

Exploitation de résistances durables aux septorioses et fusarioses du blé tendre

Olivier ROBERT*¹, Seyed MAHMOD, Tabib GHAFARY⁴, Ellen GOUEMAND¹, Laure DUCHALAIS², Laurent GUERREIRO³, Valérie LAURENT^{1,2}, Katia BEAUCHENE³, Éric MARGALE², Philippe LONNET¹, Gert H. J. KEMA⁴

* Coordinateur : Olivier ROBERT, olivier.robert@florimond-desprez.fr, Tél. : 03 20 84 94 90

- 1 - BIOPLANTE-FLORIMOND DESPREZ - BP41, 59242 Cappelle en Pévèle
- 2 - BIOPLANTE-R2N - 60 rue Léon Beauchamp, 59930 La Chapelle d'Armentières
- 3 - ARVALIS-Institut du végétal - 3 rue Joseph & Marie Hackin, 75116 Paris
- 4 - PLANT RESEARCH INTERNATIONAL - BIOINTERACTIONS AND PLANT HEALTH, P.O. Box 16, 6700 AA Wageningen, The Netherlands

1. Introduction

La septoriose est une maladie du blé qui peut être provoquée par deux champignons : *Zymoseptoria tritici* (*Septoria tritici* ou *Mycosphaerella graminicola*) et *Stagonospora nodorum* (*Septoria nodorum*). *Z. tritici* est désormais majoritaire en Europe et provoque souvent de fortes diminutions du rendement. Cette maladie du blé est donc classée parmi les plus dévastatrices en Europe de l'Ouest et chaque année environ 300 millions d'euros sont dépensés pour lutter contre ce parasite. Depuis que cette maladie est étudiée, seulement 15 gènes de résistance spécifique à *Z. tritici* ont été identifiés et malheureusement, la plupart d'entre-eux sont maintenant inefficaces. Il est donc important de rechercher et d'identifier de nouveaux gènes ou QTL de résistance à cette maladie pour offrir la possibilité au sélectionneur d'obtenir de nouvelles variétés avec de nouvelles sources de résistance.

La fusariose est une maladie du blé qui peut provoquer des pertes de rendement pouvant atteindre de 30 à 70% (Bai et Shaner 1994) lorsque les conditions environnementales sont favorables au développement de la maladie (pluie d'orage durant l'épiaison et précédent maïs). Outre la perte de rendement, cette maladie est responsable de l'accumulation de toxines dans les grains. Actuellement, il n'existe pas de variétés suffisamment résistantes pour que l'agriculteur puisse faire l'impasse, sans risques, sur des traitements fongicides contre ce pathogène.

Fournir aux agriculteurs français des variétés plus résistantes à ces 2 maladies représente donc un enjeu stratégique, puisque la culture de telles variétés leur permettra à la fois de réduire leurs intrants et de sécuriser leurs débouchés.

Ce projet avait pour objectif de valoriser les résultats du projet précédent (FSOV 2004 : Détection et exploitation de résistances durables aux septorioses et fusarioses du blé tendre). Ainsi, nous avons identifié des lignées avec un très bon niveau de résistance à la fusariose et à la septoriose et développé des populations haploïdes doublées (HD) nous permettant d'étudier la génétique de la résistance des lignées résistantes. Dans ce projet, il était également prévu qu'une population HD issue de la lignée Chine 94.4 soit étudiée pour la résistance à la fusariose et que trois autres le soient pour la résistance à la septoriose. Malheureusement la population retenue pour la fusariose n'a pas pu être exploitée à cause de sa trop grande sensibilité au froid et il a alors été décidé de recentrer les efforts de ce programme sur la septoriose en étudiant sept populations produites par

BIOPLANTE et une population produite par USDA-ARS au lieu des trois initialement prévues.

2. Matériel et méthodes

► Matériel végétal

Les 7 populations Bioplane sont constituées de lignées haploïdes doublées (HD). Leur effectif varie entre 63 lignées pour la population Nogal/Bio110 et 97 lignées pour la population Cordiale/Nuage (Tableau 1).

La population Kulm/M3 a été produite par J. Faris de USDA-ARS (Fargo). Elle est constituée de 96 lignées RIL au stade F6 :7 issues de SSD.

Population	Abbréviation	Nombre de lignées	Environnements *
Apache × Balance	A × B	91	Ad05Cap, Ad05Pre, Ad06Pre, Ad07Cap, Ad07Pre, Se07Wag, Ad08Cap, Ad08Pre
FD3 × Robigus	F3 × R	87	Ad04Cap, Ad04Pre, Ad05Pre, Ad06Pre, Ad08Cap, Se08Wag, Ad09Pre, Ad10Cap
Robigus × Soissons	R × S	92	Ad09Cap, Ad10Cap
FD12 × SE11	F12 × S11	88	Ad05Cap, Ad08Pre, Ad09Cap, Ad10Cap
Cordiale × Nuage	C × Nu	97	Ad09Cap, Ad10Pre
Bermude × Timber	Be × T	82	Ad09Cap, Ad10Pre
Nogal × Bio110	No × Bi	63	Ad10Cap

* : Le suffixe numérique correspond à l'année d'expérimentation
Ad (Adult stage) stade adulte, Se (Seedlings) stade juvénile,
Cap Cappelle-en-pévèle (FR), Pre Prêmesques (FR),
Wag Wageningen (NL)

Tableau 1 : Populations Bioplane étudiées pour la détection des QTL de résistance à *Zymoseptoria tritici* en fonction des stades de développement et des environnements testés

► Géotypage des lignées HD

Marquage moléculaire

L'extraction d'ADN a été effectuée à partir de 50 mg de feuilles fraîches conservées à -80°C pendant 24h et lyophilisées

pendant 48h. Les feuilles desséchées ont ensuite été broyées. L'ADN a été extrait et purifié grâce à un kit NucleoSpin®96 Plant (Macherey-Nagel).

Des marqueurs SSR de type gwm (Röder *et al.* 1998), wmc (Gupta *et al.* 2002), gpw (Sourdille *et al.* 2001) cfa, cfe, cfd (Guyomarc'h *et al.* 2002) et barc (USDA-ARS Beltsville Agriculture Research Station) ont été utilisés pour 4 populations. 284, 169, 57 et 3 SSR polymorphes ont été cartographiés respectivement sur les populations Kulm/M3, Apache/Balance, FD3/Robigus et Nogal/Bio110.

Plusieurs puces DArT (Triticarte Lty) ayant de 2500 à 7000 marqueurs ont été utilisées sur les différentes populations.

3. Tests de résistance

► Tests au champ

Ces populations ont été phénotypées au champ à Cappelle en Pévèle et à Prémescques par Bioplante et à Wageningen (NL) au stade juvénile par PRI durant la période allant de 2000 (précédent programme FSOV) à 2010 (Tableau 1).

Au champ, les essais ont été mis en place en bloc complet avec 1 à 2 répétitions par lieu. Selon les lieux, chaque génotype comporte entre 30 et 50 plantes semées au semoir de précision. L'humidité est contrôlée artificiellement par une irrigation de 5mn/h chaque nuit afin de maintenir un environnement favorable au développement du pathogène.

L'inoculation est effectuée par pulvérisation de l'inoculum sur les plantes. La première inoculation est effectuée au stade montaison/début-épiaison et est suivie de deux autres passages à intervalle d'une semaine. La première notation est effectuée 3 semaines après l'inoculation. Chaque lignée est notée en termes de résistance à la septoriose et selon des paramètres morphologiques. Une notation « sélectionneur » (BN) a été effectuée (1-résistant à 9 -sensible) ainsi que la notation du pourcentage de la surface de la feuille drapeau atteintes de symptômes (PS).

► Tests au stade juvénile

La résistance à la septoriose de la population Kulm/M3 a été étudiée au stade juvénile avec 20 isolats de *Z. tritici* (Tabib Ghaffary *et al.* 2012). La population Apache/Balance a été testée avec 30 isolats de *Z. tritici* (Ghaffary *et al.* 2011). Les autres populations ont été testées avec 14 isolats de *Z. tritici*. Les conditions d'inoculations et de lecture des symptômes sont identiques pour toutes les populations et décrites dans les articles de Ghaffary *et al.* (2001 et 2012).

4. Analyses des données

► Analyses statistiques

Les effets des répétitions, années et lieux ont été testés par une analyse de variance grâce au logiciel R v2.6.0. L'héritabilité au sens large a été estimée à partir de l'ANOVA. Les coefficients de corrélation (r^2) entre caractères phénotypiques ont été calculés sous R.

► Analyses de liaison

Cartographies génétiques et Détection de QTL

Pour chaque marqueur, la ségrégation allélique obtenue a été comparé au ratio 1:1 attendu par un test du Chi-2 ($\alpha=0.01$). Les cartographies génétiques des 7 populations

ont été effectuées grâce au logiciel MapDisto 1.7.0 (Lorieux, 2006). Les groupes de liaison ont été établis avec un Lod score de 3 et un taux de recombinaison inférieur à 0,40. Les distances génétiques entre marqueurs (cM) ont été estimées avec la fonction de Kosambi.

Les QTL ont été recherchés avec le logiciel WinQTL cartographeur version 2.5 (Wang *et al.*, 2007).

► Analyse conjointe de QTL : la Méta-analyse

Une carte consensus regroupant les 7 populations Bioplante, 34 cartes (obtenues par l'INRA GDEC), ainsi que la carte consensus du chromosome 3B (Wenzl *et al.*, 2010) a été réalisé avec le logiciel MetaQTL (Veyrieras *et al.*, 2007).

La Méta-analyse a été effectuée avec le logiciel MetaQTL. Le nombre optimal de MQTL est déterminé par la minimisation du critère d'Akaike (AIC).

► Analyses d'association

Les allèles rares (moins de 5% de présence) ont été considérés comme données manquantes pour éviter les liaisons marqueur/caractère erronées. L'utilisation du logiciel STRUCTURE 2.3.3 a permis de déterminer la structure du matériel végétal utilisé dans l'analyse. Un modèle avec un burn-in de 5000 itérations et 5000 MCMC (Chaînes de Markov par méthode de Monte Carlo) a été utilisé pour évaluer le nombre de sous-populations. Le nombre optimal de sous-population a été estimé en suivant la méthode d'Evanno (Evanno *et al.*, 2005).

Les matrices de kinship ont été produites à partir des logiciels CoCoe 1.0 grâce à un estimateur AIS (Alikeness In State) et TASSEL 2.1.

L'utilisation du logiciel TASSEL 2.1 a permis le calcul des associations entre les marqueurs et les caractères d'intérêt en utilisant 2 modèles (le modèle général linéaire (GLM) et le modèle mixte linéaire (MLM)).

5. Résultats et Discussion

Les populations Kulm/M3 et Apache/Balance ayant fait l'objet d'une étude approfondie de leur résistance au stade juvénile pour la détection de gènes majeurs spécifiques, les résultats obtenus seront détaillés en dehors de « l'analyse multi-populations ».

► Analyse multi-populations

Cartographie génétique consensus

La carte consensus, construite à partir des 42 cartes initiales, comprend 8856 marqueurs distribués sur 21 groupes de liaison et couvre 3345 cM Kosambi. Le nombre de marqueurs par chromosome varie de 170 (4D) à 1322 (3B). La densité de marqueurs est en moyenne de 2,65 marqueurs par cM (Tableau 2).

Méta-analyse et génétique d'association

- Détection de QTL de résistance à la septoriose au stade adulte

La détection de QTL a été menée sur les 7 populations pour la précocité à l'épiaison, pour la hauteur des plantes et pour le pourcentage de symptômes de septoriose évalués sur plusieurs années. Au total, 115 QTL de résistance à la septoriose et 66 QTL liés à la hauteur et la précocité ont été identifiés et cartographiés sur la carte consensus (Tableau 3).

Chromosomes	Nombre de marqueurs	Taille (cM)	Densité (x marqueurs par cM)
1A	464	126	3.68
1B	520	127.62	4.07
1D	290	124.4	2.33
2A	411	244.99	1.68
2B	575	212.96	2.70
2D	408	138.07	2.96
3A	325	159.55	2.04
3B	1322	147.74	8.95
3D	352	105.23	3.35
4A	388	160.98	2.41
4B	266	139.06	1.91
4D	170	108.33	1.57
5A	287	179.85	1.60
5B	423	273.31	1.55
5D	250	128.31	1.95
6A	455	170.11	2.67
6B	429	146.71	2.92
6D	206	132.4	1.56
7A	453	147.6	3.07
7B	410	173.82	2.36
7D	452	197.99	2.28
TOTAL	8856	3345.03	2.65

Tableau 2 : Répartition des marqueurs sur la carte consensus

Ces QTL sont présents sur presque tous les chromosomes, mais pour la résistance à la septoriose, aucun QTL n'a été détecté sur les chromosomes 1D, 5D et 7B.

• Analyse Méta-QTL

L'analyse Méta-QTL de l'ensemble de ces QTL, détectés plusieurs fois dans des expérimentations différentes (lieu et/ou année), a permis de regrouper les QTL identiques en M-QTL. Ainsi, les 115 QTL détectés ont été regroupés en 27 M-QTL et seulement 10 QTL n'ont pas pu être associés à un M-QTL (Tableau 4). Parmi ces 27 M-QTL, 14 colocalisent avec des QTL de hauteur ou de précocité. Le pourcentage de variance expliqué par les QTL initiaux constituant ces M-QTL varie de 7 à 64%.

• Analyses de génétique d'association

Les analyses du déséquilibre de liaison (LD) ont été effectuées sur l'ensemble du matériel Bioplante (613 génotypes). La corrélation entre le r^2 et la distance en cM est significative. Les deux modèles GLM et MLM ont été comparés et le nombre d'associations significatives entre les marqueurs et les caractères (MTA) est supérieur avec le modèle GLM. Ainsi, pour le pourcentage de symptômes de septoriose, 24 MTA ont été identifiées avec le modèle GLM contre seulement 8 MTA avec le modèle MLM. De même avec la notation sélectionneur de la septoriose (BN), 35 et 13 MTA ont été identifiées avec les modèles GLM et MLM respectivement (dont 21 MTA sont identiques aux deux modèles) (Tableau 5).

Chromosome	Populations														TOTAL	
	A x B		R x S		F3 x R		No x Bi		F12 x S11		Be x T		C x Nu			
1A	-	1(1)	-	2(2)	-	2(2)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5(4)
1B	-	3(3)	-	-	1(1)	1(1)	-	-	-	-	-	-	-	-	1(1)	4(3)
1D	1(1)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1(1)	-
2A	-	1(1)	1(1)	-	-	2(2)	1(1)	-	-	-	2(2)	2(1)	-	1(1)	4(4)	6(5)
2B	-	3(3)	-	-	1(1)	3(3)	-	-	2(2)	-	-	-	-	1(1)	3(3)	7(7)
2D	6(5)	7(7)	3(2)	-	-	2(2)	2(2)	-	-	-	-	2(1)	-	-	11(9)	11(10)
3A	-	5(4)	-	1(1)	-	7(5)	-	2(2)	-	-	-	-	-	-	-	15(12)
3B	1(1)	1(1)	-	-	-	-	-	1(1)	-	-	2(1)	1(1)	-	1(1)	3(2)	4(4)
3D	-	2(2)	-	-	-	-	-	1(1)	-	-	1(1)	2(1)	-	-	1(1)	5(4)
4A	-	-	-	-	-	2(2)	1(1)	-	-	-	-	-	3(2)	-	4(3)	2(2)
4B	1(1)	1(1)	1(1)	-	4(3)	2(2)	-	-	-	-	1(1)	-	2(2)	-	9(8)	3(3)
4D	2(2)	-	-	-	7(5)	7(6)	-	-	-	-	-	-	1(1)	-	10(8)	7(6)
5A	-	1(1)	1(1)	2(1)	-	2(1)	-	-	-	-	-	-	-	-	1(1)	5(4)
5B	1(1)	-	-	-	-	1(1)	-	-	-	-	-	-	-	-	1(1)	1(1)
5D	1(1)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1(1)	-
6A	-	-	-	-	-	4(3)	-	1(1)	-	-	-	-	-	-	-	5(4)
6B	-	-	-	3(2)	1(1)	4(4)	-	-	-	-	-	-	-	1(1)	1(1)	8(7)
6D	2(2)	8(6)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2(2)	8(6)
7A	1(1)	1(1)	-	-	2(2)	2(2)	-	-	1(1)	4(1)	1(1)	-	-	-	5(5)	7(4)
7B	3(3)	-	-	-	3(3)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6(6)	-
7D	-	9(7)	-	1(1)	-	-	2(2)	2(1)	-	-	-	-	-	-	2(2)	12(9)
TOTAL	19	43	6	9	19	44	6	7	3	4	7	7	6	4	66	115

Le nombre avant les parenthèses représente le nombre de QTL projetés ; " - " Absence de QTL ; Les colonnes grisées regroupent les QTL liés à la résistance à la septoriose tandis les autres regroupent des QTL lié à la précocité de floraison et à la hauteur des plantes. Le nombre entre parenthèses représente le nombre d'expérimentation révélant le QTL.

Tableau 3 : Nombre de QTL de précocité, hauteur et de résistance à la septoriose projetés sur la carte consensus.

Nom	Chr*	IC** (cM)	Nombre de QTL rassemblés***	Type de QTL initiaux et Populations				Marqueurs liés aux gènes STB de résistance	R ² (STB)
				Stade		Hauteur	Épiaison		
				Plantule	Adulte				
MQTL1	1A	19.2 - 25.4	3	F3×R	R×S F3×R	-	-	wPt-7905, wPt-2527, gpw7072	12 à 18%
QTL1	1A	48.5 - 66.3	1	-	R×S	-	-	wPt-669563	11%
QTL2	1A	107.3 - 112	1	-	A×B	-	-	wPt-732616, wPt-1011	10%
MQTL2	1B	36.6 - 40.5	3	A×B	A×B	-	-	wPt-4325, gpw4069, tPt-8929	7 à 12%
MQTL3	1B	74.1 - 75.9	2	-	F3×R	-	F3×R	wPt-6975, wPt-4721, wPt-5281	11%
MQTL4	2A	81.7 - 88.5	7	-	F3×R ; B×T C×Nu	R×S	B×T	wPt-740658, wmc177, wPt-9320, wPt-6711	11 à 17%
MQTL5	2A	176 - 178.2	3	-	F3×R ; A×B	No×Bi	-	wPt-9277, wPt-6662, wPt-741584, wPt-7901	9 à 11%
QTL3	2B	18.1 - 26.1	1	-	F3×R	-	-	wmc764, wPt-0289, wPt-4453	20%
MQTL6	2B	58.1 - 69.7	3	F3×R A×B	-	-	-	wPt-5672, gpw7438, wPt-6199, wPt-8583	11 à 22%
MQTL7	2B	72.2 - 78.5	3	-	A×B	-	F12×S11	wPt-0335, wPt-668084, gpw3032	17%
MQTL8	2B	85.9 - 87.5	3	-	C×Nu F3×R	F3×R	-	wPt-1646, wPt-0189, wPt-8340	11 à 15%
MQTL9	2D	35.3 - 39.2	3	A×B	F3×R	-	-	cfD36b, wPt-6003, wPt-6780	11 à 24%
MQTL10	2D	63.27 - 67.23	16	-	A×B	R×S A×B	R×S A×B	gwm332, gwm484, wPt-6419	10 à 26%
MQTL11	2D	86.73 - 89.7	4	-	B×T	-	No×Bi	wPt-665644, wPt-8330, wPt-0298	12%
MQTL12	3A	50.2 - 52.6	13	A×B F3×R	A×B ; F3×R No×Bi	-	-	wPt-0714, wPt-5486, wPt-0951, wPt-0797	9 à 77%
MQTL13	3A	132.3 - 133.7	2	-	F3×R ; R×S	-	-	wPt-1036, wPt-1596, wPt-9761	15 à 18%
MQTL14	3B	75.6 - 83.9	4	A×B	No×Bi C×Nu	-	B×T	wPt-0644, wPt-11278, wPt-3725, wPt-5358	6 à 15%
QTL4	3B	137.6 - 140.1	1	-	B×T	-	-	wPt-0343, wPt-6834, wPt-10758	15%
QTL5	3D	0 - 3.4	1	-	A×B	-	-	cfD141a, gwm161	8%
MQTL15	3D	21.9 - 24	4	A×B	B×T ; No×Bi	-	-	wPt-732185, barc125, wPt-731416	7 à 20%
QTL6	4A	42.3 - 61.1	1	-	F3×R	-	-	wPt-798213	17%
QTL7	4A	97.7 - 117.1	1	-	F3×R	-	-	wPt-6997	11%
MQTL16	4B	62.7 - 71.4	3	-	F3×R ; A×B	F3×R	-	wmc617, wPt-3439, gwm149, wPt-8650	9 à 18%
MQTL17	4B	81.8 - 83.1	9	-	F3×R	R×S ; A×B F3×R	C×Nu ; B×T F3×R	wPt-3991, wPt-1101, wPt-7365, wPt-6209	13%
MQTL18	4D	38.1 - 38.3	17	-	F3×R	A×B C×Nu F3×R	-	wPt-5809, wPt-0431, wPt-3058, wPt-665313	10 à 30%
MQTL19	5A	24.7 - 34.2	4	F3×R	R×S	-	R×S	wPt-2697, wPt-797382, tPt-6183	8 à 16%
QTL8	5A	39.9 - 53.6	1	-	A×B	-	-	wPt-3620, wPt-0605, gwm129	17%
QTL9	5A	159.3 - 159.8	1	F3×R	-	-	-	wPt-7061, wPt-1200, wPt-2873	16%
QTL10	5B	154.8 - 165.5	1	F3×R	-	-	-	wPt-664788, wPt-3076	14%
MQTL20	6A	18.4 - 20.3	5	F3×R	F3×R No×Bi	-	-	wPt-0864, tPt-4209, wPt-1664, wPt-9132	10 à 15%
MQTL21	6B	40.7 - 42.5	9	F3×R	F3×R ; R×S C×Nu	-	F3×R	wPt-729979, wPt-2587, wPt-2297, wPt-6437	6 à 20%
MQTL22	6D	26.86 - 30.1	8	A×B	A×B	-	-	gpw5176, gpw3087, wPt-665166	10 à 64%
MQTL23	7A	14.2 - 18.5	3	F3×R	F3×R	-	F3×R	wPt-8171, wPt-3794, wPt-732309, wPt-1510	15 à 42%
MQTL24	7A	103.3 - 104.4	5	-	F12×S11 A×B	-	-	wPt-5524, wPt-0639, wPt-0971, wPt-744897	11 à 32%
MQTL25	7D	87.7 - 91.7	7	A×B	-	-	-	wPt-744433, wPt-664469, gwm111	6 à 33%
MQTL26	7D	117.8 - 127.5	4	-	No×Bi	-	No×Bi	wPt-2258, wPt-7642	33%
MQTL27	7D	136.2 - 147.5	3	-	A×B ; R×S	-	-	wPt-667894, wPt-7368, wPt-6553	8 to 15%

* Chr Chromosome; ** CI 95% Intervalle de confiance; *** Nombre de QTL initiaux regroupés en Méta-QTL ; R² est le pourcentage de la variance expliquée par les QTL initiaux ; Les QTL en gris représentent un QTL unique pour la résistance à la septoriose; Le marqueur le plus lié à la résistance est souligné.

Tableau 4 : Résultats de Meta-analyse pour la résistance à la Septoriose

A-QTL	Marqueur	Chr.	Position	Caractère		Méthode		R ²
				Pourcentage de symptômes	Notation sélectionneur	GLM	MLM	
A-QTL1	wPt-6005	1A	114,02		X		X	0,025
A-QTL2	tPt-9405	2A	80,43	X	X	X		0.042 à 0.044
	wPt-664251	2A	87	X	X	X		0.041 à 0.049
A-QTL3	barc124	2D	29,18	X		X		0,126
	cf56	2D	29,27	X		X		0,115
	cf51	2D	31,53	X		X		0,178
	gpw5261	2D	31,53	X		X		0,158
	cf36b	2D	34,58	X		X		0,171
A-QTL4	wPt-667584	2D	63,21	X	X		X	0.023 à 0.025
	gpw332	2D	64,32	X	X	X		0,24
	wPt-0724	2D	69,27	X	X	X	X	0.02 à 0.032
	wPt-731409	2D	69,51		X	X	X	0.024 à 0.025
	wPt-666987	2D	70,07		X		X	0,023
A-QTL5	wPt-8330	2D	88,27	X	X	X	X	0.019 à 0.043
	wPt-0298	2D	90,33	X	X		X	0.021 à 0.023
A-QTL6	wPt-1923	3A	49,18	X		X	X	0.072 à 0.156
	wPt-0797	3A	53,07	X		X	X	0.044 à 0.057
A-QTL7	wPt-0343	3B	138,86		X	X	X	0.036 à 0.038
A-QTL8	tPt-4209	6A	18,74		X		X	0,03
A-QTL9	wPt-745052	6B	39,26	X			X	0,024
	wPt-729979	6B	41,26		X	X		0,04
A-QTL10	gpw5176	6D	25,6		X	X		0,154
	gpw3087	6D	31,46		X	X		0,199
A-QTL11	gpw4440	6D	46,93		X	X	X	0.059 à 0.068
	gpw4159	6D	48,45		X	X		0,058
	gpw4350	6D	51,31		X	X		0,115

X dans la colonne "Caractère" indique la présence d'une association entre le marqueur et un caractère spécifique ; X dans la colonne "Méthode" indique la méthode utilisée pour détecter cette association ; Seuls les marqueurs expliquant plus de 2% la variation phénotypique (R²>0.02) sont présentés ; A-QTL est un QTL identifié par analyse d'association.

Tableau 5 : Associations entre les marqueurs et les caractères identifiés avec les modèles GLM et MLM

Analyse spécifique de la population Kulm/M3 : Identification des gènes *Stb16q* et *Stb17*

Un QTL majeur a été identifié sur le chromosome 3DL aussi bien au stade juvénile qu'au stade adulte. Le pic de ce QTL a la même position avec les deux isolats testés et la valeur de son LOD atteint 8.4. Ce locus explique jusqu'à 31% de la variance phénotypique de la résistance. Il est encadré par les marqueurs SSR *Xwmc494* et *Xbarc125* (Tableau 6). Ce QTL correspond à un gène majeur de résistance spécifique que Tabib Ghaffary *et al.* (2012) ont nommé *Stb16q*. Le gène *Stb16q* a pour origine le blé synthétique M3 et plus précisément l'accèsion d'*Ae. tauschii* C122.

Un autre QTL majeur a été détecté sur le chromosome 5AL. Il explique jusqu'à 32% de la variation phénotypique au stade adulte et a un LOD de 8.9. Ce QTL est encadré par les SSR *Xgwm617* et *Whbg247*. Ce QTL correspond à un gène majeur de résistance adulte spécifique que Tabib Ghaffary *et al.* (2012) ont nommé *Stb17*.

Analyse spécifique de la population Apache/Balance : Identification du gène *Stb18*

Cinq QTL liés à la résistance à la septoriose au stade juvénile ont été identifiés sur les chromosomes 1BS, 3AS, 6DS, 7DL et 7DS (Tableau 7).

Trois QTL de résistance à la septoriose ont été détectés au stade adulte sur les chromosomes 2DS, 3AS et 6DS (Tableau 8). Le QTL du chromosome 2DS est spécifique du stade adulte tandis que les QTL des chromosomes 3AS et 6DS correspondent à ceux identifiés au stade juvénile.

L'analyse de ces marqueurs, validée par l'étude des virulences présentes dans les isolats utilisés pour tester la résistance des lignées, permet d'associer des gènes majeurs aux QTL détectés dans cette étude. Ainsi, le QTL 1BS identifié au stade juvénile chez Apache correspond au gène *Stb11* et le QTL sur le 7DS d'Apache correspond au gène *Stb4*. Le QTL 3AS de Balance correspond au gène *Stb6*. Le QTL 7DL, quant à lui, ne correspond à aucun gène connu.

Gène/ Bras Chromosomique	Intervalle des marqueurs	Position (cM)	Source de résistance	LOD (21/28dpi)	R ² (21/28dpi)	Effet additif (21dpi/28dpi)
<i>Stb16q</i> /3DL	Xbarc125-Xbarc128	58.0	M3	7.2/8.4	0.28/0.31	7.4/11.9
<i>Stb17</i> /5AL	Xgwm617-Xhbg247	62.0	M3	3.0/8.9	0.12/0.32	4.5/12.3

dpi : Nombre de jours entre l'inoculation et la notation des symptômes.

Tableau 6 : Valeurs des LOD et R² de *Stb16q* et *Stb17* pour la résistance à l'isolat IPO88018 de *Mycosphaerella graminicola*, évaluée au stade adulte, dans la population RIL issue du croisement Kulm/M3.

Un complément d'information est toutefois nécessaire pour savoir s'il s'agit réellement d'un nouveau gène majeur de résistance spécifique.

Le QTL majeur de résistance identifié sur le chromosome 6DS de la variété Balance ne correspond à aucun gène connu. Le pic de ce QTL a la même position avec les deux isolats testés et la valeur de son LOD atteint 8.4. Ce locus explique jusqu'à 31% de la variance phénotypique de la résistance au stade juvénile. Il est encadré par les marqueurs SSR *Xgpw3087* et *Xgpw5176*. Ce QTL correspond à un gène majeur de résistance spécifique que Tabib Ghaffary *et al.* (2011) ont nommé *Stb18*.

5. Conclusions

Ce programme a permis d'identifier 3 nouveaux gènes de résistance spécifique à la septoriose. Ces 3 nouveaux gènes portent ainsi à 18 le nombre total de gènes *Stb* connus à ce jour. De nouveaux M-QTL et A-QTL de résistance à la septoriose ont également été identifiés. Certains d'entre eux correspondent à des gènes *Stb* déjà connus, mais d'autres n'avaient pas encore été identifiés. Grâce à l'ensemble de ces résultats, le sélectionneur a la possibilité d'utiliser et de combiner plusieurs sources de résistances (3 gènes *Stb*, 10 QTL, 27 M-QTL dont 11 sont confirmés en A-QTL) efficaces

Isolat	Marqueur le plus lié	Chr.	Ensemble de données phénotypique ¹	Source de résistance	N			P			
					PD ² (cM)	LOD	Exp. (%)	PD (cM)	LOD	Exp. (%)	
IPO323	wPt-0836	3AS	R1	Balance	0	12.2	46.1	1	7.3	27.7	
			R2		1	25.5	73.7	1	11.1	39.7	
			R3		1	25.6	73.1	1	10.8	38.7	
	Xgpw5176-Xgpw3087 ³	6DS	R1	Balance	3.2- 5	3.6	12.7				
			R2		0.3- 8	3.1	8.9				
			R3		4.3- 4	3.5	11				
IPO98022	Xgpw5176-Xgpw3087 ³	6DS	R1	Balance	6.3- 2	6.4	30.4	5.3- 3	16.3	47	
			R2		8.3- 0	5.4	21.6	5.3- 3	13.1	47.4	
			R3		0.3- 8	4.4	18.8	5.3- 3	12.3	48	
	Xgwm111	7DS	R1	Apache				1.1	6.2	11.8	
			R2					0	5.2	11.2	
			R3					0	2.2 ⁴	5.9	
IPO89011	Xgpw5176-Xgpw3087 ³	6DS	Ave.	Balance				5.3- 3	23.1	67.5	
	wPt-1859	7DL	Ave.		Apache				0	4.5	8
IPO98046	Xgwm111	7DS	R1	Apache				0	9.5	27.5	
			R2					- ⁵	-	-	
			R3					0	6.2	20.8	
	Xgpw313	7DL	R1	Apache				-	-	-	
			R2					5	6.8	20.5	
			R3					-	-	-	
			Ave.								
	Xgpw5176-Xgpw3087 ³	6DS	R1	Balance				8.3- 0	7	19	
			R2					8.3- 0	7.9	24.2	
			R3					6.3- 2	7.4	27.1	
	IPO87016	wPt-2019	1BS	R1	Apache				2	19.1	63.3
				R2					1	21.1	68.3
R3								0	17.8	59.3	
Ave.				1		21.1	67.3				

1 : R1, R2 and R3 représentent les données de la première, la seconde et la troisième répétition. L'analyse QTL a été effectuée sur des données moyennes (Ave) quand le test du χ^2 de Bartlett indiquait une absence de significativité des variations phénotypiques entre répétitions, sinon les répétitions étaient analysées individuellement.
2 : PD = Distance au pic du QTL en cM.

Tableau 7 : Quantitative trait loci (QTLs) associé avec la nécrose (N) and le développement des pycnides (P) dans la population HD Apache/Balance après inoculation de 5 isolats de *Mycosphaerella graminicola* au stade juvénile.

Marqueurs	Lieu an	Lésion de la feuille drapeau									Précocité						Hauteur					
		R2n 2007			R2n 2008			F. Desprez 2008			R2n 2008			F. Desprez 2008			R2n 2008			F. Desprez 2008		
	Chr.	PD1	LOD	Exp %	PD	LOD	Exp %	PD	LOD	Exp %	PD	LOD	Exp %	PD	LOD	Exp %	PD	LOD	Exp %	PD	LOD	Exp %
Xgpw332b	2DS	2	8.9	30.9	6	3.5	7.8	11.9	6.7	30.9	5	24	77.5	3	27.3	79.3	6	5.6	24.8	7	6.56	23.3
wPt-0797	3AS	0	6.2	19.1																		
wPt-0836	3AS				1	14.2	35.6	1	8.6	28.6												
Xgpw5176-Xgpw30872	6DS				8.3	5.9	12.5															

1 : PD = Distance au pic du QTL en cM - 2 : Marqueurs flanquants

Tableau 8 : Quantitative trait loci (QTL) associé à la résistance à la Septoriose (isolat IPO323 de *M. graminicola*), à la précocité et à la hauteur des plantes au stade adulte au champ.

aux stades juvénile et adulte. Par un cumul approprié de ces différentes sources de résistance, il sera en mesure d'obtenir de nouvelles variétés présentant une résistance efficace et durable vis à vis de la septoriose.

Ainsi, le gène *Stb16q* nous semble être un gène très pertinent. Cependant les marqueurs liés à ce gène restent perfectibles pour une utilisation en sélection... De ce fait, nous voudrions identifier de nouveaux marqueurs très proches du gène (ou dans le gène) pour permettre une utilisation facile de *Stb16q* en sélection. Nous avons donc décidé de démarrer un nouveau programme FSOV qui a pour objectif principal d'identifier de tels marqueurs et qui sera

également à la base d'une démarche du clonage de ce gène de résistance (démarche qui offrira de multiples opportunités d'exploitation pour la recherche académique).

► Remerciements

La carte consensus a été le fruit d'une collaboration entre les partenaires de ce programme et l'INRA-GDEC (Laetitia CHEVARIN, Jacques BORDES et Jacques Le GOUIS). Par ailleurs, sans la collaboration de Justin Faris (ARS-USDA, Fargo), nous n'aurions pas été en mesure d'identifier les gènes *Stb16q* et *Stb17*. Les partenaires du programme tiennent donc à les remercier pour leur aide apportée à ce programme.

Références bibliographiques

- Bai G. H. and Shaner G. (1994). "Scab of Wheat - Prospects for Control." *Plant Disease* 78(8): 760-766.
- Evanno G., Regnaut S. et Goudet J. (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology* 14: 2611-2620.
- Gupta P.K., Balyan H.S., Edwards K.J, Isaac P., Korzun V., Röder M., Gautier M.F., Jourdrier P. et Schlatter A.R. (2002) Genetic mapping of 66 new microsatellite (SSR) loci in bread wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 105 :413-422
- Ghaffary S. M. T., O. Robert, V. Laurent, P. Lonnet, E. Margalé, Van der Lee T.A.J., Visser R.G.F., Gert H.J. Kema (2011). "Genetic analysis of resistance to septoria tritici blotch in the French winter wheat cultivars Balance and Apache." *Theoretical and Applied Genetics* 123(5): 741-754.
- Tabib Ghaffary S.M., Faris J.D., Friesen T.L., Visser R.G.F., Van der Lee T.A.J., Robert O., Kema G.H.J. (2012). "New broad-spectrum resistance to septoria tritici blotch derived from synthetic hexaploid wheat." *TAG Theoretical and Applied Genetics* 124(1): 125-142.
- Guyomarc'h H., Sourdille P., Charmet G., Edwards K. and Bernard M. (2002) Characterisation of polymorphic microsatellites markers from *Aegilops tauschii* and transferability to the D-genome of bread wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 104:1164-1172
- Röder M.S., Plaschke J., König S.U., Börner A., Sorrells M.E., Tanksley S.D. et Ganai M.W. (1995) Abundance, variability and chromosomal location of microsatellites in wheat. *Molecular and General Genetics* 252 :537-544
- Sourdille P., Guyomarc'h H., Baron C., Gandon B. et Chiquet V. (2001) Improvement of the genetic maps of wheat using new microsatellite markers. *Plant and animal genome IX*, San Diego, pp. 167.
- Lorieux M. (2006) MapDisto, A Tool for Easy Mapping of Genetic Markers. Poster (P886) presented at the Plant and Animal Genome XIV conference, Jan 14-18 2006, San Diego, CA. URL: <http://mapdisto.free.fr/>.
- Veyrieras J-B., Goffinet B., Charcosset A. (2007) MetaQTL: a package of new computational methods for the metaanalysis of QTL mapping experiments. *BMC Bioinformatics* 8:49
- Wang S., Basten C.J. et Zeng Z. (2007) Windows QTL cartographer 2.5. Department of Statistics, North Carolina State University, Raleigh, NC.
- Wenzl P., Suchankova P., Carling J., Simkova H., Huttner E., Kubalaková M., Sourdille P., Paul E., Feuillet C., Kilian A., Dolezel J. (2010) Isolated chromosomes as a new and efficient source of DArT markers for the saturation of genetic maps. *Theoretical and Applied Genetics* 121:465-474