dans le processus de vernalisation même s'il est cité dans les publications comme le gène majeur. Nous avons donc étudié le polymorphisme d'autres gènes responsables de la précocité de floraison/vernalisation chez les Brassicacées et lancé le développement de marqueurs moléculaires liés à ces gènes en vue de sélection assistée par marqueur.

Comme l'indique le schéma de la figure 10, trois autres gènes d'intérêt sont fortement impliqués la précocité de floraison/vernalisation chez les Brassicacées (Jung et Müller, 2009) via les voies de la vernalisation (Frigida = Fri et Vernalisation Insensitive 3 = Vin3) et de la photopériode (Constans = Co). Frigida et Vin3 régulent l'activité de FLC1 en fonction du froid. Le gène Constans, lui, agit sur le déclenchement de la floraison en fonction de la photopériode (durée du jour).

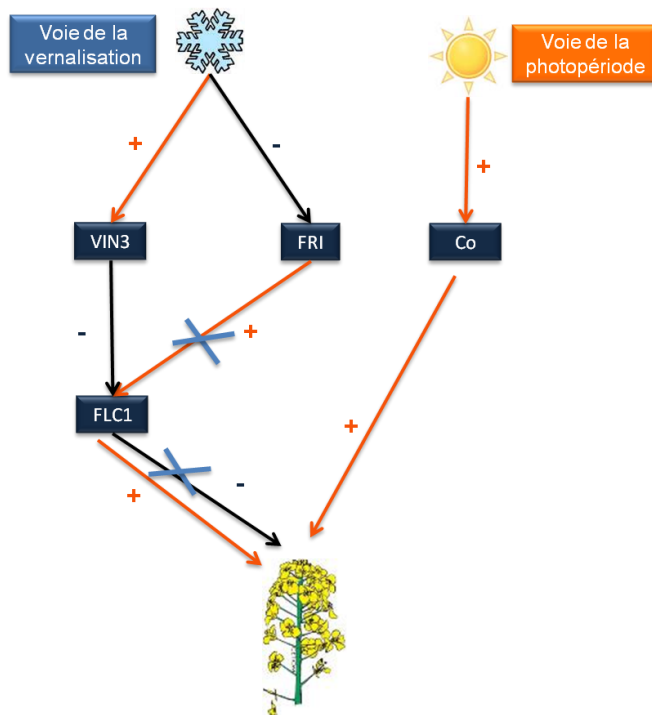


Figure 10 Gènes impliqués dans le mécanisme de floraison chez les Brassicacées (Jung et Müller, 2009)

Pour plus de clarté, la figure 11 rappelle les relations génétiques entre les différentes espèces étudiées. La moutarde *B. juncea* est une espèce tétraploïde (elle cumule les deux génomes A et B) issue de l'hybridation spontanée entre deux espèces diploïdes : la moutarde noire *B. nigra* (génome B) et la navette *B. rapa* (génome A). Le colza est lui aussi une espèce tétraploïde (génome A et C) issue de l'hybridation spontanée entre deux espèces diploïdes : le chou *B. oleracea* (génome C) et la navette *B. rapa* (génome A). La moutarde et le colza ont donc la moitié de leurs chromosomes provenant du même génome, le génome A de la navette.

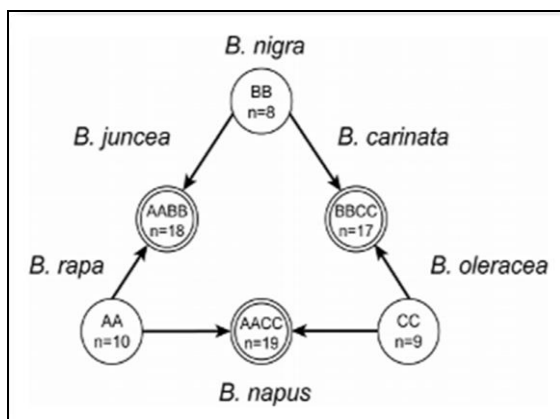


Figure 11 Relations génétiques entre les différentes espèces de Brassicacées (U, 1935)

Un nouveau marqueur lié à un second gène, Frigida, impliqué dans le processus de vernalisation a été mis au point au printemps 2014. Il nous permet de suivre l'introgression de BnFri (*B. napus* Frigida génome A) dans nos croisements. Afin de valider l'intérêt de ce gène, le marqueur BnFriR3 a été testé sur l'ADN des plantes du semis de printemps du 25 Avril 2013, soit 30 plantes de la population F2/BC1 Bj12-029 (Alamir x Corolle)² FL dont le stade de développement avait été noté pour chaque plante le 12 juillet 2013.

Les résultats sont présentés dans la figure 12. 100% des plantes au stade rosette, 67% des plantes au stade floraison et 50% des plantes en siliques possèdent l'allèle « hiver » du colza BnFri (*Brassica napus* Frigida). Plus les plantes ont fleuri précocement (pas de besoin en vernalisation ou besoin moindre), moins l'allèle « hiver » est présent. Ce test montre l'implication de BnFri dans le processus de vernalisation, en association avec d'autres gènes.

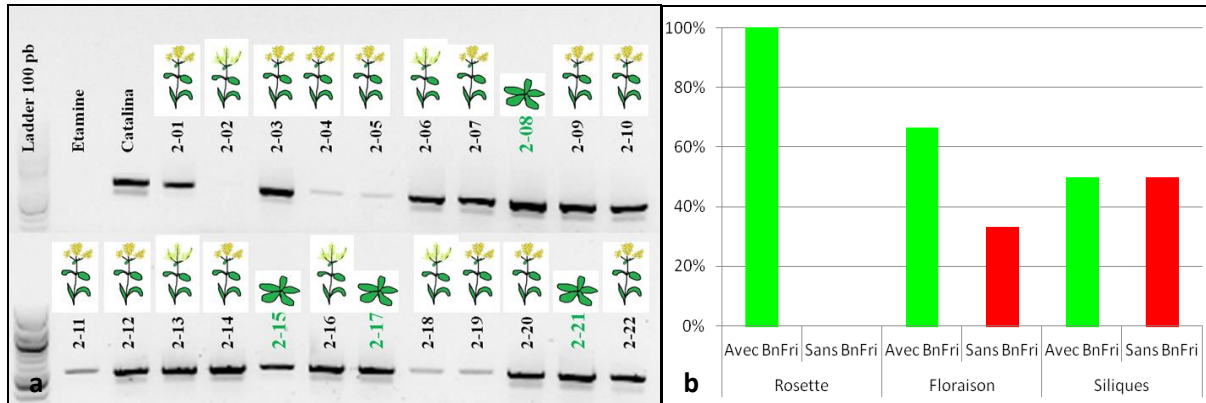


Figure 12 a. Génotypage d'une population F2/BC1 (Alamir x Corolle)² semée le 25 Avril 2013 grâce au marqueur moléculaire BnFri3 **b.** Pourcentage de plantes de cette même population en fonction de leur génotype et de leur stade de développement au 12 juillet 2013.

Un marqueur du gène de photopériode Constans (CO) a été développé durant l'été 2014. Un couple d'amorces nous a permis de différencier colza et moutarde (figure 13). Cependant il ne permet pas d'amplifier de fragments d'ADN du génome A mais seulement le génome B chez la moutarde et le génome C chez le colza.

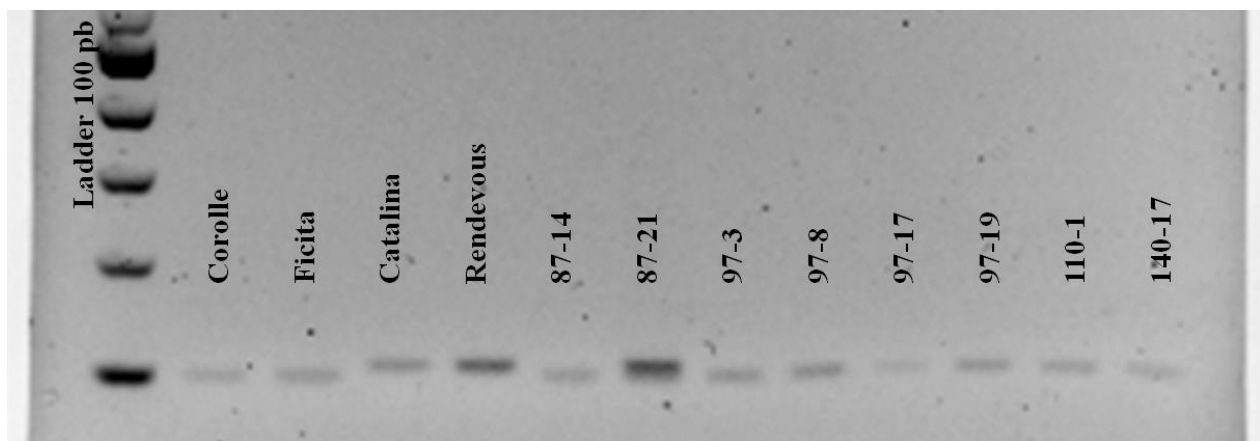


Figure 13 Amplification d'un fragment du gène Constans chez B. juncea (Corolle et Ficita), B. napus (type hiver Catalina et Rendezvous) et des hybrides BC2. Le fragment correspondant au gène du colza est plus grand que celui observé chez la moutarde. Chez les hybrides, seule la plante 87-21 a conservé le gène Co du colza.

Ce marqueur est lié au gène CO du colza présent sur le chromosome C9 et non sur un chromosome du génome A, commun au colza et à la moutarde. Ce marqueur a été testé sur 170 plantes semées le 4 avril 2014 en serre. Par rapport aux témoins moutarde, un retard de floraison est observé quand les plantes possèdent FLC1 et/ ou Frigida. Par contre, il n'y a aucun décalage de floraison avec Constans. Ceci est peut-être dû au fait que le semis a eu lieu en avril, en jours longs.

Par contre, nous avons également génotypé les plantes du semis d'automne 2013 et comparé les résultats aux dates de floraison des plantes au printemps 2014. Il semblerait que les plantes possédant CO aient tendance à fleurir plus précocement, comme montré en figure 14, mais cela reste à confirmer. Avec BnCo, une plus grande proportion des plantes a fleuri la semaine du 6 avril 2014.

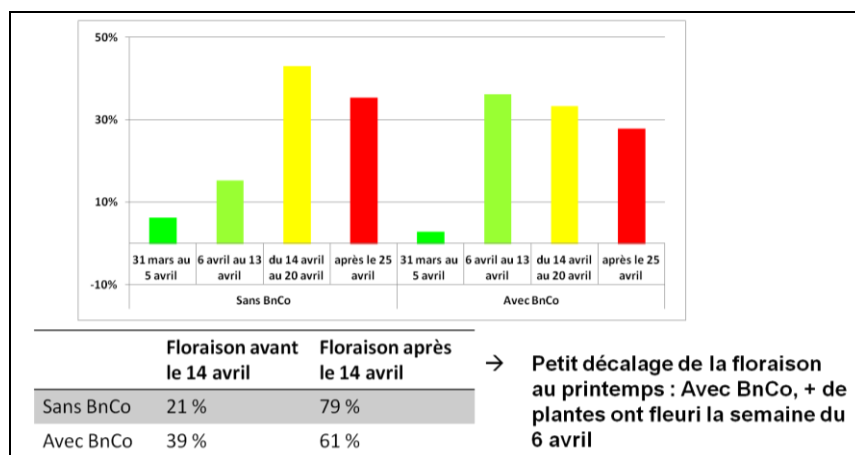


Figure 14 Répartition des plantes du semis d'automne 2013 (181 plantes BC1 et BC2) en fonction de leur date de floraison (notations au printemps 2014) et de leur génotype vis-à-vis de BnCo (chromosome C9).

Gène *Vernalization Insensitive 3* = *Vin3*

Concernant le gène *VIN3* (vernalization insensitive 3), un premier clonage et séquençage a été réalisé début 2014 sur un fragment du gène mais il n'a pas permis de révéler de différence de séquence entre le colza et la moutarde.

Grâce aux travaux de Schiessl et al (2014) récemment publiés, nous avons eu accès à de nouvelles séquences de gènes de floraison et en particulier *Vin3* issus de différents types de colza. Ceci nous a permis de développer un nouveau marqueur sur le gène *Vin3*, situé sur le chromosome A03. Cinq couples d'amorces ont été testés sur nos témoins moutarde afin de détecter du polymorphisme moléculaire entre la moutarde (Corolle, Ficita et Etamine), le colza (Rendevous et Catalina) et la navette (Komatsuna). Les résultats sont présentés en figure 15.

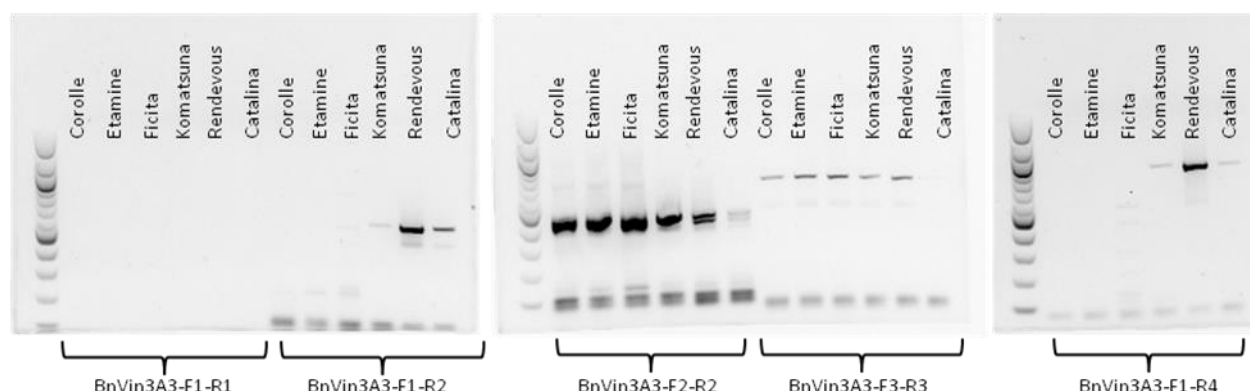


Figure 15 Essais d'amplification de fragment du gène *Vin3* chez trois moutarde (Corolle, Etamine et Ficita), une navette (Komatsuna) et deux colzas d'hiver (Rendevous et Catalina) avec cinq couples d'amorces spécifiques.

Avec les couples F1-R2 et F1-R4, nous observons une bande uniquement chez le colza (AACC) et la navette (AA), absente chez la moutarde (AABB). Nous avons décidé d'utiliser le couple F1-R2 en

routine, le fragment étant plus court que celui amplifié avec F1-R4 (gain de temps pour la réaction PCR). Un polymorphisme entre les espèces au niveau d'une des trois amorces (F1, R2 ou R4) est donc détecté. Avec le couple F3 – R3, nous observons une seule bande, chez tous les génotypes. Ce fragment contient les séquences des amorces R2 et R4. Afin de savoir au niveau de quelle(s) amorce(s) se situe le polymorphisme (F1, R2 et/ou R4), nous avons décidé de cloner le fragment F3-R3 qui contient les amorces R2 et R4. Le fragment a été cloné et séquencé dans les deux sens (obtention de séquences sens et séquences antisens) pour deux colzas (Rendevous et Catalina), une navette (Komatsuna) et une moutarde brune (Vitamine). Les séquences sens et antisens obtenues ont été alignées à l'aide du logiciel BioEdit. Aucune différence de séquence n'a été détectée au niveau des amorces R2 et R4, ce qui indique que le polymorphisme observé avec les couples d'amorces F1-R2 et F1-R4 se trouve exclusivement sur l'amorce F1.

Validation des gènes et localisation de BnVin3A03

L'intérêt des marqueurs moléculaires liés à BnFLC1, BnFri, BnCo et BnVin3 a été à nouveau testé sur le semis de d'avril 2014 en serre et sur un semis en plein champ en avril 2015. Ces essais ont montré que la présence de BnFLC1, BnFri et BnVin3 et les retards de floraison observés sans vernalisation sont corrélés statistiquement.

Nous avons donc entrepris une détection de QTL par analyse de variance qui nous a permis de conclure à la présence d'un QTL lié au marqueur BnVin3 F1-R2 et contenant également BnFri. Cette hypothèse de localisation de BnVin3 sur un QTL de floraison contenant également BnFrigida nous a été confirmé en 2015 lors du génotypage des premières familles BC4 et BC3/BC4 semées au champ le 4 septembre 2015.

2.2. Travaux 2016

En 2016, les marqueurs des gènes BnFLC1, BnFri, BnVin3 et BnCO décrits dans les paragraphes précédents ont été utilisés en routine.

Validation de l'intérêt d'avoir des plantes homozygotes pour BnFLC1 par génotypage d'un semis de printemps en parcelle au printemps 2016

Les descendants de 5 familles BC3AF1 issues d'autofécondations de 2015 ont été semés la semaine du 11 avril 2016, en petites parcelles de 300 graines. Le but de cette étude est de repérer les individus présentant un retard de floraison et de vérifier leur génotype, et en particulier pour voir s'ils sont homozygotes pour le gène BnFLC1. En effet, pour le moment, les études précédentes ont surtout été faites sur des populations de rétrocroisements où les plantes sont forcément hétérozygotes pour les gènes d'intérêt. Le 9 juin 2016, des échantillons de feuilles de 60 plantes au stade rosette ont été prélevés.

Quatre de ces populations sont les mêmes populations que celles semées à l'automne 2015 : deux populations possédant BnFLC1 + BnFrigida : Bj15-226 et Bj15-306 ainsi que 2 populations possédant BnFLC1 + BnFrigida + BnVin3 : Bj15-210 et Bj15-291. Une population avec Ficta possédant les 3 gènes d'intérêt (Bj15-276) a également été semée. Le génotype de ces familles est disponible dans la figure 16.

BJ15-210	(((Etamine x Catalina) x DA69/3) x DA69/3 x DA69/3)
BJ15-226	((Alamir x Corolle) ² FL x CH25/1 x CH25/1) ²
BJ15-291	((BC1 nat BJ12-52-20) ² x AZ58/1 x AZ58/1) ²
BJ15-276	(((BC1 nat 96-1/2/3) ² = BJ12-52-20) ² FL x Ficta) ² FL
BJ15-306	((Etamine x Catalina) ² FL x AZ58/1 x AZ58/1) ²

Figure 16 Génotypes des familles semées en parcelle le 11 avril 2016.

Les soixante plantes présentant un retard de floraison ont finalement fleuri autour du 20 juin avec 15 jrs de retard sur les lignées témoins, aux alentours du solstice d'été, ce qui prouve que deux voies sont bien impliquées dans la floraison : la voie de la vernalisation et la voie de la photopériode comme montré en figure 10. Ceci n'est pas un problème pour les semis d'automne car la durée du jour diminue en automne, avec des semis à trois mois du solstice d'hiver.

Les plantes ont été génotypées avec les marqueurs BnA10 (BjFLC1), BnA10R2 (BnFLC1), BnFri, et BnVin3. Les résultats sont présentés sur le graphique de la figure 17.

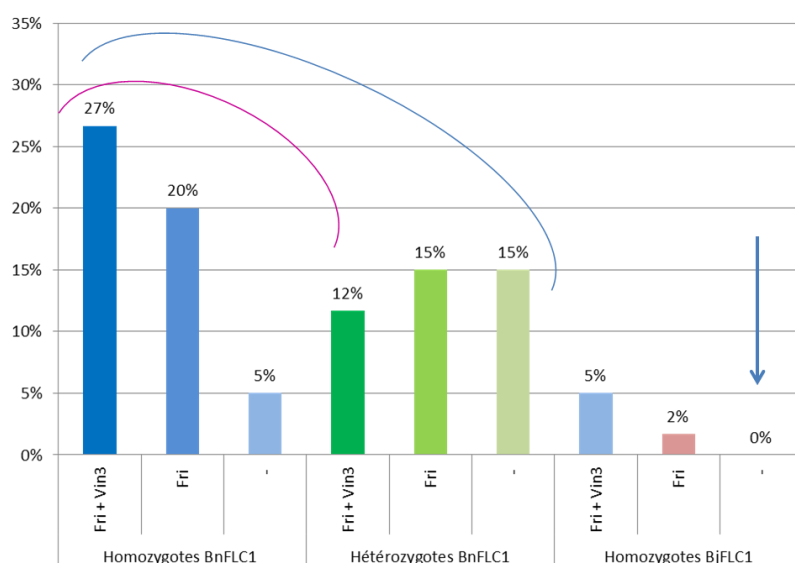


Figure 17 Répartition de 60 plantes BC3AF1 du semis de printemps prélevées le 9 juin 2016 et présentant un retard de floraison en fonction de leur génotype.

Sur des individus pris au hasard dans une population d'autofécondation, pour un gène donné, nous nous attendons à avoir 75 % des plantes possédant le marqueur et 25% de plantes homozygotes pour celui-ci. C'est ce que nous avons observé pour BnFri et BnVin3 avec : 78 % des plantes possédant BnFri et pour les 3 familles avec BnVin3, 72 % des plantes possédant BnVin3. Par contre, 93 % des plantes possédaient BnFLC1 et trente-deux de ces plantes étaient homozygotes pour BnFLC1, soit 52%, ce qui est largement au-dessus des 75 % et 25% respectivement attendus et prouve une fois encore le rôle de BnFLC1 dans le retard de floraison sans vernalisation. Par ailleurs, aucune plante n'a aucun gène BnFLC1, BnFri ou BnVin3.

Les 32 plantes homozygotes BnFLC1 (52%) sont réparties dans toutes les familles. Les plantes homozygotes pour BnFLC1 et possédant au moins BnFri ont été autofécondées et les graines BC3AF2 obtenues ont été semées en parcelle le 4 septembre 2016 (tableau 11). Elles seront génotypées pendant l'hiver 2016-2017. Les plantes homozygotes pour les deux gènes seront comparées à leurs lignées de moutarde brune d'origine.

2.3. Développement de marqueurs spécifiques du génome C du colza

En 2013-2014, afin de contrôler le retour au fond génétique de la moutarde, des marqueurs des neuf chromosomes du génome C (que nous voulons éliminer) ont été recherchés. 9 marqueurs microsatellites (SSR) spécifiques du génome C ont été retenus et testés : MR025 pour le chromosome C1, Na14H11 pour C2, Na10-D03 et Na10-C01 pour C3, CB10288 pour C4, MR129 pour C5, CB10544B pour C6, CB10268A pour C7 et CB10504B pour C8 et Bn83B1 pour C9. Leurs séquences sont disponibles sur la base de données Brassica DB. Après réactions PCR sur nos échantillons témoins, nous avons validé les 8 marqueurs SSR situés sur les chromosomes 1, 3 (2 marqueurs), 4, 5, 6, 7 et 8 et rejeté le marqueur Na14H11. Selon la taille des fragments attendus, les produits PCR sont séparés sur gel d'agarose ou gel d'acrylamide, plus résolutif. Cette dernière technique est mise en œuvre sur la plate-forme Li-Cor de l'INRA. Pour le suivi du chromosome C9, le marqueur SSR Bn83B1 a été retenu (Szewc-McFadden et al. 1996).

En 2015, ces marqueurs sont utilisés en routine. Un marqueur pour le chromosome C2 a été recherché dans les bases de données. Quatre marqueurs microsatellites (SSR) spécifiques du génome C, chromosome 2 ont été sélectionnés (Ni2-C12, Na12-A01, CB103-16 et CB100-26) à partir des études de Tsuda et al. (2012). Les séquences des amorces ont été récupérées dans la base de données Brassica DB. Nous avons validé le marqueur Ni2-C12 après analyse sur des témoins lignées pures moutarde et colza en mars 2015. Il a été utilisé en routine le reste de l'année 2015.

En 2016, ces neuf marqueurs ont été utilisés en routine.

2.4 Perspective concernant le développement de marqueurs moléculaires

Le conseil scientifique de l'Association Moutarde de Bourgogne a validé les études réalisées sur les marqueurs moléculaires développés sur les 4 gènes principaux de floraison (FLC1, Frigida, Vin3 et Co) et les marqueurs moléculaires du génome C du colza. En 2016, ces marqueurs ont été utilisés en routine.

Les recherches de nouveaux marqueurs se concentreront désormais sur la résistance à la rouille blanche. En effet, le colza étant résistant à la rouille blanche, il est possible que des gènes de résistance aient été conservés dans les populations hybrides.

2.5 Résultats des projets étudiants sur la rouille blanche

Nous avons pris en compte la problématique des attaques de rouille blanche pour la sélection des nouvelles variétés. La sensibilité ou la tolérance à la rouille blanche ont été notées dans la parcelle de

sélection et dans la parcelle vernalisation au printemps 2015. Des échantillons de hampes florales contaminées ont été prélevés et stockés à -20°C.

Avec un groupe d'étudiants en dernière année à AgroSup Dijon, nous avons fait une recherche bibliographique sur la mise en place de tests pathologiques dans l'idée de pouvoir tester un grand nombre de variétés en chambre climatisée, ainsi que sur les connaissances actuelles de résistance génétique à la rouille blanche.

Les étudiants ont essayé de mettre en place un test pathologique à partir des prélèvements de rouille blanche du printemps 2015. Ils ont obtenus des inocula avec des sporanges mais pas de spores mobiles, ce qui n'a pas permis d'observer de symptômes sur les plantes.

Trois marqueurs moléculaires ont été testés sur des variétés se différenciant par leur tolérance ou non à la rouille blanche d'après nos observations sur la parcelle de sélection l'année précédente. Ils ont été mis au point par des équipes de recherche indiennes (Varshney et al. 2003 ; Panjabi-Massand et al. 2010). La liste des variétés testées est présentée dans le tableau ci-après.

Tableau 15 Liste des variétés testées lors des projets étudiants sur la rouille blanche en 2016.

Variétés	Caractéristiques
colza Catalina	Témoin Résistant
DD125/1	Tolérant
DD84/3	Tolérant
CA12/1	Tolérant
DH67/1	Tolérant
BC23/1	Tolérant
DD84/2	Tolérant
Donskaja V	Tolérant
Brown	Sensible
Espérance	Sensible
CT57/2	Sensible
DW13/5	Sensible
BY72/2	Sensible
BY40/1	Sensible
DB39/4	Sensible

D'après la bibliographie, le marqueur CAPS OPB06 (gène de résistance Ac2(t)) permet de différencier la variété indienne sensible des variétés européennes tolérantes BEC 144 et BEC 286.

Après génotypage (amplification + digestion par l'enzyme de restriction Mbo1), ce marqueur ne nous permet pas de différencier les variétés européennes entre elles car elles présentent toutes le profil des variétés BEC qu'elles soient sensibles ou tolérantes. Une double bande est amplifiée chez le colza. Les résultats sont disponibles en figure 18.

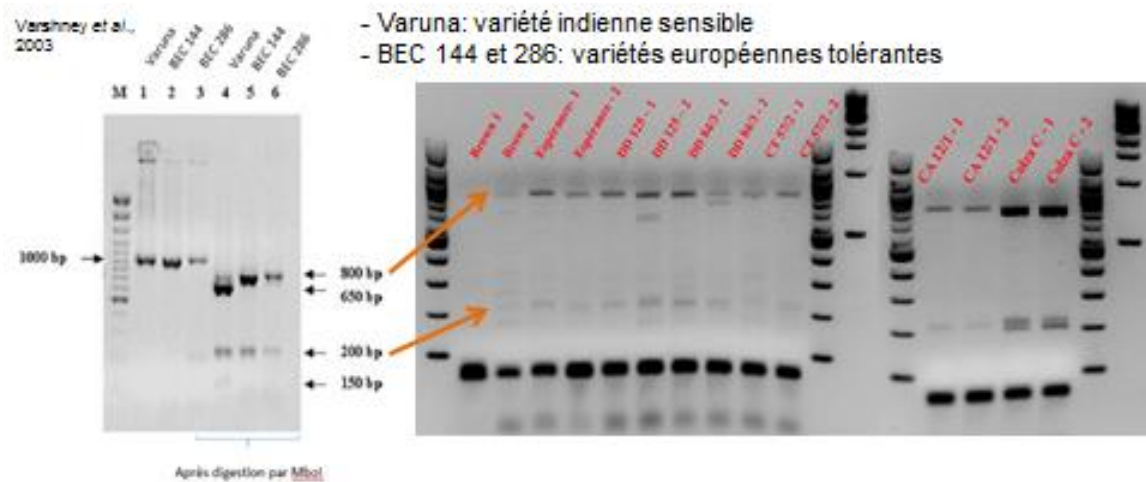


Figure 18 Amplification du gène de résistance à la rouille blanche Ac2(t) par le marqueur OPB06 et digestion par l'enzyme de restriction MboI. Gel de gauche : résultats publiés par Varshney et al.2003. Gel de droite : résultats obtenus chez les variétés de moutarde Brown (sensible), Espérance (sensible), DD125/1 (tolérante), DD84/3 (tolérante), CT57/2 (sensible), CA12/1 (tolérante) et chez la variété de colza Catalina (résistante).

Ce marqueur doit seulement différencier les types européens et types asiatiques avec une résistance à une race de rouille blanche asiatique et non européenne. Cependant, il serait intéressant de tester nos hybrides interspécifiques pour voir si les plantes sans symptôme posséderaient ce gène.

Les deux autres (At5g41920 et At5g41560) se situent sur un QTL de résistance sur chromosome A4. Avec le marqueur At5g41560, nous obtenons des profils avec des bandes différentes selon la génétique des variétés de Thierry testées mais ils ne sont pas reliés à la résistance à la rouille observée au champ (figure 19).

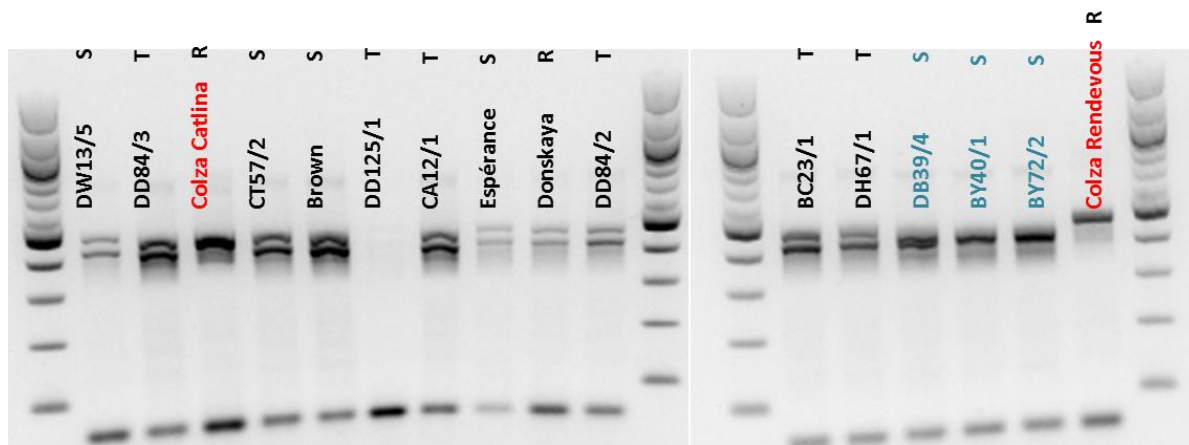


Figure 19 Amplification par le marqueur AtGg41920. Résultats obtenus chez sept variétés de moutarde sensibles (S), six variétés de moutarde tolérantes (T), une variété de moutarde résistante (R) et deux variétés de colza résistantes (R).

Avec le marqueur At5g41920, nous obtenons une bande de 750 pb pour toutes les variétés testées. Le fragment obtenu a été séquencé par les lycéens du projet Génome à l'Ecole du Lycée Charles de Gaulle de Dijon dans le but de chercher du polymorphisme (différences de séquence) entre variétés tolérantes et sensibles. Après amplification, séquençage et alignement, aucune différence de séquence n'a été trouvée entre les variétés.

3. Croisements intraspécifiques *B. juncea* x *B. juncea*

3.1. Matériel végétal utilisé

- 9 lignées de moutarde condimentaire : Ficita, Etamine, Corolle (AZ147/5), AA43/4, AZ58/1 et AX42/1, DD84/2, CI114/2, CH25/1 (fournies par T. Guinet, AgroSup Dijon)
- 4 génotypes de moutarde brune exotiques: Bau Sin (=BS, Chine/Taïwan), Osaka Purple (=OP, Japon), Green Wave (=GW, USA), Red Giant (=RG, Japon). Les graines de ces quatre variétés ont été fournies par AgroSup Dijon ou commercialisées par la société Kokopelli.
- 16 génotypes exotiques de la collection USDA, provenant de régions d'Asie avec des conditions climatiques froides en hiver (chaîne Himalayenne entre autres). L'Asie étant le centre d'origine de la moutarde brune. L'écotype USDA 14 vient de Corée du Nord.

3.2. Détermination de la phase végétative

Plusieurs essais en chambre climatisée et en parcelle avec ou sans vernalisation ont été conduits les années précédentes afin de déterminer la variabilité de la phase végétative chez les différents écotypes. Seuls cinq écotypes ont été retenus.

Les variétés Red Giant et Osaka Purple sont plus tardives à l'automne (risque d'induction florale moins élevé) que les variétés bourguignonnes. Cependant, elles ne possèdent pas de caractère de vernalisation.

L'écotype nord-coréen USDA 14 est très précoce au printemps (floraison en même temps que le colza d'hiver au printemps 2012) et résistant au froid. En chambre climatisée en 2011, cet écotype n'était pas monté à fleur. Un semis de printemps tardif d'USDA 14 a été réalisé le 25 Avril 2013. L'ensemble des plantes est quand même monté à fleurs en juin 2013, ce qui signifie que cet écotype ne possède de besoin en vernalisation.

Il a été décidé de se concentrer nos efforts sur les croisements avec Red Giant et USDA 14 même si quelques familles issues des croisements avec Osaka Purple (comportement proche de Red Giant) et Bau Sin (plantes présentant beaucoup de ramification, précocité au printemps) ont été aussi semées. Elles peuvent intéresser Thierry Guinet pour la sélection de variétés destinées au couvert végétal.

3.3. Résultats acquis 2011-2015

Une autofécondation et des rétrocroisements avec de la moutarde condimentaire d'une plante hybride F1 Etamine x Red Giant ont été réalisés en 2012. Les graines (F2 et BC1 respectivement) ont été semées à l'automne 2012 en parcelle. Ces plantes ont été génotypées pendant l'hiver 2012-2013 et notées pour leur précocité de floraison puis à nouveau rétrocroisées avec de la moutarde condimentaire au printemps 2013. Les graines issues de ces croisements (F3 et BC2) ont été semées à l'automne 2013 en parcelle. Ces plantes ont été génotypées pendant l'hiver 2013-2014 avec un marqueur lié à FLC1, phénotypées et rétrocroisées au printemps 2014.

Deux familles BC3 Red Giant, 1 famille BC2 Osaka Purple et 1 famille BC2 Bau Sin ont été semées sur la parcelle de sélection le 26 septembre 2014. Elles ont été génotypées cet hiver pour FLC1 avec le marqueur BnFLC1CF07R-Exon7. Red Giant a également été semé le 26 Août 2014. Les plantes ne sont pas montées à fleur avant l'hiver et ont bien résisté au froid, contrairement aux témoins moutarde condimentaire. Les plantes ont été phénotypées au printemps 2015 et rétrocroisées avec 4 lignées de moutarde condimentaire (Corolle et AZ58/1 ainsi que DD84/2 et CI114/2). Des croisements ont également été réalisés sur les écotypes Osaka Purple (phase végétative similaire à celle de Red Giant) et Bau Sin (très ramifié), avec les lignées Corolle, DA69/3 et DD125/1, pour un développement possible en variétés CIPAN.

Des croisements ont été effectués en 2012 entre USDA14 et des lignées de moutardes condimentaire. Les graines obtenues ont été semées à l'automne 2012 en parcelle. Ces plantes ont été génotypées pendant l'hiver 2012-2013 pour vérifier leur caractère hybride, notées puis rétrocroisées avec de la moutarde condimentaire au printemps 2013. Les graines issues de ces croisements (BC1) ont été semées à l'automne 2013 en parcelle. Ces plantes ont été génotypées pendant l'hiver 2013-2014 avec un marqueur lié à FLC1, phénotypées et rétrocroisées au printemps 2014. Trois familles BC2 USDA14 ont été semées le 26 Août 2014 et une famille BC2 le 26 septembre 2014. Une famille BC2 est montée à fleur à l'automne (semis du 26 août 2014) et n'a pas survécu à l'hiver. Les hybrides des autres familles n'ont pas fleuri, il y a bien un décalage de la floraison avant l'hiver, par rapport aux témoins moutarde condimentaire.

Deux familles interspécifiques (moutarde x colza) x moutarde x moutarde x USDA14 ont été semées à l'automne 2014, une fin août et une fin septembre. Celle du semis d'août n'est pas montée à fleur, contrairement aux témoins moutarde condimentaire. Les plantes issues de ces deux familles se sont bien développées et n'ont pas subi de dégâts de gel. Ces plantes ont été phénotypées au printemps 2015 et rétrocroisées avec 5 lignées de moutarde condimentaire (Corolle, Ficita, AZ58/1, CH25/1 et DD84/2). De plus, la variété USDA14 a été incluse pour la deuxième année dans les plans de croisements avec les hybrides interspécifiques.

Tableau 16 Populations intraspécifiques semées le 4 septembre 2015 sur la parcelle d'expérimentation.

N° population	Génotype	G° par rapport au colza (indépendamment de la lignée de moutarde utilisée en BC)	Parent 1 Xmt départ 2011	Parent 2 Xmt départ 2011 (hybrides spontanés mâle stériles)	Xmt 2012 (hybrides F1 mâle stériles)	Xmt 2013	Xmt 2014	Xment 2015
BJ15-156	(Corolle x USDA 14) x Corolle x Corolle x Corolle	BC3		USDA14	Corolle	Corolle	Corolle	Corolle
BJ15-157	(Corolle x USDA 14) x Corolle x Corolle x CH25/1	BC3		USDA14	Corolle	Corolle	Corolle	CH25/1
BJ15-158	(AX42/1 x USDA 14) x Ficita x Ficita x Ficita	BC3		USDA14	AX42/1	Ficita	Ficita	Ficita
BJ15-159	(AX42/1 x USDA 14) x Ficita x Ficita x Ficita	BC3		USDA14	AX42/1	Ficita	Ficita	Ficita
BJ15-161	(USDA 14-4 x AZ58/1) x AZ58/1 x AZ58/1 x AZ58/1	BC3		USDA14	AZ58/1	AZ58/1	AZ58/1	AZ58/1
BJ15-165	((Etamine x RG) x Corolle) x AZ58/1 x AZ58/1 x DD84/2	BC4	Red Giant	Etamine	Corolle	AZ58/1	AZ58/1	DD84/2
BJ15-166	((Etamine x RG) x Corolle) x AZ58/1 x AZ58/1 x AZ58/1	BC4	Red Giant	Etamine	Corolle	AZ58/1	AZ58/1	AZ58/1
BJ15-169	(Corolle x USDA 14) x Corolle x Corolle x Corolle	BC3		USDA14	Corolle	Corolle	Corolle	Corolle
BJ15-168	(Corolle x USDA 14) x Corolle x Corolle x DD84/2	BC3		USDA14	Corolle	Corolle	Corolle	DD84/2
BJ15-170	((Etamine x RG) x Corolle) x Corolle x Corolle x Corolle	BC4	Red Giant	Etamine	Corolle	Corolle	Corolle	Corolle
BJ15-172	((Etamine x RG) x Corolle) x Corolle x Corolle x CI114/2	BC4	Red Giant	Etamine	Corolle	Corolle	Corolle	CI114/2
BJ15-177	(Corolle x BS) x Corolle x Corolle x DA69/3	BC3		Bau Sin	Corolle	Corolle	Corolle	DA69/3
BJ15-173	(Corolle x OP) x Corolle x Corolle x Corolle	BC3		Osaka Purple	Corolle	Corolle	Corolle	Corolle
BJ15-174	(Corolle x OP) x Corolle x Corolle x DD125/1	BC3		Osaka Purple	Corolle	Corolle	Corolle	DD125/1

Les populations issues des croisements interspécifiques ainsi que les variétés témoins (Corolle, Ficita, DA69/3, Etamine, USDA14, Red Giant, Osaka Purple et Green Wave) ont été semées en semis

précoce le 4 septembre 2015. 25 graines de chaque population ont été semées. Le tableau 16 montre l'ensemble des populations intraspécifiques semées.

3.3 Résultats 2016

Les lignées de moutardes Red Giant, Green Wave, Osaka Purple, USDA 14 et USDA 16 ont été autofécondées sous housse.

Les plantes issues des croisements intraspécifiques ont été phénotypées puis croisées et autofécondées au printemps 2016. Une à trois plantes par population ont été croisées avec la même lignée de moutarde condimentaire que l'année précédente (8 lignées différentes). Au total, 434 fleurs ont été croisées. Les résultats des croisements sont présentés dans le tableau 17.

Tableau 17 Récapitulatif des rétrocroisements des 34 plantes intraspécifiques sélectionnées

Plante	Génotype	1ère Fleur	50% Flo	Rbl 1/06	Xments	date	nb de fleurs
BJ15-156-01	(Corolle x USDA 14) x Corolle x Corolle x Corolle	27-avr	27-avr	0	Corolle	04-mai	21
BJ15-156-02	(Corolle x USDA 14) x Corolle x Corolle x Corolle	27-avr	27-avr	0	Corolle	04-mai	18
BJ15-156-03	(Corolle x USDA 14) x Corolle x Corolle x Corolle	27-avr	27-avr	0	Corolle	04-mai	20
BJ15-157-01	(Corolle x USDA 14) x Corolle x Corolle x CH25/1	29-avr	29-avr	0	CH25/1	17-mai	15
BJ15-157-02	(Corolle x USDA 14) x Corolle x Corolle x CH25/1	29-avr	29-avr	0	CH25/1		
BJ15-157-03	(Corolle x USDA 14) x Corolle x Corolle x CH25/1	29-avr	29-avr	0	CH25/1		
BJ15-158-01	(AX42/1 x USDA 14) x Ficita x Ficita x Ficita	04-mai	04-mai	0	Ficita	26-mai	13
BJ15-158-02	(AX42/1 x USDA 14) x Ficita x Ficita x Ficita	04-mai	04-mai	0	Ficita	17-mai	17
BJ15-158-03	(AX42/1 x USDA 14) x Ficita x Ficita x Ficita	04-mai	04-mai	0	Ficita		
BJ15-159-01	(AX42/1 x USDA 14) x Ficita x Ficita x Ficita	04-mai	04-mai	0	Ficita	17-mai	18
BJ15-159-02	(AX42/1 x USDA 14) x Ficita x Ficita x Ficita	04-mai	04-mai	0	Ficita		
BJ15-159-03	(AX42/1 x USDA 14) x Ficita x Ficita x Ficita	04-mai	04-mai	0	Ficita	26-mai	14
BJ15-161-01	(USDA 14-4 x AZ58/1) x AZ58/1 x AZ58/1 x AZ58/1	29-avr	29-avr	0	AZ58/1		
BJ15-161-02	(USDA 14-4 x AZ58/1) x AZ58/1 x AZ58/1 x AZ58/1	29-avr	29-avr	0	AZ58/1	17-mai	16
BJ15-161-03	(USDA 14-4 x AZ58/1) x AZ58/1 x AZ58/1 x AZ58/1	29-avr	29-avr	0	AZ58/1		
BJ15-165-01	((Etamine x RG) x Corolle) x AZ58/1 x AZ58/1 x DD84/2	29-avr	29-avr	0	DD84/2		
BJ15-165-02	((Etamine x RG) x Corolle) x AZ58/1 x AZ58/1 x DD84/2	29-avr	29-avr	0	DD84/2	17-mai	22
BJ15-166-01	((Etamine x RG) x Corolle) x AZ58/1 x AZ58/1 x AZ58/1	04-mai	04-mai	0	AZ58/1		
BJ15-166-02	((Etamine x RG) x Corolle) x AZ58/1 x AZ58/1 x AZ58/1	04-mai	04-mai	0	AZ58/1	17-mai	21
BJ15-168-01	(Corolle x USDA 14) x Corolle x Corolle x DD84/2	27-avr	27-avr	0	DD84/2	17-mai	19
BJ15-168-02	(Corolle x USDA 14) x Corolle x Corolle x DD84/2	27-avr	27-avr	0	DD84/2		
BJ15-168-03	(Corolle x USDA 14) x Corolle x Corolle x DD84/2	27-avr	27-avr	0	DD84/2		
BJ15-169-01	(Corolle x USDA 14) x Corolle x Corolle x Corolle	29-avr	29-avr	0	Corolle	04-mai	18
BJ15-169-02	(Corolle x USDA 14) x Corolle x Corolle x Corolle	29-avr	29-avr	0	Corolle	04-mai	18
BJ15-169-03	(Corolle x USDA 14) x Corolle x Corolle x Corolle	29-avr	29-avr	0	Corolle	04-mai	16
BJ15-170-01	((Etamine x RG) x Corolle) x Corolle x Corolle x Corolle	29-avr	29-avr	0	Corolle	10-mai	18
BJ15-170-02	((Etamine x RG) x Corolle) x Corolle x Corolle x Corolle	29-avr	29-avr	0	Corolle	10-mai	16
BJ15-172-01	((Etamine x RG) x Corolle) x Corolle x Corolle x CI114/2	25-avr	25-avr	0	CI114/2	10-mai	19
BJ15-172-02	((Etamine x RG) x Corolle) x Corolle x Corolle x CI114/2	25-avr	25-avr	0	CI114/2	10-mai	19
BJ15-177-01	(Corolle x BS) x Corolle x Corolle x DA69/3	25-avr	25-avr	0	DA69/3	10-mai	22
BJ15-173-01	(Corolle x OP) x Corolle x Corolle x Corolle	25-avr	25-avr	0	Corolle	10-mai	20
BJ15-173-02	(Corolle x OP) x Corolle x Corolle x Corolle	25-avr	25-avr	0	Corolle	10-mai	20
BJ15-174-01	(Corolle x OP) x Corolle x Corolle x DD125/1	25-avr	25-avr	0	DD125/1	10-mai	16
BJ15-174-02	(Corolle x OP) x Corolle x Corolle x DD125/1	25-avr	25-avr	0	DD125/1	10-mai	18

Treize populations issues de ces autofécondations ont été semées le 2 septembre 2016. Deux lignes de 75 graines chacune ont été semées pour chaque population. Une sélection généalogique de ces lignées va débiter cette année, en concertation avec le sélectionneur Thierry Guinet d'AgroSup Dijon.

Tableau 18 Populations intraspécifiques semées le 2 septembre 2016 sur la parcelle d'expérimentation.

Génotype	n° de famille	Génération
	Bordure Etamine	lignée
((Corolle x USDA 14) x Corolle x Corolle x Corolle) ²	Bj16-254	BC3 AF1
((Corolle x USDA 14) x Corolle x Corolle x Corolle) ²	Bj16-254	BC3 AF1
((Corolle x USDA 14) x Corolle x Corolle x CH25/1) ²	Bj16-256	BC3 AF1
((Corolle x USDA 14) x Corolle x Corolle x CH25/1) ²	Bj16-256	BC3 AF1
((AX42/1 x USDA 14) x Ficita x Ficita x Ficita) ²	Bj16-259	BC3 AF1
((AX42/1 x USDA 14) x Ficita x Ficita x Ficita) ²	Bj16-259	BC3 AF1
((AX42/1 x USDA 14) x Ficita x Ficita x Ficita) ²	Bj16-261	BC3 AF1
((AX42/1 x USDA 14) x Ficita x Ficita x Ficita) ²	Bj16-261	BC3 AF1
((USDA 14-4 x AZ58/1) x AZ58/1 x AZ58/1 x AZ58/1) ²	Bj16-265	BC3 AF1
((USDA 14-4 x AZ58/1) x AZ58/1 x AZ58/1 x AZ58/1) ²	Bj16-265	BC3 AF1
((Etamine x RG) x Corolle) x AZ58/1 x AZ58/1 x DD84/2) ²	Bj16-267	BC4 AF1
((Etamine x RG) x Corolle) x AZ58/1 x AZ58/1 x DD84/2) ²	Bj16-267	BC4 AF1
((Etamine x RG) x Corolle) x AZ58/1 x AZ58/1 x AZ58/1) ²	Bj16-270	BC4 AF1
((Etamine x RG) x Corolle) x AZ58/1 x AZ58/1 x AZ58/1) ²	Bj16-270	BC4 AF1
((Corolle x USDA 14) x Corolle x Corolle x DD84/2) ²	Bj16-272	BC3 AF1
((Corolle x USDA 14) x Corolle x Corolle x DD84/2) ²	Bj16-272	BC3 AF1
((Corolle x USDA 14) x Corolle x Corolle x Corolle) ²	Bj16-275	BC3 AF1
((Corolle x USDA 14) x Corolle x Corolle x Corolle) ²	Bj16-275	BC3 AF1
((Etamine x RG) x Corolle) x Corolle x Corolle x Corolle) ²	Bj16-277	BC4 AF1
((Etamine x RG) x Corolle) x Corolle x Corolle x Corolle) ²	Bj16-277	BC4 AF1
((Etamine x RG) x Corolle) x Corolle x Corolle x CI114/2) ²	Bj16-279	BC4 AF1
((Etamine x RG) x Corolle) x Corolle x Corolle x CI114/2) ²	Bj16-279	BC4 AF1
((Corolle x OP) x Corolle x Corolle x Corolle) ²	Bj16-282	BC3 AF1
((Corolle x OP) x Corolle x Corolle x Corolle) ²	Bj16-282	BC3 AF1
((Corolle x OP) x Corolle x Corolle x DD125/1) ²	Bj16-283	BC3 AF1
((Corolle x OP) x Corolle x Corolle x DD125/1) ²	Bj16-283	BC3 AF1
((Corolle x OP) x Corolle x Corolle x DA69/3) ²	Bj16-285	BC3 AF1
((Corolle x OP) x Corolle x Corolle x DA69/3) ²	Bj16-285	BC3 AF1

4. Diffusion des résultats

Une partie des résultats obtenus a été présentée au cours des conseils scientifiques du programme qui ont eu lieu le 5 avril 2016 et le 15 novembre 2016 à la Chambre d'Agriculture de Côte d'Or sur le site d'AgrOnov, sous la présidence de Messieurs Xavier PINOCHET (CETIOM, Responsable du département Méthodes et Technologies Innovantes sur le Campus INRA Agro ParisTech) et de Christophe LECOMTE (Ingénieur de recherches UMR Agroécologie 1347, Dijon). Les prochains conseils scientifiques auront lieu le 4 avril 2017 et le 14 novembre 2017. Un compte-rendu a été rédigé à la suite de ces présentations et diffusé aux membres de la filière.

Les résultats ont aussi été présentés lors des Assemblées Générales de l'AMB et de l'APGMB.

Un rapport d'activité est rédigé chaque année pour le Conseil Régional et transmis également aux membres de l'AMB. Le rapport de l'année précédente est disponible sur le site internet de Welience Agro-Environnement.

<http://welience-agroenvironnement.fr/communications.html>

<http://welience-agroenvironnement.fr/programmes-de-s-lection-vari-tale.html>

Le projet a été présenté dans le rapport d'activité d'AgroSup 2015 édité en juin 2016. L'article est disponible ci-dessous.

ZOOM SUR

UNE MOUTARDE INNOVANTE

Aujourd'hui, en Bourgogne, la surface cultivée en moutarde brune atteint près de 5000 ha (230 agriculteurs) et ceci, pour fournir, en moyenne un tiers des besoins des industriels régionaux. Les variétés semées sont toutes issues du programme d'amélioration génétique conduit par AgroSup Dijon depuis 1992.

En parallèle de ce programme, ont débuté en 2010, des expérimentations qui ont pour objectif la création de variétés de type « hiver » comme il en existe chez de nombreuses plantes de grande culture (blé, orge, colza) et qui permettent d'améliorer la production et la régularité du rendement. Ces types « hiver » ont besoin de températures basses pour accomplir leur cycle de développement dont la floraison (ce phénomène est appelé vernalisation). Le caractère de vernalisation n'ayant pas été observé chez la moutarde, ce projet de recherche consiste à transférer par croisement chez la moutarde, les gènes responsables de la vernalisation issus du colza. À l'issue des croisements, la stratégie consiste à effectuer des rétrocroisements pendant au moins 5 à 6 ans entre l'hybride interspécifique (moutarde X colza) et la moutarde pour augmenter la part génétique de la moutarde tout en gardant les gènes de vernalisation du colza.

Des marqueurs moléculaires ont été développés et sont utilisés en routine pour assister les étapes de ce programme comme le suivi annuel, des gènes de vernalisation dans les plantes issues des croisements. Ce suivi permet d'accélérer le déroulement du projet et de mieux cibler les individus intéressants. Ces nouvelles moutardes devraient pouvoir être utilisées tout d'abord en essai puis au champ d'ici deux à trois ans.

Direction scientifique : AgroSup Dijon en collaboration avec Welience.
Soutiens : Association Moutarde de Bourgogne (AMB), Association des Producteurs de Graines de Moutarde de Bourgogne (APGMB), Conseil Régional de Bourgogne Franche-Comté.



Les objectifs du projet et ses résultats sont également le support d'activités pédagogiques (élèves ingénieurs d'AgroSup Dijon, élèves du Lycée agricole de Quetigny et élèves des sections scientifiques du Lycée Charles de Gaulle de Dijon : projet « Génome à l'Ecole ») et de vulgarisation auprès du grand public (Académie des sciences, arts et belles lettres de Dijon) :

- Ce projet est utilisé comme support pédagogique à AgroSup Dijon. Les deux posters créés en 2012 à l'occasion de l'anniversaire des 20 ans de la filière moutarde de Bourgogne ont été exposés lors de la

journée Portes Ouvertes d'AgroSup Dijon le 27 janvier 2016. Les prochaines portes ouvertes auront lieu le 1^{er} février 2017.

Une présentation a été faite à des étudiants de 3^{ème} année d'AgroSup Dijon dans le cadre du module Amélioration des Plantes le 27 Janvier 2016. La prochaine présentation aura lieu en mars 2017. Une présentation a également été faite dans le cadre de leur étude sur la filière le 22 novembre 2016.

Entre novembre 2015 et mars 2016, le projet a aussi impliqué trois élèves de dernière année dans le cadre de leur Projet C (Confrontation à une Situation Professionnelle) et les résultats du projet ont été présentés à l'ensemble de l'option en Mars 2016. Cette année, le projet a porté sur la résistance à la rouille blanche.

- Nous participons également au projet « Génome à l'école » depuis Mars 2015 avec les 1^{ères} S du Lycée Charles de Gaulle de Dijon encadrés par leurs professeurs de SVT, Mme Deyme et Mr Diot. Le travail de clonage d'un gène de résistance à la rouille blanche a été réalisé au sein du projet en 2016. Le Génoscope et l'école de l'ADN de Nîmes sont également partenaires de ce projet. Le suivi du projet est disponible sur un blog. Les premières séances sont visualisables sur les liens suivants.

Le 9 Février 2016, nous avons, avec Mr Robiot, producteur de moutarde, présenté aux élèves le projet et la filière moutarde en Bourgogne puis semé en jardinières nos différentes variétés de moutarde. <http://lewebpedagogique.com/svtdiot3/2016/02/10/1ere-seance-genome-2016/>



Entre mars 2016 et mai 2016, les élèves ont extrait l'ADN des plantes qu'ils avaient semés, réalisé des amplifications PCR et envoyé nos résultats d'amplification au Génoscope:

<http://lewebpedagogique.com/svtdiot3/2016/03/16/extraction-de-ladn/>

<http://lewebpedagogique.com/svtdiot3/2016/03/26/amplification-du-gene-recherche-par-pcr/>



Les résultats de séquençage sont arrivés en juin 2016.

<http://lewebpedagogique.com/svtdiot3/2016/06/04/resultats-de-pcr/>



Le lycée Charles de Gaulle fait partie des 5 établissements sélectionnés pour participer au vol du spationaute français Thomas Pesquet à bord de la station spatiale internationale en 2017. Il réalisera une expérience que concernant le rôle de la gravité sur la croissance des racines de moutarde, avec la variété Corolle, créée par AgroSup Dijon. Une présentation a été faite aux élèves impliqués (en classe de seconde) le 29 janvier 2016. Le suivi du projet est disponible sur le blog du lycée géré par Monsieur Diot : <http://lewebpedagogique.com/svtdiot3/category/mps-projet-iss/>

- Une présentation a été faite le 19 Avril 2016 dans les locaux de l'Académie des sciences, arts et belles lettres de Dijon sur le thème de « la moutarde en Bourgogne, de l'origine à sa place dans l'économie régionale » avec une présentation des travaux de création de génotypes d'hiver chez la moutarde brune. Un compte-rendu a été écrit et envoyé à Monsieur Armand Maudhuit.

Un article scientifique est également en cours de rédaction.

Rapport rédigé par Marine Chasseray, Ingénieur Projet Welience Agro-Environnement

marine.chasseray@welience.com / marine.chasseray-nars@agrosupdijon.fr

Et revu et corrigé par Sylvain Jeandroz, Professeur à Agrosup Dijon

sylvain.jeandroz@agrosupdijon.fr



**RÉGION
BOURGOGNE
FRANCHE
COMTÉ**