

# Résistance partielle à la rouille brune : sources de résistance, utilisation en sélection et durabilité

Henriette GOYEAU<sup>1</sup>, Gustavo AZZIMONTI<sup>1</sup>, Denis BEGHIN<sup>2</sup>, Sébastien CAIVEAU<sup>3</sup>, Philippe DU CHEYRON<sup>4</sup>, Michaël COCHARD<sup>5</sup>, Clément DEBITON<sup>6</sup>, Jean-Michel DELHAYE<sup>7</sup>, Sylvie DUTRIEZ<sup>8</sup>, Pascal GIRAUDEAU<sup>9</sup>, Mathieu GRARE<sup>9</sup>, Volker LEIN<sup>10</sup>, Christian LANNOU<sup>1</sup>, Philippe LEREBOUR<sup>6</sup>, Philippe LONNET<sup>2</sup>, Thierry MARCEL<sup>1</sup>, Christophe MICHELET<sup>11</sup>, Jean-Michel MOREAU<sup>12</sup>, Axel OLIVIER<sup>13</sup>, Sophie PAILLARD<sup>14</sup>, Pierre RIGOLLE<sup>13</sup>, Bernard ROLLAND<sup>14</sup>, Patrice SENNELLART<sup>3</sup>, Jayne STRAGLIATI<sup>5</sup>, Stephen SUNDERWIRTH<sup>15</sup>

\* Coordinateur : Henriette GOYEAU, goyeau@grignon.inra.fr, Tél. : 01.30.81.54.36

- 1 - INRA BIOGER - 78850 Thiverval Grignon
- 2 - Florimond Desprez - 3 rue Florimond Desprez, BP 41, 59242 Cappelle en Pévèle
- 3 - Syngenta Seeds - BP 5, 78910 Orgerus
- 4 - Arvalis Institut du Végétal IBP Université Paris Sud Rue de Noetzelin Bât. 630 91405 Orsay Cedex
- 5 - Limagrain Europe - 5 rue de l'Égalité, 28130 Chartainvilliers
- 6 - UNISIGMA - 60480 FROISSY
- 7 - Ets Lemaire-Deffontaines SA - 180 rue du Rossignol, 59310 Auchy Lez Orchies
- 8 - Caussade Semences - ZI de Meaux, BP 109, 82303 Caussade Cedex
- 9 - Secobra - Centre de Bois-Henry, 78580 Maule
- 10 - Saaten Union Recherche - 163 avenue de Flandre, BP 6, 60190 Estrées Saint Denis
- 11 - RAGT R2N - 28150 Louville La Chenard
- 12 - SERASEM - Ferme du Paly 91490 Milly la Forêt
- 13 - GIE Recherches Génétiques Céréales Club 5 - 83 avenue de la Grande Armée, 75782 Paris Cedex 16
- 14 - INRA IGEPP - Domaine de La Motte au Vicomte - BP 35327, 35653 Le Rheu
- 15 - Adrien Momont & fils SARL - Station de Recherche - RN 154, 28150 Allonnes

## 1. Introduction

La résistance d'une variété peut reposer sur des gènes de résistance dits spécifiques. Elle s'exprime alors par une réponse de tout ou rien, soit résistant/sensible. La résistance spécifique a été très utilisée en raison de son déterminisme génétique simple (monogénique), et du haut niveau de résistance conféré (résistance totale). Dans les variétés de blé cultivées en France, une dizaine de gènes *Lr* de résistance spécifique à la rouille brune, maladie causée par *Puccinia triticina*, sont présents, seuls ou en combinaisons de deux ou trois gènes (Goyeau et Lannou, 2011). Toutefois le contournement de ce type de résistance est extrêmement fréquent et parfois rapide, après seulement 2 à 3 années de culture (Kolmer 2001), ce qui a été le cas par exemple en France pour les variétés Orvantis, Aubusson et Lancelot. La sélection pour la résistance à la rouille brune dans les variétés cultivées en France s'est traduite par un pyramidage progressif de gènes *Lr* dans les variétés, suite à l'apparition de nouvelles races cumulant les virulences permettant de contourner ces combinaisons de gènes *Lr* (Goyeau et Lannou, 2011).

Les résistances qualifiées de partielles, ou quantitatives, ou encore slow-rusting pour les rouilles, sont réputées plus durables que les résistances spécifiques (Kolmer 1996). Elles s'expriment par une quantité réduite de maladie. Après 25 années de sélection pour ce type de résistance vis-à-vis des rouilles des céréales, le CIMMYT (Centre International pour l'Amélioration du Blé et du Maïs) considère que la combinaison de quelques gènes de résistance partielle à effet additif permet d'obtenir une résistance durable (Singh *et al.* 2005). Singh *et al.* (2000) estiment que de tels gènes sont courants chez le blé. Toutefois, jusqu'à présent seulement deux gènes de slow-rusting pour la rouille brune ont été caractérisés : *Lr34*, qui a été cloné (Krattinger *et al.*, 2009), et *Lr46* (Singh *et al.*, 1998).

Dans ce contexte, l'enjeu est de proposer une stratégie de gestion durable de la résistance génétique à la rouille brune du blé, basée sur des sources de résistance quantitative. Notre objectif est de caractériser les sources de résistance quantitative présentes dans le fonds génétique utilisé en France. Nous proposons d'identifier des résistances se traduisant par une diminution des performances du pathogène sur les différentes phases du cycle infectieux (période de latence, efficacité d'infection, surface sporulante, production de spores par unité de surface). Ainsi, l'exercice de contraintes diversifiées sur le pathogène devrait ralentir son adaptation et augmenter la durabilité de la résistance.

La résistance partielle est censée être efficace contre tous les isolats du pathogène. Toutefois des interactions de type spécifique ont pu être démontrées dans le cas de résistances partielles (Parlevliet 1988). Nous avons montré qu'il existait une adaptation quantitative à l'hôte dans le cas d'un couple pathotype x variété pour la rouille brune du blé (Pariaud *et al.* 2009). Une telle adaptation pourrait signifier que le pathogène est susceptible d'éroder la résistance partielle, ce qui remettrait en cause sa durabilité. Nous nous attacherons donc également dans ce projet à étudier en conditions contrôlées plusieurs couples pathotype x variété, pour évaluer le potentiel d'adaptation à la résistance partielle chez *P. triticina*.

Lors d'un précédent projet (FSOV 2004), nous avons repéré au champ des variétés et lignées présentant divers niveaux de résistance partielle à la rouille brune. Une première série de croisements à partir de ces sources de résistance a été réalisée. La méthodologie d'étude des composantes de la résistance partielle en serre a été mise au point (Pariaud *et al.*, 2009), sauf pour l'efficacité d'infection pour laquelle une méthodologie fiable et précise restait à établir.

A partir de ces acquis, les deux principaux axes de travail définis pour le présent projet étaient de i) caractériser la

diversité et la stabilité de sources de résistance partielle, via l'analyse de leurs composantes, ainsi que leur déterminisme génétique ii) assurer une veille du contexte épidémiologique, en effectuant un suivi d'une part des virulences et de l'agressivité dans les populations pathogènes, et d'autre part des résistances spécifiques et quantitatives dans les variétés cultivées.

## 2. Caractériser des sources diversifiées de résistance partielle et leurs composantes, et analyser leur déterminisme génétique

### ► Caractérisation des composantes de la résistance partielle : diversité, variabilité et spécificité

Ce travail ayant fait l'objet d'une publication (Azzimonti *et al.*, Plant Pathology, sous presse), nous n'en produisons ci-après qu'un résumé.

A partir d'un ensemble de 86 lignées et variétés analysées pour leur résistance quantitative au champ lors d'un programme FSOV 2004-2007, six variétés et lignées représentant une gamme de résistance quantitative ont été sélectionnées pour une étude des composantes de la résistance en serre (Tableau 1). La variété Ecrin, parent sensible utilisé pour les croisements d'étude du déterminisme génétique (voir § 1.2.3), ainsi que Morocco, considéré comme témoin sensible en serre, ont également été incluses dans cette étude. Trois pathotypes différents, nommés P3, P4 et P5, ont été utilisés : leurs fréquences dans les populations naturelles sur la période 2000-2008 ayant été respectivement basse, élevée, et intermédiaire, nous avons postulé que ces pathotypes étaient représentatifs de niveaux d'agressivité différents.

Cinq composantes de la résistance ont été mesurées : l'efficacité d'infection (IE), pour laquelle une méthodologie originale a été développée, la période de latence (LP), la taille des lésions (LS), la production de spores par lésion (SPL), et la production de spores par unité de surface sporulante (SPS). Nous avons trouvé une grande diversité, ainsi qu'une variabilité élevée, dans les valeurs de ces composantes, selon les différentes combinaisons (génotype-hôte x pathotype)

étudiées. Pour toutes les composantes, une spécificité vis-à-vis du pathotype a été mise en évidence. Les génotypes hôtes étudiés ont présenté une diversité de profils de résistance, par rapport aux composantes affectées et à la spécificité des interactions avec les pathotypes. Leur intérêt en tant que source de résistance quantitative en sélection a pu être évalué : la lignée LD7 combine vraisemblablement des mécanismes de résistance diversifiés, car elle exprime un niveau de résistance élevé pour toutes les composantes, avec une spécificité par rapport aux pathotypes pour toutes les composantes ; pour Apache, aucune spécificité n'a pu être mise en évidence, ce qui signifie que l'agressivité des trois pathotypes utilisés était comparable, quelle que soit la composante considérée. Cette absence d'adaptation du pathogène à la résistance quantitative d'Apache pourrait expliquer la durabilité de cette résistance observée au champ depuis maintenant plus de 11 ans.

### ► Stabilité de la résistance partielle vis-à-vis de l'environnement biotique et abiotique

L'objectif était d'analyser la relation entre le niveau de résistance partielle mesuré sur les composantes en serre d'une part, et le niveau de résistance au champ d'autre part. Trois essais au champ ont été conduits en 2009, 2010 et 2011, à la station expérimentale d'Arvalis à Boigneville. Chaque année, l'essai comprenait trois traitements, inoculés avec les pathotypes P3, P4 et P5, avec deux répétitions par traitement. L'essai comportait 12 variétés (Andalou, Apache, Balance, Ciento, Camp Remy, Ecrin, Instinct, Sideral, Soissons and Tremie), deux lignées (LD7 et PBI), ainsi que les témoins sensibles au champ Buster and Frandoc. Des notations visuelles du pourcentage de surface malade sur la feuille drapeau ont été réalisées.

Pour les trois pathotypes utilisés, les composantes mesurées en serre LP, et LS étaient significativement corrélées à la sévérité finale de la maladie cDS3 (Figure 1). Les composantes IE et SPS étaient marginalement corrélées, alors que la sporulation par lésion (SPL) ne présentait pas de corrélation significative avec la sévérité de la maladie au champ. L'expression de la résistance partielle dans les génotypes hôtes étudiés s'est donc révélée stable, d'une part entre la serre et le champ, et d'autre part entre les trois pathotypes étudiés.

Variété	RAUDPC <sup>w</sup>	Gènes Lr <sup>x</sup>	Date d'inscription
Morocco	100	-	-
Ecrin	96	Lr13, (Lr14a)	1985
Soissons	61	Lr14a	1988
Trémie	53	Lr10, Lr13	1992
Apache	51	Lr13, Lr37	1998
Andalou	45	Lr13	2002
PBI-04-006 (PBI)	36	Lr13, Lr14a	non inscrite
Balance	25	Lr10, Lr13, Lr20, Lr37	2001
LD 00170-3 (LD7)	17	Lr13, Lr37	non inscrite

W : RAUDPC = Aire Relative sous la courbe de progression de la maladie, en pourcentage de l'aire sous la courbe de maladie (AUDPC) du témoin sensible mesurée au champ, en conditions d'inoculation artificielle avec l'isolat P3, moyenne de 3 années (2005, 2006, 2007) d'essais multilocaux.

X : gènes Lr de résistance à la rouille brune postulés au stade plantule (Goyeau & Lannou, 2011). La présence des gènes indiqués entre parenthèses est à confirmer. - : aucun gène de résistance spécifique

Tableau 1. Niveau de résistance quantitative au champ, estimé par la RAUDPC, gènes Lr de résistance spécifique à la rouille brune et année d'inscription des génotypes de blé étudiés pour leurs composantes de résistance partielle en serre

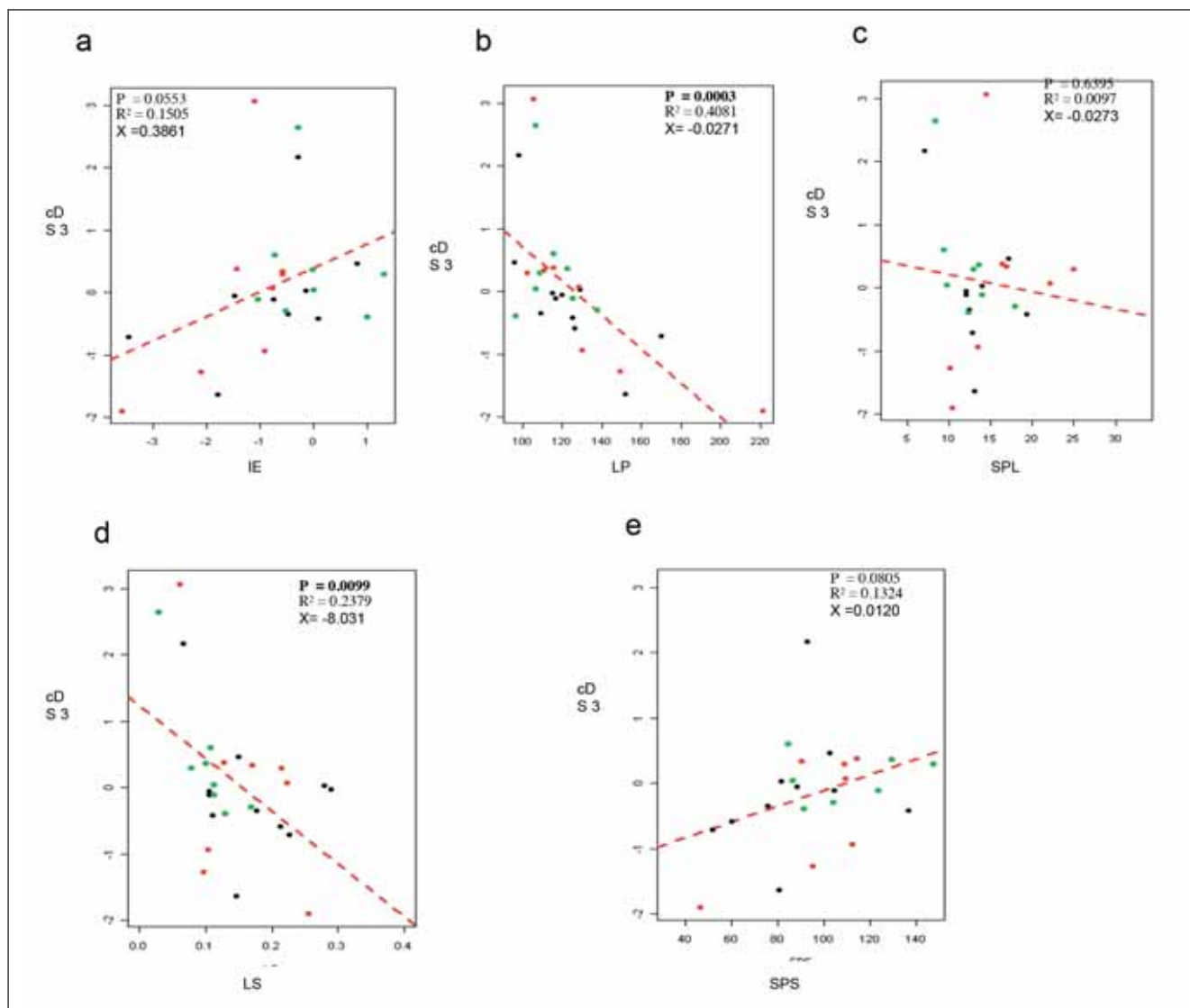


Figure 1. Relation entre la sévérité de la maladie au champ et les composantes de la résistance mesurées en serre. (a) efficacité d'infection (IE), (b) période de latence (LP), (c) production de spores par lésion (SPL), (d) taille de lésion (LS) et (e) production de spores par unité de surface (SPS). Les valeurs médianes des estimations a posteriori des paramètres sont indiquées pour chaque combinaison variété x isolat. Les valeurs pour les isolats P3, P4, et P5 sont figurées en noir, rouge, et vert, respectivement. La droite de régression est figurée en pointillés rouges. Les P-value, R², et pentes (X) sont indiquées, et figurées en gras lorsque la pente est significativement différente de 0, au seuil de 0.05.

### ► Analyse du déterminisme génétique de sources de résistance partielles

L'enjeu de l'analyse du déterminisme génétique est d'identifier les QTLs responsables, et d'en produire des marqueurs utilisables en sélection. Dans un premier temps, nous avons vérifié si les gènes *Lr34* et *Lr46*, seuls gènes de résistance quantitative pour lesquels des marqueurs étaient disponibles, étaient présents dans le matériel étudié. D'autre part Bioplante a mis à notre disposition une population HD du croisement Apache x Balance, qui nous permettait d'étudier le déterminisme génétique de l'une des sources de résistance étudiée, à savoir Apache. Par ailleurs, nous avons poursuivi le travail de création (initié dans le programme FSOV 2004) de populations de cartographie à partir des parents Apache, Trémie, PBI et LD7, sélectionnés pour leur résistance exprimée sur des composantes diversifiées, et croisés avec le parent sensible Ecrin.

#### Détection des gènes de résistance quantitative *Lr34* et *Lr46* à l'aide de marqueurs

L'objectif de ce travail était de vérifier si les variétés/lignées

ayant exprimé une résistance quantitative dans le précédent projet FSOV, associée à l'observation d'une nécrose de bout de feuille au champ (marqueur morphologique de gènes *Ltn* - leaf tip necrosis - associés à *Lr34* et *Lr46*), étaient porteuses d'un de ces deux gènes, à l'aide des marqueurs moléculaires disponibles pour ces gènes. La liste des variétés à tester comprenait, outre les témoins Frontana, Forno et Bezostaya porteurs du gène *Lr34*, les variétés Andalou, Apache, Camp Rémy, Génial, Instinct, Occitan, Aciento, Sidéral, Soissons, Trémie, Paledor et Ecrin, ainsi que les lignées FD 02130-3, PBI et LD7. Les résultats des tests effectués en parallèle dans deux laboratoires ont été concordants : le marqueur *csLV34* du gène *Lr34* était présent dans les témoins, mais dans aucune des variétés et lignées testées. Trois marqueurs de *Lr46*, *wmc044*, *xpsp3100* et *gwm259*, ont été utilisés, et trouvés dans aucuns des génotypes.

Il semble donc que les gènes *Lr34* et *Lr46* n'aient pas été introduits dans le fonds génétique exploité en France, et que les résistances quantitatives observées seraient dues à d'autres gènes. Nous pouvons également conclure que les conditions d'environnement au champ, pourtant variées

car issues d'une dizaine de lieux, n'ont pas été favorables à l'utilisation de la nécrose de bout de feuille comme marqueur morphologique, puisque des nécroses de bout de feuille ont été observées en l'absence de gènes *Lr34* et *Lr46*, et donc des gènes *Ltn* associés.

#### *Diversité et spécificité des QTLs associés à cinq composantes de la résistance chez les parents Apache et Balance*

Le parent Apache a été identifié porteur de résistance quantitative à la rouille brune. La disponibilité chez Bioplante d'une population de cartographie (Apache x Balance) nous a fourni l'opportunité d'étudier le déterminisme de cette source de résistance. Les objectifs de ce travail étaient i) d'identifier les QTLs associés aux composantes de la résistance en serre ii) de déterminer quel est l'impact de ces composantes sur l'épidémie au champ et iii) d'analyser la spécificité de ces QTLs vis-à-vis de deux pathotypes au champ.

Une population d'haploïdes doublés (HD) de 91 lignées du croisement Apache x Balance, développée par O. Robert et V. Laurent (Bioplante) a été analysée dans 4 essais au champ, et deux essais en serre (2010 et 2011), inoculés avec les pathotypes P3 et P5.

**Expérimentations en serre :** l'expérimentation a été conduite à Grignon en 2010 (G1) et répétée en 2011 (G2). Pour chaque plante, trois feuilles drapeau ont été inoculées, celles du maître brin et de deux talles secondaires, par application au pinceau d'un mélange spores/Lycopodium. Les feuilles des talles secondaires ont été utilisées pour la mesure de l'efficacité d'infection, et la feuille du maître-brin a été utilisée pour mesurer la période de latence et les variables de sporulation. L'efficacité d'infection (IE) a été mesurée par le rapport entre le nombre de lésions sporulantes et le nombre de spores déposées. Juste après inoculation, la partie distale de la feuille a été coupée, et conservée à -20°C jusqu'au comptage des spores à la loupe binoculaire. Les lésions sporulantes ont été comptées sur 1 cm<sup>2</sup>, sur la partie proximale de la feuille restée attachée à la plante, à la fin de la période de latence. Pour chaque lignée, l'efficacité d'infection a été estimée à partir de 10 à 12 répétitions.

La période de latence (LP) a été mesurée comme le temps auquel 50% des lésions sporulantes sont apparues, à partir de la courbe du comptage journalier des lésions en fonction du temps, sur 5 à 6 répétitions. A la fin de la période de latence, les feuilles ont été enveloppées dans des sachets cellophane, afin de recueillir les spores produites sur 5 jours consécutifs. Les spores ont été pesées, et les feuilles ont été scannées, afin de mesurer la surface sporulante par analyse d'image. Un comptage des lésions

a été réalisé sur une surface de 2 cm<sup>2</sup>. L'ensemble de ces mesures a permis de déterminer la densité de lésions, la taille des lésions (LS), la production de spores par lésion (SPL), et la production de spores par unité de surface sporulante (SPS), à partir de 5 à 6 répétitions.

**Expérimentations au champ :** elles ont été conduites en 2009 et en 2010, en deux lieux, Cappelle en Pévèle (Cap-09, Cap-10) et Maisse (Mai-09, Mai-10). En chaque lieu, deux essais isolés l'un de l'autre ont été implantés, l'un inoculé avec P3 et l'autre avec P5, avec deux répétitions dans chaque essai. Deux à quatre notations visuelles du pourcentage de surface malade sur la feuille drapeau ont été réalisées, et l'aire sous la courbe de progression de la maladie (AUDPC) a été calculée.

**Analyses statistiques :** Les variables mesurées au champ ont été analysées en fonction des facteurs année, lieu, pathotype, lignée, ainsi que l'interaction entre ces facteurs. Les variables mesurées en serre ont été analysées en fonction des facteurs année et lignée, et leur interaction. La densité de lésion a été utilisée en covariable dans les analyses de variance des variables LP, LS, SPL et SPS, car elle interagit avec ces variables. Les analyses ont été effectuées avec Splus.

**Construction de la carte et analyses QTL :** sur un total de 847 marqueurs DArT et SSR, nous avons conservé 355 marqueurs non distordus et suffisamment distincts, qui ont été positionnés sur les 39 groupes de liaison obtenus. Les QTLs ont été déterminés indépendamment pour chaque répétition au champ et chaque expérience en serre, par Composite Interval Mapping, avec QTL Cartographer.

Treize QTLs ont été identifiés, cartographiés, associés à une ou plusieurs composantes de résistance, et/ou à la résistance au champ (Tableau 2). Dix des 13 QTLs identifiés étaient associés à un effet sur les composantes de résistance mesurées en serre. La plupart des QTLs étaient associés à une ou deux composantes, ce qui est cohérent avec l'hypothèse que les différentes composantes sont gouvernées par des facteurs génétiques différents. Un seul des QTLs était associé à toutes les composantes, mais avec un niveau de signification variable selon les composantes. Tous les QTLs trouvés en serre étaient également associés à la résistance au champ. Les QTLs se sont exprimés à différents stades de l'épidémie au champ. La spécificité des QTLs vis-à-vis des deux pathotypes utilisés au champ (P3 et P5) était variable : cinq QTLs n'ont montré aucune spécificité, quatre QTLs ont été détectés avec les deux pathotypes mais avec un effet différentiel selon le pathotype, et quatre QTLs ont été détectés avec un seul des deux pathotypes.



QTL name <sup>A</sup>	Flanking markers <sup>B</sup>	QTL Position (cM) <sup>C</sup>	Max. Conf. Int. <sup>D</sup>	Experiment <sup>E</sup>	Epidemic stage <sup>F</sup>	Component <sup>G</sup>	Iso-specificity <sup>H</sup>	LOD rank <sup>I</sup>	mean R <sup>2</sup> <sup>J</sup>	Effect <sup>K</sup>	Source <sup>L</sup>	QTLs already identified at the same position (Reference)
Qlr.inra-1Aa	Pt733361- Pt671596	0.0 - 9.7	0.0 - 28.0	Cap-09, Cap-10	Early	-	yes	1, 2	0.092	Minor	Apa	
Qlr.inra-2Ab	Pt0568- un3	0.0 - 23.5	0.0 - 31.8	Cap-10, Mai-09/ G1, G2	Late	SPL, LS	no	1	0.087	Minor	Apa	QTL for leaf rust, from Apache, near gene cluster Yr17-Lr37-Sr38 (O. Robert, pers. comm.)
Qlr.inra-2B	gpw3032- Pt4133	155.1 - 180.1	147.0 - 186.9	Cap-09, Mai-09/ G1	Late	LP	yes	1, 2, 3	0.143	Moderate	Bal	QTL for yellow rust, from Apache, near Yr7 (O. Robert, pers. comm.)
Qlr.inra-2D	Pt8330 - gpw3320	33.0 - 63.1	27.1 - 104.5	All Field / G1	All	SPS	Quantitative	3	0.226	Major	Bal	QTL for septoria tritici blotch, from Balance, near dwarfing gene Rht8, and several QTLs of morphological traits (Tabib Ghaffary et al., 2011)
Qlr.inra-3Bb.1	Pt741465- Pt1682	77.1 - 92.2	77.1 - 110.0	Cap-10 / G1	Late	SPS	no	1, 2	0.122	Moderate	Apa	QTL for yellow rust, from Balance (O. Robert, pers. comm.)
Qlr.inra-3Bb.2	Pt2757- Pt1867	121.7 - 125.4	105.0 - 136.5	Cap-10 / G2	Early	All	yes	1, 2, 3	0.141	Moderate	Bal	
Qlr.inra-3Db	Pt664804- gpw4163	63.2 - 80.5	63.2 - 110.0	Cap-09 / G1, G2	Intermediate	LP, LS	Quantitative	1, 2	0.102	Moderate	Apa	
Qlr.inra-4Bb	Pt3608- Pt4214	17.6 - 26.5	0.0 - 44.6	Mai-10 / G2	Intermediate	SPS	no	1, 2	0.1	Minor	Apa	
Qlr.inra-4Da	cf454- cf484	0.0 - 8.6	0.0 - 8.6	Mai-10 / G1, G2	Early	SPL, LS	yes	1, 2	0.132	Moderate	Bal	
Qlr.inra-5Bb/7Bb	Pt7720- wmc517	0.0 - 54.9	0.0 - 69.9	Cap-10, Mai-09, Mai-10	All	-	no	1, 2	0.08	Minor	Bal	
Qlr.inra-6Aa	Pt671799- Pt1742	11.3 - 31.9	8.0 - 34.1	Cap-09, Cap-10, Mai-09 / G1	Late	LP	Quantitative	1, 2	0.131	Moderate	Bal	
Qlr.inra-6B	Pt4716- Pt4388	0.0 - 16.3	0.0 - 50.0	Mai-09, Mai-10	All	-	Quantitative	1, 2	0.158	Moderate	Bal	
Qlr.inra-7Aa	Pt0639- Pt7105	0.0 - 20.6	0.0 - 25.6	Mai-09, Mai-10/ G2	All	SPL	no	2, 3	0.396	Major	Bal	QTL for leaf rust, from Balance, near Lr20 (O. Robert, pers. comm.)

**A :** nom des QTLs selon la nomenclature du Catalogue of Gene Symbols for Wheat (McIntosh et al. 2010).  
**B :** Nom des marqueurs moléculaires flanquants. La position de chaque QTL varie selon les différentes analyses (lieu, répétition, année) conduites. Les marqueurs indiqués sont les plus externes, d'après l'ensemble des analyses réalisées.  
**C :** Position des marqueurs pour les QTL avec des LOD supérieurs à 2 (LOD de rang 1) ou supérieurs à la valeur seuil de 1000 permutations (LOD de rang 2 ou 3). Les positions sont en centiMorgans, par rapport au premier marqueur de chaque groupe de liaison.  
**D :** Intervalle de confiance maximum des QTLs, en centiMorgans. L'intervalle de confiance de chaque QTL varie selon les différentes analyses conduites. Les valeurs indiquées correspondent à l'intervalle de confiance le plus large, d'après l'ensemble des analyses réalisées.  
**E :** Expérimentations en serre et au champ dans lesquelles les QTL ont été détectés  
**F :** Stade de l'épidémie au champ auquel le QTL a été détecté, classé en précoce, intermédiaire et tardif, correspondant à la note de sévérité de la maladie à la première date, à une date intermédiaire, ou à la dernière date. All = QTLs trouvés à toutes les dates de notation.  
**G :** Composante de résistance quantitative pour laquelle un QTL a été détecté en serre (IE = efficacité d'infection, LP = période de latence, SPL = production de spores par lésion, LS = taille de lésion, SPS = production de spore par unité de surface sporulante). All = QTLs trouvés pour toutes les composantes.  
**H :** Spécificité des QTLs: no = QTL détecté avec les deux isolats, yes = QTL détecté avec l'isolat P5 uniquement, Quantitative = QTL détecté avec les deux isolats, mais avec un effet différentiel selon l'isolat.  
**I :** rang du LOD minimal et maximal. Les valeurs des LOD ont été classées en catégories 1, 2, et 3, pour des valeurs de LOD respectivement : comprises entre 2 et la valeur seuil de 1000 permutations; comprises entre la valeur seuil de 1000 permutations et 7; supérieures à 7.  
**J :** Pourcentage moyen de la variance phénotypique totale expliquée par le QTL postulé.  
**K :** Classification de l'effet du QTL, basé sur le R<sup>2</sup> moyen: Mineur (R<sup>2</sup><0.1), Modéré (0.1<R<sup>2</sup><0.2), Majeur (R<sup>2</sup>>0.2).  
**L :** Source Parentale de résistance (Apa=Apache, Bal=Balance).

Tableau 2. Profil des QTLs de résistance quantitative à la rouille brune dans la population d'haploïdes doublés Apache - Balance.

### Populations de cartographie

Lors du programme FSOV 2004, nous avons sélectionné quatre sources de résistance quantitative, jugées diversifiées, à partir des deux critères suivants : i) différents niveaux de résistance au champ et ii) résistance due à différents composants, détectée par un phénotypage en serre. À partir d'un croisement avec la variété sensible Ecrin, les quatre populations de cartographie correspondantes ont été construites, et nous avons pu réaliser un phénotypage multilocal au champ de ces populations en année 4 du présent programme (Tableau 3). La distribution de fréquence du niveau de maladie ainsi obtenue a confirmé la nature quantitative de la résistance (Figure 2), et donc confirmé l'intérêt de poursuivre l'étude de ces populations. Ces quatre populations seront utilisées en 2013 (génération F7 pour les populations SSD) pour une cartographie fine des QTLs de résistance à la rouille brune et la production de marqueurs de ces QTLs utilisables en sélection.

	Populations SSD	Population HD
Parent(s)	Apache Trémie	
Résistant(s)	PBI04-006 (PBI)	LD00170-3 (LD7)
<b>FSOV 2004</b>		
2005 (année 1)	Phénotypage au champ	
2006 (année 2)	Phénotypage au champ	Phénotypage au champ
2007 (année 3)	Production de F1	Phénotypage au champ
<b>FSOV 2008</b>		
2009 (année 1)	Production de F3 et de F4	Production de HD
2010 (année 2)	Production de F5	Production de HD
2011 (année 3)	Production de F6 Pré-phénotypage en F5 (2 lieux par population)	Production de HD Pré-phénotypage (1 lieu)
2012 (année 4)	Production de F7 Phénotypage en F6 (3 lieux par population)	Phénotypage (3 lieux)

Tableau 3 : Production et phénotypage de populations de cartographie à partir de 4 parents sources de résistance quantitative diversifiées

## 2. Assurer une veille du contexte épidémiologique

### ► Suivi des populations pathogènes

Ce suivi permet de déterminer les pathotypes (ou combinaisons de virulences vis-à-vis des gènes *Lr*) de rouille brune auxquels les variétés sont confrontées au champ. Un suivi annuel des populations de *P. triticina* par échantillonnage sur les principales variétés cultivées reste indispensable, d'une part pour surveiller l'émergence de nouvelles virulences ou pathotypes, car les populations évoluent constamment, essentiellement en fonction des gènes de résistance utilisés dans les variétés cultivées ; d'autre part, il apporte les informations nécessaires au choix du ou des pathotypes à utiliser pour évaluer la résistance partielle, en fonction de leurs caractéristiques de virulence (contournement de gènes de résistance spécifique) et d'agressivité (fréquence dans les populations naturelles reflétant leur « succès » au champ). Ce suivi s'appuie entièrement sur les réseaux d'essais des partenaires sélectionneurs et Arvalis, et la caractérisation des pathotypes est effectuée par l'INRA-BIOGER.

Au cours des campagnes 2009, 2010 et 2011, au total 754 isolats ont été prélevés dans toute la France, en ciblant particulièrement les variétés les plus cultivées. Une quarantaine de pathotypes est identifiée chaque année. Pour simplifier la présentation des résultats, nous regroupons ces pathotypes en familles, une famille étant composée de pathotypes différant sur 2 ou 3 virulences maximum, et présentant le même génotype SSR (microsatellites). Les principales évolutions sur la période étudiée concernent d'une part de fortes évolutions de fréquence de certaines familles, et d'autre part l'apparition de nouvelles virulences :

- La famille 106314 (famille du pathotype P4) est très dominante depuis 2006. La famille 126-136 (famille du pathotype P5) a représenté au maximum 16% de la population en 2008, mais est devenue rare les années suivantes. Les familles 166 et 167, apparues en 2005, ont fait une très forte progression sur 2008-2011.

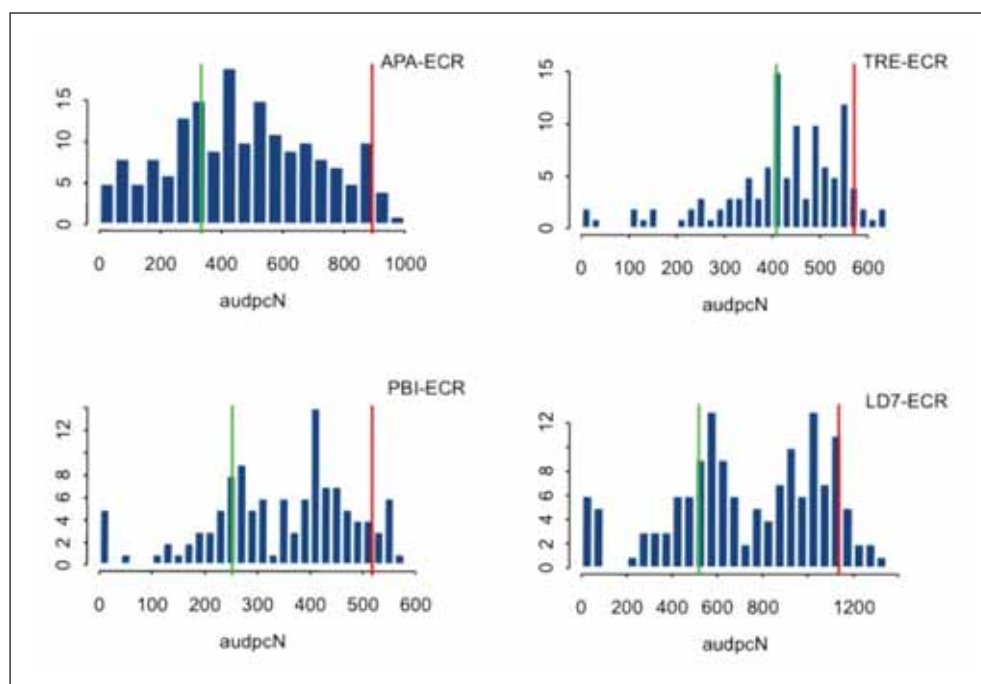


Figure 2 : Distribution de fréquences des AUDPC pour les populations HD et SSD (F6) au champ en 2012, vis-à-vis du pathotype P5. L'histogramme présenté ci-contre pour chacune des 4 populations a été choisi comme représentatif de ceux obtenus pour les 3 lieux x 2 répétitions par lieu. Ligne verte=moyenne du parent résistant, ligne rouge=AUDPC moyenne du parent sensible Ecrin

La famille 166 concurrence maintenant fortement la famille 106314 sur toutes les variétés. La famille 167 reste à une fréquence plus modeste et semblerait inféodée plus spécialement à Arezzo. Toutes ces familles dominantes ont en commun la combinaison de virulence (10, 13, 37), qui correspond à une combinaison de gènes devenue fréquente dans le paysage variétal français de ces dernières années. Les familles 166 et 167 ont très certainement en plus des virulences correspondant à des gènes de résistance adulte, présents dans les variétés mais indéterminés pour l'instant.

- La virulence sur le gène *Lr24* a été trouvée pour la première fois en 2009, et la virulence sur *Lr28* a été trouvée pour la première fois en 2011, avec des isolats porteurs de la double virulence 24 + 28. En conséquence, les variétés porteuses de *Lr24* et/ou *Lr28*, inscrites comme totalement résistantes, pourraient devenir sensibles au champ si ces nouveaux pathotypes portant les virulences correspondantes se développent. D'autre part, l'évaluation du niveau de résistance quantitative chez ces mêmes variétés ne pourra se faire qu'en utilisant un de ces nouveaux pathotypes, capables de contourner les résistances spécifiques de ces variétés.

### ► Suivi des populations hôtes

#### *Détection au champ de sources de résistance quantitative, et évaluation de leur stabilité vis-à-vis de la population pathogène*

L'objectif est de prospecter au fur et à mesure dans les nouvelles variétés inscrites, celles qui présentent une résistance de type quantitatif, et d'analyser la variation du niveau de résistance en fonction des pathotypes auquel la variété est confrontée. Les lignées et variétés à évaluer ont été confrontées aux pathotypes P3, P4 et P5 dans des essais séparés, au champ, réalisés par Arvalis à Boigneville en 2009, 2010 et 2011. Une grande partie du matériel testé a présenté des niveaux de résistance intéressants par rapport au témoin sensible Ecrin (Figure 3). Par ailleurs cette étude montre que pour certaines variétés, le niveau de résistance peut varier fortement en fonction du pathotype : par exemple Altigo est complètement résistant à P4, assez résistant à P3, et un peu moins à P5.

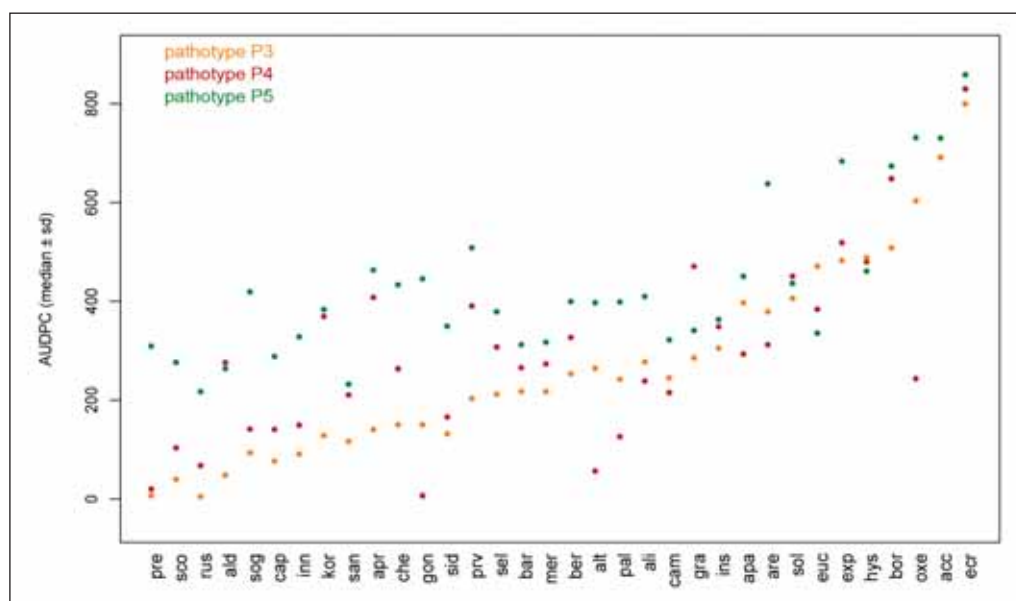


Figure 3 : Niveau de résistance quantitative à la rouille brune, mesuré par l'aire sous la courbe de progression de la maladie (AUDPC), moyenne de 3 années d'essai au champ (2009, 2010, 2011), d'une série de variétés vis-à-vis de 3 pathotypes différents. Décodage des variétés, dans l'ordre d'apparition sur l'axe des abscisses : Premio, Scor, Rustic, Aldric, Sogood, Caphorn, Inspiration, Koreli, Sankara, Aprilio, Chevalier, Goncourt, Sidéral, Prevert, Selekt, Barok, Mercato, Bermude, Altigo, Paledor, Aligator, Campero, Graindor, Instinct, Apache, Arezzo, Solehio, Euclide, Expert, Hystar, Boregar, Oxebo, Accroc, Ecrin.

#### *Détection au champ de résistance partielle dans le matériel en sélection*

Une pépinière comprenant des variétés témoins et 5 lignées, proposées par chacun des 12 établissements sélectionneurs partenaires (soit au total 75 entrées) comme potentiellement porteurs de résistance quantitative, a été implantée en 11 lieux, et inoculée avec le pathotype P5, en 2009 et en 2010. Les notations ont été réalisées par chaque partenaire indépendamment, et l'ensemble des notations rassemblées dans un fichier diffusé à tous les partenaires. Chaque participant dispose ainsi de deux années d'évaluation au champ du niveau de résistance quantitative de ce matériel. Les lignées et variétés présentant un niveau intéressant de résistance partielle sont indiquées dans le Tableau 4. Les autres lignées de la pépinière se sont comportées soit comme sensibles ou très sensibles, soit comme très résistantes. Dans ce dernier cas on peut émettre l'hypothèse que la résistance totale observée pourrait être due à un ou plusieurs facteurs de résistance spécifique, non contourné(s) par le pathotype utilisé.

Résistance quantitative élevée		Résistance quantitative moyenne	
Flaubert	PBI-04-0006	Aciento	Soissons
Prevert	Premio	Altigo	Hekto
Albiano	RE04073	Andalou	Trémie
Aldric	RE05043	Apache	UN 239
Camp-Rémy	Rustic	Arlequin	
CCB07H004	Goncourt	Barok	
CCB08H012	SO821	Chevron	
CF99102	Solehio	FD 06012	
Génial	Solution	Menestrel	
LD 00170-3	SUR.233	Mercato	
Tulip	UN 112	MH07.17	
NSA07-0788	Verlaine	Aramis	
33355 HT12	Instinct	Occitan	
Bermude	Koreli	Volontaire	
CCB08H020		Sirtaki	

Tableau 4 : Lignées et variétés ayant exprimé un niveau de résistance quantitative à la rouille brune significatif dans les essais au champ (11 lieux) en 2009 et 2010, vis-à-vis du pathotype P5.

### 3. Conclusion Générale - Perspectives

En associant au sein de ce projet l'ensemble des partenaires impliqués dans l'étude des populations pathogènes et de la génétique de la plante hôte, nous avons caractérisé pour la première fois la résistance quantitative à la rouille brune du blé d'un ensemble de variétés et lignées issues du matériel français utilisé en sélection. Si cela avait déjà été fait pour le matériel de sélection d'autres régions du monde (par exemple, au CIMMYT), notre travail vient combler un vide important, visant à élargir l'utilisation de la résistance quantitative dans la sélection variétale française. La principale conclusion de notre étude est que le matériel proposé par les sélectionneurs français contient une grande diversité phénotypique pour la résistance quantitative à la rouille brune, ce qui donne de bonnes bases pour sélectionner des résistances plus durables.

La stabilité de ces sources de résistance a été évaluée en les confrontant à des pathotypes combinant de nombreuses virulences, et représentatifs des divers niveaux d'agressivité présents dans les populations pathogènes actuelles. Partant de l'hypothèse que l'exercice de contraintes diversifiées sur le pathogène devrait ralentir son adaptation et augmenter la

durabilité de la résistance, nous avons évalué la diversité des sources de résistance proposées, en les caractérisant pour leurs composantes s'exerçant sur les différentes étapes du cycle infectieux du parasite. La mesure précise des composantes exigeant des expérimentations en serre, nous avons conduit en parallèle une évaluation du niveau de résistance au champ des génotypes étudiés, afin d'analyser la cohérence entre résultats en serre et au champ : elle s'est avérée très bonne pour les composantes période de latence, taille de lésion et sporulation par unité de surface sporulante.

A partir des parents Apache et Balance, pour lesquels une population de cartographie était déjà disponible, nous avons pu cartographier 13 QTLs. Toutefois le niveau de saturation de la carte génétique étant insuffisant pour obtenir des marqueurs suffisamment proches des QTLs, une cartographie plus fine doit être réalisée sur cette population. Les partenaires ayant poursuivi depuis 2007 sans interruption un travail de fond de construction de populations de cartographie, nous disposons à présent des connaissances et du matériel nécessaire pour identifier dans les deux prochaines années des marqueurs pour un panel de QTLs diversifiés de résistance à la rouille brune, qui seront exploitables en sélection assistée par marqueurs.

### Références bibliographiques

Azzimonti G., Lannou C., Sèche I., Goyeau H. (2013) Components of quantitative resistance to leaf rust in wheat cultivars: diversity, variability and specificity. *Plant Pathology*, sous presse.

Goyeau H., Lannou C. (2011) Specific resistance to leaf rust expressed at the seedling stage in cultivars grown in France from 1983 to 2007. *Euphytica* 178, 45-62.

Kolmer J.A. (1996) Genetics of resistance to wheat leaf rust. *Annual Review of Phytopathology* 34: 435-455

Kolmer J.A. (2001) Molecular polymorphism and virulence phenotypes of the wheat leaf rust fungus *Puccinia triticina* in Canada. *Can. J. Bot.* 79, 917-926.

Krattinger S.G., Lagudah E.S., Spielmeier W., Singh R.P., Huerta-Espino J., McFadden H., Bossolini E., Selter, L., Keller B. (2009) A putative ABC transporter confers durable resistance to multiple fungal pathogens in wheat. *Science Express*.

Pariaud B., Robert C., Goyeau H., Lannou C. (2009) Aggressiveness components and adaptation to a host cultivar in wheat leaf rust. *Phytopathology* 99, 869-878.

Parlevliet J.E. (1988). Identification and evaluation of quantitative resistance. *Plant Disease Epidemiology*. K. J. Leonard and W. E. Fry. New York, Mc Graw-Hill. II: 215-248.

Singh R.P., Mujeeb-Kazi A., Huerta-Espino J. (1998) *Lr46*: A gene conferring slow-rusting resistance to leaf rust in wheat. *Phytopathology* 88, 890-894.

Singh R.P., Huerta-Espino J., Rajaram S. (2000) Achieving near-immunity to leaf and stripe rusts in wheat by combining slow rusting resistance genes. *Acta Phytopathol. Entomologica Hung.* 35, 133-139.

Singh R.P., Huerta-Espino J., Williams H.M. (2005) Genetics and breeding for durable resistance to leaf and stripe rusts in wheat. *Turk J Agric For* 29, 121-127.