

Olivier ROBERT^{1*}, Cristobal UAUY², Pierre TAUPIN³, Laure DUCHALAIS⁴, Patrice SENELLART⁵, Jayne STRAGLIATI⁶

1 – BIOPLANTE - FLORIMOND DESPREZ – 3 rue Florimond Desprez, 59242 Cappelle en Pévèle

2 – JOHN INNES CENTRE - Colney Lane, NR4 7UH, Norwich, UK

3 – ARVALIS – ARVALIS Institut du Végétal, Service Génétique et Protection des Plantes, Station Expérimentale, 91720 Boigneville

4 – R2n – Route d'Epincy, 28150 Louville La Chenard

5 – SYNGENTA – Ferme de Moyencourt, 78910 Orgerus

6 – LIMAGRAIN EUROPE – 5 rue de l'égalité, 28130 Chartainvilliers

* Coordinateur : Olivier ROBERT, olivier.robert@florimond-desprez.fr

1. Introduction

La cécidomyie orange, *Sitodiplosis mosellana*, est un parasite commun du blé tendre qui prend de plus en plus d'importance chaque année dans l'hémisphère nord. Ce parasite est responsable de pertes sévères de rendement car ses larves se nourrissent des grains en cours de formation causant ainsi leur échaudage et des problèmes de germination sur pieds. De plus, la présence de ce parasite peut faciliter l'attaque secondaire de champignons comme la fusariose. Ainsi, ce parasite affecte aussi bien le rendement que la qualité du grain récolté. En 2004, lors d'une pandémie de cécidomyie au Royaume Uni, les pertes de rendement occasionnées par ce parasite furent estimées à 6% (soit environ 1 million de tonnes). Ces pertes étaient accompagnées de la diminution de la qualité du grain, malgré l'épandage d'insecticides sur 500 000 ha de blé (Ellis *et al.*, 2009). La cécidomyie a une distribution spatiale très inégale et les infestations varient d'année en année en fonction des conditions climatiques, ce qui rend difficile toute prédiction des risques et complique la tâche des sélectionneurs pour obtenir des variétés résistantes.

Un polymorphisme variétal a été observé pour la résistance à la cécidomyie pour des variétés de blé tendre issues de différents pays. Cependant, il y a eu très peu d'études sur la génétique de ces sources de résistance. L'étude la plus importante démontre que la résistance à la cécidomyie des variétés canadiennes est conditionnée par la présence d'un gène majeur unique, appelé *Sm1*, présent sur le chromosome 2BS du blé tendre. Un marqueur moléculaire PCR (*Wm1*) a été développé (Thomas *et al.* 2005). Il est lié au gène de résistance *Sm1* et aurait pu être utilisé en

sélection assistée par marqueurs par de nombreux sélectionneurs si celui-ci ne s'était pas révélé perfectible dans de nombreux cas.

Ainsi, le John Innes Centre (JIC) a montré, avant le début de ce programme, que trois variétés résistantes au Royaume-Uni possèdent le gène *Sm1* de la résistance cécidomyie (Ellis *et al.*, 2009) et que le marqueur *Wm1*, associé au gène *Sm1*, n'était pas fiable pour l'ensemble de matériel génétique britannique (par exemple, certaines variétés sensibles amplifient la bande marqueur de *Wm1*; Oakley *et al.*, 2005). Par ailleurs, dans le cadre d'un projet parallèle (Simmonds *et al.*, 2008), le JIC a établi la colinéarité entre le blé, le riz et *Brachypodium* dans la région chromosomique où est localisé le gène *Sm1*. Ces connaissances, associées aux résultats d'un phénotypage précis sur du matériel pertinent (fourni par les partenaires du programme), va permettre d'identifier plusieurs marqueurs SNP étroitement liés au gène *Sm1* et également, de révéler l'existence probable de nouvelles sources de résistance à la cécidomyie pour plusieurs lignées.

2. Matériels et méthodes

Matériel végétal et tests de résistance

Matériel Végétal

96 lignées ou variétés ont été semées (Tableau I) durant les 3 années du programme sur au moins 3 sites avec 3 répétitions : Orgerus (Syngenta), Allemagne (Limagrain) et Rothwell, Lincolnshire (JIC, UK), Cobrieux (F. Desprez) et Louville la Chenard (R2n). Durant la seconde année, 2 populations de 40 lignées ayant potentiellement d'autres sources de résistance ont également été testées.

Quarante huit lignées BC4 quasi-isogéniques (NILs) ont également été produites avec une introgression du chromosome 2BS portant le gène *Sm1* (intervalle compris *Xgmwm614-Xwmc25*) de Robigus dans Shamrock. Ainsi, durant la 3^{ème} année du programme une population composée de 48 lignées recombinantes homozygotes BC3F2 et BC4F2 issues du croisement Robigus x Shamrock (RxS) ont été phénotypées pour la cartographie fine du gène *Sm1*.

Test de résistance

Des pièges à insectes (cuvettes jaunes et/ou pièges à phéromone) ont été disposés entre les rangs, placés de manière à ce que le bord supérieur de la cuvette soit au niveau de la base des épis. Chaque cuvette est remplie avec de l'eau additionnée de 5 à 10 gouttes de détergent «type liquide vaisselle». Pour avoir une bonne précision de la courbe de vol, les pièges ont été relevés tous les 2 jours. Les épis ont été prélevés dans les deux lieux où la pression parasitaire a été la plus forte et la plus longue. Les 30 épis (10 épis par répétition) par variétés ont été envoyés à Arvalis pour le comptage des larves de cécidomyie. Par ailleurs des notations de caractères morphologiques comme la compacité de l'épi, l'extrusion d'anthere, la hauteur des plantes et la précocité à l'épiaison ont été notées.

Génotypage et développement de marqueurs moléculaires

Génotypage

Le marqueur Wm1 a été testé sur l'ensemble du matériel selon le protocole décrit par Thomas et al. (2005). Les marqueurs SNP développés sont de type KASPar. Le protocole d'amplification appliqué à ces marqueurs est le protocole standard préconisé par KBioScience.

Recherche de nouveaux marqueurs

A partir de 89 marqueurs contigs du IWGSC assignés au chromosome 2BS, 52 nouveaux marqueurs SNP ont été identifiés sur le panel de 96 lignées et 17 marqueurs SNP ont été cartographiés sur le chromosome 2BS (et 35 sont potentiellement sur ce chromosome). Les 17 marqueurs SNP ont été comparés au marqueur Wm1 (lié à *Sm1*) sur les 96 génotypes.

Par ailleurs, une étude RNAseq a été menée à partir de l'extraction d'ARN de feuilles des lignées BC4 NILs. Les échantillons ont été séquencés avec un séquenceur illumina HiSeq2000. Les

reads NGS (Next Generation Sequencing) ont été alignés sur le bras chromosomique de la séquence de référence avec une attention portée sur les contig du chromosome 2BS ayant une homologie avec les gènes de *Brachypodium*.

3. Résultats et discussions

Tests de résistance au champ

Les cécidomyies capturées nous ont permis de connaître la cinétique de la pression parasitaire sur chaque lieu. Celle-ci a toujours été forte dans au moins deux lieux ce qui nous a permis d'effectuer la synthèse de résultats sur 2 ou 3 lieux chaque année. Les périodes de vol de cécidomyies pouvaient ne pas couvrir la totalité de la période de floraison des lignées mais en associant les résultats des différents lieux, nous avons obtenu une pression parasitaire couvrant toute la durée de floraison du matériel végétal.

Le matériel testé a révélé des niveaux de résistances très différents allant de totalement résistant à très sensible (64 larves / épi) et cela sur plusieurs lieux et sur les 3 années du programme.

Ainsi en 2013, à Ouzouère le Marché, 33 lignées sont indemnes toutes larves, 35 lignées ont entre 0.01 à 1 larve par épi, 11 lignées ont de 1.1 à 5 larves par épi et 19 lignées ont de 5.1 à 30 larves par épi. Ainsi 70% du matériel testé offre un bon niveau de résistance à la cécidomyie. Ce nombre (69) important de variétés ou lignées résistantes provenant d'origines diverses, constitue un panel de validation qui permet d'évaluer la pertinence et la robustesse des marqueurs du gène *Sm1* lorsqu'il est présent dans différents fonds génétiques.

Relation avec les caractères morphologiques

Les trois caractères phénotypiques qui ont été principalement étudiés sont la précocité, la hauteur des plantes, la compacité de l'épi et l'extrusion d'anthers. Il n'y a pas de corrélation entre ces caractères et le niveau de tolérance à la cécidomyie. Les seules corrélations significatives concernent la précocité d'épiaison / date de floraison et le nombre de larves par épi / le pourcentage d'épis infectés (Tableau II).

Détection de nouveaux marqueurs moléculaires

Utilisation des contigs IWGSC pour la détection de nouveaux marqueurs associés à la résistance

A partir de 89 marqueurs issus des contigs IWGSC assignés au chromosome 2BS, 52 nouveaux marqueurs SNP ont été caractérisés sur le panel de 96 lignées et 17 marqueurs SNP ont été cartographiés sur le chromosome 2BS. Les 17 marqueurs SNP ont été comparés au marqueur Wm1 (lié à *Sm1*) sur les 96 génotypes. Deux marqueurs OWBM6 et OWBM8 semblent être les plus proches de *Sm1* (et meilleurs que Wm1). En effet, les lignées avec l'allèle de résistance de Wm1 ont 38% d'épis infestés contre seulement 3.5% avec OWBM6 et 6% avec OWBM8 (alors que le pourcentage attendu avec *Sm1* est de 0%). Donc, même si ces deux marqueurs donnent de meilleurs résultats que le marqueur Wm1, ils donnent encore de résultats perfectibles (faux positifs) pour certains fonds génétiques (comme Shamrock, Cadenza et leurs descendants). Les lignées Oxebo, LG OBM 11-05 et LG OBM 11-06 ont le même haplotype « sensible » avec OWBM6 et OWBM8 alors que ces 3 lignées sont très résistantes : Soit ces 3 lignées ont une autre source de résistance, soit il y a eu une recombinaison entre le gène et les marqueurs (ce qui est peu probable).

Cartographie fine autour de *Sm1*

Nous avons testé une série de nouveaux marqueurs génétiques d'origines multiples sur les lignées NILs homozygotes. Nous avons utilisé autant de marqueurs que possible à partir des données KASPar générées dans le projet BBSRC CIRC afin de mieux définir la localisation chromosomique du gène *Sm1*. En utilisant ces marqueurs et le phénotypage disponible à partir de 2013, nous avons cartographié *Sm1* dans un intervalle entre les marqueurs SNP OWBM7 et OWBM9 (OWBM7 et OWBM9, Figure 1). Ces deux marqueurs présentent une forte homologie avec les gènes de *Brachypodium* (*Bradi5g01020* et *Bradi5g00850*). Ceci suggère que le gène *Sm1* est cartographié dans un intervalle correspondant à environ 20 gènes de *Brachypodium*.

Nous avons porté plus particulièrement notre attention sur les contigs de blé homologues aux gènes de *Brachypodium* *Bradi5g00810* et *Bradi5g00010* sachant que la carte génétique

suggère une inversion entre les espèces dans cette région. Nous avons identifié plusieurs contigs de blé pour *Bradi5g00810*, *Bradi5g00790* / *Bradi5g00780* ; *Bradi5g00610* et *Bradi5g00570*. Seulement deux de ces contigs ont une couverture suffisante pour la détection de SNP et c'est pourquoi seulement deux SNP ont été convertis en marqueurs KASPar (OWBM2 et OWBM4). Ces deux marqueurs SNP ont été cartographiés comme complètement liés à *Sm1* sans qu'il soit possible d'identifier celui qui serait le plus proche physiquement du gène (Figure 1). En résumé, nous avons identifié et cartographié quatre marqueurs SNP qui co-ségrègent avec le gène *Sm1* dans l'intervalle génétique défini.

Analyse d'association avec l'ensemble des nouveaux marqueurs

Nous avons déjà identifié des marqueurs OWBM6 et OWBM8 comme associés à *Sm1*, bien que nous ne pouvions pas les cartographier dans la population RxS. Nous avons donc utilisé la carte iSelect récemment publiée par Wang et al. (2014) pour vérifier si ces marqueurs SNP y étaient présents. Nous avons constaté que les deux marqueurs OWBM6 et OWBM8 ont été cartographiés sur le bras court du chromosome 2B et que leur position sur la carte correspond à la position des marqueurs complètement liés ou flanquant *Sm1* (marqueurs que nous avons identifié dans la population RxS). Le seul marqueur qui n'est pas sur la carte iSelect est le marqueur flanquant OWBM1.

Nous avons ensuite déterminé si les deux marqueurs issus des séquences RNAseq pouvaient être inclus dans le même intervalle de la carte iSelect. En utilisant les contigs CSS de blé comme une référence commune aux deux ensembles de données, nous avons constaté que quatre SNP d'un même contig sont cartographiés à la position de 27,2 cM, ce qui suggère que ce contig est localisé à cette position (27,2 cM sur le chromosome 2BS). Par contre, le marker OWBM2 n'a pas pu être placé dans cet intervalle. Ces résultats permettent de localiser le gène *Sm1* avec une position de carte comprise entre 26,48 cM et 32,16 cM sur la carte iSelect de Wang et al. (2014).

Dans cette analyse, nous avons identifié que le 2nd SNP du contig CSS portant le marqueur OWBM6 est également cartographié à une position de 23.51cM sur la carte iSelect. Un 2nd SNP est présent sur un locus génétiquement adjacent mais

avec le même profil : Ce SNP est donc localisé à deux positions différentes (23,51 cM et 26,48 cM). Ce résultat peut s'expliquer par la présence d'une possible duplication du contig.

Ainsi, nous avons identifié, par différentes approches, 9 marqueurs SNP : ces marqueurs seront très utiles pour une identification précise du gène *Sm1*. Des associations significatives entre les 4 phénotypes et plusieurs marqueurs SNP ont été observées. Ainsi, en plus des deux marqueurs précédemment identifiés (OWBM6 et OWBM8), nous avons également révélé une association significative ($P < 0.001$) avec les marqueurs OWBM7 (marqueur distal) et OWBM9 (marqueur proximal). Une association plus faible a été observée avec les marqueurs OWBM1 et OWBM2. Par contre, aucune association n'a été obtenue avec les 3 autres marqueurs (OWBM3, OWBM4 et OWBM5) complètement liés à *Sm1*. Ce résultat peut s'expliquer par le fait que ces SNP ont été identifiés entre Robigus et Shamrock et que cette dernière variété n'a pas ou peu été utilisée dans les croisements : l'allèle du SNP lié à la sensibilité de Shamrock n'est pas présent dans les variétés qui ont été testées. Les marqueurs faiblement associés à la résistance (même s'ils sont génétiquement proches de *Sm1*) ne sont pas prédictifs pour le matériel végétal que nous avons testé, c'est pourquoi notre analyse s'est essentiellement portée sur les 3 marqueurs OWBM6, OWBM7 et OWBM9 (Tableau III) :

Nous avons identifié un haplotype « Robigus » (*Sm1*) identique dans 48 lignées pour les trois marqueurs les plus pertinents (OWBM6; OWBM7; OWBM9), y compris toutes les lignées qui avaient été classées comme des descendants de Robigus/*Sm1*/Welford (Tableau III). Cet haplotype G:G/T:C-C:T a toujours montré une faible infestation par la cécidomyie dans nos essais.

Quand le marqueur OWBM6 a été testé seul, deux variétés distinctes ont révélé des faux positifs (Sy Epson et K3909).

Par contre, des problèmes d'inversion d'étiquette des lignées Visage et G2424 sont responsables des résultats contradictoires observés sur le terrain en 2011 et 2012 (Tableau III) et expliquent que nous ayons trouvé des faux positifs pour ces deux variétés une année.

L'haplotype le plus couramment observé a été T:T/T:T/T:T (avec de possibles légères modifications dans les deux marqueurs adjacents OWBM7 et OWBM9). Cet haplotype est présent

dans 31 lignées qui ont toutes un niveaux très élevés d'infestation (Tableau III).

Trois lignées qui portent l'haplotype "sensible" aux deux marqueurs, sont résistantes dans les trois essais (T:T/T:T/C:T). Ces lignées sont LG OBM 11-05, 11-06, et Oxebo (Tableau III). Avant l'utilisation des marqueurs flanquants, nous avons supposé que l'incohérence entre le génotypage et le phénotypage pouvait être soit le résultat d'une recombinaison étroite entre OWBM6 et le gène *Sm1*, soit que ces trois lignées avaient d'autres gènes de résistance. Initialement, les résultats identiques obtenus avec les 2 marqueurs flanquant *Sm1* ne nous permettaient pas d'exclure l'hypothèse de recombinaison entre le marqueur SNP OWBM6 et le gène *Sm1*. Mais l'identification de nouveaux marqueurs liés à *Sm1* et le fait que ces trois lignées partagent un haplotype identique pour ces 9 marqueurs SNP autour de *Sm1* révèle que ces trois lignées possèdent probablement un ou plusieurs facteurs de résistance autres que le gène *Sm1* ou que ces lignées ont un nouvel haplotype de *Sm1* qui est différent de l'haplotype *Sm1* «traditionnel» (provenant de Robigus).

Conclusion

- Nous avons cartographié génétiquement *Sm1* à l'intérieur d'une région définie par les marqueurs SNP OWBM7 et OWBM9. Cette région correspond à une zone comprenant environ 20 gènes chez *Brachypodium*.
- L'exploitation de différentes ressources (Contig, RNAseq, carte iSelect, *Brachypodium*) nous a permis d'identifier neuf marqueurs SNP soit complètement liés à *Sm1* soit flanquant le gène de chaque côté.
- L'analyse d'association effectuée sur les données de la première année montrent que le marqueur SNP OWBM6 et les deux marqueurs flanquants nouvellement identifiés fournissent un haplotype très puissant et robuste pour identifier le gène *Sm1* parmi les descendants de Robigus. Ainsi, seulement 3,5% des lignées avec l'allèle *Sm1* du marqueur OWBM6 sont sensibles (contre 38% avec Wm1).
- Deux faux positifs (avec l'haplotype de *Sm1*, mais sensibles) ont été identifiés. Ces deux lignées seront ré-examinées car elles ont montré un phénotype sensible dans nos pépinières alors qu'elles sont connues pour avoir un comportement opposé : Nous suspectons un problème de semences...

• L'haplotype sensible constitué des allèles de ces 3 marqueurs s'est également révélé globalement très prédictif parmi les variétés testées, sauf pour 3 lignées qui ont révélé 3 faux négatifs (haplotype sensible, mais lignée résistante à la cécidomyie). Un haplotype commun dans toute la région *Sm1* (9 marqueurs SNP) et l'utilisation de marqueurs flanquant génétiquement cartographiés dans la région du gène suggère que ces trois lignées (LG OBM 11-05, LG OBM 11-06, et Oxebo) possèdent probablement une nouvelle source de résistance à

la cécidomyie ou ont un nouvel haplotype de *Sm1* qui est différent de l'haplotype provenant de Robigus.

En conclusion, ce programme a permis d'obtenir trois marqueurs liés à *Sm1* qui sont utilisables en sélection (ce qui n'était pas le cas du marqueur *Wm1*) et de d'identifier des lignées possédant d'autres gènes de résistance à la cécidomyie. Un nouveau programme FSOV 2014 a débuté pour permettre d'obtenir des marqueurs de *Sm1* totalement fiables.

Tableau I : Liste des lignées ou variétés, proposées par les partenaires, qui ont été phénotypées au champ en 2013

Bioplante	Arvalis	R2n	Limagrain	Syngenta	JIC
FD1-OWBM	APACHE	RAGT OBM-11	LG01-2012-R	H10686	Robigus
FD2-OWBM	COURTOT	RAGT OBM-12	LG02-2012-R	H10697	Shamrock
FD3-OWBM	BERMUDE	RAGT OBM-13	LG03-2012-R	07FR143-239	HR-RS1
FD4-OWBM	BOREGAR	RAGT OBM-14	LG04-2012-R	H12FR14123	HR-RS1C
FD5-OWBM	ASCOTT	RAGT OBM-15	LG05-2012-R	H1111103	HR-RS2
FD6-OWBM	BALETKA	RAGT OBM-16	LG06-2012-R	H1111195	HR-RS3
FD7-OWBM	BELEPI	RAGT OBM-17	LG07-2012-R	H1111197	HR-RS4
FD8-OWBM	BERGAMO	RAGT OBM-18	LG08-2012-R	H12FR14331	HR-RS5
KWS CROFT	CALABRO	RAGT OBM-19	LG09-2012-R	H13FR14277	HR-RS5C
LEEDS	CELLULE	RAGT OBM-20	LG010-2012-R	H13FR14279	HR-RS6
KWS SANTIAGO	FAIRPLAY	RAGT OBM-21	LG011-2012-R	H13FR14351	HR-RS7
KWS TARGET	LYRIK	RAGT OBM-22	LG012-2012-R	H13FR14447	HR-RS8
KWS YARIS	MEETING	RAGT OBM-23	LG013-2012-R	H13FR14450	HR-RS9
KWS KIELDER	OREGRAIN	RAGT OBM-24	LG014-2012-R	H13FR14474	HR-RS9C
KWS CLEVELAND	RONCARD	PAKITO	LG015-2012-R	H13FR14481	SyEpson
AREZZO	RUBISKO		LG016-2012-S	H12FR11010	
	SY MOISSON		LG017-2012-S	H11FR13295	

Tableau II : Tableau de corrélation entre les caractères morphologiques et la résistance à la cécidomyie

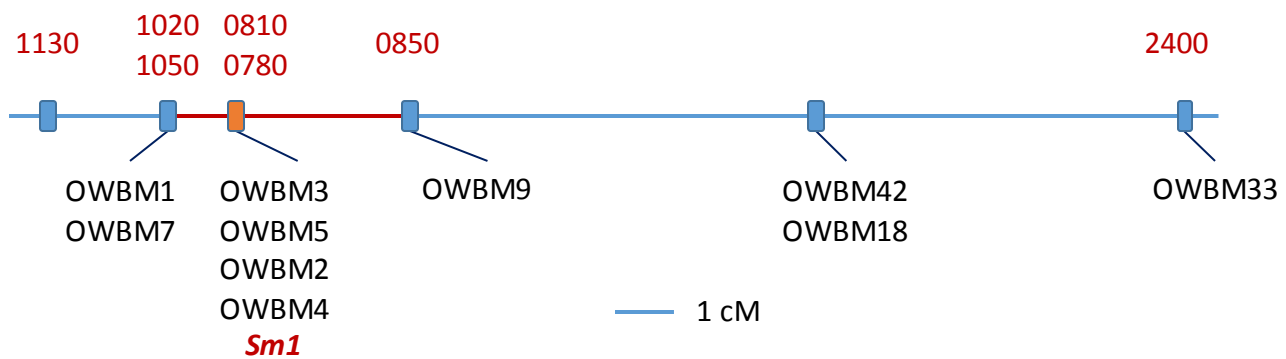
	Extrusion	Hauteur	Compacité	Nb de larves /épi	% épis infestés	Date épiaison	Date floraison
Extrusion	1						
Hauteur	0.11133812	1					
Compacité	-0.06079968	0.02058616	1				
Nb de larves	0.08511147	0.11907004	0.16622039	1			
% épis infestés	0.08697204	0.09597737	0.1219345	0.943319211	1		
Date épiaison	-0.02814726	-0.31581907	-0.38269493	-0.368170503	-0.398826953	1	
Date floraison	-0.07615593	-0.35890784	-0.37760939	-0.309015681	-0.307095336	0.824498443	1

Tableau III : Haplotype associé à la résistance à la cécidomyie pour les 3 marqueurs SNP OWBM6, OWBM7 et OWBM9

	Marqueurs SNP KASPar			2011-Louville		2011-Ouzouer		2012-UK		Moyenne	
	Associé	flanquant	flanquant	LvSp	% inf	LvSp	% inf	LvSp	% inf	LvSp	% inf
	OWBM6	OWBM7	OWBM9								
Robigus-Haplotype (48 lignées)	G:G	T:C	C:T	0.01	0.5	0.02	2	0.0	0.0	0.0	1.1
G 2424	G:G	T:C	C:T	0.00	0.0	0	0	1.6	30.0	0.5	10.0
SY EPSON	G:G	T:C	C:T	0.27	23.3	0.07	7	.	.	0.2	15.0
K 3909	G:G	T:C	C:T	0.40	20.0	0.70	40	5.2	56.7	2.1	38.9
VISAGE (inversion avec Viscount)	G:G	T:C	C:T	0.93	53.3	1.17	67	.	.	1.1	60.0
18 lignées	T:T	T:T	T:T	2.50	53.24	1.49	52.34	4.25	75.00	2.75	60.19
5 lignées	T:T	T:C	T:T	0.90	31.33	0.69	35.33	4.09	77.33	1.89	48.00
8 lignées	T:T	T:T	C:C	4.46	82.50	2.94	78.28	4.31	80.98	3.90	80.59
OXEBO	T:T	T:T	C:T	0.00	0.0	0	0	0.0	0.0	0.0	0.0
LG OBM 11-05	T:T	T:T	C:T	0.00	0.0	0.03	3	0.0	0.0	0.0	1.1
LG OBM 11-06	T:T	T:T	C:T	0.00	0.0	0.03	3	0.0	0.0	0.0	1.1
Nogal	T:T	T:T	C:T	3.83	96.7	.	.	0.4	10.0	2.1	53.3

LvSp : Nombre de larves par épis
 % inf : Pourcentage d'épis infectés

Figure 1 : Cartographie des marqueurs SNP et des gènes de *Brachypodium* dans la région du gène *Sm1*. En rouge : Le nom du gène de *Brachypodium* (exemple : 0810 → *Bradi5g00810*). Les marqueurs OWBM sont des marqueurs SNP de type KASPar.



Références bibliographiques

Ellis S.A., Bruce T.J.A, Smart L.E. et al. (2009) Integrated management strategies for varieties tolerant and susceptible to wheat blossom midge. HGCA Project Report 451.

(http://www.hgca.com/document.aspx?fn=load&media_id=5270&publicationId=5996)

Oakley J.N., Ellis S.A., Watling M. et al. (2005) Responses of summer cereal aphid populations to reduced rate aphicide applications in field plots of winter wheat. *Agricultural and Forest Entomology* 7: 211-218

Simmonds J.R., Fish L.J., Leverington-Waite M.A. et al. (2008) Mapping of a gene (Vir) for a non-glaucous, viridescent phenotype in bread wheat derived from *Triticum dicoccoides*, and its association with yield variation. *Euphytica* 59:333–341.

Thomas J., Fineberg N., Penner G. et al. (2005) Chromosome location and markers of Sm1: a gene of wheat that conditions antibiotic resistance to orange wheat blossom midge. *Molecular Breeding* 15: 183-192.

Wang S., Wong D., Forrest K. et al. (2014) Characterization of polyploid wheat genomic diversity using a high-density 90 000 single nucleotide polymorphism array. *Plant Biotechnology Journal* 12: 787-796.