

# Stabilité de QTL et de composantes de résistance adulte du blé tendre à la rouille jaune

Axel OLIVIER<sup>1</sup>, Gwenn VERPLANCKE<sup>2</sup>, Claude DE VALLAVIEILLE-POPE<sup>3</sup>, Marc LECONTE<sup>3</sup>, Bernard ROLLAND<sup>2</sup>, Sophie PAILLARD<sup>2</sup>, Jean-Bruno BEAUFUME<sup>4</sup>, Jayne STRAGLIATI<sup>4</sup>, Denis BEGHIN<sup>5</sup>, Philippe LONNET<sup>5</sup>, Sébastien CUVELIER<sup>6</sup>, Eric MARGALE<sup>6</sup>, Patrice SENELLART<sup>7</sup>, Sébastien CAIVEAU<sup>7</sup>, David GUIARD<sup>7</sup>, Françoise DEDRYVER<sup>2</sup>

\* Coordinateur : Pierre RIGOLLE, prigolle@invivo-group.com

1 - GIE Club 5 - 83 avenue de la Grande Armée, 75782 Paris Cedex 16

2 - INRA UMR 118 - APBV- BP 35327, 35653 Le Rheu

3 - INRA BIOGER-CPP - UR 1290, BP01, 78850 Thiverval-Grignon

4 - Limagrain Verneuil Holding - Ferme de l'Etang, 77390 Verneuil l'Etang

5 - Maison Florimond Desprez - BP 41, 59242 Cappelle en Pévèle

6 - Serasem - 60 rue Léon Beauchamp, BP 45, 59933 La Chapelle d'Armentières

7 - Syngenta Seed SAS - Ferme de Moyencourt, BP5, 78910 Orgerus

La rouille jaune du blé est l'une des maladies du blé les plus répandues et les plus dévastatrices, qui se manifeste surtout dans les régions au climat frais et humide. La sélection de variétés résistantes apporte à l'agriculture des solutions efficaces permettant de réduire l'emploi de produits phytosanitaires. Pour éviter le contournement des résistances, il paraît indispensable d'introduire dans les programmes d'amélioration variétale des géniteurs de résistance adulte, qui présentent des résistances partielles considérées comme plus durables que les résistances totales exprimées dès le stade jeune plante. Le présent projet a étudié la stabilité dans le temps et dans différents environnements, de QTL/composantes de résistance adulte du blé tendre à la rouille jaune issus des variétés Renan, Camp Rémy et Apache dont la résistance s'est montrée durable après plus de dix années de culture en France. Ces QTL ont été mis dans différents fonds génétiques, seuls ou en combinaison dans un même génotype, en lien éventuellement avec un gène de résistance spécifique.

Cette étude a montré l'intérêt d'effectuer des expérimentations au champ différentes pour chaque pathotype étudié dans le cadre de détection de QTL et de gènes majeurs de résistance. La contamination naturelle par un pathotype extérieur à l'expérimentation est un frein à la bonne interprétation des résultats et donc à la détection des QTL et des gènes majeurs spécifiques. Si les QTL paraissent stables dans le temps vis-à-vis d'un même pathotype, leur niveau d'efficacité enregistré varie en lien avec le fonds génétique mais surtout en fonction des critères des notateurs.

Seul le suivi par marquage moléculaire des QTL dans le matériel végétal en sélection, nous a permis de savoir s'ils étaient présents dans les lignées étudiées. Le marquage est même parfois la seule possibilité de mettre en évidence des gènes majeurs spécifiques, lorsqu'ils sont cumulés dans un même génotype et que l'on ne possède pas les pathotypes adéquats pour les mettre en évidence. Vingt huit lignées en cours de sélection possèdent des allèles marqueurs des QTL de Renan et/ou du QTL du 2D de CR et présentent des bons niveaux de résistance mais pas une résistance totale vis-à-vis des 4 pathotypes testés. Pour obtenir un bon niveau de résistance, il faut donc associer impérativement dans un même génotype plusieurs QTL présentant des résistances partielles avec éventuellement des gènes majeurs spécifiques. Ainsi, parmi les 18 lignées

étudiées qui présentaient une résistance totale, le niveau de résistance de 16 de ces lignées peut s'expliquer par la présence de gènes majeurs, soit de *YrRsp* et *Yr7* en cluster issu de Camp Rémy, soit de la combinaison de *Yr7* avec *Yr17* trouvée chez Apache.

Nous avons constaté que toutes les lignées qui possèdent des allèles de Renan, de Camp Rémy ou d'Apache, ont ces variétés ou l'un de leur géniteur dans leur généalogie, lorsque celle-ci est connue. Le marquage moléculaire doit donc permettre de suivre des gènes majeurs spécifiques et des QTL dans des lignées en cours de sélection à partir du moment où l'on connaît la généalogie du géniteur de résistance, afin d'utiliser les allèles marqueurs adéquats. Le marquage de gènes dans des régions chromosomiques portant plusieurs gènes/QTL reste cependant plus délicat, afin de ne pas perdre des gènes/QTL de résistance. Dans ce cas, l'idéal est de réaliser à la fois le marquage et les tests pathologiques au stade jeune plante, au stade adulte au champ pour établir un niveau de résistance et confirmer ou non la présence des gènes/QTL marqués.

En conclusion, on peut souligner que le marquage moléculaire est un outil intéressant pour faire l'état des lieux des gènes/QTL le plus souvent utilisés en sélection. Il est alors important d'éviter d'introduire trop fréquemment les mêmes combinaisons de gènes/QTL dans différentes lignées en cours de sélection pour éviter de faire pression sur l'agent pathogène et donc de favoriser le contournement de la résistance, si ces lignées sont largement cultivées. Le marquage a montré que 74 lignées en cours de sélection possédaient le gène *Yr17*. La combinaison *Yr7-Yr17* trouvée chez Apache protégeait bien les lignées vis-à-vis de la rouille jaune, mais elle est trop présente dans les lignées étudiées.

Le nombre de gènes *Yr* marqués étant limité, les tests pathologiques réalisés au stade jeune plante restent donc également un outil de choix pour repérer un grand nombre de gènes majeurs spécifiques, comme on a pu le faire dans ce travail. Ainsi, parmi les 154 lignées testées, nous avons postulé la présence de gènes non marqués de résistance totale exprimés dès le stade jeune plante : *Yr6* (12 % des lignées) et *Yr32* (8 % des lignées). Cependant, beaucoup de lignées (environ 30 %) sont résistantes à tous les pathotypes et on ne peut savoir s'il s'agit d'une combinaison de gènes de résistance spécifique déjà décrits ou de nouveaux gènes qui auraient été introduits par la sélection.

## 1. Introduction

La rouille jaune du blé (*Puccinia striiformis. f.sp. tritici*) est l'une des maladies du blé les plus répandues et les plus dévastatrices, qui se manifeste surtout dans les régions au climat frais et humide (de Vallavieille-Pope *et al*, 2000 ; Hau et de Vallavieille-Pope, 2006). Suite aux hivers doux tels que 2006-2007, 2007-2008, des épidémies précoces, difficiles à enrayer, se sont déclenchées sur les variétés sensibles (de Vallavieille-Pope *et al*, 2012).

Une atteinte massive des feuilles supérieures et des glumes pénalise particulièrement les récoltes, réduit le poids de mille grains et provoque des pertes de rendement de l'ordre de 40 à 80 %.

Une variété sensible demande l'application de deux fongicides et donc ne peut être utilisée dans une stratégie de protection intégrée des cultures dans un système économe en intrants.

La rouille jaune étant une maladie explosive, il est difficile de l'enrayer si les traitements chimiques ne sont pas appliqués dès le démarrage de l'épidémie.

La sélection de variétés résistantes apporte à l'agriculture des solutions efficaces permettant de réduire l'emploi de produits phytosanitaires. Cependant, ces solutions s'avèrent parfois de courte durée car certains gènes de résistance sont rapidement contournés par l'agent pathogène. Dès lors, la sélection de variétés présentant des résistances durables à la rouille jaune suscite l'intérêt de nombreux partenaires sélectionneurs de la filière blé tendre.

Les années de fortes épidémies de rouille jaune en France ont coïncidé avec des contournements de gènes spécifiques de résistance : 1975 (*Yr11*), 1981 (*Yr7*), 1987-1990 (*Yr6*), 1989-95 (*Yr9*), 1991-1995 (*Yr6* et *Yr9*), 1997-2004 (*Yr17*), 2007-2011 (*Yr32*) et 2010-2011 (*Yr6* et *Yr32*) (de Vallavieille-Pope *et al*, 2000 ; Bayles *et al*, 2000 ; Enjalbert *et al*, 2005). Il paraît donc indispensable d'introduire dans les programmes d'amélioration variétale des géniteurs de résistance adulte qui présentent des résistances partielles considérées comme plus durables que les résistances totales s'exprimant dès le stade jeune plante (Chen, 2005).

Le présent projet s'est proposé d'étudier la stabilité dans le temps et dans différents environnements, de QTL/composantes de résistance adulte du blé tendre à la rouille jaune, mis dans différents fonds génétiques, seuls ou en combinaison dans un même génotype, en lien éventuellement avec un gène de résistance spécifique.

Les variétés Renan, Camp Rémy et Apache ont été cultivées pendant plus de dix années, et malgré des épidémies importantes, leur résistance à la rouille jaune n'a jamais été contournée. Les résistances de ces cultivars, qui se mettent en place à différents stades du développement de la plante, ont été cartographiés par l'équipe blé INRA du GAP de Rennes dans les croisements Renan x Récital (Dedryver *et al*, 2009), Camp Rémy x Récital (Mallard *et al*, 2005) et Apache x Taldor (Paillard *et al*, publication en cours). Ces études génétiques de la résistance ont permis de sélectionner du matériel végétal caractérisé pour ces QTL, seuls ou en combinaison. Ce type de matériel végétal a constitué une base de choix pour étudier dans un grand nombre de lieux (INRA Le Rheu et Grignon et pépinières du GIE 'Club 5'), de conditions expérimentales et de fonds génétiques, la stabilité de QTL de résistance adulte à la rouille jaune.

Par ailleurs, en utilisant des marqueurs moléculaires des QTL

issus de Renan, de Camp Rémy et d'Apache, nous avons détecté la présence de ces QTL dans des variétés et/ou des lignées en cours de sélection du GIE 'Club 5' et de l'INRA testées lors des trois années de contrat pour leur résistance adulte à la rouille jaune dans les expérimentations INRA et GIE 'Club 5'. Il a alors été possible d'associer la résistance adulte des lignées testées à la présence de ces mêmes QTL et de repérer quelles sont les combinaisons de ces QTL avec ou non des gènes majeurs les plus performantes pour obtenir une résistance à la fois efficace et durable.

## 2. Matériel et méthodes

### ► Matériel végétal

Des lignées issues de la sélection de chaque établissement partenaire ont été testées vis-à-vis de la rouille jaune chaque année : 88 en 2009 et 2010, 89 en 2011. Parmi elles, certaines étaient communes deux années consécutives (65 en 2009-2010 et 66 en 2010-2011) et seules 52 ont été présentes les trois années.

Vingt lignées témoins possédant un ou plusieurs gènes/QTL de Renan, de Camp Rémy (CR) ou d'Apache ont également été testées pour avoir en référence les effets de QTL ou gène de résistance sur le développement de la rouille jaune. Les lignées témoins présentant les gènes/QTL de Renan ou le gène *Yr6* provenant de Récital ont été étudiées les trois années et correspondent à des lignées recombinantes (ReR) issues du croisement Renan x Récital et aux deux parents Renan et Récital : ReR 15 (*Yr17*), ReR 22 (QTL *Yr2B* et *Yr6B*), ReR 32 (*Yr17* et QTL *Yr2B*), ReR 33 (sensible, sans composante de résistance), ReR 64 (QTL *Yr2B*), ReR 104 (*Yr6*), ReR 110 (QTL *Yr6B*) et ReR 138 (*Yr17* et QTL *Yr6B*). Les dix autres lignées témoins ont été testées deux années seulement (2010 et 2011). Cinq d'entre elles correspondent à CR et à quatre lignées recombinantes (CRR) issues du croisement CR x Récital : CRR 2019 (QTL *Yr2DS* étant probablement *Yr16*, gène de résistance adulte à la rouille jaune), CRR 2020 et CRR 2088 (tous les QTL de CR, excepté les deux gènes majeurs *Yr7* et *YrRsp* présents sur le 2BL) et CRR 2178R (gènes du 2BL). Les cinq dernières lignées correspondent à Apache et à des lignées haploïdes doublées (AT) issues du croisement Apache x Taldor : AT 2622 (*Yr7* et gène de résistance adulte *Rad 4B*), AT 2630 et AT 2655 (*Rad 4B*) et AT 2772 (*Yr17* et *Rad 4B*).

### ► Tests de résistance au stade jeune plante en conditions contrôlées

Nous avons testé au stade jeune plante 65 lignées vis-à-vis de 12 pathotypes de rouille jaune. Les tests ont été réalisés en conditions contrôlées avec 12 pathotypes de *P. striiformis f. tritici* : un du sud de la France : 6E16 (Vr2, -6, -7, -8), et onze du Nord de la France : 237E141V17 (Vr1, -2, -3, -4, -6, -9, -17, Sd, Su), 169E136V17 (Vr1, -2, -3, -9, -17, Sd), 40E8 (Vr3 Sd), 41E168 (Vr1, -2, -3, -32, Sd), 43E138 (Vr1, -2, -3, -7, Sd), 106E139 (Vr2, -3, -4, -7, Sd, Su), 109E141 (Vr1, -2, -3, -4, -6, Sd, -Su), 232E137 (Vr2, -3, -4, -9, Sd, Su), 233E169V17 (Vr1, -2, -3, -4, -9, -17, -32, Sd, Su), 237E141 (Vr1, -2, -3, -4, -6, -9, Sd, Su), et 239E141V17 (Vr1, -2, -3, -4, -6, -7, -9, -17, Sd, Su) (de Vallavieille-Pope *et al*, 2012).

Les jeunes plantes des lignées à tester sont cultivées en serre jusqu'au stade 2 feuilles puis inoculées par des spores des isolats testeurs. Elles sont placées 24 h à 100 % d'humidité

relative et 8°C pour favoriser la pénétration du parasite, puis mises en chambre climatisée : 16 h à 300 µE m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> à 17°C suivies de 8 h à l'obscurité et à 14°C. Les types d'infection (0-9) sont notés 17 et 19 jours après l'inoculation. Une lignée est classée sensible si l'isolat est capable de se développer (forte sporulation, types d'infection 7-9), ou résistante (réaction de résistance partielle avec des types d'infection 5-6 ou résistance totale avec des types d'infection 0-4). On postule ensuite la présence des gènes de résistance en analysant les réactions de sensibilité et de résistance (de Vallavieille-Pope *et al*, 1990).

### ► Agent pathogène utilisé en expérimentation champ

Les deux premières années, trois pathotypes ont été choisis pour tester les lignées : 237E141 V17, 233E169 V17 et 106E139. Ces trois pathotypes ont été retenus en fonction, soit de leur grand nombre de facteurs de virulence pour les deux premiers d'entre eux, soit de leur capacité à contourner les gènes majeurs présents dans Renan et Apache (*Yr17*), dans Camp Rémy et Apache (*Yr7*), et dans Toisondor (*Yr32* : gène contourné en France en 2007). Leurs virulences respectives sont consignées dans le Tableau 1. En 2011, nous avons opté pour tester les lignées vis-à-vis du pathotype 237E173 V17 apparu en 2010 et majoritaire en France cette année là. Ce pathotype présente une virulence supplémentaire par rapport aux pathotypes 237E141 V17 et 233E169 V17, soit la virulence contournant respectivement les gènes *Yr32* et *Yr6*.

Pathotype	Gènes de résistance										
	Yr1	Yr2	Yr3	Yr4	Yr5	Yr6	Yr7	Yr8	Yr9	Yr17	Yr32
237E141 V17	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-
233E169 V17	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+
106E139	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-
237E173 V17	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+

+ : pathotype présentant la virulence vis-à-vis du gène de résistance *Yr*  
 - : pathotype avirulent vis-à-vis du gène de résistance *Yr*

Tableau 1 : virulence des pathotypes de rouille jaune inoculés au champ

### ► Evaluation de la résistance au champ

Les lignées issues de la sélection et les lignées témoins sont semées en automne dans 8 expérimentations réparties dans 6 lieux géographiques : INRA Rennes (35) au Le Rheu (2 isolements) ; INRA Grignon (78) à Versailles (2 isolements) ; Florimond-Desprez à Cappelle (59) ; Limagrain à Verneuil (77) ; Serasem à Premesques (59) ; Syngenta à Orgerus (78). Dans six expérimentations sur les huit, les lignées sont réparties sur deux répétitions, alors qu'une seule répétition est réalisée dans les deux autres expérimentations. Des plantes contaminées par le pathotype retenu pour chacune des expérimentations sont repiquées dans les isolements respectifs de la fin de l'automne au début du printemps afin de contaminer les lignées à tester. Ainsi le pathotype 237E141V17 a servi à contaminer quatre expérimentations en 2009 et 2010 et trois en 2011. Le pathotype 233E169V17 a été utilisé dans trois expérimentations en 2009 et 2010 et dans deux en 2011. Chaque année, une seule expérimentation a été contaminée avec le pathotype 106E139 présentant le moins de virulence mais étant le seul à contourner le gène *Yr7* retrouvé chez Apache et CR. Le quatrième pathotype, 237E173V17 apparu en France 2010, a été introduit dans deux expérimentations en 2011.

Les notations rouille jaune ont été effectuées en suivant la méthodologie pratiquée habituellement par chacun des participants au projet, afin de déterminer si cette méthodologie pouvait affecter la détection de gènes ou QTL de résistance à la rouille jaune. Ainsi, une notation plante à plante a été réalisée dans les 4 expérimentations annuelles de l'INRA (Versailles et Le Rheu), alors qu'une notation globale par lignée a été faite dans chacune des expérimentations des sélectionneurs privés. Suivant la date initiale d'apport des plantes contaminées dans les parcelles et le climat lié à chaque lieu d'expérimentation, un nombre variable de notations a été réalisé sur chaque expérimentation : de 2 à 4 en 2009, de 1 à 5 en 2010 et de 2 à 5 en 2011. Deux échelles de notations ont été utilisées, l'une à l'INRA de Rennes (Tableau 2), l'autre chez les partenaires privés (Tableau 3), alors que l'INRA de Grignon a noté directement en pourcentage de surface sporulante.

Surface sporulante (%)	0	0,3 1 strie	0,7 2 stries	2	8	12	16	24	33	50	66	82	100
Echelle	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

Tableau 2 : Echelle de notation de sévérité de rouille jaune, utilisée par l'INRA de Rennes

Surface sporulante (%)	0	15	25	35	50	65	75	85	100
échelle	1	2	3	4	5	6	7	8	9

Tableau 3 : Echelle de notation de sévérité de rouille jaune utilisée par les membres du GIE 'Club 5'

Les notations ont toutes été rapportées en pourcentage de surface sporulante, comme à l'INRA de Grignon afin d'homogénéiser les résultats obtenus dans chaque expérimentation. Afin d'intégrer l'ensemble des notations annuelles de chaque expérimentation, nous avons calculé l'aire sous la courbe de progression de la maladie (AUDPC) par expérimentation. La valeur de cette AUDPC dépend du nombre de notations effectuées par expérimentation mais également de la durée en jours entre chacune des notations :  $AUDPC = (N_1 + N_2)(t_2 - t_1)/2 + (N_2 + N_3)(t_3 - t_2)/2$ , avec  $N_i$  = note lors de la notation  $t_i$ .

### ► Génotypage des lignées

Vingt deux marqueurs microsatellites (25 allèles) et 3 STS ont été retenus pour la détection de gènes et QTL de Renan, Apache et Camp Rémy en fonction des résultats déjà décrits (Mallard *et al*, 2005 ; Dedryver *et al*, 2009 ; Paillard *et al*, publication en cours). Les marqueurs suivants ont été choisis pour détecter les QTL et gène de Renan :

- 1 - gwm 210, gpw 4108, gwm 636 et SCAR-Y15 (Robert *et al*, 1999) pour le gène *Yr17* du 2AS ;
- 2 - gwm210, barc 35, L14 (STS) et Fbb 67 BC (STS) pour le QTL du 2BS ;
- 3 - gwm389 et gwm583 pour le QTL du 3BS ;
- 4 - gwm 131, gwm 383 et wmc 291 pour le QTL du 3B centromérique ;
- 5 - gwm 193, gwm 608 et gwm 626 pour le QTL du 6B.

La détection des QTL et gène de CR a été faite à l'aide des marqueurs suivant :

- 1 - wmc 154 pour le QTL du 2BS ;
- 2 - cfd73, barc 101, gwm 120 et cfd50 pour le cluster des gènes *Yr7* et *YrRsp* du 2BL ;
- 3 - cfd50 et gwm 148 pour le QTL du 2BL ;

- 4 - gwm 102, gwm 484 et gpw 8041 pour le QTL du 2D étant probablement le gène de résistance adulte *Yr16* ;
- 5 - gwm 408 pour le QTL 5BL1 ;
- 6 - gwm 234 pour le QTL 5BL2. Les deux gènes d'Apache sont détectés à l'aide des marqueurs de Renan pour le gène *Yr17* et des marqueurs de Camp Rémy pour *Yr7* (2BL).

Les ADN des 110 lignées issues de la sélection testées au cours des deux premières années d'expérimentation ainsi que des 20 témoins et de la variété Talent (*Yr7*) ont été extraits. Les lignées ont ensuite été génotypées à l'aide des microsatellites, les produits PCR étant passés sur un séquenceur 16 capillaires ABI Prism 3130xl (Applied Biosystems). Les trois STS ont également été utilisés sur les mêmes lignées et la lecture du génotypage se fait après électrophorèse des produits de PCR sur gel d'agarose à 2 %. Un marqueur spécifique (*Xucw125*) du seul gène de résistance à la rouille jaune du blé cloné (*Yr36*) a été confronté aux mêmes lignées (Fu *et al*, 2009). Le marquage de *Yr36* est spécialement intéressant, car ce gène se trouve dans la même région chromosomique que le QTL du 6B de Renan (Uauy *et al*, 2005).

### ► Analyse statistique

Les données phénotypiques concernant les AUDPC de toutes les lignées testées, témoins compris, ont été traitées par des analyses en composantes principales (ACP). Les variables retenues concernent toutes les données de phénotypage obtenues pour une expérimentation une année donnée donc correspondant à une contamination par un pathotype donné dans un lieu. Les variables ont été centrées réduites. Les ACP nous ont permis de comparer les résultats obtenus sur différents lieux, avec ou non différents pathotypes et ceci sur différentes années.

L'analyse des correspondances multiples (ACM) réalisée sur les données de génotypage des 110 lignées mises dans les expérimentations 2009 et 2010 ainsi que sur les 20 lignées témoins nous permet d'étudier les ressemblances entre individus du point de vue de l'ensemble des variables (gène(s) et/ou QTL d'une variété) et de dégager des profils d'individus. Nous avons donc regardé les similitudes entre lignées vis-à-vis des marqueurs des gènes ou/et QTL dans un premier temps de Renan, un second temps de Camp Rémy et un troisième temps d'Apache. Les variables sont dans ce cas d'ordre qualitatif, de type tout ou rien et soit la lignée présente un ou des allèle(s) marqueur(s) des gène(s) ou QTL de Renan, ou de Camp Rémy ou d'Apache, soit ce ou ces allèle(s) marqueur(s) est (sont) absent(s) chez cette lignée. Les axes de l'ACM ont été choisis afin d'avoir une représentation la plus complète possible de l'ensemble des marqueurs et de discriminer au mieux le nuage de points représentant les lignées.

## 3. Résultats

### ► Détection des gènes majeurs de résistance au stade jeune plante

Parmi les 154 lignées testées (témoins compris), nous avons postulé la présence des gènes de résistance *Yr6*, *Yr7*, *Yr17* et *Yr32* déjà présents dans les parents (Tableau 4). *Yr17* est postulé dans plus de 26 % des lignées. Cette fréquence est en accord avec la présence de *Yr17* dans deux des géniteurs, Renan et Apache, ainsi que dans de nombreuses variétés actuelles. *Yr7* présent chez Camp Rémy et Apache est postulé

dans 10 % des lignées. *Yr6*, présent dans la variété Récital, est postulé dans 12 % des lignées. *Yr32* est postulé dans 8 % des lignées testées, ce gène trouvé chez la variété Toison d'or est maintenant contourné en France depuis 2002. La virulence 32 est devenue très fréquente en 2007. La combinaison *Yr6* + *Yr32* dont le contournement correspond au développement de la race dite 'Oakley/Solstice' est suspectée dans 2 lignées. Nous avons trouvé également *Yr2*, *Yr3* et quelques lignées sensibles à tous les pathotypes, ces deux gènes sont contournés par tous les pathotypes même anciens. Beaucoup de lignées (environ 30 %) sont résistantes à tous les pathotypes, on ne peut savoir s'il s'agit d'une combinaison de gènes de résistance spécifique déjà décrits ou de nouveaux gènes qui auraient été introduits par la sélection.

Cinq lignées étaient sensibles au champ pour au moins un des pathotype alors qu'elles étaient totalement résistantes en conditions contrôlées au stade jeune plante à ce même pathotype. Cela soulève la question de la thermosensibilité de l'expression de la résistance.

Gènes de résistance	Nombre de lignées	Pourcentage
Résistant	46	29,9
<i>Yr7</i>	15	9,7
<i>Yr6</i>	11	7,1
<i>Yr6</i> ou <i>6+17</i>	4	
<i>Yr6</i> + <i>17</i>	8	5,2
Résistant ou <i>Yr6</i> + <i>32</i>	2	
<i>Yr17</i>	32	20,8
Résistant ou <i>Yr17</i>	3	
<i>Yr32</i>	12	7,8
Résistant ou <i>Yr32</i> +	1	
Sensible ou <i>Yr2</i>	14	9,1
Indéterminé	6	3,9

Tableau 4 : Fréquence au stade jeune plante des gènes de résistance à la rouille jaune dans 154 lignées. Gènes postulés après inoculation en conditions contrôlées des lignées par 12 isolats de *Puccinia striiformis. f.sp. tritici*

### ► Détection de composantes de résistance adulte au champ

#### Analyse phénotypique de la résistance

Les 131 lignées issues de la sélection et testées au cours des trois années d'expérimentation ont pu être classées en trois catégories (Tableau 5) : résistance totale (dans tous les lieux de test une même année), résistance partielle (avec sporulation de la rouille jaune) et sensibilité (> 50 % de recouvrement des feuilles par la rouille jaune dans au moins une implantation).

Année	Catégories de plantes			
	Pathotype	Sensibilité	Résistance partielle	Résistance totale
2009	237E141V17	12	54	22
	233E169V17	14	67	7
	106E139	1	8	79
2010	237E141V17	16	45	27
	233E169V17	6	61	21
	106E139	1	5	82
2011	237E141V17	8	41	40
	237E173V17	12	60	17
	233E169V17	4	23	62
	106E139	0	5	84

Tableau 5 : répartition des lignées issues de la sélection en trois catégories de plantes

En 2009 et 2010, la majeure partie des lignées présente une résistance partielle vis-à-vis des pathotypes 237E141V17 et 233E169V17 ayant un nombre important de facteurs de virulence. Les gènes majeurs, s'il y en avait, ont été contournés dans ces lignées. La comparaison des résultats obtenus sur les lignées communes cultivées lors des deux années d'expérimentation montre que :

- 1 - les lignées totalement résistantes vis-à-vis des pathotypes 237E141V17 l'étaient déjà en 2009 ;
- 2 - douze lignées totalement résistantes au pathotype 233E169V17 en 2010 présentaient une résistance partielle en 2009. Après analyse plus précise des données, on constate que pour deux des expérimentations réalisées en 2009 après contamination avec le pathotype 233E169V17, la variété Récital et la lignée témoin ReR 104, possédant le gène *Yr6*, présentent une note de sensibilité élevée à la rouille jaune ce qui n'est pas logique car ce pathotype ne peut pas contourner *Yr6*. Il y a donc probablement eu contamination naturelle de ces deux expérimentations par un pathotype présent dans la région, qui pourrait être le pathotype 237E141V17 ou éventuellement un autre. L'analyse en composante principale (ACP) sur les données 2009 (données non vues) montre effectivement un regroupement des données de phénotypage en deux groupes de corrélation correspondant aux expérimentations dans lesquelles il y avait ou non la présence de la virulence 6 repérée sur Récital. La contamination par une race extérieure permettrait aussi d'expliquer en partie que douze lignées totalement résistantes au pathotype 233E169V17 en 2010 présentaient une résistance partielle en 2009.

En 2011, la proportion de lignées présentant des résistances partielles à ces deux pathotypes chute largement au profit de la catégorie de plantes totalement résistantes. Cette année là, quarante lignées sont totalement résistantes au pathotype 237E141V17 et parmi elles 13 étaient testées pour la première fois. Parmi les autres lignées totalement résistantes, 14 présentaient déjà ce niveau de résistance dans les expérimentations précédentes et 13 montraient une résistance partielle auparavant. D'autre part 62 lignées sur les 89 testées en 2011 sont totalement résistantes au pathotype 233E169V17 et 23 lignées présentent une résistance partielle à ce pathotype. Parmi les 62 lignées totalement résistantes, 17 étaient testées pour la première fois et seules 18 avaient ce niveau de résistance dans les expérimentations antérieures. Il semble donc que pour les

deux pathotypes 237E141V17 et 233E169V17 l'année 2011 ait été moins propice à la mise en évidence de résistance partielle quel que soit le lieu d'expérimentation.

A l'inverse, le pathotype 106E139 ne contourne que peu de lignées en 2009, 2010 et 2011, soit respectivement : 9, 6 et 5 lignées. Parmi les 84 lignées ayant une résistance totale vis-à-vis de ce pathotype en 2011, 20 étaient testées pour la première fois cette année et seules 6 présentaient des traces de sporulation de rouille jaune durant les expérimentations 2010. Les lignées totalement résistantes vis-à-vis du pathotype 106E139 en 2010 l'étaient déjà en 2009 à l'exception d'une seule lignée montrant des traces de rouille jaune.

En 2011, la majeure partie des lignées (60/89) présente une résistance partielle vis-à-vis du pathotype 237E173V17 ayant le nombre le plus important de facteurs de virulence. Les gènes majeurs *Yr6* et *Yr32*, s'ils étaient présents, auraient été contournés dans ces lignées lorsque l'on compare avec les résultats obtenus respectivement vis-à-vis des pathotypes 233E169V17 et 237E141V17. Il faut cependant tempérer cette interprétation car nous avons noté une différence de notation importante entre les deux lieux d'expérimentation concernant uniquement le pathotype 237E173V17. Sur le premier lieu, 18 lignées étaient notées totalement résistantes alors que dans le deuxième lieu 48 étaient dans ce cas. Trois explications peuvent être apportées, soit la rouille jaune s'est mieux développée sur un des 2 lieux, soit il y a une éventuelle différence d'appréciation de la maladie entre notateurs, soit il y a eu contamination par le pathotype 239E175V17 apparu cette année en France et présentant une virulence supplémentaire permettant de contourner *Yr7*. La dernière hypothèse semble cependant peu probable, car sur les dix lignées, pour lesquelles on a mis en évidence par les tests résistance au stade jeune qu'elles possédaient *Yr7*, toutes présentaient une résistance totale au champ quel que soit le lieu d'expérimentation. On ne peut cependant conclure définitivement, car ces sept lignées peuvent posséder également des facteurs de résistance non contournés au stade adulte par le nouveau pathotype susceptible d'avoir contaminé une des expérimentations.

#### Influence du pathotype sur l'expression de la résistance

Une ACP a été réalisée en prenant en compte toutes les données de phénotypage (AUDPC) obtenues par expérimentation et par année (1 pathotype / 1 lieu) toutes lignées confondues, à l'exception cependant des deux expérimentations 2009 où il y a eu contamination par un pathotype extérieur.

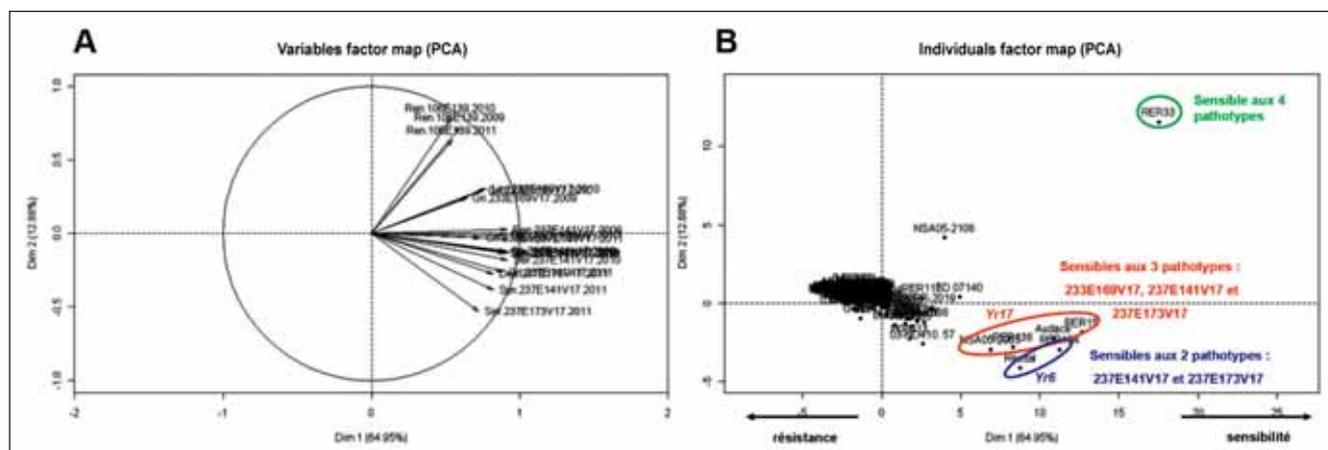


Figure 1 : analyse en composantes principales des données AUDPC enregistrées de 2009 à 2011 pour toutes les expérimentations

L'analyse du graphe des variables (Figure 1A) montre une corrélation positive entre la première composante principale (résistance/sensibilité) exprimant à elle seule près de 65 % de l'inertie totale. Le deuxième facteur, correspondant aux nombres de virulence des pathotypes donc à leur potentialité à contourner un plus ou moins grand nombre de gènes de résistance, explique près de 13 % de l'inertie. Les variables Grignon-233E169V17-2009, Grignon-233E169V17-2011 et Rennes-106E139-2011 sont les moins bien représentées par ces deux composantes. L'ACP montre qu'il existe bien des effets pathotypes significatifs entre les pathotypes 237E141V17, 233E169V17 et 106E139. Les AUDPC enregistrées sur les lignées avec les pathotypes 106E139 et 237E141V17 sont peu ou pas corrélées par exemple car leurs vecteurs sont perpendiculaires. Ceci est sans doute justifié par le fait que plusieurs facteurs de virulence différencient ces pathotypes entre eux. A l'inverse il existe de fortes corrélations entre données AUDPC attribuées à un même pathotype et plus particulièrement pour les deux pathotypes 106E139 et 233E169V17. L'ACP ne met pas en évidence un effet pathotype significatif entre les pathotypes 237E141V17 et 237E173V17. Ainsi les variables Desprez-237E173V17-2011 et Grignon-237E141V17-2011 sont très corrélées. La virulence de ces 2 pathotypes ne différant que d'un seul facteur de virulence (vis-à-vis de *Yr32*), on pourrait supposer que le gène *Yr32* est peu présent dans le matériel végétal testé. Si on se réfère aux résultats des tests de résistance effectués au stade jeune plante, dix lignées possèdent tout de même ce gène parmi les 110 lignées mises dans les expérimentations au champ en 2011. Par ailleurs, nous constatons que les variables Desprez-237E173V17-2011 et Serasem-237E173V17-2011 ne sont pas très corrélées entre elles et ceci correspond au fait qu'il y a un fort effet notateur déjà décrit dans le paragraphe précédent (analyse phénotypique de la résistance) concernant les deux expérimentations réalisées avec le pathotype 237E173V17. Pour établir une analyse fiable des résultats concernant le phénotype des lignées vis-à-vis du pathotype 237E173V17, il serait nécessaire de recommencer plusieurs expérimentations une année supplémentaire.

De l'analyse du graphe des individus (Figure 1B) de l'ACP il ressort que :

- 1 - la lignée témoin ReR 33 est la lignée la plus sensible vis-à-vis des 4 pathotypes utilisés ;
- 2 - les lignées témoins ReR 15 et ReR 138 ainsi que la variété Audace et la lignée NSA 05-2065 dont la résistance

repose essentiellement sur *Yr17* sont les plus sensibles aux trois pathotypes présentant la virulence 17 (237E141V17, 237E173V17 et 233E169V17) ;

- 3 - la lignée témoin ReR 104 et la variété Récital, dont la résistance dépend essentiellement de *Yr6* sont les plus sensibles aux deux pathotypes possédant la virulence 6 (237E141V17 et 237E173V17).

#### *Influence de l'environnement sur l'expression de la résistance*

Pour étudier l'influence de l'environnement, nous avons donc fait une ACP par pathotype et concernant uniquement les données AUDPC calculées sur les 64 lignées communes aux trois années d'expérimentation, dont 10 lignées témoins (ReR). Nous entendons par effet de l'environnement : l'effet notateur, l'échelle de notation utilisée, les conditions pédo-climatiques de l'expérimentation.

En ce qui concerne le pathotype 237E141V17 le plus fourni en données (10 variables), et après analyse du graphe des variables, nous constatons que la première composante principale (résistance/sensibilité) exprime à elle seule 91 % de l'inertie totale (Figure 2A) et la deuxième composante principale (différence entre notateurs : forte ou faible) 4,5 %. Les données AUDPC obtenues sur les lignées étudiées chez les sélectionneurs privés (Syngenta 2009, 2010 et 2011 ; Serasem 2010) sont bien corrélées entre elles ainsi qu'avec les données AUDPC obtenues à Grignon en 2009. Les données de Rennes 2009, 2010 et 2011 d'une part et de Grignon 2010 et 2011 d'autre part sont respectivement très corrélées entre elles. L'analyse du graphe des individus (Figure 2B), montre que pour les lignées les plus sensibles avec ce pathotype (ReR 15, ReR 33, ReR 104, Audace et Récital) les différences entre notateurs sont assez faibles, ces lignées présentant les notes maximales enregistrées sur chacun des lieux. Par contre les différences les plus importantes entre notateurs sont enregistrées sur des lignées qui présentent une résistance partielle comme les lignées ReR 138 et 03-HD 410.5 par exemple, comme cela est consigné dans le Tableau 6. L'AUDPC correspondant à ce pathotype serait plus influencée par le protocole de notation (échelles de notation différentes entre les stations expérimentales, notation individuelle par plante ou globale par groupe de plantes, nombre de notations effectuées au cours de l'épidémie) que par les climats différents enregistrés chaque année.

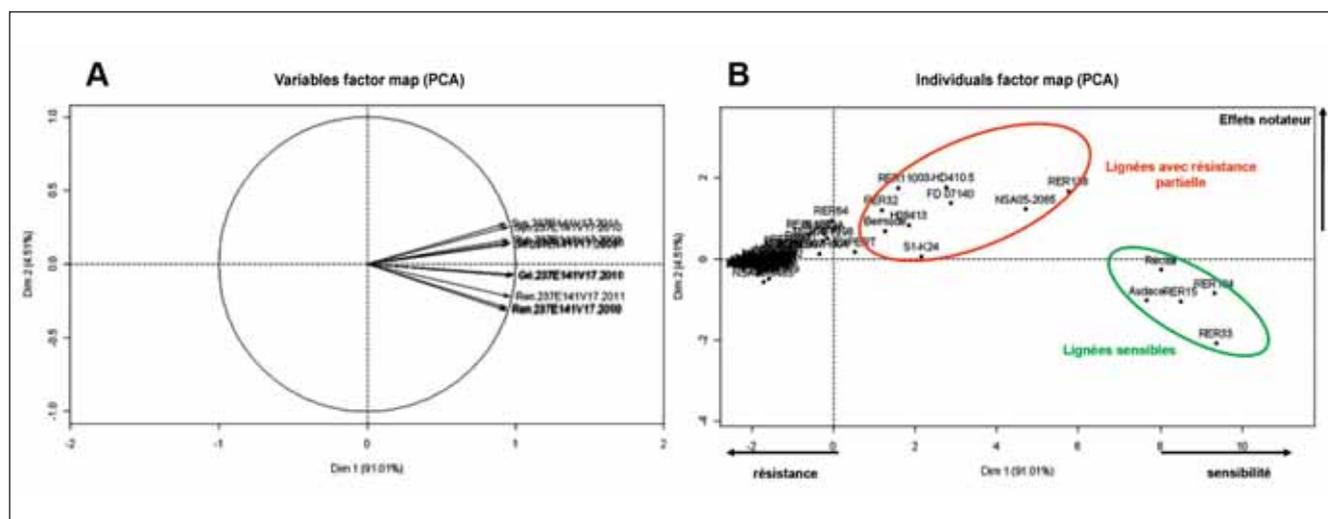


Figure 2 : analyse en composantes principales des données AUDPC enregistrées sur les 64 lignées communes de 2009 à 2011 avec le pathotype 237E141V17

Pour le pathotype 233E169V17 à l'inverse, le graphe des variables de l'ACP (Figure 3A) montre que les données AUDPC obtenues à Grignon en 2009, 2010 et 2011 ne sont pas très fortement corrélées entre elles. Pour ce pathotype, ce sont les données obtenues en 2010 chez Limagrain et à Grignon qui sont les plus corrélées. Le facteur année paraît prédominant dans ce cas.

Le graphe de l'ACP concernant les données AUDPC obtenues à Rennes avec le pathotype 106E139 en 2009, 2010 et 2011 (Figure 3B) montre qu'elles sont relativement bien corrélées entre elles. Les lignées présentent en grande majorité une résistance totale à ce pathotype. Cette résistance étant stable dans le temps, comme nous l'avions déjà signalé auparavant, ce résultat paraît logique.

### ► Mise en évidence de QTL/gènes de résistance par marquage moléculaire

Parmi les 22 marqueurs retenus, il s'est avéré que trois d'entre eux donnaient des résultats difficilement lisibles ou peu répétables après passage sur le séquenceur 16 capillaires. Nous n'avons donc pas tenu compte de ces trois marqueurs dans l'analyse des résultats de marquage : gwm 148 (QTL 2BL1, CR), gpw 8041 (QTL 2D, CR) et gwm 408 (QTL 5BL1, CR). Les marqueurs du QTL du 3BS de Renan (QTL à faible R<sup>2</sup>), étaient très peu représentés dans les lignées en sélection et n'ont donc pas fait partie du bilan. Camp Rémy (CR) étant un des géniteurs d'Apache, on constate qu'Apache présente les mêmes allèles (marqueurs wmc 154 et cfd50b) que CR dans les régions chromosomiques des QTL 2BS et 2BL1 de CR alors que ces deux QTL n'ont jamais été détectés chez Apache. En conclusion, on peut donc dire que les marqueurs wmc 154 et cfd50b ne sont pas suffisamment

liés aux QTL2BS et 2BL1 de CR pour pouvoir être utilisés pour rechercher ces QTL en sélection.

L'analyse des Correspondances Multiples (ACM) réalisée sur les données de génotypage des 110 lignées issues de la sélection, des 20 lignées témoins et de la variété Talent (Yr7) mises dans les expérimentations 2009 et 2010, dont 89 d'entre elles étaient également dans l'expérimentation 2011, met surtout en évidence un effet des gènes majeurs de résistance : Yr17 (2AS) provenant de VPM et retrouvé dans Renan et Apache, Yr2BL de Camp Rémy et Yr2BL d'Apache (région du gène Yr7). Camp Rémy à la différence d'Apache possède en plus sur le 2BL un gène majeur YrRsp non contourné différent de Yr7 (Mallard *et al*, 2005). Le marqueur spécifique (Xucw125) du gène Yr36 a été confronté aux 131 lignées, mais ce gène n'a jamais été retrouvé.

Cinquante cinq lignées sur les 131 sont marquées par tous les marqueurs de Yr17 et 19 lignées par au moins trois de ces marqueurs (Figure 4). Le gène Yr17 étant d'origine interspécifique (*Aegilops ventricosa*), tous ces marqueurs sont très liés au gène. Si la PCR n'a pas fonctionné pour tous ces marqueurs sur toutes les lignées, on peut cependant dire que Yr17 est présent dans ces 74 lignées.

Quatorze lignées sont proches d'Apache car elles présentent toutes les allèles marqueurs des gènes Yr17 (2AS) et Yr7 (2BL2). Neuf d'entre elles possèdent également des allèles de Camp Rémy (Figure 5). Parmi ces 14 lignées, dix sont connues comme ayant Apache comme géniteur.

Après étude des marqueurs de CR, on constate que la lignée 01015-137 est très proche de CR avec seulement un allèle de différence. Six autres lignées sont également proches de CR et possèdent les 4 allèles marqueurs du 2BL2 (Yr7+YrRsp) : FD-06012, FD-08121, 03-HD132-19, CF99102, CF04119 et CF05162.

Année	Lieu	Lignées						
		Apache	CR	Renan	Récital	ReR 33	ReR138	03-HD410.5
2009	Rennes	0	0	66	1452	2013	355	139
	Grignon	0	0	33	990	1200	720	675
	Syngenta	0	0	183	1483	1508	1432	701
2010	Rennes	0	0	108	1395	1765	780	139
	Grignon	0	0	3	770	910	647	357
	Syngenta	0	0	532	1836	1988	1725	1281
2011	Serasem	0	0	740	3050	3190	2742	1722
	Rennes	0	0	9.4	1386	2596	1376	515
	Grignon	0	0	1	937	825	450	431
	Syngenta	0	0	345	1638	1092	1725	1294

Tableau 6 : Données d'AUDPC enregistrées sur 6 lignées témoins et une lignée issue de la sélection avec le pathotype 237E141V17 au cours des trois années d'expérimentation

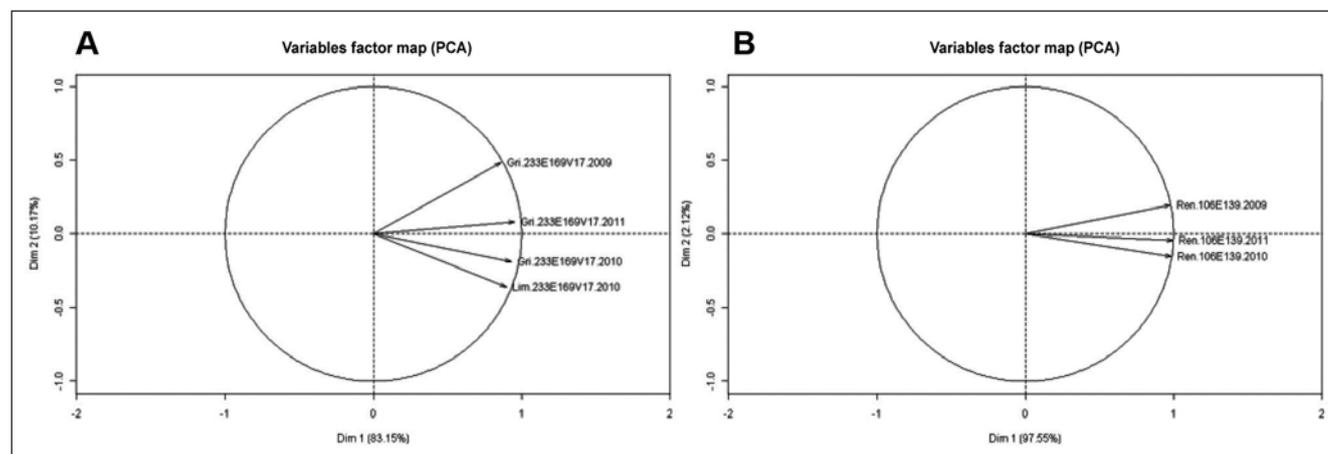


Figure 3 : analyse en composantes principales des données AUDPC enregistrées sur les 64 lignées communes de 2009 à 2011 avec les pathotypes 233E169V17 (A) et 106E139 (B)

L'analyse ACM des marqueurs de Renan montre également que l'on retrouve aisément dans les lignées génotypées celles qui possèdent des QTL à partir du moment où l'on dispose de 3 à 4 marqueurs de chaque QTL, ce qui était le cas des QTL du 2BS, 3Bcentro et du 6B de Renan (Figure 6). Dix sept lignées sont proches de Renan, quand on analyse les allèles marqueurs des QTL 2BS, 3B centro et 6B et parmi elles seules dix ont le gène *Yr17* présent chez Renan. Dix d'entre elles, dont la généalogie est connue, ont comme ancêtre Renan ou l'un de deux de ses parents : VPM ou Mironovskaia.

► Recherche de combinaisons de gènes et /ou QTL de résistance efficaces et durables

Nous avons sélectionné les lignées qui présentaient une résistance totale aux 4 pathotypes testés dans toutes les expérimentations des 3 années (Tableau 7) et qui sont au nombre de 18.

La résistance totale de 16 de ces lignées pourrait s'expliquer par la présence :

- 1 - des gènes majeurs *YrRsp* et *Yr7* en cluster (*Yr2BL2*) sur le 2BL ;
- 2 - le couplage de *Yr7* avec *Yr17*.

Le marquage confirme la détection du gène *Yr7* au stade jeune plante (JP) pour 10 lignées et c'est uniquement parce que la PCR n'a pas fonctionné pour deux marqueurs de ce gène que l'on ne peut conclure au niveau marquage pour les lignées Arlequin et SE-2153. L'origine de la résistance totale des lignées FD-07072 et H09499 ne peut être expliquée, car *Yr17* ne peut être responsable à lui seul de cette résistance, puisque 3 pathotypes sur les 4 utilisés présentaient la virulence 17. Le test au stade jeune plante de ces deux lignées montre également que plusieurs gènes majeurs, non déterminés à l'aide des 12 pathotypes utilisés dans ce test, sont impliqués dans leur résistance. Neuf lignées présentent comme Apache les gènes *Yr2BL* et *Yr17*, ce qui n'est pas surprenant, car lorsque l'on connaît la généalogie des lignées, on constate qu'Apache ou Camp Rémy l'un de ses parents, sont souvent l'un de leur géniteur. Cinq des lignées présentent également des QTL de Renan ou Camp Rémy.

Dans un deuxième temps, nous avons sélectionné toutes les lignées (Tableau 8), qui montraient des allèles marqueurs des QTL de Renan et/ou du QTL du 2D de CR mais qui ne présentaient pas des niveaux de résistance totale à l'ensemble des 4 pathotypes, comme cela a été vu dans le Tableau 7. Ces lignées sont au nombre de 26.

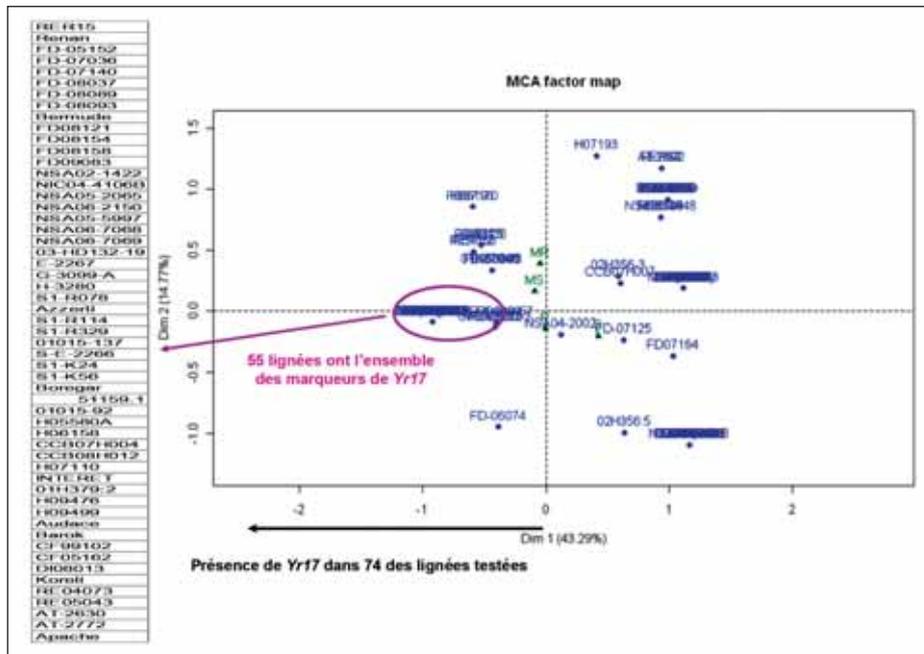


Figure 4 : Analyse des correspondances multiples (ACM) sur les données de génotypage correspondant aux allèles marqueurs du gène *Yr17*

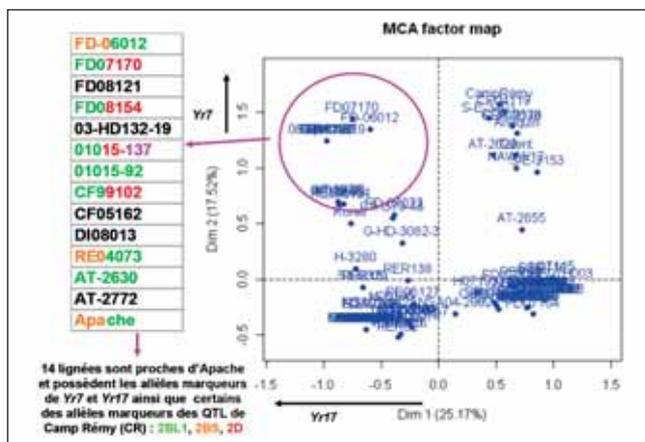


Figure 5 : Analyse des correspondances multiples (ACM) sur les données de génotypage correspondant aux allèles marqueurs des gènes *Yr7* et *Yr17*

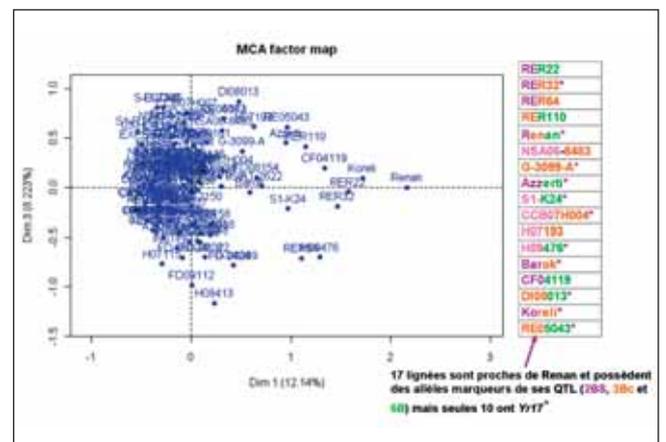


Figure 6 : Analyse des correspondances multiples (ACM) sur les données de génotypage correspondant aux allèles marqueurs des QTL de Renan du 2BS, 3B centro et 6B

Toutes ces lignées présentent des niveaux de résistance intéressants à l'exception peut-être de 4 lignées, qui sont moyennement sensibles à au moins deux pathotypes. Les deux lignées témoins ReR32 et ReR 110 et les lignées S1-K24 et H07193 sont dans ce cas. Il faut noter que la lignée H07193 a été signalée en disjonction sur certains lieux, ce qui peut entraîner sa notation comme moyennement sensible avec deux pathotypes. Sachant qu'aucun des QTL étudiés ne peut apporter une résistance totale à lui seul, les résultats consignés dans le Tableau 8, montrent qu'effectivement les QTL de Renan et celui du 2D de CR pourraient apporter un niveau de résistance intéressant à exploiter en association avec des gènes majeurs, ce qui peut déjà être le cas lorsque la lignée a déjà été signalée

résistante aux 12 pathotypes testés au stade jeune plante (exemple : lignée NSA06-2122). On note également l'effet du fonds génétique sur l'expression par exemple des QTL 2B et 6B de Renan, quand ils sont associés dans un même génotype, ce qui est le cas dans les lignées ReR22, S1-K24 et H09476. Un effet du fonds génétique est également noté sur l'expression de l'association des QTL 2B et 3B centro de Renan (Tableau 8) retrouvés dans les lignées ReR32, NSA06-8483, CCB07H004, H07193 (disjonction), Barok et Koréli. La présence du QTL 2D de CR, correspondant probablement au gène de résistance adulte *Yr16* (Mallard *et al*, 2005), est indiquée par seulement deux allèles marqueurs de ce gène et semble lié à un bon niveau de résistance indépendamment du fonds génétique.

généiteurs connus	lignées	Grignon test JP hypothèses gènes Yr	marqueurs de CR	marqueurs Yr17	hypothèses Yr marquage	marqueurs de CR	marqueurs de Renan
			nb maxi = 4 marqueurs Yr2BL2	nb maxi = 5 marqueurs Yr17		nb maxi = 2 QTL 2D CR	nb maxi = 12 QTL Renan (sauf Yr17)
Ap	FD-06012	Résistant	4	4	Yr2BL2+Yr17	0	1
Ap	FD-07072	Résistant	1	3	Yr17	0	2 (2B)
Ap	FD07170	Yr 7+	3	3	Yr2BL2+Yr17	1	2
Ap	FD08121	Yr 7+	4	4	Yr2BL2+Yr17	0	2 (6B)
-	Arlequin	Yr 7+	2+7	0	?	0	2 (3B cent)
Ap	01015-137	Yr 7+	4	5	Yr2BL2+Yr17	2 (2D)	2
-	S-E-3401	Résistant	3	0	Yr2BL2	0	0
-	S-E-2153	Yr 7+	1+?	0	?	0	3 (2B)
Ap	01015-92	Yr 7+	3	5	Yr2BL2+Yr17	0	0
-	H09499	Résistant	0	5	Yr17	1	1
VPM	CF99102	Résistant	4	5	Yr2BL2+Yr17	1	2
VPM	CF04119=Flamenko	Résistant	4	0	Yr2BL2	1	6 (2B et 6B)
Renan	CF05162	Yr 7+	4	5	Yr2BL2+Yr17	0	5 (6B)
Renan	DI08013=Muzik	Yr 7+	3	5	Yr2BL2+Yr17	0	5 (3B cent et 6B)
CR	CRR-2178R 2BL2	Yr 7+	2	0	Yr2BL2	1	0
CR	Camp Rémy (CR)	Yr 7+	4	0	Yr2BL2	2 (2D)	0
Ap	AT-2622 : Yr7+Rad2AS	Yr 7	3	0	Yr2BL2	0	2
Ap	Apache	Yr 7+ Yr17	3	5	Yr2BL2+Yr17	0	2

AP=Apache CR=Camp Rémy JP=jeune plante

Tableau 7 : Lignées présentant une résistance totale aux quatre pathotypes : 237E141V17, 237E173V17, 233E169V17 et 106E139

lignées	classes de notations / pathotype				Grignon test JP hypothèses gènes Yr	hypothèses Yr marquage	nb de marqueurs CR nb maxi = 2 QTL 2D CR	nb de marqueurs Renan nb maxi = 12 4 QTL Renan (sauf Yr17)
	237E141V17	233E169V17	106E139	237E173V17				
RER22	R	R	R	MS	Sensible ou Yr 2		1	8 (2B, 6B)
RER32	MS	MR	R	MS	Yr 17	Yr17	0	6 (2B, 3B cent)
RER64	MR	MR	R	MS?	Yr 2, 3 ou SD		0	6 (2B)
RER110	MS	MS	MR	MS	Sensible ou Yr 2		0	8 (3BS, 3B cent, 6B)
FD-08090	R	R	R	-	Résistant		2 (2D)	3 (2B)
FD08154	R	R	R	-	Yr 7+	Yr2BL2+Yr17	1	4 (6B)
NAWW12	R	R	R	-	Résistant		2 (2D)	3
NSA06-2122	R	R	R	MR	Résistant		2 (2D)	1
NSA05-0078	R	R	R	MR	Yr 32		1	4 (2B)
NSA04-7113	R	R	R	MR	Résistant		2 (2D)	1
NSA05-5997	MR	MR	R	MR	Yr 17?	Yr17	2 (2D)	1
NSA06-8483	R	R	R	MR	Yr 32		1	4 (2B, 3B cent)
G-3099-A	MR	MR	R	MS	Yr 17	Yr17	0	5 (3B cent)
Azzert1	MR	MR	R	MR	Yr 17	Yr17	0	6 (2B et 6B)
G-3044	R	R	R	MR	Résistant		2	1
S1-K24	MS	MS	R	MS	Yr 17?	Yr17	0	5 (2B et 6B)
H06158	R	R	R	-	Yr 6 ou 6+17	Yr17	2	2
CCB07H004	MR	MR	R	MR	Yr 17	Yr17	0	4 (2B, 3Bcentro)
H06195	MR	R	R	-	Yr 6+17	Yr17	3 (2D)	1
H07193	MS	MS	R	-	Yr 17 (impur)		0	5 (2B et 3Bcent)
INSTINCT	MS	MR	R	-	Yr 6+ (+9?)		2	2
H09476	R	R	R	MR	Résistant	Yr17	1	4 (2B et 6B)
Barok	MR	MR	R	MS	Yr 17	Yr17	2 (2D)	5 (2B et 3B cent)
Koreli	MR	MR	R	MS	Yr 17	Yr17	1	8 (2B et 3B cent)
RE04073	R	MR	R	MR	Yr 17	Yr2BL2+Yr17	0	4 (6B)
RE05043	R	R	R	MR	Résistant	Yr17	0	6 (3B cent et 6B)

R = résistant MR = moyennement résistant MS = moyennement sensible

Tableau 8 : Ensemble des lignées présentant des allèles marqueurs de QTL du 2B, 3B centro et 6B de Renan et/ou du QTL 2D de Camp Rémy à l'exception de celles qui sont résistantes à l'ensemble des 4 pathotypes de rouille jaune

### 3. Discussion et conclusion

#### ► Intérêts et limites du phénotypage dans la détection de la stabilité de QTL de résistance

Cette étude a montré l'intérêt d'effectuer des expérimentations au champ différentes pour chaque pathotype étudié dans le cadre de détection de gènes majeurs et de QTL de résistance. La contamination naturelle par un pathotype non-inoculé artificiellement pendant l'expérimentation, est toujours possible surtout les années à forte contamination naturelle de rouille jaune, c'est un frein à la bonne interprétation des résultats et donc à la détection des gènes majeurs spécifiques efficaces dès le stade jeune plante ou à partir du stade adulte du blé. En cas de contamination naturelle, il est aussi difficile d'évaluer la stabilité d'un QTL, dont l'expression va être modifiée en fonction des pathotypes qui interviennent dans la relation hôte-pathogène et du fonds génétique (Tableau 8).

La détection de QTL dépend comme on a pu le voir également de l'effet « notateur » car le repérage d'individus moyennement résistants est parfois plus délicat, quand l'évaluation repose, soit sur une note globale donnée à la lignée, soit sur une moyenne de notes obtenues sur chaque plante de la lignée. Ainsi par exemple pour la lignée ReR138 (Tableau 6) les AUDPC sont significativement plus élevées dans les expérimentations des membres 'Club 5', (notation globale) que dans celles de l'INRA de Rennes et Grignon (note plante à plante). Cette différence est retrouvée également pour le parent résistant Renan. Or si Renan peut présenter quelques symptômes de rouille jaune en début de montaison, on n'en retrouve plus sur les étages foliaires supérieurs en fin de végétation. Autant la notation globale par lignée semble mieux convenir aux sélectionneurs car ils ont un grand nombre de lignées à noter chaque année pour divers critères et ils cherchent à éliminer tous les génotypes qui n'ont pas une résistance élevée, autant il apparaît être indispensable de faire de la notation plante à plante pour faire une étude de QTL précise. En effet, si chaque QTL n'apporte pas à lui seul un niveau de résistance suffisant, il est important d'en repérer plusieurs afin de les introduire par la suite dans un même génotype, qui aura alors un niveau de résistance supérieur.

#### ► Intérêts et limites du génotypage dans la détection de gène / QTL de résistance

Le génotypage est idéal pour étudier la généalogie. A chaque fois que l'on a trouvé dans un génotype des allèles de Renan, de Camp Rémy ou d'Apache, et qu'il a été possible de vérifier la généalogie, nous avons confirmé la présence de ces 3 variétés ou de l'un de leurs parents dans les géniteurs de ce génotype.

Le marquage de gènes et QTL est possible, avec de préférence au moins 3 ou 4 allèles marqueurs par gène/QTL. Ce marquage est même parfois la seule possibilité de mettre en évidence des gènes lorsqu'ils sont cumulés dans un même génotype et que l'on ne possède pas les pathotypes adéquats pour les repérer. On peut prendre comme exemple la mise en évidence du gène *Yr17*

dans la lignée FD-07072 résistante aux 12 pathotypes de rouille jaune testés au stade jeune plante (Tableau 7).

Le marquage de gènes dans des régions chromosomiques portant plusieurs gènes/QTL est cependant plus délicat. Il est possible néanmoins de suivre en sélection assistée par marqueurs (SAM) des gènes à partir d'un géniteur défini, mais il faut être vigilant à ne pas perdre de gène en cours de sélection. Ainsi Camp Rémy (CR), possède un cluster de gènes de résistance majeurs sur le 2BL (*YrRsp* et *Yr7*), alors qu'Apache un des descendants de CR n'a hérité que de *Yr7* (Mallard *et al*, 2005 ; Paillard *et al*, publication en cours). Il n'est pas évident de faire un état des lieux exact des gènes présents dans une telle région chromosomique, surtout si on ne connaît pas la généalogie du matériel végétal étudié. Outre les gènes *YrRsp* et *Yr7*, existent dans cette même région les gènes *Yr5* et *YrSpalding*, étant considérés comme des allèles de *Yr7* (Zhang *et al.*, 2009), ainsi que *Yr43*, *Yr44* et *YrQz* (Cheng *et al*, 2010). Seul le clonage de chacun de ces gènes pourra conduire à un marquage beaucoup plus fiable de chacun d'eux.

De même, on sait qu'il existe d'autres QTL de résistance à la rouille jaune dans les régions chromosomiques des QTL 2B (Crossa *et al*, 2007) et 6B (Suenaga *et al*, 2003 ; Christiansen *et al* 2006 ; Bariana *et al*, 2010) de Renan, qui sont également marqués. Il faudra donc prendre des précautions, si on recherche grâce aux marqueurs ces QTL dans des lignées d'origine inconnue.

Dans ce travail, la mise en évidence par marquage de QTL/gènes de résistance dans différents fonds génétique a été limitée, car les lignées en sélection retenues ne présentaient pas ou peu Renan, Apache et Camp Rémy comme géniteurs.

#### ► Vers la construction de génotypes présentant des combinaisons de gènes/QTL de résistance efficaces et durables

Le marquage permet de faire l'état des lieux des gènes/QTL présents dans le matériel végétal et doit permettre d'éviter l'utilisation trop fréquente de certaines combinaisons de gènes et donc de mettre trop de pression de sélection sur l'agent pathogène. La combinaison *Yr7-Yr17* trouvée chez Apache protégeait bien les lignées vis-à-vis de la rouille jaune, mais elle est très présente dans les lignées étudiées. Ainsi la moitié des lignées totalement résistantes aux 4 pathotypes de rouille jaune étudiés présente cette combinaison de gènes (Tableau 7). Attention à ne pas trop utiliser cette combinaison de gènes car son emploi trop fréquent, grandes superficies cultivées avec Apache par exemple, a peut-être déjà conduit en 2011 à l'apparition en France du nouveau pathotype de rouille jaune 239E175V17 (*Vr1*, -2, -3, -4, -6, -7, -9, -17, 27, 32, *Sd*, *Su*) contournant les gènes *Yr7* et *Yr17*. Il faut cependant signaler qu'Apache demeure résistante et reste protégé par un autre facteur de résistance, qui pourrait être le gène de résistance adulte porté par le 4B (Paillard *et al*, 2012), mais dont on ne dispose pas de marqueur suffisamment lié pour le suivre par marquage. L'analyse des lignées génotypées montre également que plusieurs lignées possèdent au moins un QTL de Renan. Il serait donc intéressant d'associer ces QTL à la combinaison *Yr17-Yr2BL* pour la rendre plus durable, comme c'est le cas (Tableau 7) dans la lignée DI 08013 (=Musik).

## 4. Livrables et utilisation des résultats

L'analyse de l'ensemble des travaux a permis de dresser une liste de livrables :

- caractérisation phénotypique et génétique du matériel végétal issu de la sélection avec identification :
  - 1 - de gènes majeurs postulés, efficaces dès le stade jeune plante ;
  - 2 - de composantes de résistance partielle détectées aux stades adultes du blé ;
  - 3 - de gènes et QTL par marquage ;
- confirmation de l'intérêt de l'emploi de marqueurs moléculaires déjà publiés pour la détection dans différents fonds génétiques de QTL de Renan et/ou de Camp Rémy ;
- identification dans le matériel végétal issu de la sélection de combinaisons de gènes majeurs/QTL efficaces, dont certaines exercent moins de pression de sélection sur

l'agent pathogène et seront donc probablement plus durables.

L'exploitation de ces résultats doit conduire à la création de futurs géniteurs et/ou de variétés cumulant différents QTL de résistance à la rouille jaune par une approche de sélection assistée par marqueurs (SAM).

Les résultats obtenus pourront faire l'objet d'une publication scientifique, dans un délai qui reste à préciser.

## 5. Remerciements

Nous remercions F. Brunet et P. Leconte pour la mise en place des expérimentations à l'INRA du Rheu (35), Christophe Montagnier et Laurent Gérard pour celle de Versailles (78). Ce travail a été réalisé avec l'aide financière du fonds FSOV versé par le GNIS (septembre 2008-septembre 2011).

## Références bibliographiques

**Bariana H.S., Bansal U.K., Schmidt A., Lehmensiek A., Kaur J., Miah H., Howes N., McIntyre C.L.** (2010) Molecular mapping of adult plant stripe rust resistance in wheat and identification of pyramid QTL genotypes. *Euphytica* 176:251-260.

**Bayles R.A., Flath K., Hovmöller M.S., de Vallavieille-Pope C.** (2000) Breakdown of the *Yr17* resistance to yellow rust of wheat in northern Europe - a case study by the yellow rust sub-group of COST 817. *Agronomie* 20:805-811.

**Chen X.M.** (2005) Epidemiology and control of stripe rust (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) on wheat. *Can J Plant Pathol* 27:314-337.

**Cheng P., Chen X.M.** (2010) Molecular mapping of a gene for stripe rust resistance in spring wheat cultivar IDO377s. *Theor Appl Genet* 121:195-204.

**Christiansen M.J., Feenstra B., Skovgaard I.M., Andersen S.B.** (2006) Genetic analysis of resistance to yellow rust in hexaploid wheat using a mixture model for multiple crosses. *Theor. Appl. Genet.* 112:581-591.

**Crossa J., Burgueno, J, Dreisigacker S., Vargas M., Herrera-Foessel S.A., Lillemo M., Singh R.P., Trethowan R., Warburton M., Franco J., Reynolds M., Crouch J.H., Ortiz R.** (2007) Association analysis of historical bread wheat germplasm using additive genetic covariance of relatives and population structure. *Genetics* 177:1889-1913.

**Dedryver F., Paillard S., Mallard S., Robert O., Trottet M., Nègre S., Verplancke G., Jahier J.** (2009) Characterization of genetic components involved in durable resistance to stripe rust in the bread wheat 'Renan'. *Phytopathology* 99:968-973.

**De Vallavieille-Pope C., Picard-Formery H., Radulovic S., Johnson R.** (1990) Specific resistance factors to yellow rust in seedlings of some French wheat varieties and races of *Puccinia striiformis* Westend. in France. *Agronomie* 10:103-113.

**De Vallavieille-Pope C., Rouzet J., Leconte M., Delos M., Mistou M.N.** (2000) La rouille jaune du blé en France : des épidémies déclenchées par une nouvelle race, un hiver doux et un printemps humide. *Phytoma* 527:22-29.

**De Vallavieille-Pope C., Ali S., Leconte M., Enjalbert J., Delos M., Rouzet J.** (2012) Virulence dynamics and regional structuring of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in France between 1984 and 2009, *Plant Disease*, 96,131-140.

**Enjalbert J., Duan X., Leconte, M., Hovmöller M.S., de Vallavieille-Pope C.** (2005) Genetic evidence of local adaptation of wheat yellow rust (*Puccinia striiformis* f.sp. *tritici*) within France. *Molecular Ecology* 14:2065-2073.

**Fu D., Uauy C., Distelfeld A., Blechl A., Epstein L., Chen X., Sela H., Fahima T., Dubcovsky J.** (2009) A kinase-START gene confers temperature-dependent resistance to wheat stripe rust. *Science* 323:1357-1360.

**Hau B., de Vallavieille-Pope C.** (2006) Wind-dispersed diseases. In: *The Epidemiology of Plant Diseases*. p. 387-416, Eds B. M. Cooke, D. Gareth Jones and B. Kaye, Second Edition, Springer.

**Mallard S., Gaudet D., Aldeia A., Abelard C., Besnard A.L., Sourdil S., Dedryver F.** (2005) Genetic analysis of durable resistance to yellow rust in bread wheat. *Theor Appl Genet* 110:1401-1409.

**Paillard S., Verplancke S., Perretan M.-R., Mohamadi F., Leconte M., Coëdel S., de Vallavieille-Pope C., Dedryver F.** (2012) Durable resistance to stripe rust is due to three specific resistance genes in French bread wheat cultivar Apache. *Theoretical and Applied Genetics*, 125, 5, 955-965.

**Robert O., Abelard C., Dedryver F.** (1999) Identification of molecular marker for the detection of the yellow rust resistance gene *Yr17* in the wheat. *Mol Breed* 5:167-175.

**Suenaga K., Singh R.P., Huerta-Espino J., William H.M.** (2003) Microsatellite markers for genes *Lr34/Yr18* and other quantitative trait loci for leaf rust and stripe rust resistance in bread wheat. *Phytopathology* 93:881-890.

**Uauy C., Brevis J.C., Chen X., Khan I., Jackson L., Chicaiza O., Distelfeld A., Fahima T. and Dubcovsky J.** (2005) High-temperature adult-plant (HTAP) stripe rust resistance gene *Yr36* from *Triticum turgidum* ssp. *dicoccoides* is closely linked to the grain protein content locus *Gpc-B1*. *Theor Appl Genet* 112:97-105.

**Zhang P., McIntosh RA, Hoxha S., Dong C.** (2009) Wheat stripe rust resistance genes *Yr5* and *Yr7* are allelic. *Theor Appl Genet* 120:25-29.