

Evaluation de la résistance  
du blé à la septoriose provoquée  
par *Mycosphaerella graminicola*

**Delphine HOURCADE**

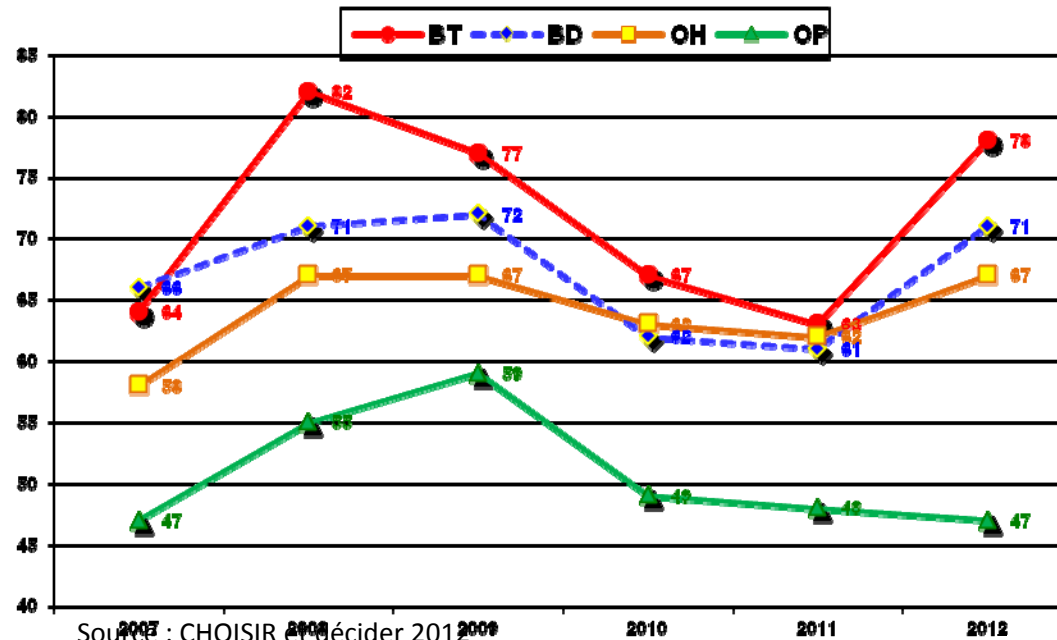


# Contexte

# La septoriose

❑ La maladie la plus préjudiciable sur blé tendre : nuisibilité élevée et présente partout

❑ 1<sup>er</sup> moyen de lutte : le traitement fongicide



Source : CHOISIR et décider 2012  
ARVALIS – Institut du végétal

Investissement fongicide moyen sur céréales par hectare en €

❑ La résistance variétale : levier à exploiter

# Plan

- 1- Caractérisation de la résistance variétale
- 2- Caractérisation phénotypique et moléculaire des populations françaises de septoriose
- 3- Mise au point d'outils d'étude de la résistance partielle
- 4- Mise au point de protocoles de phénotypage au stade adulte
- 5- Conclusion

# **Caractérisation phénotypique et moléculaire de la résistance variétale**

# Phénotypage au stade plantule

- Phénotypage de 58 variétés X 18 isolats : stade 1 feuille (PRI) → 15 gènes Stb postulés

Nombre de variétés avec :

Stb1	0
Stb2	1
Stb3	1
Stb4	1
Stb5	0
Stb6	28
Stb7	4
Stb8	1
Stb9	3
Stb10	0
Stb11	0
Stb12	0
Stb13	4
Stb14	4
Stb15	0

- Peu de gènes Stb dans le matériel français excepté Stb6
- Gènes présents dans des variétés résistantes  
Stb2, Stb4, Stb8
- Gènes présents dans des variétés sensibles  
Stb3, Stb7, Stb9
- Variétés connues résistantes, sensibles quelle que soit la souche
  - Toisonдор, Maxwell, Boisseau, Koreli  
(résistance adulte)

# Marqueurs moléculaires

- ❑ Comparaison du phénotypage avec le génotypage de marqueurs SSR publics (Goodwin 2007)

Gene	Localisation	Marqueurs et distance au gène	Parent donneur	Stade de développement évalué
<i>Stb1</i>	5BL	barc74(2.8 cM), gwm335	Bulgaria 88	Plantule et adulte
<i>Stb2</i>	3BS	gwm389 (0.9 cM), gwm533, gwm493	Veranopolis	Plantule
<i>Stb3</i>	7AS	wmc83	Israel 493	Plantule
<i>Stb4</i>	7DS	gwm111 (0.7 cM)	Tadinia	Plantule et adulte
<i>Stb5</i>	7DS	gwm44 (7.2 cM)	Chineese Spring (Syntetic 7D)	
<i>Stb6</i>	3AS	gwm369 (2 cM)	Senat, Flame, Kavkaz-K4500	Plantule, adulte et sur feuilles
<i>Stb7</i>	4AL	wmc313 (0.5 cM), wmc219, gwm160	Estanzuela Federal	Plantule et feuilles
<i>Stb8</i>	7BL	gwm146, gwm577	Syntetic W7984	Plantule
<i>Stb9</i>	2BL	gpw1214, gpw4044, gpw5039, wmc317, barc0129	Courtot, Tonic	Plantule
<i>Stb10</i>	1D	gwm848 (private marker)	Kavkaz-K4500	
<i>Stb11</i>	1BS	barc008 (<1cM)	TE 9111	
<i>Stb12</i>	4AL	wmc219	Kavkaz-K4500	Plantule et feuilles
<i>Stb13</i>	7BL	wmc396		
<i>Stb14</i>	3BS	wmc500 (2cM), wmc632 (5cM)		
<i>Stb15</i>	6AS	psr904 (RFLP marker)	Arina	Feuilles

- Peu de marqueurs peuvent être utilisés pour caractériser le matériel français
- *Stb2* (avec gwm533, gwm493, gwm389) & *Stb3* (with wmc83) *Stb4* (with gwm111) semblent prometteurs
- Nécessité de confirmer sur un plus grand panel

# **Caractérisation phénotypique et moléculaire des populations françaises de septoriose**



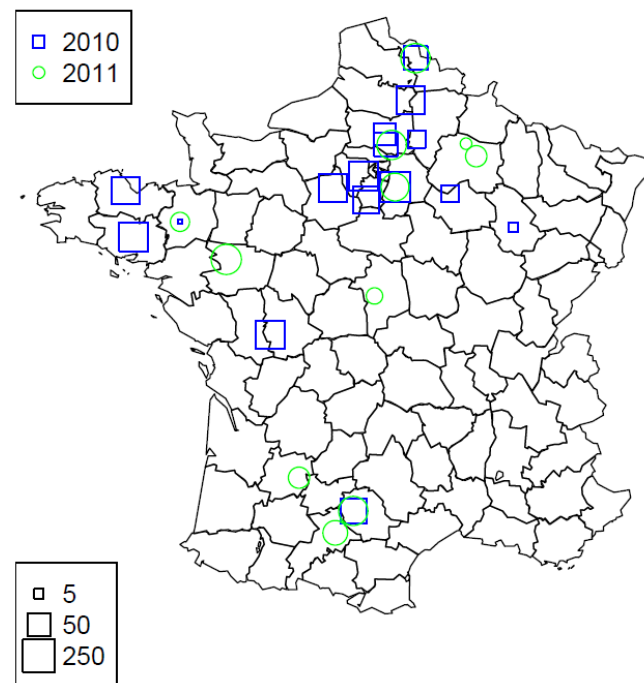
# Echantillonnage

- ❑ Etude antérieure:
  - 30 isolates, Nord France, fin 90s (Tabib Ghaffary SM 2011)
  - *Stb 1-5* efficace en France ; *Stb 6-9 & 11* contournés

- ❑ 2 nouvelles études:
  - Sur 2 variétés fortement cultivées et moyennement résistantes
  - Sur diverses variétés sensibles et résistantes

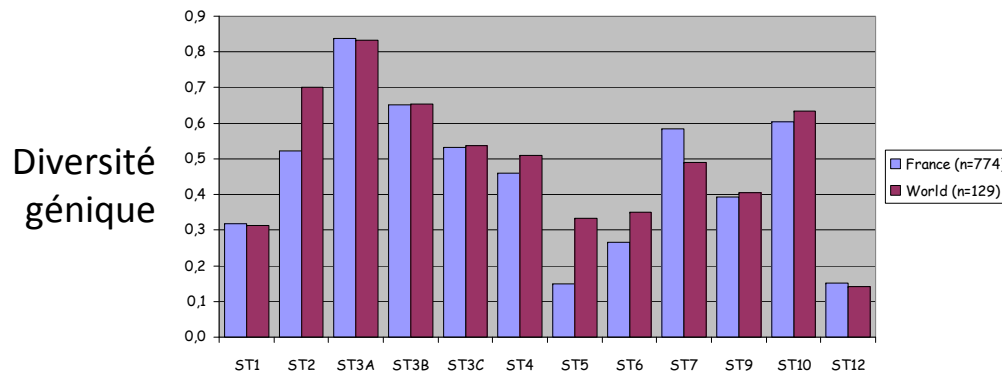
- ❑ 1690 isolats

Nombre de souches isolées

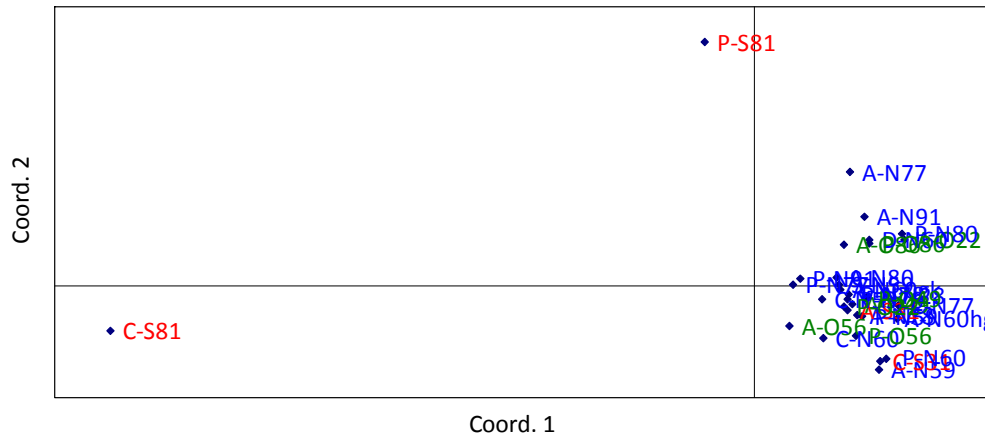


# Etude génétique

- Développement et validation de 16 SSR par Goodwin *et al.* et Walker, Confais, Gautier & Marcel (INRA Bioger)
- Génotypage de 774 isolats représentant 32 populations (lieu de prélèvement, année, variété) ( Ducasse, Gout, Goyeau & Marcel, INRA Bioger)



□ Faible différenciation génétique entre populations



- 28 pop, types sexuels répartis 1:1
- Distances génétiques faibles entre paires de populations



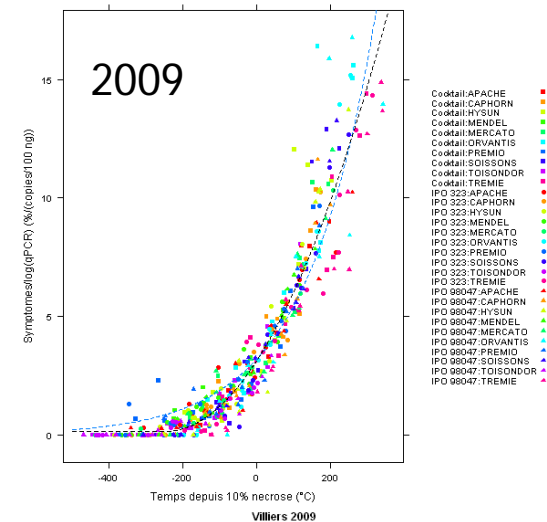
# Mise au point d'outils d'étude de la résistance partielle

# Méthodes de PCR quantitative

3 gènes ciblés

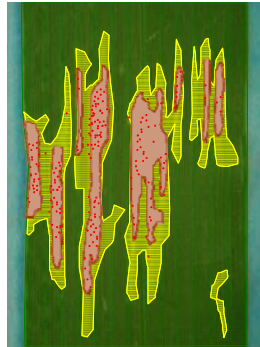
Gène	IGS	Transposon TF6	CYTB	Isomérase-réductase: ILV5	TUB1
Cible	copies multiples nucléaires	copies multiples nucléaires	copies multiples mitochondriales	copie unique nucléaire	copie unique nucléaire
Sensibilité	++	+	+	--	--
Spécificité	--	++	+/-	--	++
Variabilité chez <i>M. graminicola</i>	non	non	non	non	oui
Détection dans les échantillons environnementaux	++	++	++	+/-	+/-

- Cible TF6 : bonne spécificité et sensibilité
- Echantillons environnementaux : possibilité d'anticiper la date d'apparition des symptômes avec une interférence variété X souche



# Résistance quantitative

- ❑ Evaluation de 15 paramètres quantitatifs au cours du cycle d'infection au stade adulte (cinétique de développement)



9 variétés x 3 isolats  
locaux + isolat IPO323

Les composantes principales de l'agressivité du champignon :

variable	définition	signification biologique
<b>TCHLmax</b>	temps du pic de chlorose	période d'incubation
<b>LatSPO5</b>	temps pour que SPO = 5% de SPOmax	période de latence
<b>SPOmax</b>	surface sporulante finale (%)	sévérité d'attaque
<b>LatNEC50</b>	temps pour que NEC = 50% de NECmax	vitesse de développement
<b>rNEC</b>	vitesse de développement de NEC	
<b>PYCdens</b>	densité de pycnides	capacité de sporulation
<b>nbSPOapx<sup>1</sup></b>	nombre de spores / pycnide	

- Différentes corrélations étudiées
- Modèle de sporulation d'une lésion d'une cohorte de pycnides (évolution du nombre et de l'âge des pycnides présentes) en cours d'élaboration.

# Mise au point de protocoles de phénotypage au stade adulte

# Résistance au champ

- ❑ Site expérimental :Plélo (22)
- ❑ Matériel végétal: 212 variétés commerciales
- ❑ Design:
  - Inoculation contrôlée avec la souche STB n°98046:
    - 3 inoculations successives avec un intervalle de 5 jours
    - 1ere inoculation à Z39 des variétés les plus precoces
  - 4 sous-blocs de précocité et 4 variétés contrôle (APACHE, CAPHORN, PREMIO, TOISONDOR) répétées 5 fois / bloc
  - 2 répétitions
  - 1 parcelle : 9 m<sup>2</sup>

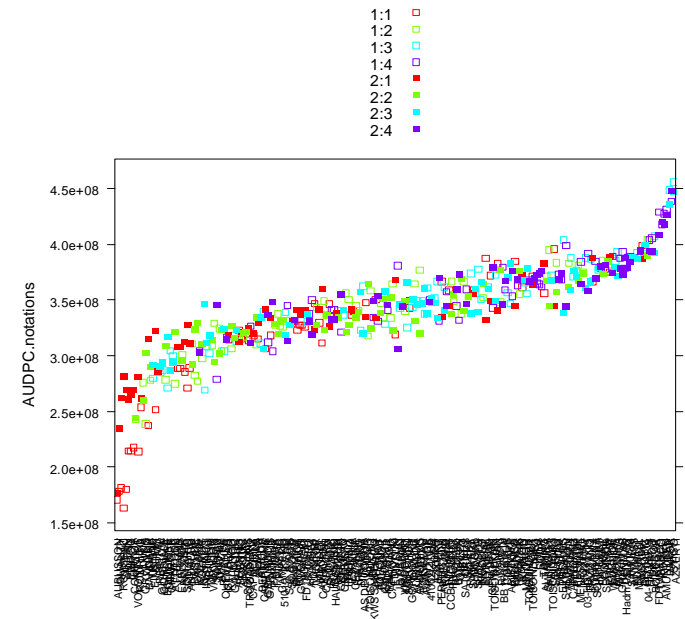
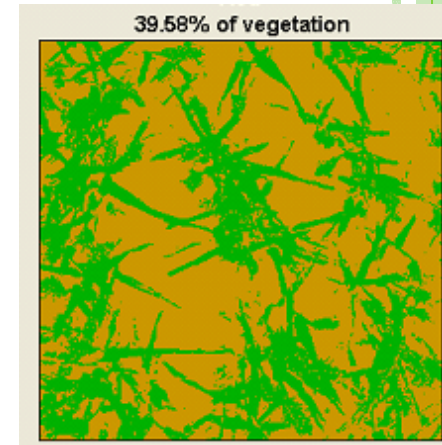


# Multi phénotypage

## □ Différentes mesures

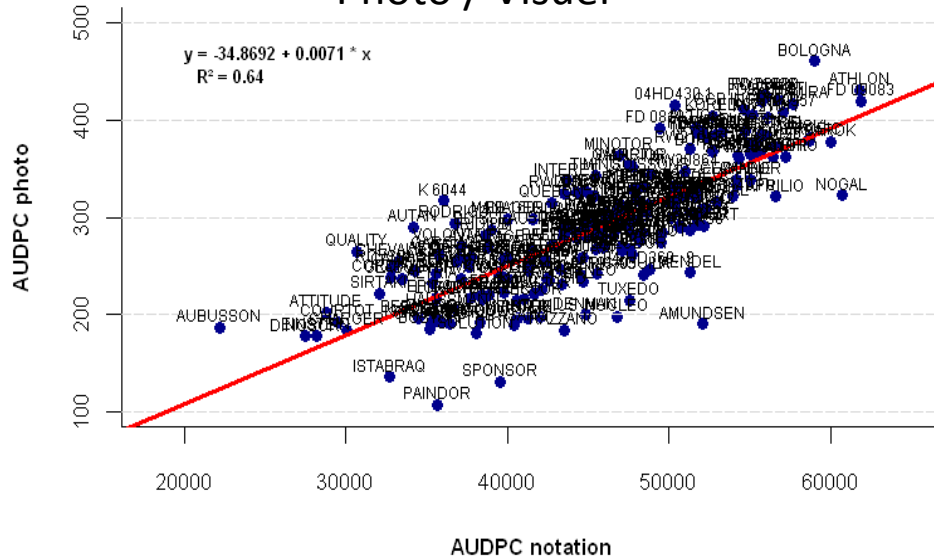
- Notation visuelle classique
- Prise de photos
- Scans de feuilles
- PCR quantitative

## □ Analyse de données

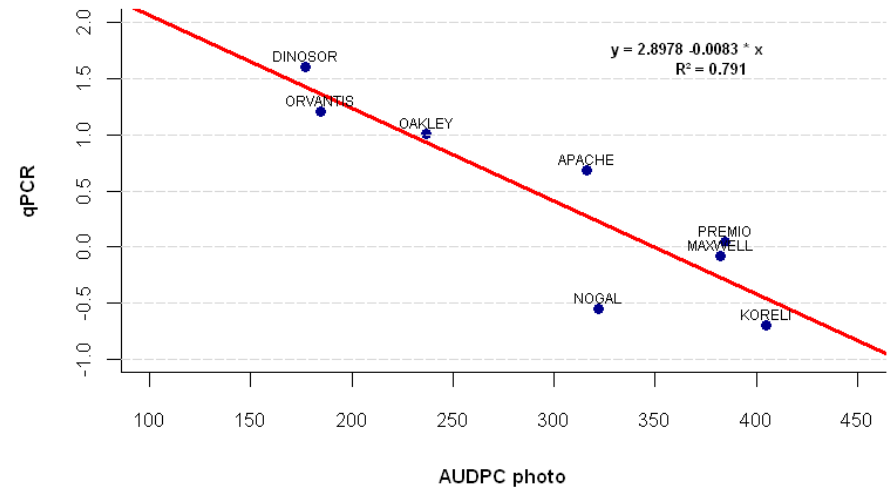


# Corrélations entre mesures

## Photo / Visuel



## QPCR / Photo



# Classification Variétale

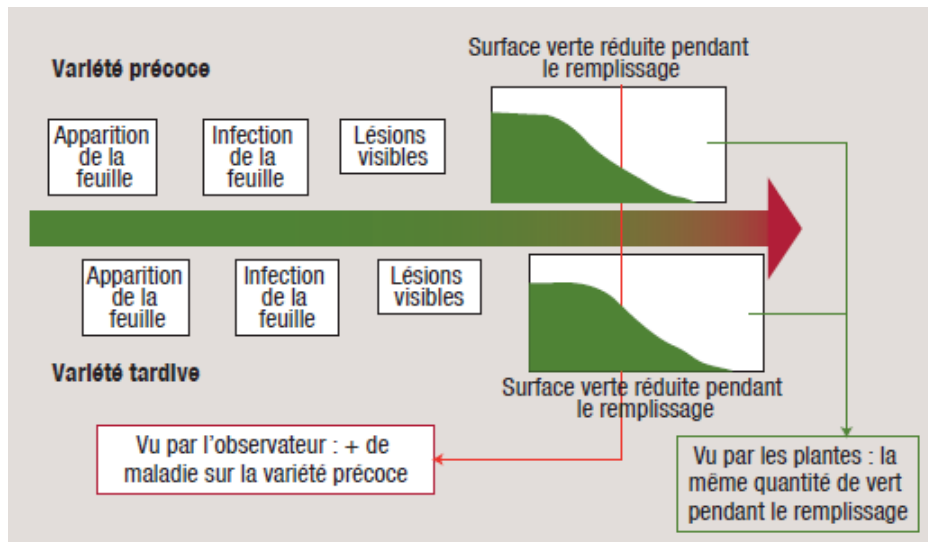
❑ Classement comparés entre les 3 méthodes d'évaluation de la maladie

Class. Notation	Class. Photo	Class. Scan
NOGAL	KORELI	MAXWELL
MAXWELL	PREMIO	KORELI
KORELI	MAXWELL	NOGAL
PREMIO	NOGAL	PREMIO
APACHE	APACHE	APACHE
OAKLEY	OAKLEY	OAKLEY
ORVANTIS	ORVANTIS	ORVANTIS
DINOSOR	DINOSOR	DINOSOR

➤ Des méthodes complémentaires et intéressants qui peuvent mettre en évidence des mécanismes de résistance différents

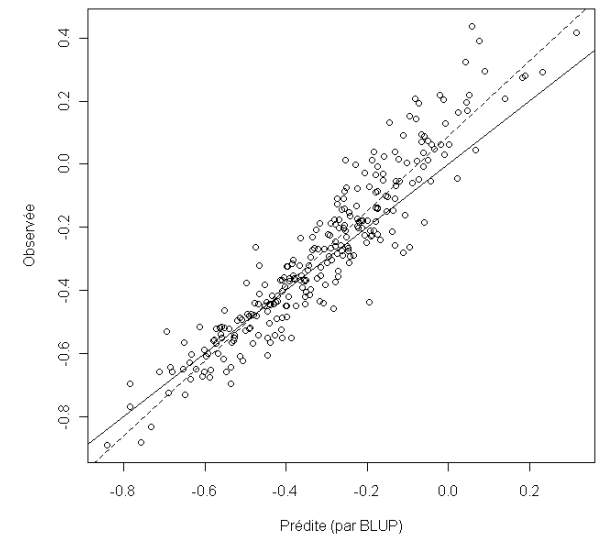
# Corrélation Précocité

## Etude des corrélations entre note de septoriose et date d'épiaison



Gouache & Robert 2009, 2010

Coefficient de corrélation date d'épiaison - observation de septoriose



- Utilisation de la date d'épiaison comme covariable permet de mieux évaluer le potentiel de résistance des variétés
- Conditions : observations faites à partir de 500° C après apparition de F2

# Conclusions

- Progrès collectif → dynamisme positif pour les semenciers et les instituts de recherche
- Quelques gènes *Stb* intéressants
- Besoin de mieux caractériser la résistance des variétés cultivées :
  - Marqueurs moléculaires → Etudes de génétique d'association
  - Phénotypage au champ et en serre
- Nécessité d'étudier en parallèle les populations de *M. graminicola*
  - Pathotypage couteux
  - Besoin de développer des marqueurs moléculaires pour décrire la génétique du champignon
  - Conséquente collection d'isolats disponible
- Outils pour les études d'épidémiologie quantitative: Clé pour comprendre la durabilité des résistances

# Les Contributeurs

**ARVALIS-Institut du végétal** : David GOUACHE, Delphine HOURCADE

**INRA BIOGER** : Marc-Henri LEBRUN, Thierry MARCEL, Colette AUDEON, Aurélie DUCASSE,  
Henriette GOYEAU, Lilian GOUT, Frédéric SUFFERT

**BIOPLANTE – FLORIMOND-DESPREZ** : Olivier ROBERT

**RAGT** : Christophe MICHELET

**GEVES** : Valérie CADOT

**PRI** : SMT Ghaffary, Gert GH KEMA