
Synthèse des programmes de recherche 2012



Jeudi 23 Mars 2017

Fonds de Soutien à l'Obtention Végétale



Dans l'accord interprofessionnel relatif au renforcement de l'obtention végétale en blé tendre mis en place en 2001, le Fonds de Soutien à l'Obtention Végétale (FSOV) a été défini comme un fonds destiné à financer des programmes de recherche collectifs sur le blé tendre, dont la finalité est la sélection de variétés adaptées à une agriculture durable plus respectueuse de l'environnement.

Et aujourd'hui encore, cet objectif demeure au cœur des préoccupations de la filière agricole, comme l'illustre, par exemple, le développement de l'AgroEcologie. C'est pourquoi, le FSOV soutient les projets d'amélioration variétale de blé tendre, permettant la création de variétés performantes, économes en intrants, adaptées à leur environnement et conduisant à une production de haute qualité technologique.

Je souhaite également rappeler que depuis le 1^{er} Juillet 2014, et l'entrée en application de l'extension de l'accord CVO Recherche à l'ensemble des céréales à paille, les missions du FSOV s'ouvrent également à ces nouvelles espèces, laissant entrevoir un appel à projets 2016 riche en nouveautés et porteur de promesses pour l'ensemble de la filière.

D'ici là, je vous invite d'ores-et-déjà à retrouver, en cette 4^{ème} Rencontre du FSOV, les résultats des programmes retenus lors de l'appel à propositions 2010 mais aussi à découvrir les 11 nouveaux programmes issus de l'appel à projets 2014 !



François JACQUES
Président du Comité d'engagement du FSOV



Section Céréales et Protéagineux
44 rue du Louvre - 75001 Paris
Tél. : 01 42 33 79 09 - E-mail : fsov@gnis.fr
www.fsov.org

SOMMAIRE



VALORISATION DES INTRANTS ET DES RESSOURCES NATURELLES

- FSOV 2012 N : Caractérisation et sélection de variétés de blé tendre plus compétitives vis-à-vis des adventices page 2
- FSOV 2012 K : Identification des traits de tolérance à la sécheresse et élaboration des outils d'aide à leur évaluation page 15



ADAPTATION AU MILIEU

- FSOV 2012 E : Développement de méthodes d'estimations racinaires non destructrices au champ : application au blé page 24



PROJETS TRANSVERSAUX

- FSOV 2012 G : Genes to reduce plant height without increasing diseases page 35



AMÉLIORATION DE LA RÉSISTANCE AUX MALADIES & RAVAGEURS

- FSOV 2012 H : *PYRAMIDE* : Développement d'une nouvelle stratégie de sélection pour l'obtention de lignées élites cumulant des résistances aux principales maladies fongiques page 43
- FSOV 2012 I : Criblage de gènes/QTLs de résistance à la septoriose et à la fusariose du blé tendre page 48
- FSOV 2012 F : Cartographie et développement de marqueurs liés au gène de résistance à la septoriose *Stb16q* en vue de son clonage page 53
- FSOV 2012 Q : Résistance durable à la rouille brune du blé : production d'un panel de QTL cartographiés et diversifiés page 59
- FSOV 2012 O : Stabilité de la résistance à la rouille jaune : Complémentarité entre recherche, sélection et développement page 66
- FSOV 2012 P : Valorisation de nouveaux gènes de résistance et de qualité issus d'*Aegilops tauschii* page 79

Caractérisation et sélection de variétés de blé tendre plus compétitives vis-à-vis des adventices

Laurence FONTAINE^{1*}, Antonin LE CAMPION², Marie-Hélène BERNICOT³, Ludovic BONIN⁴, Philippe du CHEYRON⁴, Guillaume DEHAY⁵, Laurent FALCHETTO³, Jean-Christophe GAPIN⁵, Volker LEIN⁶, Aurélie MAILLARD⁷, Delphine MOREAU⁸, Jean-Yves MORLAIS², Vincent MOULIN⁹, Loïc PRIEUR¹⁰, Thierry QUIRIN¹¹, Bernard ROLLAND², Rodolphe VIDAL¹

1 - Institut Technique de l'Agriculture Biologique (ITAB), 149 rue de Bercy - 75595 PARIS CEDEX 12
 2 - INRA UMR IGEPP, BP 35327 - Domaine de la Motte, 35650 LE RHEU
 3 - INRA UE Domaine d'Epoisses, 21110 BRETENIERES
 4 - Arvalis - Institut du végétal, 3 rue Joseph et Marie Hackin - 75116 PARIS
 5 - Lemaire-Deffontaines SA, 180 rue du Rossignol - 59310 AUCHY-LES-ORCHIES
 6 - Saaten Union Recherche SAS, 163 Avenue de Flandres - 60190 ESTREES - ST DENIS
 7 - GEVES, Rue Georges Morel - 49071 BEAUCOUZE
 8 - UMR 1347 Agroécologie, AgroSup Dijon, INRA, Univ. Bourgogne Franche-Comté, F-21000 DIJON
 9 - FDGEDA du Cher, 2701 Route d'Orléans - 18230 ST DOULCHARD
 10 - CREAB Midi-Pyrénées, LEGTA Auch Beaulieu - 32020 AUCH Cedex 09
 11 - Agrobio Poitou-Charentes / CA 86, Centre St Joseph - 79500 MELLE

* **Coordinateur** : Laurence FONTAINE, laurence.fontaine@itab.asso.fr

1. Introduction

Le contrôle de la flore adventice est l'une des problématiques agronomiques majeures des systèmes céréaliers en agriculture biologique (AB), en parallèle de la gestion de la fertilité des sols. Les stratégies de maîtrise des adventices reposent sur la prévention et, surtout, la combinaison de leviers multiples : des rotations diversifiées (avec alternance de cultures de familles différentes), le travail du sol (faux-semis, déchaumages, labour...), la compétition vis-à-vis de la flore adventice (couverture du sol par les cultures ou des plantes de service), la limitation de l'importation de graines d'adventices (propreté des semences, entretiens des abords, écimage des adventices...) et, en complément, le désherbage mécanique (hersage, binage...). Dans le cas du blé tendre, l'utilisation de variétés plus concurrentielles est l'un des leviers mobilisables dans la gestion alternative des adventices. Les enjeux liés à la mobilisation de variétés concurrentielles sont (1) d'améliorer la productivité de l'AB (meilleur rendement en lien avec une meilleure utilisation des ressources), (2) d'améliorer la durabilité des systèmes de culture en AB (contrôler les adventices limite l'alimentation du stock grainier du sol), mais aussi (3), au-delà de l'AB, de participer à la limitation d'utilisation d'herbicides en introduisant ce levier en production intégrée.

Pour optimiser ce pouvoir compétitif, il est nécessaire de connaître les caractéristiques éco-physiologiques du blé et des adventices. En effet, selon les variétés, le blé présente des morphologies très diverses, avec une amplitude large en terme de hauteur, d'orientation du feuillage, de largeur et de longueur de feuilles. Ces caractéristiques phénotypiques, complétées par des phénologies variées, laissent supposer des interactions diverses avec le milieu selon les variétés, un impact différencié sur la flore adventice, mais aussi une réponse différenciée à la présence de la flore adventice.

Un premier programme de recherche financé par le FSOV, conduit de 2007 à 2009, avait permis d'observer la capacité de certaines variétés à réduire la biomasse adventice (Bernicot, 2011). Le nombre réduit d'essais (peu de regroupements possibles) et les limites méthodologiques rencontrées demandaient des résultats complémentaires. Un second programme de recherche a été monté et présenté à l'appel à projet 2012 du FSOV, permettant la réalisation de nouveaux essais sur trois campagnes (2013-2015), avec des méthodologies mieux rôdées, en agriculture conventionnelle et en AB. Les objectifs en était (1) de valider et documenter l'effet du choix

variétal en blé tendre dans la compétition avec les adventices, (2) d'identifier et quantifier les caractères phénotypiques explicatifs des différences de compétition vis-à-vis des adventices entre variétés de blé tendre, (3) d'établir une méthode d'appréciation du pouvoir concurrentiel à destination des évaluateurs de variétés, en sélection, pour l'inscription, et pour le conseil agricole.

Cet article présente les résultats acquis lors de ce second programme et les enseignements qui en sont tirés.

2. Matériel et méthode

► 2.1 - Choix des variétés testées

Pour les essais conduits en station en agriculture conventionnelle (AC), une liste de 15 variétés (Tableau 1) a été élaborée afin de couvrir une gamme la plus large possible de hauteurs, couverture du sol et précocité d'épiaison. Les variétés identifiées comme témoins sont Caphorn (faible aptitude à couvrir le sol), Pegassos (forte aptitude à couvrir le sol) et Renan (intermédiaire, avec une capacité à couvrir le sol plutôt en fin de cycle ; Renan est de plus une variété répandue en AB, qui peut servir de référence). 9 variétés parmi ces 15 ont été retenues pour les essais conduits en AB.

		Hauteur			
		courte Note < 3,5	moyenne courte 3,5	moyenne haute 4 et 4,5	haute > 4,5
port de feuille	dressé	Caphorn ^{ab} (6,5) Glasgow (5,5)		Numeric ^{ab} (7)	Energo ^{ab} (6,5) Midas (6)
	intermédiaire		Oregrain (7) Apache (7)	Hendrix ^{ab} (6)	
	étalé	Acoustic ^{ab} (7)	Athlon ^{ab} (7)	Renan ^{ab} (6)	Pegassos (7) Pireneo ^{ab} (5,5)

Tableau 1 - Classification des variétés choisies pour évaluer le pouvoir concurrentiel vis-à-vis des adventices. (x) précocité à épiaison. ab : variétés présentes dans les essais en AB.

► 2.2 - Dispositifs expérimentaux

Deux types de dispositifs expérimentaux, complémentaires, visaient à mesurer le pouvoir concurrentiel des variétés de blé et à en estimer les facteurs explicatifs les plus prédictifs :

- 2 dispositifs en station en AC, avec comparaison des variétés en conduite avec et sans adventices, pour mesurer les pertes de rendement liées à la concurrence, en plus des mesures de suppression des adventices. Une attention particulière a été apportée au suivi de l'évolution de l'aspect morphologique du couvert au fil du développement du blé, en lien avec l'aspect dynamique de l'architecture du couvert.
- 6 sites expérimentaux afin d'évaluer le pouvoir concurrentiel des variétés - et les facteurs explicatifs- dans des conditions d'AB et différents contextes d'adventices de façon à mieux appréhender les sources d'interaction.

Essais en station en AC

Deux sites étaient concernés, Epoisses (Breteignières, 21, INRA) sur les 3 campagnes du projet (récoltes 2013, 2014, 2015) et Boigneville (91, Arvalis) sur 2 campagnes (2014, 2015), soit 5 essais au total.

Un semis de ray grass italien (RGI) a permis de simuler la présence d'adventices. Des modalités désherbées étaient intégrées (essais à 2 facteurs, en split plot, sauf Epoisses 2014 en criss-cross). Chaque essai comportait 6 blocs par modalités, 3 étant dédiés aux prélèvements de biomasse, 3 aux mesures de rendement (Figure 1).

Les notations et mesures sur blé concernaient : la levée (date et densité), la précocité à épiaison, le nombre d'épis par m², le rendement, la hauteur (3 dates de mesures, avec calcul de l'indice de l'aire sous la courbe de l'évolution de la hauteur), le port des feuilles, la couverture du sol. Celle-ci a été évaluée selon diverses méthodes : notation visuelle (fermeture de l'inter-rang notée de 1 à 9), prise de photos et analyse du pourcentage de vert (modalités désherbées). Des mesures d'indice foliaire (« LAI », Leaf Area Index, mesuré par un appareil nommé SunScan), ou de l'indice de végétation (« NDVI », mesuré par un appareil appelé Greenseeker), indicateur de la vigueur et de la quantité de végétation, ont aussi été réalisées à Epoisses.

Les mesures sur RGI étaient : la levée (densité sur 1 ou 2 blocs), la biomasse aérienne au développement maximal (avant sénescence), le nombre d'épis/m².

Essais en AB en infestation naturelle

Six sites, en conditions pédoclimatiques très différentes, étaient concernés (Figure 2). Les parcelles ont été choisies pour leur niveau d'infestation initiale élevé (à l'exception de Rennes) et n'ont pas eu d'intervention de désherbage mécanique afin de favoriser le développement des adventices. En dehors de l'absence de désherbage, elles étaient conduites selon les pratiques locales courantes. Six blocs étaient prévus afin de sélectionner les blocs les moins hétérogènes, en termes de développement des adventices, pour la réalisation des mesures.



Figure 1 - Photo aérienne de l'essai de Boigneville en 2015. La modalité « désherbée » est à gauche et la modalité « avec ray-grass » sur la droite. Les marques des prélèvements de biomasse dans la modalité « désherbée » sont encore visibles ». Les trois blocs déjà prélevés dans la modalité « avec ray-grass » viennent d'être broyés.

Les mesures sur blé étaient : la levée (date et densité), la précocité à épiaison, le nombre d'épis/m² ; la hauteur en début de montaison (vers le stade 2 nœuds (2N) de la variété Caphorn) et la hauteur finale ; le port de feuille au tallage, au stade 2N et à épiaison de Caphorn ; la couverture du sol (notation visuelle) aux stades 2N et épiaison de Caphorn. Des mesures de biomasse aériennes ont été effectuées sur blé et adventices (à la floraison des principales adventices, avant entrée en sénescence).

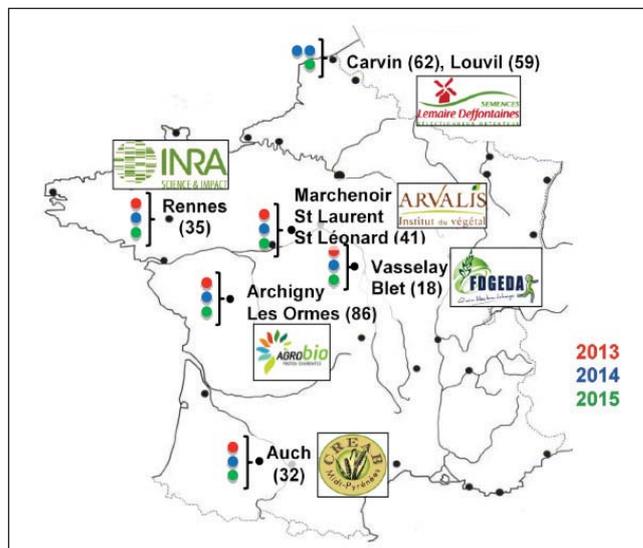


Figure 2 - Carte des essais en AB (années, lieux et partenaires)

► 2.3 - Limites et difficultés rencontrées dans les dispositifs expérimentaux

Difficultés à simuler une adventice (essais en station)

Si en 2013 à Epoisses les levées de RGI ont été correctes et relativement homogènes (40 à 62 plantes/m², soit 33 à 51% de levée), en 2014 d'importantes attaques d'oscinies et de limaces ont fortement diminué les peuplements et généré une forte hétérogénéité de l'enherbement (de 0 à 23 plantes/m²), qui a amené à écarter l'essai de l'analyse en regroupement. En 2015 par contre les levées ont été très bonnes (conditions de nutrition azotée très favorables) et le fort développement du RGI a cette fois trop concurrencé le blé (rendements très faibles), amenant là aussi à écarter l'essai du regroupement. Sur Boigneville, les levées 2014 ont été relativement homogènes (54 à 69 plantes/m², soit 45 à 58% de levée). En 2015, l'hétérogénéité constatée (18 à 56 plantes/m²) a pu être prise en compte dans les analyses statistiques via l'effet bloc. Ces observations traduisent la difficulté à simuler par semis une adventice de type RG face à la variabilité du climat et de l'azote disponible. Le nombre réduit d'essais utilisables (3 sur 5) fragilise leur regroupement et analyse.

Difficultés liées aux conditions climatiques des deux premières campagnes (essais en AB)

Les conditions climatiques difficiles des 2 premières campagnes (en 2013 et 2014 précipitations abondantes en hiver et parfois au printemps ; printemps froid en 2014) ont pu limiter dans les essais en AB le développement du blé (par lixiviation et/ou manque de minéralisation de l'azote) et donc son pouvoir concurrentiel sur les adventices. Ceci est caractérisé par les mesures de hauteur de la variété Renan (Tableau 2), qui a rarement atteint les 90 cm mesurés en essai en station où l'azote était peu limitant. Ces conditions ont ainsi été peu propices à l'expression de la capacité des variétés de blé à se développer et donc à concurrencer efficacement les adventices.

	Commune et partenaire		Date semis	Précédent	Fertilisation	Hauteur finale Renan (cm)	Biomasse adventices				Ratic Msadv/l bth
							Adventices dominantes et remarques	Biomasse adventices en kg/ha	CV	effet variété et qual. levée	
2013	Archigny (86)	Agrobio	15-nov	Blé		71	faible enherbement	460	26%	0,026*	0,16
	Auch (32)	Creab	02-nov	Féverole d'hiver	100uN	92	moutarde	1015	55%	0,038*	0,17
	Marchenoir (41)	Arvalis	07-nov	Féverole		70	vulpin	1730	21%	0,17	0,8
	Rennes (35)	Inra	08-nov	Prairie (luzerne)		99	renoncule	2399	22%	0,047*	0,28
	Vasselay (18)	Fdgd	23-oct	Triticale/pois		47	blé très clairsemé	1664	23%	0,87	2,05
2014	Auch (32)	Creab	29-nov	Pois printemps		60	enherbement correct	793	44%	0,0028 **	0,22
	Blet (18)	Fdgeda	27-nov	Féverole		65	faible enherbement	429	65%	0,23	0,13
	Carvin (62)	Lemaire	19-nov	Pomme de terre		89	agrostis et matricaire	705	23%	0,04 *	0,1
	Les Ormes (86)	Agrobio	29-nov	Soja		67	vulpin et folle-avoine	1944	25%	0,099*	0,87
	Louvil (59)	Lemaire	3-dec	betterave rouge		87	enherb.faible, agrostis	423	30%	5e-4***	0,05
	Rennes (35)	Inra	30-oct	Maïs (anté prairie)		93	pas d'adventices				
	St-Laurent (41)		30-oct	Haricot		85	, coquelicot	1612	21%	0,75	0,33
2015	Auch (32)	Creab	06-nov	Féverole hiver	80uN	72	moutarde et anthémis	1046	31%	0,21	0,27
	Blet (18)	Fdgeda	28-oct	Féverole hiver	fum.15t/ha	84	vulpin	1212	24%	0,15	0,32
	Les Ormes (86)	Agrobio	05-nov	Blé	20 uN	86	folle-avoine et vulpin	2253	30%	0,16	0,3
	Louvil (59)	Lemaire	30-oct	Pomme de terre	40uN vinasse	95	matricaire	2837	16%	0,1	0,24
	Rennes (35)	Inra	29-oct	Maïs (anté prairie)		100		673	35%	0,87	0,09
	St-Léonard (41)	Arvalis	29-oct	Féverole hiver		84	vulpin	1505	16%	0,17	0,26

Tableau 2 - Caractéristiques des essais menés en AB. CV = coefficient de variance de la biomasse des adventices entre variétés. MSadv = biomasse aérienne adventice, MSbth = biomasse aérienne blé.

Influence de la qualité des semences

D'importantes pertes à la levée ont été observées sur certaines variétés dans les essais en AB les 2 premières campagnes. En 2013, Acoustic, Athlon et Caphorn ont présenté des levées très significativement inférieures aux autres variétés (140 plantes/m² pour Acoustic versus 241 plante/m² pour Energo la mieux classée dans le regroupement des 6 essais). En 2014, si globalement les levées sont meilleures, l'effet de la variété sur la densité de levée reste hautement significatif ; ce sont Hendrix, Athlon et Caphorn qui présentent des pertes significatives (205 plantes/m² pour Hendrix versus 340 plantes/m² pour Atlass). En 2015, on retrouve un effet de la variété sur la densité de levée, mais nettement plus faible (l'écart entre la moins bien levée -253 plantes/m²- et la mieux levée -296 plantes/m²- représente 15% de la moyenne des peuplements, alors qu'il était de l'ordre de 50% les années précédentes).

Le constat d'une corrélation négative significative entre qualité de levée du blé (nombre de plantes/m²) et biomasse des adventices sur deux essais chaque année (Auch et Rennes en 2013, Auch et Carvin en 2014) a amené à ne considérer que 6 variétés au lieu de 9 pour regrouper les résultats des essais, sur chacune de ces 2 années (retrait des 3 variétés respectives ayant mal levé). On regrette que la qualité inégale des semences fournies ait ainsi pu impacter le programme de recherche.

► 2.4 - Evaluation du pouvoir concurrentiel des variétés de blé

La capacité d'une plante (ici le blé) à concurrencer des plantes

voisines (ici les adventices) peut s'exprimer par deux composantes : (1) **le pouvoir suppressif**, c'est-à-dire la capacité à réduire le développement et la croissance d'un compétiteur et (2) **la tolérance**, c'est-à-dire l'aptitude à tolérer la présence de compétiteurs voisins en limitant les pertes de rendement (Goldberg 1990; Grace 1990; Jordan 1993). Une revue bibliographique nous indique que des différences variétales ont été mises en évidence depuis une vingtaine d'années pour diverses espèces de céréales, dont le blé tendre, pour limiter le développement d'adventices, simulées ou non (Christensen 1995; Christensen S. *et al.* 1994, Lemerle *et al.* 1996, Ogg and Seefeldt 1999, Mennan and Zandstra 2005, Worthington *et al.* 2015b, Cosser *et al.* 1997; Drews *et al.* 2009; Hoard *et al.* 2008; Korres and Froud-Williams 2002; Mason *et al.* 2007; Ruisi *et al.* 2015; Wicks *et al.* 1986). Des différences entre variétés de blé au niveau de la tolérance à la présence d'adventices ont également été identifiées à plusieurs reprises (Appleby *et al.* 1976; Challaiah *et al.* 1986; Vandeleur and Gill 2004; Zerner *et al.* 2008).

La majorité de ces études a été menée en AC, généralement intensive, comparant une modalité désherbée chimiquement à une modalité enherbée (Benaragama *et al.* 2014; Huel and Hucl 1996; Lemerle *et al.* 2001; Ruisi *et al.* 2015; Worthington *et al.* 2013). Peu d'études ont été menées en AB, notamment pour des raisons méthodologiques, car il est difficile d'intégrer une modalité « sans adventice » dans ce mode de conduite (sauf à conduire des désherbages manuels, fastidieux). La bibliographie nous apprend aussi que l'étude de la compétitivité des variétés vis-à-vis des adventices est fortement soumise à l'influence de facteurs environnementaux (Worthington and Reberg-Horton

2013; Worthington *et al.* 2015a). En effet il peut être difficile de déterminer les caractères qui contribuent à l'aptitude à la compétition parce qu'ils ne sont pas seulement affectés par la conduite (densité de semis, écartement des rangs, fertilisation) mais aussi par l'environnement (caractéristiques biologiques des adventices, niveau d'enherbement, conditions pédoclimatiques) et les interactions génotype × environnement × conduite (Asif *et al.* 2014), lesquelles sont plus importantes en AB.

Ces enseignements ont conforté l'approche développée dans le programme de recherche présenté, à savoir mener à la fois des essais en station et en AB en infestation naturelle, malgré le nombre de facteurs potentiels influençant la compétition et leurs interactions.

Evaluation de la compétition des variétés dans les essais en station en AC

La capacité des variétés à tolérer la présence du RGI a été caractérisée par la perte de rendement en présence d'adventices, exprimée en pourcentage du rendement sans adventice.

Le pouvoir suppressif a été estimé par l'analyse des mesures de biomasse et de nombre d'épis de RGI.

Des analyses de variance ont été effectuées sur ces trois variables descriptives du pouvoir concurrentiel. Des comparaisons multiples de moyennes (méthode Newman et Keuls (N&K) au seuil de significativité de 10%, retenu en raison de l'hétérogénéité de la répartition du RGI sur les parcelles) ont été réalisées pour classer les différences de pouvoir concurrentiel.

Pour caractériser les variables explicatives de ce pouvoir concurrentiel, des analyses en composantes principales ont été effectuées, par essai et en regroupements (données préalablement centrées et réduites). Des régressions linéaires multiples ont ensuite été entreprises, par essai, pour hiérarchiser les prédicteurs qui participent le plus à l'explication de la variable considérée.

Evaluation de la compétitivité des variétés dans les essais en AB

En l'absence de modalités désherbées, seul le pouvoir suppressif a été estimé dans les essais en AB, via les mesures de biomasse aérienne du blé et des adventices.

Les méthodes statistiques sollicitées pour l'analyse des essais en AB sont identiques à celles utilisées pour les essais en station. Un seuil de significativité de 10% a été retenu en raison de la variabilité liée à la répartition non homogène des adventices.

3. Principaux résultats sur la compétitivité des variétés

► 3.1 - Caractérisation de la compétitivité

Effet suppressif dans les essais en AC

Les analyses de variance réalisées sur les biomasses de RGI, prélevées dans les 3 essais retenus, nous démontrent un effet de la variété de blé à Boigneville 2015 (3.4 t MS (matière sèche)/ha en moyenne, $p = 0.0099^{**}$) (Figure 2) et à Boigneville 2014 (6 t MS/ha, $p = 0.052^{*}$). Cet essai a néanmoins été écarté, au final, car l'échelonnement des prélèvements de RGI (entre le 19 et le 27 mai pour la plupart et le 2 juin pour 2 variétés) a manifestement entraîné un biais dans les mesures de biomasses. A Epoisses 2013, l'effet variétal n'est pas significatif (5.6 t MS/ha, $p = 0.41$).

Le regroupement sur les 2 essais validés (Boigneville 2015 et Epoisses 2013) nous indique un effet significatif de la variété sur la biomasse de RGI. Le test de N&K permet de distinguer la variété Caphorn, la moins suppressive, des variétés Midas, Athlon et Energo, qui ont mieux limité la croissance du RGI

(Tableau 3). A Boigneville 2015 (essai qui participe le plus à l'effet variété observé sur le regroupement), on observe 68% de plus de biomasse de RGI dans la variété Caphorn par rapport à la variété la plus suppressive (Oregrain dans ce cas précis).

$$MS.RG \sim \text{variété} + \text{essai} + \text{variété:essai} + \text{bloc\%in\%essai}$$

	p (10%)	% variance expliquée
variété	0.0099**	16%
essai	5,04e-14***	54%
variété:essai	0,34	7%
bloc%in%essai	0,066	3%
résiduelle		20%

Variété	MS RG (kg/ha)	N&K (seuil 10%)
Caphorn	5649	A
Hendrix	5297	A B
Acoustic	4983	A B
Glasgow	4824	A B
Pegassos	4318	A B
Numeric	4220	A B
Pireneo	4219	A B
Apache	4215	A B
Renan	4081	A B
Oregrain	4004	A B
Atlass	3992	A B
Hybery	3930	A B
Energo	3759	B
Athlon	3668	B
Midas	3511	B

Tableau 3 - Analyse de la variance de la biomasse de RGI selon les variétés. Regroupement sur deux essais (Epoisses 2013 et Boigneville 2015).

Des analyses ont aussi été menées sur le rapport biomasse adventice / biomasse blé, qui prend mieux en compte la répartition des ressources disponibles entre les adventices et le blé, et donc les effets de concurrence. Le regroupement des deux essais Epoisses 2013 et Boigneville 2015 est plus discriminant : l'effet variétal est le plus explicatif (49%). 4 variétés sont dépassées par le RGI (ratio > 1), Caphorn, la plus sensible, puis Hendrix, Glasgow et Acoustic. Midas, significativement différente des autres, présente le plus faible ratio (0.6) : elle est parvenue à produire plus de biomasse au détriment du RGI. L'effet de la variété sur les ratios biomasse de RGI / biomasse de blé est démontré dans les essais analysés.

Le pouvoir suppressif des variétés de blé a aussi été estimé via les comptages des nombres d'épis de RGI, réalisés en complément des prélèvements de biomasse, cet indicateur ayant été identifié comme critère de sélection pour limiter la croissance des adventices (Worthington *et al.*, 2013). L'effet de la variété a été mis en évidence dans les deux essais considérés. Dans l'essai de Boigneville 2015, on observe dans la variété Caphorn des densités d'épis de RGI en moyenne deux fois plus élevées que celles rencontrées pour les variétés Pegassos, Energo, Midas, Oregrain et Atlass.

Effet suppressif dans les essais en AB

Les difficultés rencontrées ont malheureusement limité la valorisation des essais menés : sur les 18 essais semés, 2 ont dû être retirés : Blet 2013 (pour cause de forte croissance des adventices et non développement du blé, la parcelle ayant été inondée une partie de la campagne) et Rennes 2014 (en l'absence totale d'adventices).

L'obligation de retirer certaines variétés des analyses 2013 puis 2014 pour cause de mauvaises levées n'a pas permis de regroupement pluriannuel ; de plus, en analyse annuelle, le retrait de ces variétés (qui comptaient parmi elles les moins suppressives, Caphorn par exemple) a entraîné une perte de l'effet variété sur la biomasse adventices, devenu non significatif (l'effet variété significatif avant retrait des variétés ayant mal levé était finalement un effet de la combinaison variété-densité de levée). Enfin, le manque de conditions favorables à la croissance (manque de minéralisation de l'azote et/ou lixiviation) a souvent limité le développement du blé et donc l'expression du pouvoir concurrentiel.

Au final, l'effet de la variété sur la biomasse adventice est observé individuellement dans seulement 3 essais sur 16 (Carvin 2014, Louvil 2014, Auch 2015) (Figure 3). Sur les regroupements annuels effectués après retrait des variétés ayant le moins bien levé, l'effet de la variété sur la biomasse des adventices est significatif en 2013 et 2014, mais pas en 2015. L'hétérogénéité de l'infestation en adventices et, plus globalement, les interactions géotypes x environnement, limitent l'interprétation par une analyse en regroupement classique.

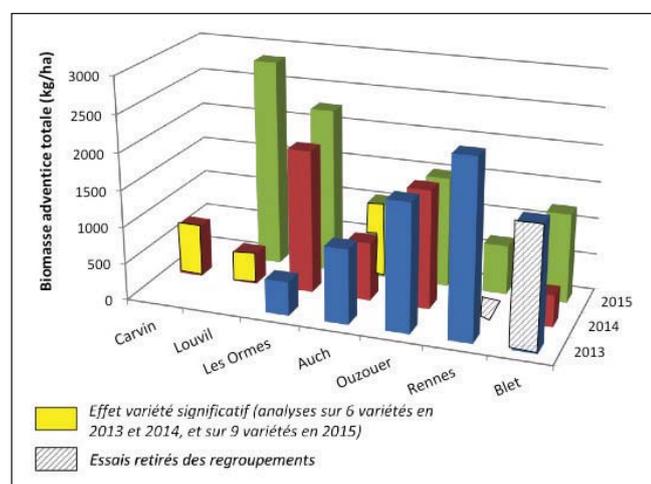


Figure 3 - Résultats des prélèvements de biomasse d'adventices sur l'ensemble des essais en AB (2013 à 2015).

L'analyse des ratios biomasse adventices / biomasse blé va globalement dans le même sens que les résultats obtenus pour les biomasses adventices en valeur absolue, mais avec un effet variétal un peu plus marqué. En 2013 et 2014, Energo et Atlass produisent le plus de biomasse et limitent le plus le développement des adventices. En 2013, Renan et Pireneo sont les moins suppressives des 6 variétés analysées. En 2015 (9 variétés analysées), le test de N&K ne permet de discriminer que Athlon (plus suppressive) et Caphorn (moins suppressive). De manière générale, la variété Renan se classe mal dans les essais du programme, en termes de pouvoir concurrentiel vis-à-vis des adventices : bien que couvrante en fin de cycle, elle est tardive à montaison, ce qui limite sa capacité à couvrir le sol en début de cycle ; son développement en fin de cycle peut de plus être fortement limité par un manque d'azote, selon les conditions de l'année.

Hors programme, des comptages de nombre d'épis de RG ont été menés dans un essai post-inscription en AB du réseau de criblage de l'ITAB (Agri-Obtentions à Sermaise, 91, en 2015), où 5 variétés étaient communes à la liste du projet FSOV et où, visuellement, l'enherbement en RGI semblait homogène. L'analyse de variance montre d'importantes différences entre variétés (N&K seuil à 10%) (Tableau 4). Caphorn (groupe A, 149 épis/m²) (Figure 4) compte deux fois plus d'épis de RG que Renan et Energo (groupe D, 60 à 70 épis/m²). Hendrix (groupe B) et Atlass (groupe C) sont intermédiaires. La variété explique 44% de la variance du

nombre d'épis/m² de RGI ; l'effet variété-bloc, important (34% de la variance) et significatif, traduit l'hétérogénéité de l'enherbement en infestation naturelle.

épis RG ~ variété + bloc + placette + variété : bloc

	p (10%)	% variance expliquée
variété	5,2E-14 ***	44%
bloc	1,5E-6 ***	11%
variété:bloc	2.1E-9 ***	34%
résiduelle		10%

Sermaise 2015		
Variété	épis RG/m ²	N&K (seuil 10%)
Caphorn	149	A
Hendrix	120	B
Atlass	95	C
Energo	70	D
Renan	60	D

Tableau 4 - Analyse de la variance du nombre d'épis/m² de RGI dans l'essai de Sermaise 2015 du réseau de criblage Itab (5 variétés communes au programme FSOV « adventices »).



Figure 4 - Photo de l'essai de Sermaise 2015. Caphorn à gauche (ray grass visible) et Ehogold à droite.

Capacité des variétés à tolérer la présence d'adventices

L'effet variétal sur la perte de rendement en présence de RGI est significatif dans les 3 essais en station en AC analysés. Les pertes sont les plus importantes à Epoisses 2013, de l'ordre de 70%. Elles sont de 60% en moyenne à Boigneville 2015 et 52% à Boigneville 2014. Le regroupement sur les 3 essais indiquent que ce sont les variétés Energo et Pireneo qui tolèrent le mieux la présence de RGI, suivies par Athlon puis Midas et Hybéry (Tableau 5). Leurs pertes de rendement sont 10 à 15% plus faibles, en présence de forte infestation de RGI, que pour Numeric, Hendrix et Glasgow.

Relations entre pouvoir suppressif et tolérance à la présence d'adventices

La réalisation de courbes de régression entre indicateurs du développement du RGI (biomasse et densité d'épis) et les pertes de rendement en blé mettent en évidence un lien, même s'il n'est pas aussi marqué qu'attendu. La biomasse du RGI explique 24% (Epoisses 2013) et 32% (Boigneville 2015) des variations de pertes de rendement (Figure 5). La densité d'épis explique 43% des variations de pertes de rendement à Boigneville 2015 (avec une forte corrélation entre biomasse de RGI et densité d'épis sur cet essai, r²=0.65), mais aucune corrélation n'est mise en évidence à Epoisses 2013. Certaines variétés, comme Numeric et Energo, s'écartent des droites de régression à Boigneville 2015, laissant

supposer qu'Energio serait particulièrement tolérante à la présence de RGI et Numéric particulièrement sensible. La variabilité constatée entre sites confirme les références dans la littérature, où l'on observe à la fois des études qui montrent des corrélations entre tolérance et pouvoir suppressif (Balyan *et al.* 1991; Challaiah *et al.* 1986; Huel and Hucl 1996; Lemerle *et al.* 2006; Lemerle *et al.* 2001; Wicks *et al.* 1986) et d'autres qui ne mettent pas de relation en évidence (Coleman *et al.* 2001; Cousens and Mokhtari 1998).

$$\%rdt \sim \text{variété} + \text{essai} + \text{variété:essai} + \text{bloc} \times \text{essai}$$

	p (5%)	% variance expliquée
variété	5.5e-10***	18%
essai	< 2.2e-16 ***	51%
variété:essai	0.32	6%
essai:bloc	1.1e-06***	9%
résiduelle		17%

Variété	% perte rdt	N&K (seuil 10%)
Numeric	69,9	A
Hendrix	69,2	AB
Glasgow	69,2	AB
Acoustic	66,7	ABC
Caphorn	66,7	ABC
Renan	66,4	ABC
Oregrain	64,2	ABCD
Attlass	64,0	ABCD
Pegassos	62,2	ABCD
Apache	61,5	BCD
Hybery	60,5	CDE
Midas	59,3	CDE
Athlon	56,8	DE
Pireneo	54,5	E
Energio	53,9	E

Tableau 5 - Analyse de la variance du pourcentage de perte de rendement selon les variétés dans le regroupement des essais Epiisses 2013, Boigneville 2014, Boigneville 2015.

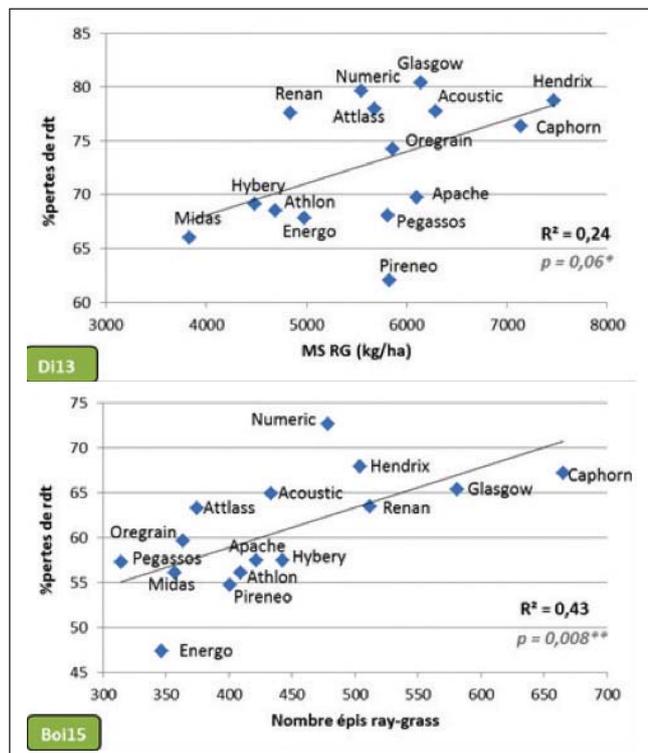


Figure 5 - Relations entre les caractéristiques variétales explicatives du pouvoir concurrentiel (Di13 = Epiisses 2013 et Boi15 = Boigneville 2015).

► 3.2 - Facteurs explicatifs du pouvoir concurrentiel

Etude de la hauteur (résultats marquants)

Les analyses de variance réalisées dans les essais en AC sur les notes de hauteur à 3 stades clés (2N -BBCH 32-, dernière feuille étalée (DFE) -BBCH 37-, et après stade floraison -BBCH 69-) nous montrent :

- que des groupes de hauteurs peuvent être distingués dès le stade 2N, en lien avec les précocités à montaison (10 cm séparent la variété la plus haute de la plus courte) ;
- qu'au stade DFE le caractère hauteur est très discriminant ;
- qu'après floraison (hauteur finale), les classements variétaux restent très stables entre essais et années.

Si les classements variétaux aux 3 stades restent sensiblement les mêmes, on note des différences de dynamiques pour certaines variétés. Ainsi Athlon, 3e variété la plus haute (sur 15) aux stades 2N et DFE a une hauteur finale dans la moyenne de l'ensemble. Oregrain présente le même type de comportement, dans une moindre mesure.

Dans les essais en AB, les mesures de hauteur finale permettent de bien discriminer les variétés, entre Energio la plus haute et Acoustic la plus basse. Entre ces deux extrêmes, l'amplitude des autres variétés, de Caphorn à Renan, fait moins de 10 cm. Peu de variétés dépassent 90 cm selon les essais, malgré leur potentiel, ce qui traduit le manque de développement du blé dans la plupart des conditions d'étude du programme.

Etude de la couverture du sol (résultats marquants)

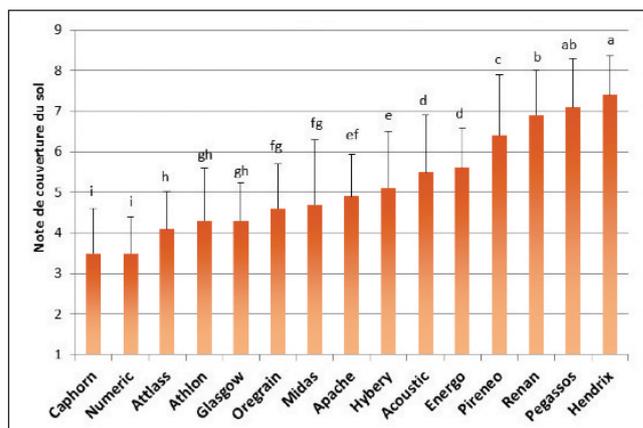


Figure 6 - Notes moyennes de couverture du sol des 15 variétés présentes dans les essais en station au stade épiaison de Caphorn. Les lettres indiquent des différences significatives au seuil de 10%.

Dans les essais en station en AC, le regroupement des 5 essais nous indique que les notes visuelles de couverture du sol au stade épiaison de Caphorn (variété repère de précocité moyenne) sont relativement stables entre essais. Le test de N&K (seuil à 10%) sur la couverture du sol discrimine bien les 15 variétés (le facteur variétés explique à 53% la variance des notes de couverture). Hendrix est en moyenne la variété la plus couvrante au stade épiaison, suivie par Pegassos, Renan et Pireneo (notées autour de 7, sur une échelle de 1 -sol nu entre les rangs- à 9 -rang fermé-) (Figure 6).

Dans les essais en AB, la note de couverture du sol au stade épiaison de Caphorn apparaît aussi comme discriminante sur les 9 variétés étudiées (Figure 7). Renan et Pireneo sont ici aussi parmi les plus couvrantes à ce stade, suivie par Hendrix. Caphorn et Numeric, aux ports de feuille très dressés, sont les moins couvrantes. Des différences de classements entre sites sont observées pour certaines des autres variétés, en lien avec l'expression de la capacité de tallage et le port des feuilles plus ou

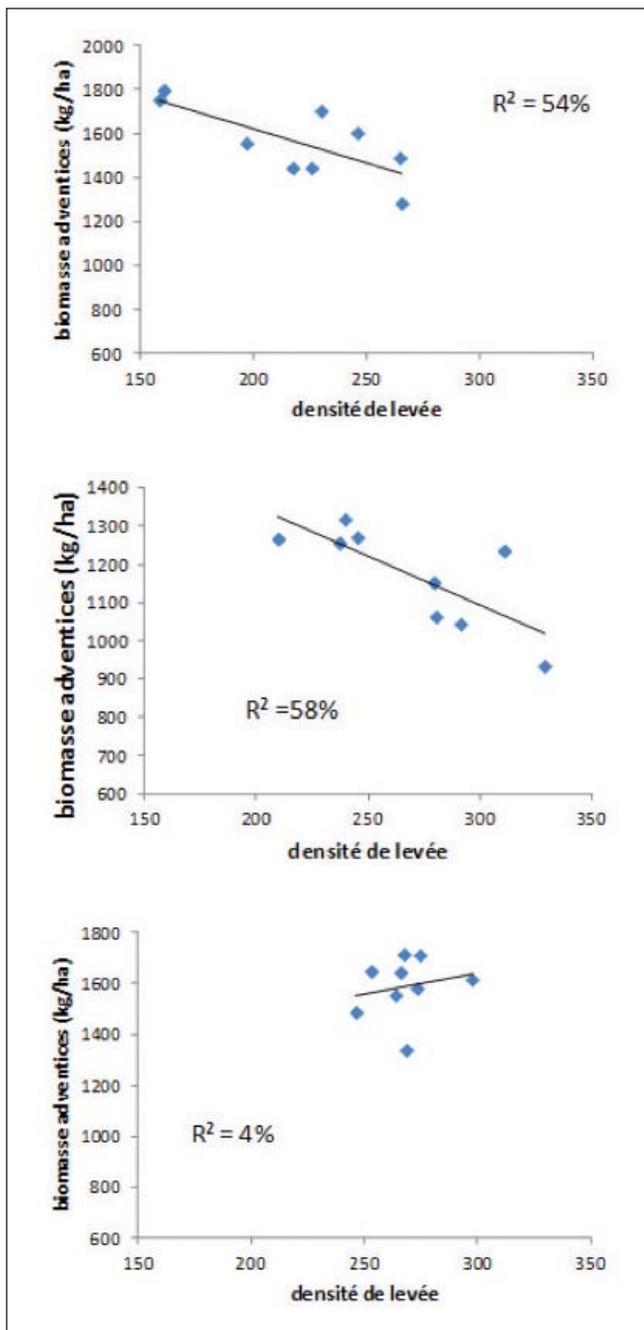


Figure 9 - Relations entre densité de levée des 9 variétés étudiées et biomasse des adventices dans les essais en AB pour, de haut en bas, les années 2013 (4 essais), 2014 (4 essais), 2015 (6 essais).

4. Apports méthodologiques

Le projet a permis de progresser en termes méthodologiques, sur divers aspects.

Recommandations pour la mise en œuvre de dispositifs expérimentaux

L'hétérogénéité de la présence d'adventices complexifie clairement l'analyse des observations qui sont réalisées. En infestation naturelle, prévoir 6 blocs semble un minimum, de façon à choisir les plus homogènes. En cas d'adventices simulées, il convient de maîtriser au mieux le semis et le développement de l'espèce choisie. La littérature nous cite les exemples d'utilisation de colza (Christensen 1995; Christensen S. *et al.* 1994), d'ivraie (espèce proche du ray-grass) (Lemerle *et al.* 1996), et de RGI (Worthington *et al.* 2015b).

Critères pour estimer le pouvoir suppressif ou la tolérance

Plusieurs enseignements peuvent être tirés des mesures et analyses réalisées.

- (1) Le nombre d'épis de RGI est un bon prédicteur de la biomasse de RGI. Le comptage du nombre d'épis dans quelques placettes, plutôt que des mesures répétées de biomasse, est ainsi un indicateur alternatif intéressant à utiliser pour une estimation de l'effet variétal pour limiter la présence d'adventices (*cf* exemple de l'essai Sermaise 2015).
- (2) Le ratio biomasse adventice / biomasse blé est plus discriminant dans les essais étudiés que la valeur absolue de la biomasse adventice (la part de variance expliquée par la variété est plus importante). En effet, lorsque le développement de RGI dans une variété est fort, celle-ci peine à produire de la biomasse. Cet indicateur traduit à la fois la capacité d'une variété à produire de la biomasse en présence d'une adventice (tolérance) et sa capacité à limiter le développement de cette adventice (pouvoir suppressif).
- (3) En termes de précision, les estimations de pertes de rendement (coefficient de variation (CV) de 8 à 12% dans les essais en AC du projet) sont plus précises que les mesures réalisées sur adventices (CV entre 16 et 23% pour les biomasses et de 16 à 19% pour les nombre d'épis de RGI). Les pertes de rendement ne peuvent cependant être approchées que dans des essais en AC, avec désherbage de modalités pour les comparaisons.
- (4) Les capacités à tolérer la présence de RGI (estimées par les % pertes de rendement du blé) et à limiter son développement (estimées par les mesures de biomasse et comptage d'épis de RGI) sont souvent corrélées (2 essais sur 3 dans le projet) mais sans que ce soit systématique (certaines variétés apparaissent plus tolérantes et d'autres plus suppressives).

Evaluer la couverture du sol par les variétés de blé

Le programme de recherche a permis de tester, comparer et valider diverses méthodes d'évaluation de la couverture du sol par les variétés de blé.

La prise de photos a ainsi été conduite sur plusieurs essais du programme.

Sur Epoisses 2013, des clichés ont été pris sur les 15 variétés et 6 blocs de l'essai, selon 2 angles de vue à 57° et 90° par rapport à l'horizontale, et 3 prises par micro-parcelles, soit 570 photos pour chaque stade photographié. Le GEVES a mené une analyse comparative des pourcentages de vert (donc de sol recouvert par la culture) issus d'analyses de ces images traitées par 2 logiciels, Satva (utilisé par Arvalis) et ImageJ (Image J 1.47V, Wayne Rasband, National Institute of Health, USA, d'accès libre, utilisé par le GEVES qui a développé sa macro de calcul du pourcentage de vert). Les deux logiciels permettent de classer les variétés de façon identique en fonction du pourcentage de vert.

Sur l'essai en AB de Rennes 2014, en l'absence d'adventices (donc pas de confusion de « vert » pour le traitement d'image), les mesures de pourcentage de vert ont été comparées aux notes visuelles de la couverture du sol, de fin tallage à floraison (6 dates successives d'observation). Les coefficients de corrélation sont tous significatifs, à l'exception de celui à fin tallage. Les deux méthodes établissent des classements variétaux sensiblement identiques, si ce n'est que la note visuelle est moins discriminante que le % vert calculé par analyse d'image en début de cycle, alors qu'à l'inverse elle permet une différenciation plus nette des variétés autour du stade épiaison (Figure 10).

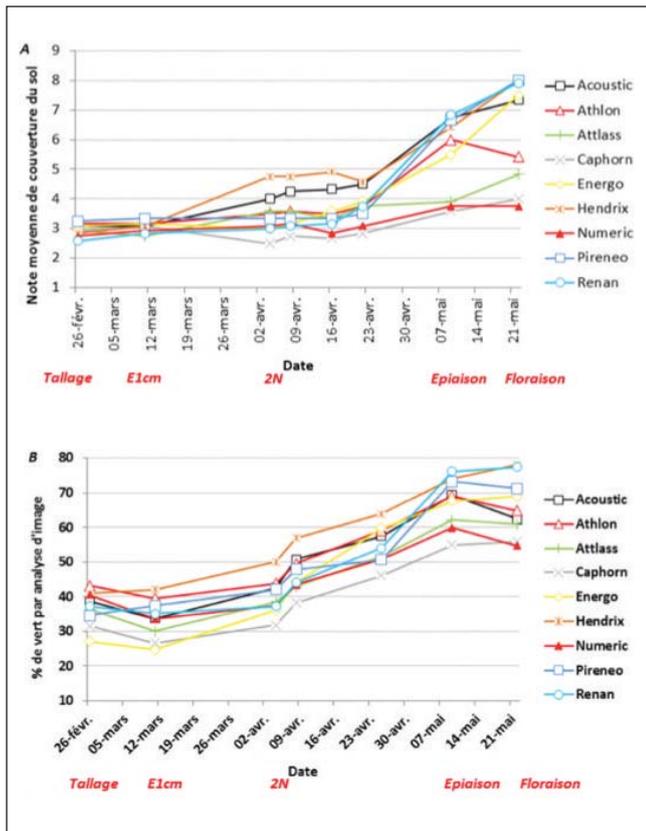


Figure 10 - Comparaison des couvertures du sol par notation visuelle (A) et analyse d'image (B) sur l'essai de Rennes 2014.

De même, à Epoisses 2013, la comparaison des deux méthodes de mesure (photos suivies d'une analyse d'image par Satva vs note visuelle) montre de bonnes corrélations et des classements inchangés en fonction de la méthode d'évaluation. Ces travaux ont aussi permis de montrer la meilleure précision, pour estimer la couverture du sol par le blé, des analyses d'images prises à 90° plutôt que celles prises à 57° (peu précises en fin de tallage, puis non discriminantes en fin de montaison, le couvert étant trop développé).

D'autres comparaisons menées sur les essais de Boigneville 2014 et 2015 confortent ces résultats.

A Epoisses 2015, l'INRA a aussi procédé à la comparaison des pourcentages de vert issus d'analyse d'images aux indices de végétation (NDVI, Différence Normalisée d'Indice de Végétation) obtenus par passage du GreenSeeker au-dessus du couvert végétal (il s'agit d'un capteur actif émettant ses propres sources de lumière). Les corrélations sont très bonnes, du stade épi 1 cm au stade épiaison (coefficients de corrélation allant de 0.92 à 0.96). L'indice de végétation (NDVI) apparaît comme un bon indicateur de la couverture du sol par le blé, bien qu'il s'agisse initialement d'un outil informant sur la vigueur des plantes et leur capacité à absorber l'azote.

Le GreenSeeker présente l'avantage d'être rapide d'utilisation (passage au-dessus de la parcelle avec le capteur à bout de bras, en marchant), ce qui permet un usage répété à des dates rapprochées si l'on souhaite avoir un suivi fin de l'évolution de la couverture du sol au cours du cycle du blé et ainsi mieux capter les différences selon les dates et les stades (Figure 11).

Après comparaison des 3 méthodes d'évaluation de la couverture du sol, l'UE INRA d'Epoisses met en avant la souplesse d'utilisation du GreenSeeker et son coût modéré. La prise de cliché et l'analyse d'image se révèle consommatrice en temps (prise des clichés puis traitement des images) et

exigeante en conditions météorologiques (lumière adaptée et nécessité d'homogénéité de la lumière d'un cliché à l'autre), avec un coût plus élevé. La notation visuelle reste la plus simple à mettre en œuvre, mais elle est moins précise que le Greenseeker et demande un temps d'apprentissage pour l'expérimentateur, même si le guide de notation vient en appui.

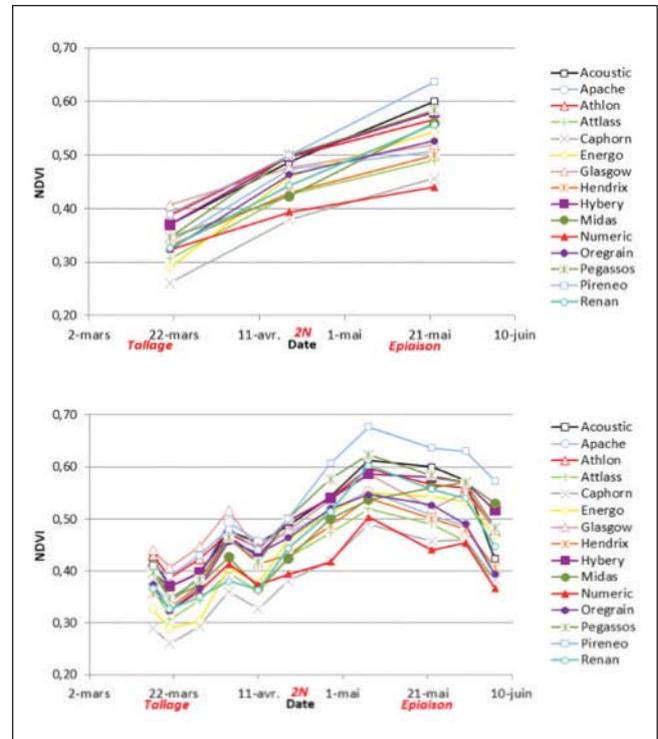
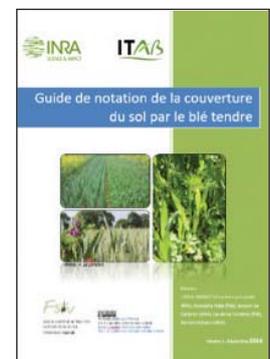


Figure 11 - Dynamique de couverture du sol estimée par NDVI sur Epoisses 2014. En haut 3 dates de mesure, en bas 11 dates.

Un guide de notation visuelle de la couverture du sol a en effet été formalisé dans le cadre du programme. Son objectif est de standardiser les notations visuelles (pour en limiter la subjectivité), en donnant un cadre méthodologique composé de photos de référence, prises en bordure de parcelle, depuis le point de vue du notateur. Trois stades-clés sont considérés : épi 1 cm (BBCH 30), qui marque le démarrage de la montaison ; 2N (BBCH 32) en début de montaison ; épiaison (BBCH 55) quand les différences entre variétés atteignent leur niveau maximal (notamment pour le port de la dernière feuille) (Figure 12).



La première étape a été de sélectionner les photos (issu de l'essai en AB Rennes 2014, où les adventices étaient absentes) pour composer une échelle de notation de 1 (sol nu visible entre les rangs) à 9 (inter-rang fermé, sol non visible). Dans un second temps, chaque note a été associée à la mesure du pourcentage de vert calculé à l'aide du logiciel ImageJ sur des clichés complémentaires, pris à 90°, de façon à valider la correspondance entre l'échelle et les notes attribuées. Enfin, une phase de validation opérationnelle a été organisée : un sondage a été effectué auprès des expérimentateurs du projet pour leur faire attribuer une note de couverture du sol aux photos du guide, en considérant que plus les notes étaient rapprochées entre expérimentateurs, plus la méthode était fiable.



Figure 12 - Extrait du Guide de notation de la couverture du sol par le blé tendre (INRA-ITAB, 2014). Photos de référence des notes 4 à 7 (sur une échelle de 1 à 9) pour le stade épisaison.

5. Discussions et conclusions

Ce programme de recherche a à la fois permis d'acquérir des résultats sur la capacité des variétés de blé à concurrencer les adventices, mais aussi d'approfondir des méthodes d'évaluation de critères liés à ce pouvoir concurrentiel.

Des effets variétaux confirmés

L'effet variétal a ainsi pu être mis en évidence, malgré le nombre réduit d'essais exploitables, sur la **capacité du blé à limiter le développement d'adventices**, soit l'effet suppressif. Il peut s'apprécier via l'impact sur différents critères : la mesure de la biomasse adventice, ou encore le comptage du nombre d'épis de RGI s'il s'agit de l'espèce utilisée pour simuler les adventices. Par exemple, en situation de forte concurrence vis-à-vis du RGI testé en station (essai Boigneville 2015), on observe 68% de plus de biomasse de RGI développée dans la variété Caphorn que dans Oregain, la variété la plus suppressive sur ce critère. Le nombre d'épis de RGI est en moyenne deux fois plus élevé dans Caphorn que dans la variété Pegassos (proche d'Oregain).

L'effet variétal a aussi été démontré sur la **capacité des variétés à tolérer la présence d'adventices** (en l'occurrence le RGI) : en situation de forte concurrence, les variétés les plus tolérantes (Energo, Pireneo) ont des pertes de rendement 10 à 15% plus faibles que les variétés les plus sensibles (Numeric, Hendrix, Glasgow). Les variétés les plus suppressives ne sont cependant pas toujours les plus tolérantes, bien que les tendances globales soient respectées.

Un critère intéressant par ailleurs à calculer est le ratio biomasse adventices / biomasse blé, qui intègre à la fois les notions d'effet

suppressif et de tolérance à la présence d'adventices.

Dans les essais en AB, les déficits accrus d'alimentation azotée constatés pendant le programme ont souvent limité le développement des variétés de blé et, de fait, la capacité à concurrencer les adventices, non significative dans ces situations. Les enseignements de **ces interactions entre adventices et état de nutrition azotée du sol** sont intéressants : il ressort que le pouvoir concurrentiel des variétés de blé vis-à-vis des adventices ne peut s'exprimer que si la céréale se développe correctement (la situation de déficit pouvant être rencontrée en AB). A l'inverse, il convient aussi d'être attentif à des niveaux de nutrition azotée élevés, qui peuvent plus profiter à des graminées adventices qu'à la céréale (situations en AB et en AC, cf exemple Epoisses 2015 où le RGI s'est « trop » développé, au détriment du blé), portant ainsi atteinte à l'effet variété recherché.

Facteurs explicatifs du pouvoir concurrentiel

Bien que l'étude de ce facteur n'ait pas été prévue initialement, les difficultés rencontrées dans les essais en AB nous ont montré l'importance d'une levée correcte pour garantir l'expression du pouvoir concurrentiel des variétés. La **qualité de la levée** apparaît ainsi comme un facteur prépondérant pour atteindre un objectif de peuplement correct et donner des garanties quant au potentiel de développement du blé et donc sa capacité à concurrencer les adventices.

Les résultats des essais menés en AC, où du RGI simulait la présence d'adventices, indiquent que **la hauteur est le critère le plus explicatif** de la capacité des variétés à concurrencer du RGI : plus une variété est haute, plus elle est compétitive. Une analyse plus fine des résultats montre de plus que ce sont les notes de **hauteur en cours de montaison** qui sont les plus déterminantes. D'autres critères, bien que moins prépondérants, sont aussi explicatifs de l'aptitude à concurrencer les adventices. Il s'agit de variables, corrélées entre elles, caractéristiques de **la capacité à couvrir le sol**, plutôt en début qu'en fin de cycle.

Dans les essais menés en AB, où les infestations en adventices relèvent de flores variées et sont plus hétérogènes, les prédicteurs de la biomasse adventice diffèrent entre hauteur à 2N, port à 2N et couverture au tallage.

De façon générale, il ressort ainsi que **la capacité à croître vite et précocement, combinée à la capacité à couvrir le sol en début plutôt qu'en fin de cycle**, est déterminante dans la compétition avec les adventices. Le fait que Renan, variété couramment cultivée en AB, soit mal classée dans les essais du projet est peut-être à lier à sa tardivité à montaison et sa faible capacité à couvrir le sol en début de cycle (elle est couvrante en fin de cycle). Les interactions génotypes x environnement sont très fortes, car dans l'essai de Sermaise 2015 Renan est significativement moins envahi de ray-grass. Ceci montre le besoin de renouvellement variétal en AB, pour répondre aux attentes des producteurs.

Les résultats du projet **confirment les conclusions relevées dans d'autres études** repérées en revue bibliographique. La hauteur semble une composante particulièrement importante du pouvoir concurrentiel, notamment vis-à-vis d'espèces adventices graminées (Lemerle *et al.* 1996; Ruisi *et al.* 2015; Worthington *et al.* 2015a). Si la hauteur finale est souvent citée comme prédictive du pouvoir concurrentiel ((Benaragama *et al.* 2014; Drews *et al.* 2009; Feledyn-Szewczyk 2013; Huel and Hucl 1996; Mason *et al.* 2007; Zerner *et al.* 2008), une approche dynamique montre que la capacité à croître plus rapidement que les plantes voisines favoriserait une meilleure interception de la lumière et une plus grande aptitude à faire de l'ombre aux compétiteurs (Champion *et al.* 1998; Didon and Hansson 2002; Worthington *et al.* 2015a). La littérature indique également que l'aptitude à la compétition ne peut être attribuée à un

seul trait (Lemerle *et al.* 1996; Moss *et al.* 2004; Ruisi *et al.* 2015) : liée à la vitesse de croissance en hauteur, la vigueur initiale est un trait cité par de nombreux auteurs, de même que la couverture du sol, appréciée par différentes composantes comme le tallage, le port de feuilles, ou via des indices de surfaces foliaires tels que le LAI (Andrew *et al.* 2015, Worthington et Reberg-Horton 2013).

Mieux évaluer la couverture du sol, composante du pouvoir concurrentiel (apports méthodologiques)

Le **Guide de notation visuelle** est un outil intéressant pour tout praticien souhaitant évaluer la couverture du sol par le blé (ou une céréale de façon générale). Le référentiel donné par les photos, à plusieurs stades-clés, permet de limiter la subjectivité de ce type de notation. Les résultats des comparaisons de méthodes montrent de plus que la précision des notes attribuées visuellement est correcte.

Le Guide est téléchargeable en ligne, libre d'accès. Il a notamment été diffusé auprès des expérimentateurs conduisant des essais de comparaison de variétés de blé en AB. Il a aussi été diffusé au sein du GEVES et est utilisé dans les expérimentations VATE en AB mobilisées pour l'inscription de variétés de blé en AB au catalogue français. A noter aussi que deux des sélectionneurs associés au projet s'en servent régulièrement.

Pour gagner en précision en matière d'évaluation de la couverture du sol, notamment à des stades très précoces, l'utilisation de **photos prises à la verticale** permet de calculer des pourcentages de vert, après traitement d'image.

Plus souple d'utilisation, le **GreenSeeker**, fournit des indices de végétation (NDVI) qui sont apparus comme de bons indicateurs de la couverture du sol. Il permet un suivi fin de la dynamique d'évolution du couvert, les mesures pouvant être facilement répétées dans le temps.

Pistes de recherche

Plus faciles à étudier, ce sont essentiellement les traits phénotypiques aériens qui ont fait l'objet de recherche quant au pouvoir concurrentiel des variétés de blé, y compris dans ce projet. Or les interactions plante cultivée-adventices dépendent aussi **des traits souterrains**, mettant en jeu la compétition pour les ressources en eau et en nutriment, d'autant que l'on a déjà cité plus haut le poids du statut de nutrition azotée du sol. Les conduites de cultures économes en intrants, dont l'AB, avec une disponibilité en azote souvent limitante, pourraient bénéficier de **génotypes plus compétitifs dans l'absorption des éléments nutritifs** qui limiteraient en conséquence la disponibilité en nutriments pour les compétiteurs voisins. La bibliographie nous apprend que les variétés hautes de blé possèderaient une meilleure capacité d'absorption de l'azote (NUpE, nutrient uptake efficiency), avec une utilisation de l'azote principalement orientée vers la biomasse quand, chez les cultivars portant un gène de nanisme, l'utilisation de l'azote pour la production de grains est plus importante. Le taux de croissance jouerait ainsi un rôle important dans la capacité

d'absorption de l'azote. Cette **relation entre hauteur et capacité d'absorption des nutriments**, déjà suggérée par Austin *et al.* (1977), est aussi soutenue par Wojciechowski *et al.* (2009) qui indiquent que les génotypes très courts peuvent être associés à un système racinaire réduit. Ainsi, alors que l'identification de génotypes utilisant l'azote plus efficacement est un objectif majeur des programmes de sélection pour l'agriculture biologique (Hoad *et al.* 2012), ce critère pourrait également concerner la thématique plus large de la compétitivité pour l'azote du blé vis-à-vis des adventices.

Que retenir du programme ?

Au final, on peut retenir que l'effet variétal du blé a été mis en évidence quant à sa capacité à limiter le développement d'adventices et à tolérer leur présence.

Le levier variétal fait donc partie des différentes techniques pouvant être mobilisées en agriculture biologique, utilisé dans le cadre de stratégies plus globales reposant sur la combinaison de leviers multiples (Chevassus-au-Louis, 2006). Reste à favoriser l'expression du pouvoir concurrentiel en mettant en œuvre des facteurs de réussite, tels qu'une levée correcte et des conditions de nutrition azotée suffisantes.

En agriculture conventionnelle, ce levier mériterait une plus large prise en compte en France où il reste mal connu. L'expansion de populations d'adventices résistantes aux herbicides, la diminution du nombre de matières actives autorisées et le raccourcissement des rotations sont des facteurs obligeant à la recherche de solutions alternatives. Tout comme en agriculture biologique, la combinaison de solutions est souhaitable pour en optimiser l'efficacité, d'où l'intérêt de mobiliser plus fortement le facteur variétal. On peut citer le cas de variétés de riz caractérisées par leur fort pouvoir concurrentiel désormais commercialisées aux Etats-Unis et en Chine, fruits de 30 ans de recherche et sélection. En Angleterre, le pouvoir concurrentiel des variétés de blé est un critère désormais pris en compte dans la gestion globale des adventices et promu auprès des agriculteurs (Andrew *et al.*, 2015) : à caractéristiques agronomiques et technologiques par ailleurs égales, le choix du producteur est orienté vers la variété la plus compétitive. Ses capacités à concurrencer les adventices sont ainsi transcrites dans les supports au choix variétal.

Partenaires et remerciements

Tous nos remerciements aux partenaires de ce projet, qui rassemblait des acteurs de la recherche : INRA UE Dijon Epoisses, INRA UMR IGEPP Rennes, GEVES ; des acteurs du développement : ARVALIS - Institut du végétal, CREAB Midi Pyrénées, FDGEDA du Cher, Agrobio Poitou-Charentes ; des obtenteurs privés : Lemaire-Deffontaines, Saaten Union Recherche. Ce projet était coordonné par l'Institut Technique de l'Agriculture Biologique (ITAB). Il a par ailleurs bénéficié de l'appui de l'INRA UMR Agro-écologie de Dijon. Nos remerciements s'adressent également aux agriculteurs ayant accueilli les essais sur leurs parcelles.

Références bibliographiques

- Andrew IKS, Storkey J, Sparkes DL, Lotz B** (2015) A review of the potential for competitive cereal cultivars as a tool in integrated weed management *Weed Research* 55:239-248 doi:10.1111/wre.12137
- Appleby AP, Olson PD, Colbert DR** (1976) Winter wheat yield reduction from interference by Italian rye-grass *Agron J* 68:463-466
- Asif M, Iqbal M, Randhawa H, Spaner D** (2014) Crop Competitiveness. In: *Managing and Breeding Wheat for Organic Systems*. SpringerBriefs in Agriculture. Springer International Publishing, pp 9-20. doi:10.1007/978-3-319-05002-7_2
- Austin RB, Ford MA, Edrich JA, Blackwell RD** (1977) Nitrogen economy of winter wheat *J Agric Sci* 88:159-167
- Balyan RS, Malik RK, Panwar RS, Singh S** (1991) Competitive ability of winter wheat cultivars with wild oat (*Avena ludoviciana*) *Weed Sci* 39:154-158
- Benaragama D, Rosnagel BG, Shirliffe SJ** (2014) Breeding for Competitive and High-Yielding Crop Cultivars *Crop Sci* 54:1015 doi:10.2135/cropsci2013.04.0223
- Bernicot MH et al.** (2011) Des variétés rustiques concurrentes des adventices pour l'agriculture durable, en particulier l'agriculture biologique. In: *Synthèse des programmes de recherche FSOV, Actes de la rencontre scientifique du 13 janvier 2011*. pp 31-37
- Challaiah, Burnside OC, Wicks GA, Johnson VA** (1986) Competition between winter wheat (*Triticum aestivum*) cultivars and downy brome (*Bromus tectorum*) *Weed Sci* 34:689-693
- Champion GT, Froud-Williams RJ, Holland JM** (1998) Interactions between wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivar, row spacing and density and the effect on weed suppression and crop yield *Ann Appl Biol* 133:443-453 doi:10.1111/j.1744-7348.1998.tb05842.x
- Christensen S** (1995) Weed suppression ability of spring barley varieties *Weed Research* 35:241-247
- Christensen S., Rasmussen G., J.E. O** (1994) Differential weed suppression and weed control in winter wheat *Aspects of Applied Biology* 40:335-342
- Chevassus-au-Louis B.** (2006). Refonder la recherche agronomique : leçons du passé, enjeux du siècle. Leçon inaugurale du groupe ESA, Angers, 27 septembre 2006, 29 pp. <http://www.espacesciences.org/servelet/com.univ.collaboratif.util.s.LectureFichiergwID_FICHIER=3542 >
- Coleman RD, Gill GS, Rebetzke GJ** (2001) Identification of quantitative trait loci for traits conferring weed competitiveness in wheat (*Triticum aestivum* L.) *Aust J Agric Res* 52:1235-1246 doi:10.1071/ar01055
- Cosser ND, Gooding MJ, Thompson AJ, Froud-WilliAm RJ** (1997) Competitive ability and tolerance of organically grown wheat cultivars to natural weed infestations *Ann Appl Biol* 130:523-535 doi:10.1111/j.1744-7348.1997.tb07679.x
- Cousens RD** (1996) Comparative growth of wheat, barley, and annual ryegrass (*Lolium rigidum*) in monoculture and mixture *Aust J Agric Res* 47:449-464 doi:10.1071/ar9960449
- Cousens RD, Mokhtari S** (1998) Seasonal and site variability in the tolerance of wheat cultivars to interference from *Lolium rigidum* *Weed Research* 38:301-307
- Didon UME, Hansson ML** (2002) Competition between six spring barley (*Hordeum vulgare* ssp *vulgare* L.) cultivars and two weed flora in relation to interception of photosynthetic active radiation *Biol Agric Hortic* 20:257-274
- Draws S, Neuhoﬀ D, KÖPke U** (2009) Weed suppression ability of three winter wheat varieties at different row spacing under organic farming conditions *Weed Research* 49:526-533 doi:10.1111/j.1365-3180.2009.00720.x
- Feledyn-Szewczyk B** (2013) The influence of morphological features of spelt wheat (*Triticum aestivum* ssp. *spelta*) and common wheat (*Triticum aestivum* ssp. *vulgare*) varieties on the competitiveness against weeds in organic farming system *J Food Agric Env* 11:6
- Goldberg DE** (1990) Components of resource competition in plant communities. In: Grace JB, Tilman D (eds) *Perspectives on Plant Competition*. Academic Press, San Diego, CA, USA, pp 27-45
- Grace JB** (1990) On the relationship between plant traits and competitive ability In: Grace JB, D. T (eds) *Perspectives on Plant Competition*. Academic Press, San Diego, CA, USA, pp 51-66
- Hoad S, Topp C, Davies K** (2008) Selection of cereals for weed suppression in organic agriculture: a method based on cultivar sensitivity to weed growth *Euphytica* 163:355-366 doi:10.1007/s10681-008-9710-9
- Hoad SP, Bertholdsson NO, Neuhoﬀ D, U. K** (2012) Approaches to breed for improved weed suppression in organically grown cereals. In: T. LvBE, R. MJ (eds) *Organic Crop Breeding*. Wiley-Blackwell, Oxford, UK, pp 61-76
- Huel DG, Hucl P** (1996) Genotypic variation for competitive ability in spring wheat *Plant Breed* 115:325-329 doi:10.1111/j.1439-0523.1996.tb00927.x
- Jordan N** (1993) Prospects for weed-control through crop interference *Ecol Appl* 3:84-91 doi:10.2307/1941794
- Korres NE, Froud-Williams RJ** (2002) Effects of winter wheat cultivars and seed rate on the biological characteristics of naturally occurring weed flora *Weed Research* 42:417-428 doi:10.1046/j.1365-3180.2002.00302.x
- Lemerle D, Smith A, Verbeek B, Koetz E, Lockley P, Martin P** (2006) Incremental crop tolerance to weeds: A measure for selecting competitive ability in Australian wheats *Euphytica* 149:85-95 doi:10.1007/s10681-005-9056-5
- Lemerle D, Verbeek B, Cousens RD, Coombes NE** (1996) The potential for selecting wheat varieties strongly competitive against weeds *Weed Research* 36:505-513 doi:10.1111/j.1365-3180.1996.tb01679.x
- Lemerle D, Verbeek B, Orchard B** (2001) Ranking the ability of wheat varieties to compete with *Lolium rigidum* *Weed Research* 41:197-209 doi:10.1046/j.1365-3180.2001.00232.x
- Mason HE, Navabi A, Frick BL, O'Donovan JT, Spaner DM** (2007) The Weed-Competitive Ability of Canada Western Red Spring Wheat Cultivars Grown under Organic Management *Crop Sci* 47:1167 doi:10.2135/cropsci2006.09.0566
- Mennan H, Zandstra BH** (2005) Influence of Wheat Seeding Rate and Cultivars on Competitive Ability of Bifra (Bifora radians) *Weed Technol* 19:128-136 doi:10.1614/WT-03-280R
- Moss SR, Storkey J, Cussans JW, Perryman SAM, Hewitt MV** (2004) The Broadbalk long-term experiment at Rothamsted: what has it told us about weeds? *Weed Sci* 52:864-873 doi:10.1614/ws-04-012r1
- Ogg AG, Seefeldt SS** (1999) Characterizing traits that enhance the competitiveness of winter wheat (*Triticum aestivum*) against jointed goatgrass (*Aegilops cylindrica*) *Weed Sci* 47:74-80
- Ruisi P, Frangipane B, Amato G, Frenda AS, Plaia A, Giambalvo D, Saia S** (2015) Nitrogen uptake and nitrogen fertilizer recovery in old and modern wheat genotypes grown in the presence or absence of interspecific competition *Frontiers in plant science* 6:185 doi:10.3389/fpls.2015.00185
- Vandeleur RK, Gill GS** (2004) The impact of plant breeding on the grain yield and competitive ability of wheat in Australia *Aust J Agric Res* 55:855-861 doi:10.1071/ar03136

Références bibliographiques (*suite*)

Wicks GA, Ramsel RE, Nordquist PT, Schmidt JW, Challaiah (1986) Impact of wheat cultivars on establishment and suppression of summer annual weeds *Agron J* 78:59-62

Wojciechowski T, Gooding MJ, Ramsay L, Gregory PJ (2009) The effects of dwarfing genes on seedling root growth of wheat *J Exp Bot* 60:2565-2573 doi:10.1093/jxb/erp107

Worthington M, Reberg-Horton C (2013) Breeding cereal crops for enhanced weed suppression: optimizing allelopathy and competitive ability *J Chem Ecol* 39:213-231 doi:10.1007/s10886-013-0247-6

Worthington M, Reberg-Horton SC, Brown-Guedira G, Jordan D, Weisz R, Murphy JP (2015a) Morphological Traits Associated with Weed-Suppressive Ability of Winter Wheat against Italian Ryegrass *Crop Sci* 55:50 doi:10.2135/cropsci2014.02.0149

Worthington M, Reberg-Horton SC, Brown-Guedira G, Jordan D, Weisz R, Murphy JP (2015b) Relative Contributions of Allelopathy and Competitive Traits to the Weed Suppressive Ability of Winter Wheat Lines Against Italian Ryegrass *Crop Sci* 55:57 doi:10.2135/cropsci2014.02.0150

Worthington ML, Reberg-Horton SC, Jordan D, Murphy JP (2013) A Comparison of Methods for Evaluating the Suppressive Ability of Winter Wheat Cultivars against Italian Ryegrass (*Lolium perenne*) *Weed Sci* 61:491-499 doi:10.1614/ws-d-12-00167.1

Zerner MC, Gill GS, Vandeleur RK (2008) Effect of Height on the Competitive Ability of Wheat with Oats *Agron J* 100:1729-1734 doi:10.2134/agronj2008.0068

Identification des traits de tolérance à la sécheresse et élaboration des outils d'aide à leur évaluation

Jean-Charles DESWARTE^{1*}, Katia BEAUCHENE², Eric OBER³, Thierry MOITTIE⁴, Camille BEDARD⁵, Laure DUCHALAIS⁶, Jérémy DERORY⁷, Céline ZIMMERLI⁸, Valérie LAURENT⁹, Clément DEBITON¹⁰, Bertrand GAKIERE¹¹, Frédéric BARET¹²

- 1 - ARVALIS-Institut du végétal - ZA des Gravières 91190 Villiers-le-bâcle, France
- 2 - ARVALIS-Institut du végétal - 45 Voie Romaine 41240 Ouzouer-le-marché, France
- 3 - NIAB - Huntingdon Road, Cambridge, CB3 0LE, UK
- 4 - Saaten Union Recherche SAS - 163 avenue de Flandre 60190 Estrées-Saint-Denis, France
- 5 - Secobra Recherches - Le Bois Henry 78580 Maule, France
- 6 - RAGT 2n - Route Epincy 28150 Louville-la-Chenard, France
- 7 - Limagrain Europe - La Garenne 63720 Chappes, France
- 8 - BAYER SAS - Ferme du Paly 91490 Milly-la-Forêt, France
- 9 - Florimond Desprez Veuve et Fils - 59242 Cappelle-en-Pévèle, France
- 10 - UNISIGMA - 2 rue du Petit Sorri 60480 Froissy, France
- 11 - Institut des Sciences des Plantes - Paris-Saclay - Batiment 630, rue Noetzelin 91405 Orsay, France
- 12 - INRA - UMR 1114 - EMMAH - Site Agroparc 84914 Avignon, France

* **Coordinateur** : Jean-Charles DESWARTE, jc.deswarte@arvalisinstitutduvegetal.fr

1. Introduction

Les situations de sécheresse qui peuvent toucher les cultures et les céréales en particulier engendrent des pertes de rendement très significatives (Heisey & Morris, 2006). Malgré l'importance de ce stress abiotique, les progrès en terme d'amélioration variétale restent modestes (Fleury *et al.*, 2010). Les raisons possibles de ces avancées lentes ont déjà été listées et débattues : complexité physiologique et génétique des traits à travailler (Richards *et al.*, 2002), dualité (apparente ?) entre potentiel de rendement, tolérance au stress et efficacité d'utilisation de l'eau (Blum, 2005, 2009; Guan *et al.*, 2010), variabilité des conditions d'apparition (et des intensités) des stress hydriques (Tardieu, 2011).

Les traits physiologiques susceptibles d'apporter de la tolérance à la sécheresse ont été fréquemment listés (Farquhar & Richards, 1984; Morgan & Condon, 1986; Fischer *et al.*, 1998; Ober *et al.*, 2010; Dodd *et al.*, 2011; Kumar *et al.*, 2011; Christopher *et al.*, 2016); cependant, pour être valorisés dans des schémas de sélection, ces traits doivent être faciles, rapides et peu coûteux à mesurer sur de grands nombres de génotypes (Araus *et al.*, 2002, 2008; Reynolds *et al.*, 2009). Une diversité génétique suffisante est également nécessaire dans le germplasm pour permettre de construire des croisements innovants et prometteurs.

Le contexte français et ouest-européen présente des situations de stress hydriques (Foulkes *et al.*, 2001, 2002; Ober & Turner, 2013) potentiellement très différentes des situations rencontrées dans de nombreux travaux publiés (Angus & van Herwaarden, 2001; Safer *et al.*, 2005; Richards, 2006; Chenu *et al.*, 2011, 2013), et justifie une qualification et une segmentation fines pour faciliter l'identification d'environnements-cibles pour la sélection et la préconisation variétale pour les agriculteurs. De récents travaux de classification des scénarios de stress hydrique (SSH) ont été menés et apportent une vision plus nuancée du phénomène général de « sécheresse » (Chenu *et al.*, 2011, 2013; Christopher *et al.*, 2016). L'intérêt de ce type de classification est de poser des hypothèses plus fines sur les traits physiologiques d'intérêt pour chaque SSH et d'aider ainsi la sélection de variétés adaptées. Des perspectives alléchantes apparaissent également dans l'utilisation de modèles, qu'ils cherchent à faire le lien entre traits (Semenov *et al.*, 2009; Semenov & Stratonovitch, 2013) ou QTL (Chapman *et al.*, 2003) et performance finale.

Le projet mené sur la période 2012-2016 visait à explorer cette diversité de SSH, d'interpréter les interactions Génotype* Environnement au regard de différents scénarios de stress, et d'explorer le lien Trait*Environnement, en se focalisant en particulier sur des indicateurs phénotypiques novateurs et encore peu répandus dans les démarches de sélection. Ceci a été réalisé en s'appuyant sur un réseau d'essais multilocaux (exploration de l'interaction G*E), dont certains ont permis la mise en œuvre de mesures phénotypiques nouvelles (exploration de l'interaction Trait*E, méthodologie autour des nouvelles techniques de screening). Ce réseau d'essais a été replacé dans une typologie de stress hydriques simulés en pluriannuel sur la base de cas-types adaptés pour s'assurer de la représentativité du réseau mis en œuvre.

2. Matériel et méthodes

► Essais multilocaux de mise en évidence de réponses différentes à un stress hydrique

Un réseau de 37 essais mis en place entre 2011-2012 et 2014-2015 visait à exposer un ensemble de variétés à des conditions de croissance variées, a priori représentatives de la gamme de stress hydriques présente dans les zones de production de blé tendre en France. Ces essais comprenaient en moyenne 35 variétés, avec une liste partiellement modifiée au cours de l'expérimentation. Ainsi, au total, 70 variétés ont été présentes 8 fois ou plus dans le réseau d'essais. La majorité des variétés étaient des variétés lignées commerciales récentes également présentes dans le panel BreedWheat ; en plus, 3 variétés hybrides ont été ajoutées à partir de la campagne 2013-2014. Les variables mesurées sur ces essais étaient : le rendement et ses composantes (densité d'épis/m², Poids de Mille Grain), la date d'épiaison. Sur un sous-ensemble d'essais (2013-2014 et 2014-2015), des suivis de sénescence ont été réalisés à partir de photographies numériques verticales répétées au cours de la phase de remplissage. Des analyses de composition isotopique du carbone ($\delta^{13}\text{C}$ grains réc) dans les grains à maturité ont également été réalisées sur des sous-ensembles du réseau : d'une part une mesure à la parcelle pour les témoins Apache et Bermude sur tous les essais de 2013-2014 et 2014-2015, et sur un échantillon moyen par variété sur l'ensemble des variétés présentes dans quelques essais (sélectionnés pour leur précision).

Les mesures de rendement ont été réalisées à l'aide d'une moissonneuse-batteuse expérimentale (parcelles unitaires de 6 à 20m²), les PMG déterminés sur un échantillon issu de la récolte mécanique et les comptages d'épis faits sur 2 à 3 placettes par parcelle. Les suivis de sénescence ont été réalisés par prise de photos successives (5-8 dates) au cours du remplissage, sur des zones fixes des parcelles ; 2 à 3 placettes par parcelle élémentaire ont ainsi été suivies. Les photographies numériques ont ensuite été traitées par un logiciel de classification des pixels permettant d'extraire le pourcentage de surface verte pour chaque image. Ces valeurs successives par placette ont ensuite servi à ajuster un modèle statistique de description de la sénescence ; un formalisme de type logistique a été utilisé, et a permis d'extraire 4 paramètres : la fraction de vert avant le début de sénescence (GF@BBCH 65), la date d'inflexion de la courbe de sénescence (T_{sénescence}), la vitesse de sénescence à la date d'inflexion (k), et l'aire sous la courbe (IFVI). Ces paramètres ont été moyennés à la parcelle pour la suite des analyses.

Les dispositifs mis en place dépendaient des contraintes locales (dispositifs en blocs ou en alpha-plan, 3 ou 4 répétitions) ; ainsi, l'analyse des données a été réalisée en 2 temps : d'abord une analyse essai par essai pour estimer des valeurs ajustées par variété et un écart-type résiduel, puis dans un second temps l'intégration de ces données harmonisées dans un modèle linéaire mixte :

```
mod_rdt <- lmer(Yield ~ Genotype + (1|Essai))
```

Ceci a permis d'estimer la significativité des différents facteurs et de mettre en évidence des interactions Génotypes*Environnement, d'estimer des valeurs ajustées des variétés, et d'en faire une analyse multivariée (ACP puis Classification Hiérarchique sur Composantes principales).

Le poids et l'effet du stress hydrique, évalué à l'aide d'un bilan hydrique (calcul ETM-ETR, appuyé sur les données météorologiques locale et une description du sol, et calé sur une phénologie de type Apache ajustée à l'essai) ou des mesures de discrimination isotopique du carbone, a ensuite été exploré en remplaçant l'effet « essai » dans le modèle mixte par un effet « déficit hydrique » ou « $\delta^{13}C$ ».

► Essais analytiques de réponse à un stress hydrique.

Deux essais (2013-2014 et 2014-2015) ont été menés en dispositif semi-contrôlé : 8 variétés (présentes dans les essais multilocaux) ont été implantées sous des abris mobiles, sur le site du Magneraud (17). Deux niveaux d'alimentation hydrique ont ainsi été imposés : une modalité à alimentation hydrique non limitante (pas de couverture des parcelles lors des épisodes de pluie, et apport d'irrigation complémentaire selon la méthode Irrinov), et une modalité à alimentation hydrique fortement limitante (fermeture des serres dès le mois de mars lors des épisodes de pluie, et absence d'irrigation). Les mesures réalisées sur ces essais étaient similaires aux essais multilocaux, plus un ensemble de mesures spécifiques : estimation des consommations en eau (suivi des teneurs en eau du sol par sonde neutronique), mesure de biomasse et d'indice foliaire à épi 1 cm et à floraison, mesure de l'indice de récolte à maturité, mesures par drone de température du couvert à 2 dates au début du remplissage. Les mesures destructives étaient réalisées sur une partie de parcelle dédiée, laissant intacte la zone destinée au suivi de la sénescence et à la mesure finale du rendement.

Ce dispositif était constitué de blocs incomplets, et de variétés témoins répétées. Les données des deux années ont donc été analysées séparément dans un premier temps pour extraire des

moyennes ajustées par modalité ; ces valeurs ont ensuite été analysées pour estimer les effets principaux et l'interaction pour chaque trait mesuré. Enfin, une analyse multivariée a été réalisée sur les valeurs ajustées.

► Analyse des scénarios de stress hydrique.

Une analyse fréquentielle des scénarios de stress hydrique (SSH) a été réalisée à l'échelle du territoire français : sur un ensemble de 271 stations météo (données météorologiques journalières disponibles de 1997 à 2016) réparties sur le territoire et associées à des hypothèses de date de semis et de précocité variétale, une estimation de gammes de réserves en eau du sol a été réalisée à dire d'expert. Les valeurs de Décile 2 (sols « superficiels ») et déciles 8 (sols « profonds ») ont été extraites, et utilisées pour réaliser des bilans hydriques dynamiques : par pas de 100°Cj (base 0°C) entre 800°Cj avant floraison jusqu'à 700°Cj après floraison, la valeur du ratio ETR/ETM est calculée. On obtient ainsi une matrice de 10.840 scénarios associés chacun à une dynamique décrite par 16 données chronologiques, auxquels ont été rajoutés l'ensemble des essais (site*lieu*conduite) menés dans le cadre du projet.

Ces scénarios ont fait l'objet d'une classification ascendante hiérarchique (méthode Ward.D2) pour identifier des classes de scénarios de stress les plus représentatives. Les différentes stations météorologiques ont été par ailleurs rattachées à des bassins de production, eux-mêmes qualifiés par leur contribution à la production française de blé tendre (moyenne 2006-2015) ; ceci doit permettre de pondérer les différentes classes de scénarios hydriques avec leur représentativité dans les principales zones de production.

3. Résultats et discussions

► Essais multilocaux de mise en évidence de réponses différentes à un stress hydrique

Mise en évidence d'un effet « stress hydrique » dans le réseau d'essai.

Le calcul d'un déficit hydrique moyen (calculé sur la variété Apache) par essai permet de renseigner la diversité des conditions de croissance rencontrées dans le réseau d'essais. Sur les 35 essais retenus, ces déficits hydriques s'étalent de 0 à 280mm. On observe une corrélation négative et très hautement significative entre les rendements moyens ajustés et ces estimations de stress hydrique (fig 1) : le réseau mis en place a donc bien permis l'expression d'un gradient de stress hydrique.

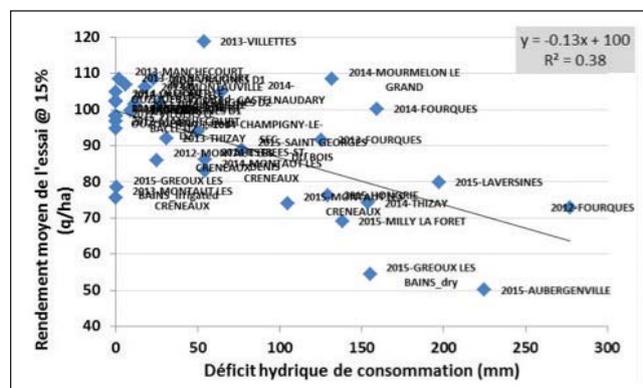


Fig 1 : relation entre déficits hydriques moyens calculés et rendements moyens mesurés dans le réseau d'essais multilocal.

Le calcul de déficit hydrique s'appuie sur une estimation du stock d'eau disponible (profondeur d'enracinement, pierrosité,

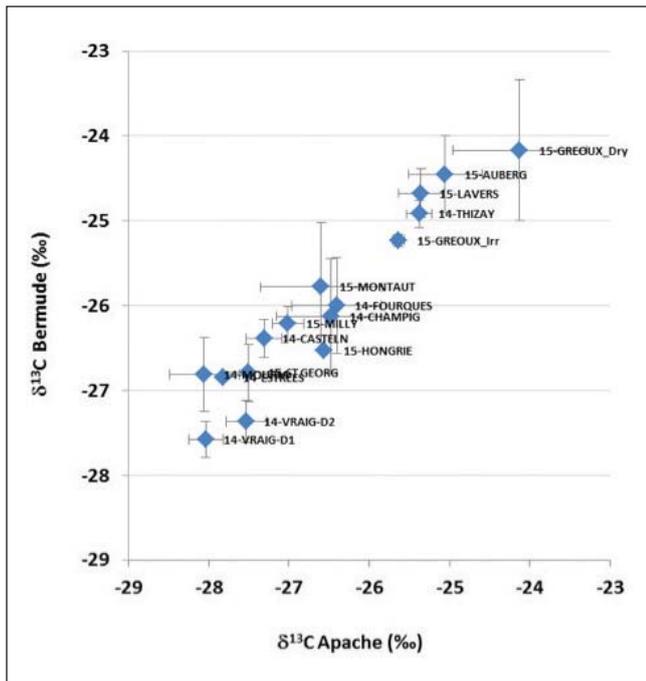


Fig 5 : comparaisons de $\delta^{13}C$ mesurées sur grains à la récolte dans 16 milieux sur 2 variétés. Les barres d'erreur représentent l'écart-type de la mesure.

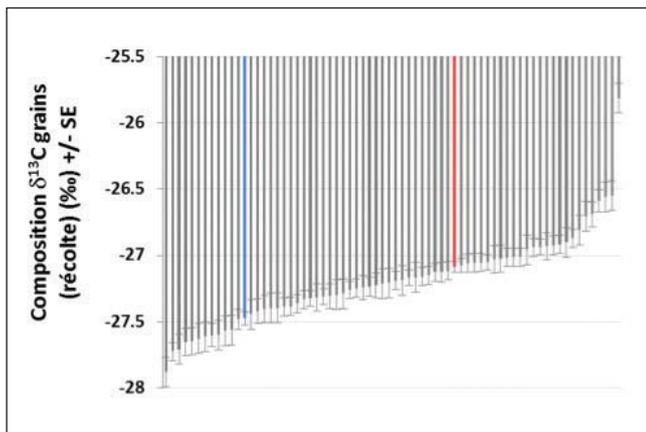


Fig 6 : histogramme illustrant la variabilité génétique (moyenne ajustée) du $\delta^{13}C$ dans le réseau d'essais multilocal. Les barres d'erreur indiquent l'erreur standard. Les barres de couleur repèrent les 2 témoins Apache (bleu) et Bermude (rouge).

Les suivis de canopée ont été réalisés sur 9 essais (2014 et 2015) et 35 variétés ; ils ont mis en évidence des dynamiques de sénescence variées entre variétés. Les effets environnementaux sont particulièrement importants, mais des effets variétaux significatifs ont également été décelés sur 3 paramètres de description de ces suivis : GF @ BBCH65 (correspondant à la fois à un indice et un port foliaire), Tsénescence et IFVI ; k ne présente pas d'effets significatifs. Les paramètres GF @ BBCH65 et Tsénescence sont eux-mêmes légèrement corrélés respectivement positivement ($r=0.35$, $p<0.05$) et négativement (-0.61 , $p<0.001$) à la date d'épiaison, et non corrélés entre eux ($r=0.004$). Il est donc probable qu'il ait un potentiel de sélection de variétés à haut niveau de GF @ BBCH65 et Tsénescence retardée pour atteindre de hauts rendements.

Sur la base des essais utilisés pour déterminer ces paramètres de description de la canopée, il est possible de distinguer par classification 3 groupes de variétés aux physiologies contrastées.

Ceci confirme la possibilité de discriminer des variétés au potentiel différent à l'aide d'indicateurs non-destructifs basés sur le suivi de la canopée post-floraison (fig 7).

Trait	Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3
Précocité BBCH 55	Tardif	Précoce	Précoce
GF @ BBCH 65	Moyen	Faible	Elevée
Tsénescence	Précoce	Intermédiaire	Tardif
IFVI	Faible	Faible	Elevée
Rendement	Faible	Moyen	Elevé

Fig 7 : Description des groupes de variétés obtenus par classification hiérarchique adossée aux indicateurs de description de la canopée, à la précocité épiaison et au rendement

Des analyses multivariées ont été menées en 2 temps, d'abord pour maximiser le nombre de variétés pour peu de traits (69 variétés et 9 traits), puis pour accroître l'information phénotypique sur moins de variétés (35 variétés et 12 traits : 9 traits mentionnés ci-dessus + 3 indicateurs de description de la canopée).

Sur 69 variétés et 9 traits : le rendement apparaît positivement corrélé en premier lieu à la composante Nombre de grains/m², et négativement à la pente du rendement en fonction du déficit hydrique. La composition isotopique du C est négativement corrélée au Nombre de grains/m² et au rendement (fig 8).

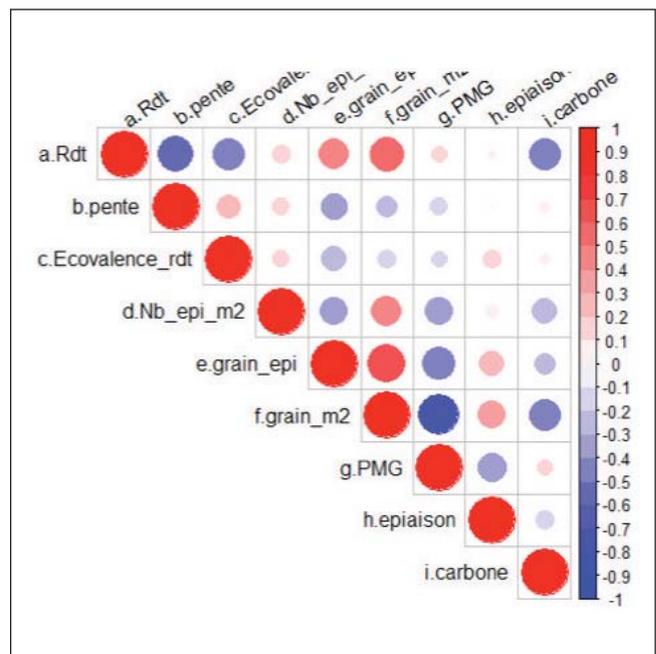


Fig 8 : matrice de corrélation entre variables, établie sur les moyennes variétales ajustées sur l'ensemble des essais où les variables étaient mesurées. 69 variétés incluses.

Une classification ascendante hiérarchique des variétés selon ces caractères phénotypiques distingue 4 groupes et met en évidence la présence d'un groupe extrême (cluster 1) (fig 9). Le tableau 10 précise quels critères différencient chaque groupe du reste du panel.

En dehors du groupe 1, caractérisé par un rendement faible, plutôt instable mais peu sensible au déficit hydrique, les groupes ne se différencient pas (sur la base du découpage retenu) pour le rendement. Le groupe 2 présente une forte sensibilité au stress hydrique (pente forte du rendement en fonction du déficit hydrique).

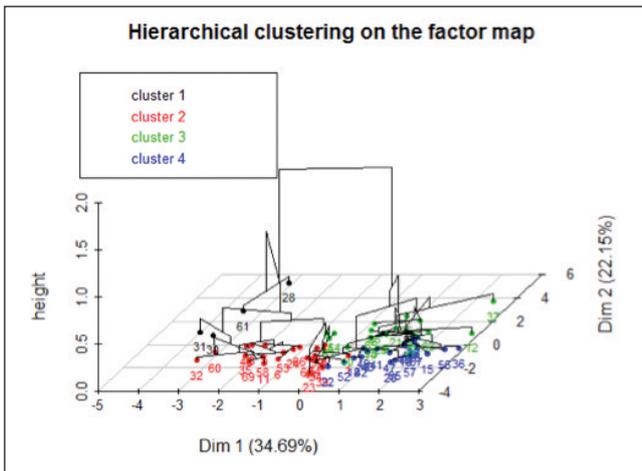


Fig 9 : Arbre de classification ascendante établi sur l'analyse multivariée (ACP).

	Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3	Groupe 4
Effectif	4	23	20	22
Rdt	---			
penet	---	++		
Ecovalence_rdt	+++			
Nb_epi_m2		--	+++	-
grain_epi	---		-	+++
grain_m2	---	--	++	++
PMG		++	-	--
epiaison	-	-		+
carbone	+		-	

Fig 10 : Tableau d'identification des paramètres de différenciation des groupes identifiés par la classification hiérarchique ascendante. Seuls ne figurent les différences significatives entre le groupe et le reste de la population. +++ : valeur moyenne du groupe pour le trait supérieure d'au moins 10% par rapport à la moyenne globale...++ : au moins 5% ; + : moins de 5%.

Sur 35 variétés et 12 traits, en intégrant les caractères de canopée, on retrouve les corrélations mentionnées précédemment, plus des corrélations positives entre rendement et IFVI ou Tsénescence (fig 11).

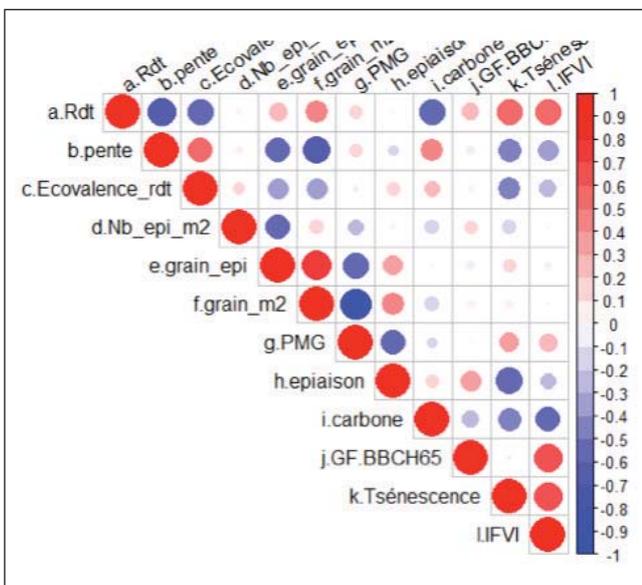


Fig 11 : matrice de corrélation entre variables, établie sur les moyennes variétales ajustées sur l'ensemble des essais où les variables étaient mesurées. 35 variétés incluses.

La classification fait à nouveau apparaître deux variétés extrêmes en terme de comportement (fig 12 et 13) : faible rendement, forte instabilité, et moindre sensibilité du rendement au stress hydrique, associée à un défaut de nombre de grains (par épi ou par m²) et à une sénescence anticipée. Ces deux variétés sont relativement anciennes (inscrites en 1974 et 1990).

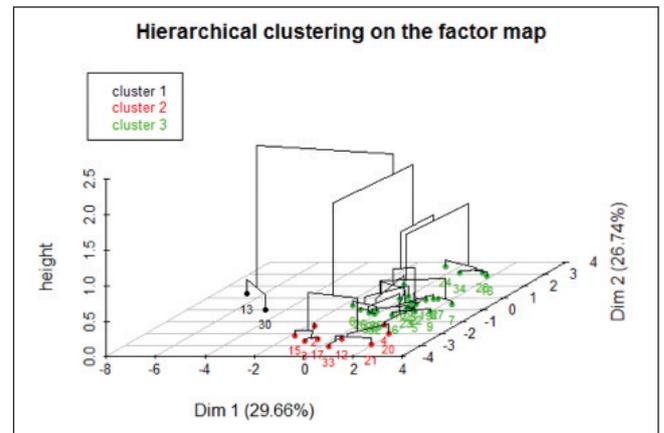


Fig 12 : Arbre de classification ascendante établi sur l'analyse multivariée (ACP).

	Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3
Effectif	2	9	24
Rdt	---		
penet	---		
Ecovalence_rdt	+++		
Nb_epi_m2			
grain_epi	---		+
grain_m2	---	--	+
PMG		+++	-
epiaison		-	-
carbone		-	
GF@BBCH65			
Tsénescence	---	++	-
IFVI		+++	-

Fig 13 : Tableau d'identification des paramètres de différenciation des groupes identifiés par la classification hiérarchique ascendante. Seuls ne figurent les différences significatives entre le groupe et le reste de la population. +++ : valeur moyenne du groupe pour le trait supérieure d'au moins 10% par rapport à la moyenne globale...++ : au moins 5% ; + : moins de 5%.

► Essais analytiques de réponse à un stress hydrique

L'analyse des données des deux années d'essais sur le site du Magneraud met en évidence des effets principaux attendus (génotype, alimentation hydrique), mais également des différences entre années malgré les conditions semi-contrôlées (fig 14). Les écarts de rendement entre les modalités « irriguée » et « stressée » sont de 20 et 17 q/ha respectivement en 2014 et 2015, attestant un réel déficit hydrique. Ce déficit hydrique est important : les écarts de consommation entre modalités sèches et irriguées varient de 175mm en 2014 à 100mm en 2015 ; ils se traduisent par une modification tardive de l'élaboration du rendement (effet significatif sur le PMG, l'accroissement de biomasse post-floraison, la température foliaire pendant le remplissage et la cinétique d'indice foliaire vert de floraison à maturité).

Des interactions Traitement*génotype apparaissent pour certains paramètres mesurés ; par contre, aucune interaction de ce type n'apparaît pour le rendement, contrairement aux objectifs initiaux des essais.

Variables	Traitement	Génotype	Année	Traitement* Génotype	Traitement* Année	Génotype* Année
Epis_m ²		***	**			
grain épi	.	***	**	***		*
Grain_m ²	***	***		***		*
Pmg	**	***	**	**	**	**
Rendement	***	***	**		***	*
Biomasse Z30		***	***			***
Biomasse Z65		*	*			**
Biomasse récolte	***				.	
Indice de récolte		***				*
Consommation totale	***	*	**	*	***	*
EUE totale	***				.	
EUE_grain	***	***	**		.	***
Date épiaison	***	***	***	***	***	***
¹³ C (grains)	***	*	***			*
Temp. couvert rempl.	***			.		
GF @ BBCH 65	***	**	***			**
T sénescence	***	***	***	*	*	***
IFVI	***	**	***	.	*	**

Fig 14 : effets des différents facteurs et des interaction 2 voies mis en évidence par l'analyse de variance sur les expérimentations menées au Magneraud en 2014 et 2015.

Les différences de consommation en eau entre variétés, à conduite égale, sont légèrement corrélées à leur tardiveté en 2014 (stress hydrique important) ; ces corrélations disparaissent en 2015.

Les calculs d'efficacité d'utilisation de l'eau ne mettent pas en évidence de différences variétales lorsqu'on considère la totalité de la biomasse aérienne ; par contre, des différences apparaissent pour l'efficacité d'utilisation de l'eau calculée sur la base du rendement : l'indice de récolte est donc un élément discriminant entre les variétés.

Des mesures de température du couvert réalisées par drone au début du remplissage (2 dates) ont mis en évidence une interaction nette avec l'apparition de la sénescence ; seule la première date de mesure a été retenue chaque année (correspondant à des stades variant de BBCH 69 à BBCH 75 en fonction de la précocité de la variété). Aucun effet génétique seul n'a pu être mis en évidence ; par contre, une interaction Variété*Traitement semble apparaître ($p < 0.1$). La gamme de variation de températures relevées lors de ces mesures est restreinte : entre 1.1 et 1.4°C entre variétés selon la modalité et l'année, contre 2 à 3°C entre régimes d'alimentation en eau selon les années.

Les écarts de températures deviennent plus importants à un stade plus avancé (conditions climatiques plus chaude, stress hydrique davantage exprimé), mais la sénescence commence à apparaître et modifie la température du couvert (l'utilisation d'une note de sénescence en guise de covariance pourrait sans doute apporter une correction aux températures relevées tardivement, mais ceci n'a pas été testé).

Les indices de rendement (ration grain/biomasse aérienne à maturité) sont sous fort contrôle génétique ($p < 0.001$), alors que les facteurs Année et Traitement sont respectivement peu ($p < 0.1$) ou pas significatifs. Il n'y a pas d'interaction G*T. On distingue 3 groupes distincts de variétés : 2 variétés extrêmes (respectivement IR=0.53 et IR=0.46), alors que les 6 autres variétés forment un groupe intermédiaire $IR \in [0.49 ; 0.50]$. Ces indices de rendement ne sont pas corrélés à la précocité.

Lorsqu'on analyse la globalité des moyennes ajustées par variété (années et traitements confondus) par **analyse multivariée**, on peut constater la colinéarité entre plusieurs traits. Plusieurs idéotypes ressortent de cette analyse.

	Gr 1	Gr 2	Gr 3	Gr 4	Gr 5
Effectif	1	1	1	3	2
Rdt			--		
YTI			---		
DTI				-	
Grains_m2	---				
Biomasse_Z65					+++
Biomasse-total	--				
EUE_Total	--				
EUE_grain			---		
IR	+++				
GF@BBCH65	---				
Tsénescence	+++				

Fig 15 : Tableau d'identification des paramètres de différenciation des groupes identifiés par la classification hiérarchique ascendante. Seuls ne figurent les différences significatives entre le groupe et le reste de la population. +++ : valeur moyenne du groupe pour le trait supérieure d'au moins 10% par rapport à la moyenne globale... ++ : au moins 5% ; + : moins de 5%.

Les essais analytiques conduits en conditions semi-contrôlées n'ont pas permis d'analyser finement des différences de réponses du rendement au stress hydrique. Malgré des hypothèses de base justifiant le choix de ces variétés pour cet essai (différences de précocité, de mode d'élaboration du rendement, de $\delta^{13}C$, écarts secs-irrigués observés dans quelques essais), le panel variétal est apparu trop peu diversifié. On peut le constater en observant les pentes $T_{sénescence} / T_{sénescence}$ calculées pour ces 8 variétés sur le réseau multilocal (fig 4). Ces mesures ont toutefois permis de mettre en œuvre des méthodes de phénotypage particulièrement sensibles : suivis de teneur en eau du sol (pour évaluation des consommations et profils de consommation), imagerie thermique, mesures de biomasses et indices de récolte.

► Analyse des scénarios de stress hydrique.

Analyse fréquentielle

La méthode de classification des SSH menée sur les 10840 séries d'indicateurs d'alimentation hydrique a mené à distinguer 5 groupes.

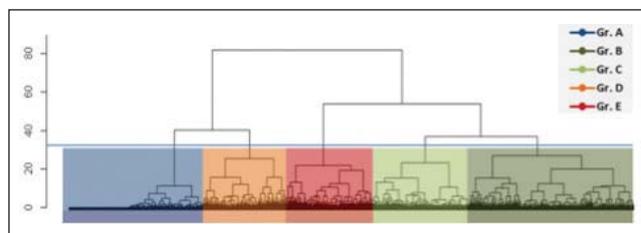


Fig 16 : arbre de classification ascendante hiérarchique des SSH.

Chaque groupe peut être rattaché à un parangon, dont la dynamique d'alimentation en eau pendant la montaison et le remplissage des grains est illustrée ci-dessous (fig 17). En dehors des groupes C et D, les différents groupes se distinguent par des déficits hydriques cumulés (somme des écarts entre évapotranspiration potentielle et évapotranspiration réelle) différents. Les groupes D et C présentent des déficits hydriques similaires, mais des dynamiques différentes (stress précoce autour de floraison vs stress tardif post-floraison).

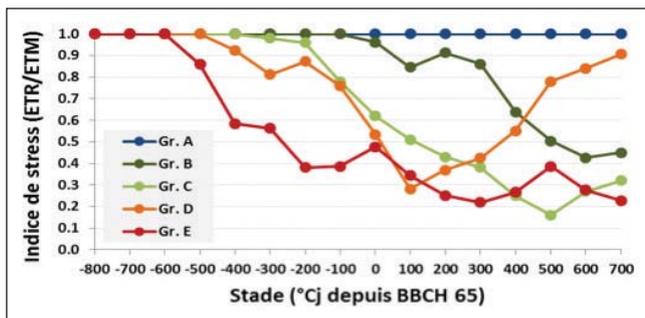


Fig 17 : paragon des 5 groupes de SSH.

Les différents groupes de SSH ne sont évidemment pas représentés de manière homogène sur le territoire ou dans le temps. Le groupe A est essentiellement représenté dans les sols profonds du tiers Nord de la France (Hainaut-Thiérache, Plateau Picard) et dans l'extrême Sud-Ouest (Zone de Pau), ou au cours des campagnes 2016 ou 2012, alors que le groupe E se retrouve particulièrement sur le pourtour méditerranéen (Valensole, coteaux de Provence, Corbières-Roussillon) ou pendant les campagnes 2003 et 2011.

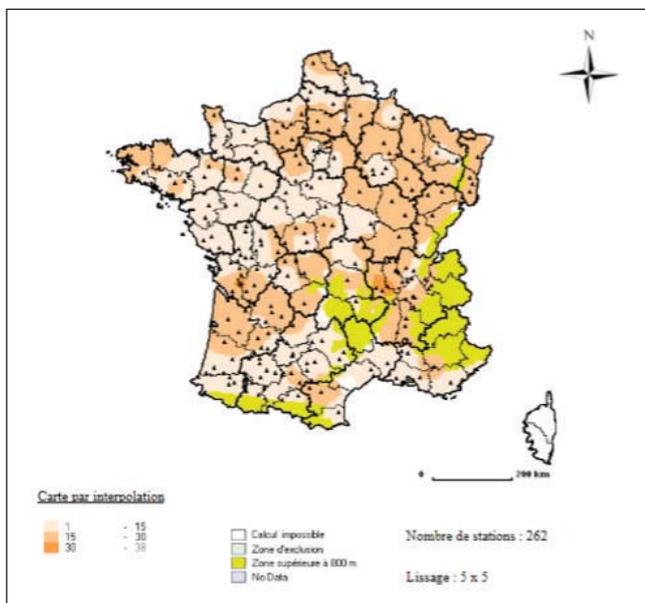


Fig 18 : représentation cartographique de la fréquence d'apparition d'un SSH de type D.

Une tentative de pondération de ces groupes de SSH en fonction de leur représentativité dans la production française a été tentée, en associant des surfaces et/ou des rendements aux différents bassins de production afin de correspondre à une réalité agronomique. Cependant, aucune donnée autre qu'à l'échelle départementale n'était disponible pour affiner l'analyse. Ainsi, en pondérant les fréquences d'apparition des groupes de SSH sur les 271 stations par la production de blé tendre départementale, on retrouve à l'échelle nationale la même représentation des différents SSH.

Classification des SSH des essais.

La classification appliquée aux essais démontre une surreprésentation des SSH A et B, essentiellement au détriment du groupe D (fig 19).

Le groupe D est représenté par deux essais (essai du réseau multilocal Gréoux, 2015, conduite non-irriguée ; essai Panel Breedwheat Gréoux, 2014, conduite non-irriguée), soumis à de fortes températures de fin de cycle. Il n'est donc pas possible d'explorer une éventuelle interaction Génotype*SSH entre les groupes C et D.

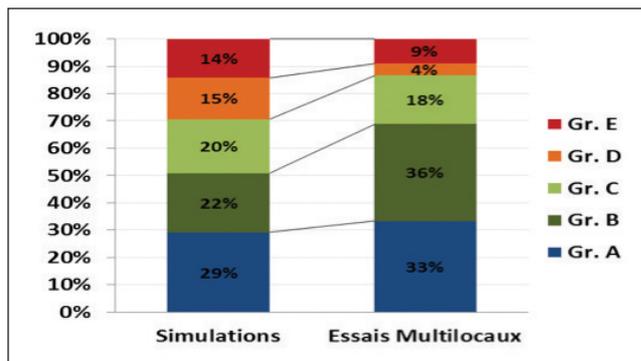


Fig 19 : Occurrence des différents groupes de SSH à l'échelle nationale (simulations 10840 cas-types) et dans le réseau d'essais du projet.

Sur la base des valeurs moyennes par essai relevées sur les essais multilocaux (fig 20), on observe des différences nulles pour le rendement et le $\delta^{13}C$ entre les groupes de SSH A et B ; les groupes C et surtout E semblent se différencier plus nettement (rendement plus faible, $\delta^{13}C$ plus élevé).

Group SSH	Nombre d'essais (réseau multilocal)	DH moyen +/- ET (mm)	Rdt moyen +/- ET (q/ha)	$\delta^{13}C$ moyen +/- ET (‰)
A	10	5 +/- 16	95.5 +/- 10.8	-27.4 +/- 0.9
B	14	32 +/- 24	98.7 +/- 10.3	-27.4 +/- 0.4
C	6	132 +/- 18	86.5 +/- 15.9	-26.6 +/- 0.5
D	1	155	54	-24.4
E	4	213 +/- 52	69.2 +/- 13.1	-25.4 +/- 0.9

Fig 20 : Niveaux de rendement, déficit hydrique et $\delta^{13}C$ moyens observés dans les essais multilocaux, en fonction de leur rattachement aux différents groupes de SSH.

La méthodologie de segmentation des SSH testée ici permet donc bien de nuancer la qualification des « sécheresses », malgré des doutes sur l'interprétation de l'indicateur utilisé (ratio ETR/ETM à différents stades, sans pondération de stades éventuellement plus sensibles) ou sur la méthode de classification. Elle met en avant différents profils d'alimentation hydrique, que l'on a pu retrouver dans le réseau d'essais. Néanmoins, la force de cette méthode sur les jeux de données utilisés dans ce projet est de faire ressortir deux groupes de SSH présentant les mêmes niveaux de déficit hydrique (groupes C et D), représentant respectivement un stress précoce progressivement adouci en fin de cycle, et un stress un peu plus tardif et croissant. Il est possible que les parades physiologiques pertinentes pour faire face à ces deux SSH soient différentes, mais elles n'ont pas pu être mises en évidence au cours de ce projet, notamment à cause d'un manque de représentation du groupe D dans le réseau multilocal.

4. Conclusions

Le projet a permis de réunir un jeu de données conséquent, représentant à la fois une large gamme de conditions de croissance, un nombre élevé de variétés et des informations phénotypiques nouvelles.

La tolérance variétale à la sécheresse, évaluée comme la pente du rendement de la variété en fonction du déficit hydrique, présente dans le réseau d'essais une diversité génétique faible (ou difficile à mettre en évidence précisément). Certaines de ces variétés extrêmes en terme de réponse à la sécheresse sont également relativement atypiques dans le panel variétal testé : anciennes, à rendement modeste, et relativement instables. Par ailleurs, aucune corrélation linéaire significative n'a pu être mise en évidence entre cette tolérance variétale et les différents traits physiologiques mesurés.

Les analyses faites sur les essais du Magneraud (conditions semi-contrôlées) semblent confirmer les résultats : des variétés commerciales fortement développées ne se distinguent pas en terme de réponse à la sécheresse, malgré des différences initiales en consommation en eau, efficacité intrinsèque de l'utilisation de l'eau ($\delta^{13}\text{C}$), maintien de surface verte, équilibre entre composantes de rendement. L'indice de récolte reste discriminant entre variétés, et permet une conversion intéressante de la biomasse en grain dans les scénarios de stress testés.

Les travaux d'identification de scénarios de stress hydrique (SSH) ont permis de distinguer (et de pondérer) les natures de stress rencontrées en France ; ces simulations pourraient aisément être étendues à d'autres zones ou à du climat prospectif (changement climatique) sous réserve de données d'entrées fiables. Néanmoins, le lien entre SSH et caractères d'intérêt n'a pas pu être mis en évidence au cours de ce projet.

D'un point de vue méthodologie, le projet a permis de mettre en œuvre certains indicateurs cités pour caractériser les variétés, notamment dans un contexte de tolérance à la sécheresse :

- Caractérisation du milieu : la démarche de prospection des sites d'essais à la tarière + description du sol à l'aide d'un profil pédologique (assorti à un ensemble de mesures physique et/ou le rattachement à un référentiel) permet de mettre en œuvre un bilan hydrique a priori (description du déficit hydrique et de la cinétique de stress). Néanmoins, certains essais ont pu illustrer les limites de la méthode, en particulier dans des milieux à remontée capillaire. Dans ces situations, l'accès à un indicateur plante est préférable

- $\delta^{13}\text{C}$ grains réc a été mise en œuvre avec 2 finalités :

- la caractérisation des conditions de croissance, révélée sur des témoins. Les résultats se sont avérés plutôt satisfaisants : relativement précis, sans besoin de mesures ou échantillonnage spécifiques, non concernés par un risque d'interaction G*E, mais une interprétation « en relatif » entre essais.
- La différenciation de variétés. L'indicateur étant très peu sujet à des interactions G*E (hors gros effets de phénologie), il est relativement stable. Par contre, il est difficile d'associer un classement variétal pour le $\delta^{13}\text{C}$ et une tolérance à la sécheresse dans nos conditions d'essais. Il existe une corrélation négative entre $\delta^{13}\text{C}$ et le rendement : les variétés peu efficaces seraient donc plus performantes en tendance.

- Le suivi de la canopée (proxi d'indice foliaire à floraison, retard de sénescence, indice foliaire vert intégré) a été mis en œuvre avec succès à l'aide de photos numériques verticales. Il apparaît corrélé positivement au rendement, et négativement à la tolérance au stress hydrique. Les effets de précocité interviennent également à la marge. Cet indicateur nécessite un suivi régulier du couvert pendant le remplissage, mais peut vraisemblablement être modernisé ou automatisé (capteur porté sur drone, chaîne de traitement intégrée).

- L'imagerie thermique est apparue difficile à mettre en œuvre : les conditions idéales de mesures (absence de vent, ensoleillement stable pendant plusieurs heures) sont rarement rencontrées sous nos latitudes à un moment où les stress apparaissent le plus souvent (début remplissage). De plus, l'apparition de sénescence liée à l'âge des plantes pose des difficultés d'interprétation sur une gamme variétale étendue.

Références bibliographiques

- Angus JF, van Herwaarden AF.** 2001. Increasing Water Use and Water Use Efficiency in Dryland Wheat. *Agronomy Journal* 93: 290-298.
- Araus JL, Salfer GA, Reynolds MP, Royo C.** 2002. Plant Breeding and Drought in C-3 Cereals: What Should We Breed For? *Annals of Botany* 89: 925-940.
- Araus JL, Slafer GA, Royo C, Serret MD.** 2008. Breeding for Yield Potential and Stress Adaptation in Cereals. *Critical Reviews in Plant Sciences* 27: 377-412.
- Blum A.** 2005. Drought resistance, water-use efficiency, and yield potential- are they compatible, dissonant, or mutually exclusive? *Australian Journal of Agricultural Research* 56: 1159-1168.
- Blum A.** 2009. Effective use of water (EUW) and not water-use efficiency (WUE) is the target of crop yield improvement under drought stress. *Field Crops Research* 112: 119-123.
- Chapman S, Cooper M, Podlich D, Hammer G.** 2003. Evaluating Plant Breeding Strategies by Simulating Gene Action and Dryland Environment Effects. 95: 99-113.
- Chenu K, Cooper M, Hammer GL, Mathews KL, Dreccer MF, Chapman SC.** 2011. Environment characterization as an aid to wheat improvement: interpreting genotype*environment interactions by modelling water-deficit patterns in North-Eastern Australia. *Journal of Experimental Botany* 62: 1743-1755.
- Chenu K, Deihimfard R, Chapman SC.** 2013. Large-scale characterization of drought pattern: a continent-wide modelling approach applied to the Australian wheatbelt - spatial and temporal trends. *New Phytologist* 198: 801-820.
- Christopher JT, Christopher MJ, Borrell AK, Fletcher S, Chenu K.** 2016. Stay-green traits to improve wheat adaptation in well-watered and water-limited environments. *Journal of Experimental Botany* 67: 5159-5172.
- Dodd IC, Whalley WR, Ober ES, Parry MAJ.** 2011. Genetic and management approaches to boost UK wheat yields by ameliorating water deficits. *Journal of Experimental Botany* 62: 5241-5248.
- Farquhar GD, Richards RA.** 1984. Isotopic composition of plant carbon correlates with water-use efficiency of wheat genotypes. *Australian journal of plant physiology* 11: 539-552.
- Fischer RA, Rees D, Sayre KD, Lu ZM, Condon AG, Larque Saavedra A.** 1998. Wheat Yield Progress Associated with Higher Stomatal Conductance and Photosynthetic Rate, and Cooler Canopies. *Crop Science* 38: 1467-1475.
- Fleury D, Jefferies S, Kuchel H, Langridge P.** 2010. Genetic and genomic tools to improve drought tolerance in wheat. *Journal of Experimental Botany* 61: 3211-3222.
- Foulkes MJ, Scott RK, Sylvester-Bradley R.** 2001. The ability of wheat cultivars to withstand drought in UK conditions: resource capture. *The Journal of Agricultural Science* 137: 1-16.
- Foulkes MJ, Scott RK, Sylvester-Bradley R.** 2002. The ability of wheat cultivars to withstand drought in UK conditions: formation of grain yield. *The Journal of Agricultural Science* 138: 153-169.
- Guan YS, Serraj R, Liu SH, Xu JL, Ali J, Wang WS, Venus E, Zhu LH, Li ZK.** 2010. Simultaneously improving yield under drought stress and non-stress conditions: a case study of rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Experimental Botany* 61: 4145-4156.
- Heisey PW, Morris ML.** 2006. Economic impact of water-limited conditions on cereal grain production. In: Ribaut J-M, ed. *Drought adaptation in cereals*. Binghamton, NY: Food Products Press, 17-48.
- Kumar BNA, Azam-Ali SN, Snape JW, Weightman RM, Foulkes MJ.** 2011. Relationships between carbon isotope discrimination and grain yield in winter wheat under well-watered and drought conditions. 149: 257-272.
- Morgan JM, Condon AG.** 1986. Water use, grain yield and osmoregulation in wheat. *Australian journal of plant physiology* 13: 523-532.
- Ober ES, Clark CJA, Perry A.** 2010. Traits related to genotypic differences in effective water use and drought tolerance in UK winter wheat. *Aspects of Applied Biology* 105: 1222.
- Ober ES, Turner J.** 2013. Adding value to variety trial data: a performance rating for wheat varieties for dry conditions.
- Rebetzke GJ, Condon AG, Richards RA, Farquhar GD.** 2002. Selection for Reduced Carbon Isotope Discrimination Increases Aerial Biomass and Grain Yield of Rainfed Bread Wheat. *Crop Science* 42: 739-745.
- Reynolds MP, Manes Y, Izanloo A, Langridge P.** 2009. Phenotyping approaches for physiological breeding and gene discovery in wheat. *Annals of Applied Biology* 155: 309-320.
- Richards RA.** 2006. Physiological traits used in the breeding of new cultivars for water-scarce environments. *Agricultural Water Management* 80: 197-211.
- Richards RA, Rebetzke GJ, Condon AG, van Herwaarden AF.** 2002. Breeding Opportunities for Increasing the Efficiency of Water Use and Crop Yield in Temperate Cereals. *Crop Science* 42: 111-121.
- Semenov MA, Martre P, Jamieson PD.** 2009. Quantifying effects of simple wheat traits on yield in water-limited environments using a modelling approach. *Agricultural and Forest Meteorology* 149: 1095-1104.
- Semenov MA, Stratonovitch P.** 2013. Designing high-yielding wheat ideotypes for a changing climate. *Food and Energy Security* 2: 185-196.
- Slafer GA, Araus JL, Royo C, Del Moral LFG.** 2005. Promising eco-physiological traits for genetic improvement of cereal yields in Mediterranean environments. *Annals of Applied Biology* 146: 61-70.
- Tardieu F.** 2011. Any trait or trait-related allele can confer drought tolerance: just design the right drought scenario. *Journal of Experimental Botany* 63: 25-31.

Développement de méthodes d'estimations racinaires non destructrices au champ : application au blé

François POSTIC¹, Katia BEAUCHENE^{1*}, Claude DOUSSAN²

1 - ARVALIS - ARVALIS Institut du Végétal, Service Valorisation des biotechnologies, Station Expérimentale, 41240 BEAUCE LA ROMAINE

2 - INRA - UMR EMMAH, Domaine Saint-Paul - Site Agroparc, 84140 AVIGNON

* *Coordinatrice* : Katia BEAUCHENE, K.BEAUCHENE@arvalisinstitutduvegetal.fr

1. Introduction

Afin de répondre à la demande croissante de production de céréales (+ 30% à 50% d'ici 2050), l'augmentation de la production se traduira par une augmentation des rendements, à travers principalement l'amélioration génétique (Reynolds *et al.*, 2000; Alexandratos & Bruinsma, 2012).

Toutefois, les changements climatiques - caractérisés par une incertitude et une variabilité accrues des précipitations et par l'augmentation des températures - mettent en péril cet accroissement des rendements. Dans les principaux pays producteurs de céréales d'Europe occidentale, tels que la France, le changement climatique contribue à la stagnation du rendement du blé constatée depuis 1995-1998 (Brisson *et al.*, 2010). Parmi les événements climatiques, les sécheresses printanières et les températures élevées sont les principaux facteurs limitants les productions céréalières d'hiver. Les régions tempérées, comme le nord de la France, pourraient connaître une baisse spectaculaire du rendement causée par des sécheresses semblables à celles qui se produisent actuellement dans les régions méridionales, caractérisées par des précipitations très variables au printemps et des températures élevées à la fin du printemps (Iglesias *et al.*, 2012).

Historiquement, l'amélioration des cultures et des techniques agricoles visait à accroître la biomasse aérienne et le rendement en grains, tout en négligeant le système racinaire dans la production végétale. Cependant, le système racinaire garantit des fonctions essentielles, telles que l'apport en eau et en éléments nutritifs, et son rôle est déterminant en conditions sous-optimales, lorsque la quantité d'intrants disponible est faible (Waines & Ehdaie, 2007). Les traits racinaires associés à l'utilisation efficace par les cultures de l'eau disponible et des engrais apportés, dans des conditions éventuellement déficitaires, seraient une caractéristique importante dans la sélection des futurs phénotypes.

En effet, le rôle central du système racinaire dans la réduction de l'incidence des stress semble être directement lié à la taille du système racinaire dans de telles conditions (Waines & Ehdaie, 2007). Son effet sur le rendement est modulé par sa distribution spatiale, notamment en conditions limitantes. Par exemple, la prolifération des racines dans les horizons de surface réduirait les rendements, alors qu'un enracinement profond serait avantageux pour la capture des ressources souterraines (Zhan *et al.*, 2015), notamment pendant la période post-floraison (Passioura, 1977). Néanmoins, indépendamment des considérations sur la distribution spatiale des racines, une plus grande densité de racines fines pourrait maintenir ou améliorer les rendements (Manschadi *et al.*, 2006; Manschadi *et al.*, 2008). Les expérimentations au champ ont montré que cette amélioration de la capture des nutriments conduit à des rendements plus élevés pour les cultures de blé en conditions pluviales (Lilley & Kirkegaard, 2011).

Toutefois, à cause de sa nature souterraine, le système racinaire n'a, qu'à de très rares occasions, fait l'objet de programmes de sélection. Bien que le phénotype haut-débit des systèmes

racinaires en conditions contrôlées - via des techniques d'imagerie appliquées à des serres automatisées (Jeudy *et al.*, 2016) - puissent atteindre les exigences de la sélection variétale (en termes de quantités de plantes mesurées chaque jour), les mesures au champ semblent incontournables. En effet, les traits racinaires obtenus aux stades végétatifs sont difficilement reproductibles à des stades plus avancés (Watt *et al.*, 2013). Utiliser alors des méthodes de mesure destructrices (Trachsel *et al.*, 2011) ne serait pas adapté aux exigences de la sélection, car cela impliquerait une utilisation intense de main-d'œuvre et une multiplication de la superficie des essais. Ces deux difficultés sont d'autant plus présentes lorsqu'il s'agit de mesurer des dynamiques d'enracinement, impliquant une multiplicité de dates d'échantillonnage.

Dans ce contexte, les méthodes qui améliorent la praticabilité des mesures racinaires sont pertinentes, d'autant plus si elles répondent aux exigences de la sélection variétale, en étant non destructives, et idéalement non invasives.

Parmi les méthodes permettant l'étude dynamique de l'architecture des racines, deux techniques ressortent : une méthode d'estimation directe invasive, les minirhizotrons, et une méthode d'estimation indirecte, non invasive, basée sur la bio-impédance électrique des tissus végétaux.

La technique minirhizotron consiste à observer les racines in situ à travers un tube transparent inséré dans le sol. Les évolutions récentes de cette technologie, permettent maintenant d'imager la surface complète d'un tube de 7 cm de diamètre sur 20 cm de long en un seul balayage. Une fois les racines identifiées sur les images, les minirhizotrons permettent une évaluation rapide de leur longueur.

Les études de minirhizotron basées sur ce genre de grandes images obtenues avec un scanner rotatif sont peu nombreuses dans la recherche sur les grandes cultures. Un scanner rotatif minirhizotron a été utilisé dans une étude antérieure pour évaluer l'influence du labour sur le système racinaire du blé (Munoz-Romero *et al.*, 2010). Avec cette technique, les auteurs ont obtenu des données racinaires qui ont expliqué avec succès la productivité accrue du blé en conditions pluviales en l'absence de labour. Cependant, à notre connaissance, le scanner rotatif minirhizotron n'a pas encore été employé pour mesurer les systèmes racines des grandes cultures dans des conditions de stress nutritif ou hydrique, et le potentiel de cette technique de minirhizotron pour détecter les traits racinaires d'intérêt reste inconnu.

Les techniques basées sur la bio-impédance, qui sont supposées estimer la masse de racine en utilisant la capacité électrique de la plante, simplifieront largement les études de racine. Ces techniques sont basées sur une relation empirique linéaire entre la masse racinaire d'une plante et sa capacité électrique (Chloupek, 1972) une théorie - introduisant un modèle électrique équivalent - expliquant le phénomène ayant été proposée plus tard (Dalton, 1995). Néanmoins, l'application de cette méthode au champ semble pourtant poser des difficultés (Preston *et al.*, 2004), et il semble que les paramètres de la relation linéaire soient spécifiques aux espèces

(Aulen & Shipley, 2012). De même, les observations au champ indiquent que la méthode est sensible à l'humidité du sol, cette dernière jouant un rôle prépondérant dans la variance inexplicée des relations. Récemment, une réinterprétation de la source de capacité électrique mesurée dans le système plante-sol explique la corrélation entre capacité et masse racinaire constatée en laboratoire à travers une relation allométrique (Dietrich, 2013), impliquant que capacité n'est pas une mesure directe de la masse racinaire.

L'objectif de ce projet a été de développer des méthodes de phénotypage racinaire répondant aux contraintes du phénotypage au champ : les minirhizotrons étant invasifs et les méthodes électriques combinant les aspects non-invasifs et non-destructifs.

Les objectifs pour les minirhizotrons : i) évaluer la représentativité des mesures ; ii) juger de la pertinence des mesures racinaires dans le cadre d'essais multi-stressés.

Les objectifs pour les méthodes basées sur l'impédance électriques des plantes : iii) améliorer la technique grâce à un travail méthodologique en conditions contrôlées afin d'optimiser la précision de l'estimation de la biomasse et la robustesse de la mesure face à différentes textures de sol ; iv) appliquer cette méthode d'impédance à des plants de blé cultivés au champ afin de juger du modèle électrique équivalent à considérer afin d'obtenir des estimations racinaires fiables in situ.

2. Matériel et méthode

► Matériel végétal et prélèvements racinaires destructifs

Matériel végétal

Les expériences au champ ont été conduites à Gréoux-les-Bains (Alpes-de-Haute-Provence), sur un Fluviosol hétérogène à texture limoneuse. Située en région climatique méditerranéenne, la pluviométrie moyenne annuelle des dernières 20 années est de 650 mm (répartie comme 32% en octobre-décembre, 18% en janvier-mars, 28% en avril-juin et 22% en juillet-septembre); l'évapotranspiration potentielle annuelle moyenne (PET) est de 955 mm. L'étude a eu lieu sur une période de deux ans (2013-2014 et 2014-2015). Le premier essai en 2013-2014 a été un test de méthodologie. Des modalités de traitements hydriques et azotés contrastées ont été appliquées, avec notamment : conditions optimales (I⁺N⁺, irrigation et N azote non limitant), pluviales (II⁻N⁺) et pluviales avec N limitant (I⁻N⁻). L'alimentation en azote (N) précise est décrite dans la section suivante. Les 4 variétés de blé étaient APACHE, HYSTAR, NOGAL (*Triticum aestivum* L.) et MIRADOUX (blé dur français, *Triticum durum* Desf.). Le plan parcellaire utilisé est un bloc complet randomisé avec trois répétitions. La superficie de chaque parcelle expérimentale était de 9,5 x 6,6 m². Le blé a été cultivé après un an de blé dur, le tournesol étant la culture précédente. Pour l'essai 2014-2015, les cultivars de blé ont été semés fin octobre 2014 à une densité de 300 grains par m². Le cumul des précipitations entre le 28 octobre 2014 et le 01 juillet 2015 s'élève à 539 mm. L'irrigation a été appliquée sur I⁺N⁺ et I⁻N⁻, six fois totalisant 189 mm, tandis que les parcelles pluviales n'ont reçu aucune irrigation, provoquant un stress hydrique à partir du stade dernière feuille ligulée (Z39). L'engrais azoté a été appliqué à quatre taux différents: I⁺N⁺ (230 kg.ha⁻¹, quatre applications); I⁻N⁻, (100 kg.ha⁻¹, deux applications); I⁺N⁻ (150 kg.ha⁻¹, trois applications) et I⁻N⁺ (50 kg.ha⁻¹, une application).

Prélèvements aériens destructifs

La masse et la teneur en azote des parties aériennes ont été déterminées aux différents stades. Des prélèvements destructifs

des parties aériennes ont été opérés sur des placettes de 0,70m² dans chaque parcelle. La masse fraîche et sèche des parties aériennes ont été pesée avant et après séchage à l'étuve à 80°C pendant 48h. La teneur en azote a été calculée avec l'indice de nutrition azotée INN (Justes *et al.*, 1994). Le rendement a été déterminé sur des placettes de 9.5 x 1.225 m² avec une moissonneuse-batteuse (ZURN 150).

Prélèvements racinaires destructifs

Dans les parcelles où les prélèvements aériens ont été effectués, une tarière (40 mm de diamètre) a été utilisée pour recueillir deux échantillons de sol dans la rangée centrale de chaque parcelle, et un troisième échantillon de sol au milieu de l'inter-rang adjacent, les mesures étant pratiquées à 4 stades (tallage (Z25), montaison (Z30), dernière feuille ligulée (Z39) et floraison (Z65)). Les rangs centraux ont été échantillonnés à 10-20 cm et 30-40 cm de profondeur, et les inter-rangs ont été échantillonnés à 30-40 cm. Les racines ont été lavées pendant 10 min en utilisant un éluatrieur hydropneumatique, recueillies sur des tamis de 350 µm, séchées en étuve à 70 ° C pendant 48 heures, puis pesées.

► Estimations racinaires invasives et non invasives sur blé à Gréoux-les-Bains

Estimations invasives : Minirhizotrons

L'imagerie racinaire a été réalisée grâce à des minirhizotrons imagés par un endoscope rotatif (CI-600, CID Bio-Science, Camas, WA, USA), contrôlé par un ordinateur portable. Chaque image obtenue représente une surface de 21,59 cm x 19,56 cm du tube, les images ayant une résolution de 300 ppp (soit 118 pixels.cm⁻¹). Les tubes de minirhizotron étaient des tubes en plastique transparent (PMMA) de 2,0 m de longueur, 6,3 cm de diamètre intérieur et 7,0 cm de diamètre extérieur.

Les parcelles des cultivars Miradoux et Apache dans les 3 conditions I⁺N⁺, I⁻N⁺ et I⁻N⁻, ont été équipées de minirhizotrons sur deux répétitions (1 seule répétition pour Apache en I⁺N⁺), alors que cultivars Hystar et Nogal ont été équipés de minirhizotrons sur 2 répétitions uniquement sur 2 conditions, I⁺N⁺ et I⁻N⁻, les conditions les plus contrastées. Dans ces parcelles, les tubes minirhizotron ont été insérés dans le rang central, avec un angle de 45 °, après la levée des plants. Le forage du sol pour l'installation des tubes a été réalisé à l'aide d'une tarière de 7 cm de diamètre et d'un support à 45 °. Les tubes ont été insérés à une profondeur verticale maximale de 122 cm, en fonction de la profondeur lit rocheux. La partie aérienne de chaque tube a été recouverte de matériaux thermiquement isolants, afin d'empêcher la lumière, la condensation et l'échauffement du tube. Les images ont été capturées aux stades tallage (Z25), montaison (Z30), dernière feuille ligulée (Z39) et floraison (Z65).

Le traitement d'image a été réalisé à l'aide du logiciel Smartroot (Lobet *et al.*, 2011): la longueur des racines et leur diamètre ont été mesurés sur chaque image. La densité de longueur racinaire (en mm.cm⁻²) a été calculée pour chaque tube, en fonction de leur longueur réelle dans le sol.

Estimations non invasives : Mesures d'impédances électriques

Tout d'abord, une campagne expérimentale en conditions contrôlées a été menée afin de déterminer la configuration optimale de mesure électrique pour l'estimation de la masse racinaire d'un plant de blé. Nous avons utilisé trois types de sols aux textures contrastées : un limon (20,9% de sable, 53,3% de limon et 25,8% d'argile), un limon fin (37,7% de sable, 48,7% de limon et 13,6% d'argile) et un limon sableux (60,4% de sable, 26,6% de limon et 12,9% d'argile). Des pots en plastique (12,5

cm x 12,5 cm x 22 cm) ont été remplis avec 2,5 dm³ de sol et semés avec des graines de blé dur (cv Isildur). La teneur en eau du sol a été estimée par pesée quotidienne et maintenue à capacité au champ par irrigation quotidienne. Les mesures ont été effectuées entre 15 et 45 jours après le semis, avec 2 répétitions à chaque date d'échantillonnage.

L'impédance électrique a été mesurée avec un LCR-mètre SIP FUCHS III (Radic Research, Allemagne) à 26 fréquences de courant pré-programmées réparties de façon logarithmique, allant de 0,5 Hz à 20 000 Hz, avec une tension de borne de 1 V. Cet appareil permet des configurations de mesure à 2 électrodes (2T), 3 électrodes (3T) et 4 électrodes (4T). Les grandeurs électriques délivrées par le SIP FUCHS III sont l'amplitude de l'impédance et l'angle de phase.

Au champ, les mesures électriques - amplitude de l'impédance et de l'angle de phase - ont été effectuées aux 4 stades de croissance (Z25 Z30 Z39 et Z65) - avec 3 plantes mesurées par parcelle sur 2 répétitions. L'acquisition a été réalisée avec un SIP Fuchs III utilisant une tension d'entrée de 1 V et une fréquence de 2 Hz dans une configuration à 3 électrodes, fusionnant l'électrode d'injection de courant (C1) et la première électrode de potentiel (P1). L'électrode C1-P1 était une pince crocodile (4 mm de large) placée sur la plante (tige ou feuille) à 5 cm au-dessus du sol, la deuxième électrode de potentiel (P2) et l'électrode de courant de sortie (C2) étaient insérées 5 cm dans le sol, à une distance radiale de 20 cm et 30 cm, respectivement.

Mesure de l'humidité volumétrique du sol

La teneur volumétrique de l'eau dans le sol a été mesurée hebdomadairement avec une TDR portable (réflectométrie temporelle) PICO TRIME IPH64 sur la période allant du 12 avril 2015 au 10 mai 2015, c'est-à-dire entre Z39 et Z65. Vingt-quatre tubes ont été installés sur les mêmes parcelles que celles équipées en tubes de minirhizotron, dans la rangée centrale de parcelles, permettant les mesures toutes les 10 cm.

► Estimations racinaires invasives et non invasives sur maïs à Auzeville

Matériel végétal

Par ailleurs des mesures ont été effectuées sur des plants de maïs au site expérimental d'Auzeville (Haute-Garonne). Huit hybrides de maïs, ayant des traits de racines contrastés, ont été semés en mai 2015 avec deux niveaux de fertilisation phosphatée à 6-7 feuilles par m². L'ensemble de la parcelle a été irrigué selon la pratique agricole commune.

Estimations non invasives :

Mesures d'impédances électriques

Des mesures électriques de la capacité parallèle (C) et de la résistance parallèle (Rp) ont été réalisées à l'aide d'un pont RLS portatif Agilent U1732A à 1V dans une configuration de 2 électrodes, à une fréquence de 1 kHz. L'électrode C1-P1 était une pince crocodile positionnée 5 cm sur la tige au-dessus du sol, et l'électrode C2-P2, une tige en acier inoxydable (diamètre 4 mm) a été insérée à 10 cm avec une profondeur de 10 cm. Sur la période du 9 au 12 juin 2015, 222 plants au stade 6-8 feuilles ont été mesurés électriquement, puis leurs parties aériennes et racinaires ont été prélevées.

3. Résultats et discussion

► Estimations racinaires invasives

Fiabilité de la quantification racinaire

1) Biases de mesure des profils racinaires

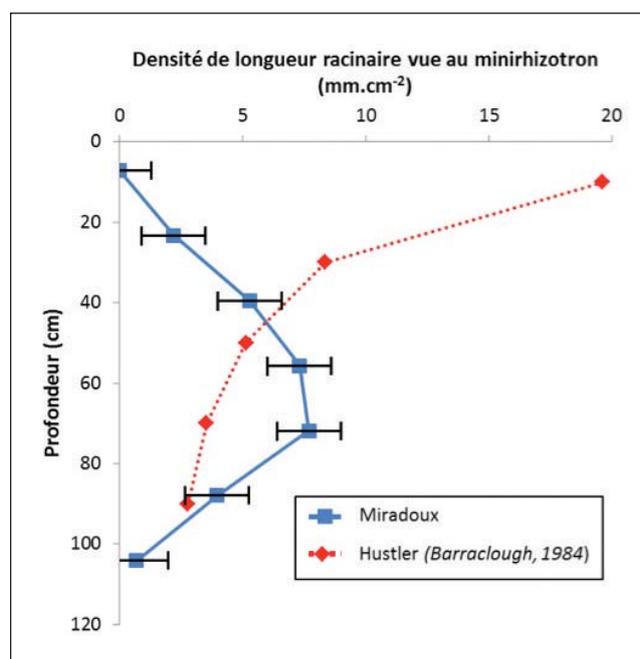


Figure 1 : Profils de densité racinaire mesurés à floraison. En trait continu bleu, mesure obtenue sur le site expérimental pour le cultivar de blé dur Miradoux en IN, et en trait pointillé rouge, mesures issues de la littérature converties en densité de longueur racinaire équivalente (Barracough & Leigh, 1984) sur blé tendre dans des conditions similaires. Les minirhizotrons sous-estiment largement la densité racinaire dans les horizons superficiels (écart entre les courbes bleu et rouge).

Tous les profils racinaires mesurés par les minirhizotrons présentent une diminution de la densité des racines sur les horizons supérieurs du sol (bleu Figure 1), alors que de nombreuses études montrent que les systèmes racinaires du blé colonisent principalement ces horizons superficiels (rouge Figure 1). Ainsi les minirhizotrons sous-estimerait la densité de longueur racinaire sur les horizons superficiels, jusqu'à 30 cm de profondeur.

Il apparaît que cette sous-estimation de la densité racinaire dans les couches superficielles soit le problème majeur de cette technique minirhizotron et qu'une attention particulière doit lui être accordée. Des biais similaires ont été signalés sur les espèces graminées (Gregory, 1979; Upchurch et Ritchie, 1983; Merrill *et al.*, 1987) et dans nos tubes orientés à 45°. Ce biais est probablement dû à l'illumination du haut des tubes, comme cela a été observé dans des expériences antérieures (Munoz-Romero *et al.*, 2010), et ce, malgré l'isolation thermique et optique couvrant la partie émergée des tubes. Une solution pourrait consister à ajouter une grande quantité de terre à la base du tube, et de s'assurer que les plantes autour de la base du tube soient bien enracinées.

2) Conversion des données minirhizotrons en équivalent de prélèvements destructifs

La conversion des données des minirhizotrons en masses réelles de racines est un problème complexe, et la solution la plus simple est de considérer un volume d'échantillonnage équivalent. La distribution du facteur de conversion, nécessaire pour transformer les données de minirhizotrons en échantillons de masse racinaire équivalents, a été obtenue à partir des données de racines recueillies dans la profondeur de 30-40 cm. Chaque prélèvement donnant un facteur de conversion propre, facteur de conversion unique pour toutes les données minirhizotrons est donné par la valeur médiane de la distribution de ce dernier. Ainsi, le facteur de conversion trouvé est égal 0,61 m².g⁻¹ et avec un intervalle de confiance à 95% compris entre 0,50 m².g⁻¹ et 0,73 m².g⁻¹. En

supposant une valeur de de longueur spécifique (longueur de racine par unité de masse, notée SRL) de 180 mg⁻¹ (Løes et Gahoonia, 2004), constante sur tous les horizons (Zhang *et al.*, 2015), nous estimons une profondeur de champ de vision ϵ du minirhizotron, égale à 3,5 mm, comprise entre 2,8 et 4,1 mm (intervalle de confiance de 95%).

La valeur du facteur de conversion proposée dans notre étude semble être en accord avec la profondeur de champ précédemment estimée (Johnson *et al.*, 2001, Zhang *et al.*, 2008) à 2-3 mm. Nous avons trouvé une profondeur de champ proche (3,5 mm) en utilisant la valeur moyenne de SRL pour les cultivars de blé d'hiver (Løes et Gahoonia, 2004). Cependant, la SRL n'a pas été spécifiquement mesurée, et des valeurs plus élevées de SRL conduisent à une profondeur de champ plus faible, et vice versa.

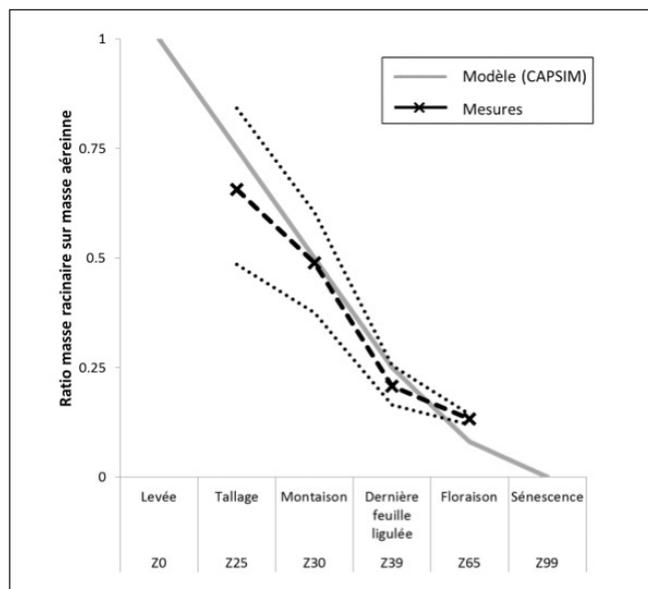


Figure 2 : Dynamique du rapport masse racinaire sur masse aérienne obtenu avec le minirhizotron. Ce rapport R:S est représenté (x) aux stades tallage (Z25), montaison (Z30), dernière feuille ligulée (Z39) et floraison (Z65), avec son intervalle de confiance à 95% (lignes pointillées). La ligne grise continue est le rapport R:S utilisé pour modéliser la croissance du blé dans le modèle APSIM. Les biomasses racinaires résultent de la somme des deux techniques d'échantillonnage différentes, c'est-à-dire l'échantillonnage à la tarière et au minirhizotron. Les valeurs moyennes du rapport R:S aux stades tallage (Z25), montaison (Z30), dernière feuille ligulée (Z39) et floraison (Z65) sont 0.66 ± 0.17 , 0.49 ± 0.11 , 0.21 ± 0.05 et 0.13 ± 0.02 .

Les estimations de masses racinaires obtenues via des prélèvements destructifs sur les horizons 10-20 cm et 30-40 cm, couplées à des mesures issues des minirhizotrons, conduisent à des valeurs de R:S dans la gamme des observations précédentes (Chaudhuri *et al.*, 1990, Li *et al.*, 2001, Allard *et al.*, 2013) Conditions de croissance. De plus, l'évolution avec le temps de ce rapport R:S est cohérente avec celle utilisée en modélisation de la croissance des grandes cultures (Keating *et al.*, 2003) (Figure 2). Cependant, la SRL n'étant en réalité pas constante parmi les cultivars, et variable selon les conditions de culture (Løes et Gahoonia, 2004; Nakhforoosh *et al.*, 2014), les valeurs de R:S ne sont que des estimations.

Toutefois, les minirhizotrons permettent des répétitions d'échantillonnage sans destruction apparente sur le terrain, donnant ainsi accès à une dynamique fine, à la vitesse d'enracinement ou à la sénescence après la floraison. De plus, son grand volume de la zone d'échantillonnage lui confère une précision relativement élevée.

Plasticité des systèmes racinaires face aux stress hydriques et azotés

Les profils de densité de longueur de racines vues au minirhizotron du cultivar Apache dans les traitements I⁺N⁺, I⁻N⁺ et I⁻N⁻, aux stades tallage (Z25), montaison (Z30), dernière feuille ligulée (Z39) et floraison (Z65) sont présentés Figure 3. A floraison, comparé au traitement I⁺N⁺, les traitements I⁺N⁻ et I⁻N⁻ donnent des valeurs plus élevées de densité de longueur de racines dans les couches profondes du sol (> 60 cm). Par ailleurs, les profils en I⁺N⁺ obtenus à floraison présentent un maximum de densité racinaire à 88 cm de profondeur puis une diminution, alors que les profils en I⁻N⁻ montrent une augmentation continue sur la toute longueur des tubes minirhizotrons.

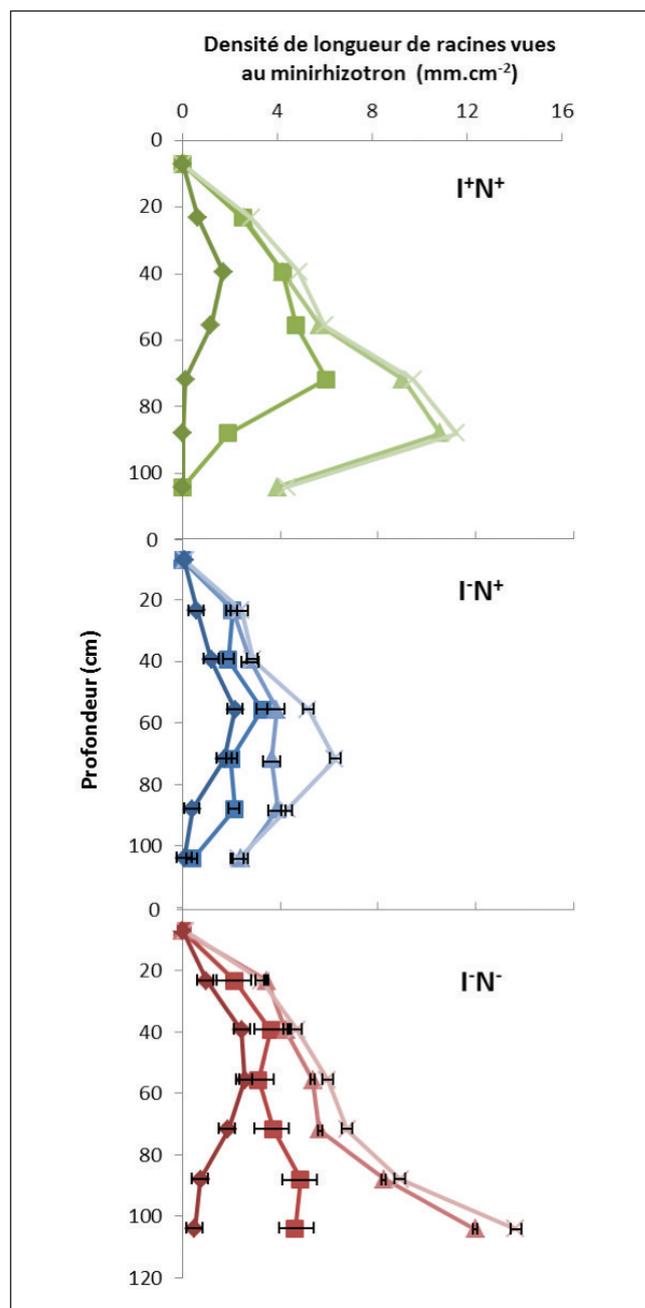


Figure 3 : Profils de densité racinaire mesurés par les minirhizotrons installés dans les parcelles du cultivar de blé tendre Apache, dans les conditions I⁺N⁺, I⁻N⁺ et I⁻N⁻, à différents stades développements. Du plus foncé au plus clair : stades tallage (Z25, ?), montaison (Z30, ?), dernière feuille ligulée (Z39, ?) et floraison (Z65, x). Les stress hydriques ont eu lieu début d'avril (montaison, Z30), alors que la carence en azote a pris place dès le début janvier (tallage, Z25).

Les deux autres cultivars (Nogal et Hystar) ont été mesurés dans les conditions les plus contrastées (i.e. I+N⁺ et I-N⁻). Les profils racinaires de ces deux cultivars sont comparés à ceux d'Apache et de Miradoux dans la Figure 4 en conditions multi-stressées (I-N⁻). Le cultivar Hystar - un blé hybride de blé d'ascendance Apache - présente un profil d'enracinement similaire à celui du cultivar Apache dans les conditions les plus contrastées (i.e. I+N⁺ et I-N⁻). A l'inverse, le cultivar Nogal - un blé synthétique - présente deux types d'enracinements différents : un semblable à celui du cultivar de blé tendre Apache en I+N⁺, alors qu'en I-N⁻ plus proche du cultivar de blé dur Miradoux.

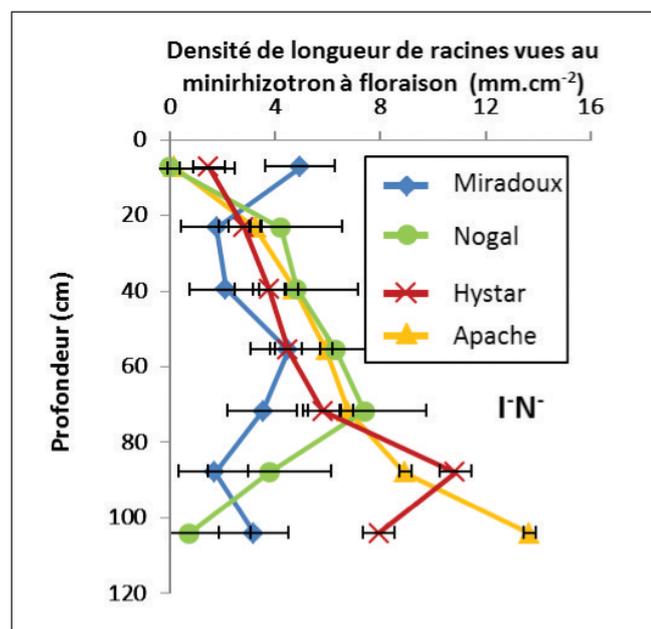


Figure 4 : Comparaison des profils de densité racinaires mesurés par les minirhizotrons à floraison (Z65) en moyenne pour chaque cultivar dans des conditions stressantes (I-N⁻). On trouve des similitudes dans les profils d'enracinement des cultivars Apache et Hystar et des cultivars Miradoux et Nogal. On peut établir un parallèle avec leur rendement, les rendements les plus élevés étant obtenus par les cultivars Apache et Hystar (7,17 t.ha⁻¹, 7,65 t.ha⁻¹), des rendements les plus faibles étant obtenus par les cultivars Miradoux et Nogal (5,79 t.ha⁻¹, 6,06 t.ha⁻¹).

La croissance des systèmes racinaires mesurée avec les minirhizotrons a suivi la dynamique attendue, les différences dans les profils racinaires apparaissant lors de la différenciation des conditions de culture, autrement dit au début du stress azoté, apparu au stade montaison (Z30). Les mesures racinaires obtenues par minirhizotron ont montré qu'à floraison, les systèmes racinaires étaient plus profonds en I-N⁻ qu'en I+N⁺, ce qui est l'effet opposé de la combinaison d'un stress hydrique et azoté permanent (Barraclough *et al.*, 1989).

Corrélation entre mesures racinaires et les rendements

En dépit des biais dans l'estimation du système racinaire dans les horizons superficiels, nous avons observé qu'à floraison, la densité racinaire moyenne mesurée tout le long du tube possède un impact important sur le rendement ($r^2 = 0,48$, Figure 5) tout traitement considéré. De plus, une relation similaire a été observée sur des cultures de blé avec la même gamme de rendement (5-11 t.ha⁻¹), avec un coefficient de détermination similaire ($r^2 = 0,56$) (Barraclough et Leigh, 1984) - les mesures racinaires obtenues à l'aide de prélèvements destructifs - confirmant l'intérêt des mesures minirhizotrons face aux prélèvements destructifs classiques.

La pertinence de ces mesures minirhizotrons à floraison est différente selon les conditions hydriques. En effet, nous avons observé que la densité racinaire moyenne est en corrélation avec le

rendement en conditions pluviales ($r^2 = 0,41$), alors qu'elle ne montre aucun effet sur le rendement en conditions irriguées ($r^2 = 0,00$). De plus, il apparaît que la masse racinaire sèche totale des profils (combinaison entre les prélèvements superficiels et les mesures minirhizotrons) ne corrèle pas avec le rendement ($r^2 = 0,012$ et $r^2 = 0,11$ en conditions irriguées et pluviales). Ceci illustre le poids important de la colonisation des horizons profonds par les systèmes racinaires sur le rendement en cas de sécheresse tardive.

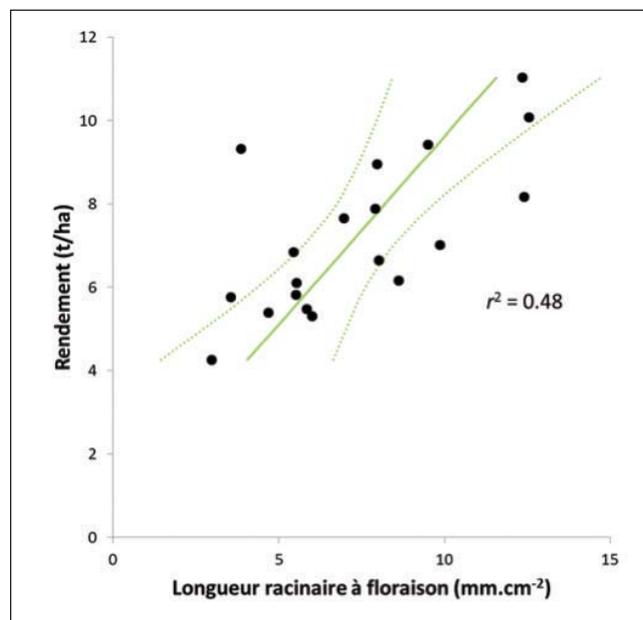


Figure 5 : Corrélation entre le rendement (t.ha⁻¹) et la densité longueur racinaire totale (mm.cm⁻²) à floraison (Z65), tout cultivar et traitement confondu. La droite de régression, son intervalle de confiance de 95% et le coefficient de détermination sont présentés pour les tubes minirhizotron suffisamment profonds (profondeur > 40cm, n = 19).

De plus, il est intéressant de noter que, dans les conditions pluviales, la biomasse des parties aériennes et le rendement ne sont pas corrélés, contrairement aux conditions irriguées. De façon similaire, dans les conditions pluviales, la masse des racines ne corrèle pas la biomasse aérienne - à l'opposé de ce qui est observé en conditions irriguées. Ainsi, dans nos conditions de pluviométrie, la biomasse aérienne à floraison ne donnait pas d'indications sur le futur rendement obtenu, ni sur la tolérance des cultivars à la sécheresse.

Cependant, étant donné que la technique n'est pas fiable dans les horizons superficiels, les résultats ne sont applicables que sur des sols profonds. Même si l'échantillonnage destructif à la tarière compense ce biais de surface, la quantification de l'augmentation des densités de racines peu profondes (Kmoch *et al.*, 1957, Herrera *et al.*, 2007) reste inaccessible aux minirhizotrons.

Cependant, même si les traits des plants de blé à floraison donnent des indications sur les futurs rendements à la récolte, la dynamique de sénescence des différents organes du blé post-floraison a une grande influence sur le rendement (Passioura, 1977). Néanmoins, cette technique permet d'évaluer les stratégies d'enracinement, ce qui en fait un outil précieux pour la comparaison des cultivars et pour l'amélioration des modèles d'enracinement.

Impact des plasticités variétales observées sur le rendement

- 1) Rendements supérieurs en conditions multi-stressées qu'en conditions de stress hydrique seul

L'eau a été le principal facteur limitant, car les écarts de rendement (ΔGY) attribuables aux différents traitements

d'irrigation étaient plus importants que les écarts dus aux traitements par l'azote (Tableau 1). Néanmoins, la combinaison d'un stress azoté et hydrique apparaissant successivement a effectivement produit un effet positif sur les rendements, les rendements en I⁺N⁺ ont été plus élevés que les rendements en I⁻N⁺. Les contraintes dues à la limitation de l'eau se sont produites au début d'avril, alors que la carence en azote a pris place au début de janvier, contrastant avec les rendements obtenus par une sécheresse permanente et sévère associée à une carence en azote (Barraclough *et al. et al.*, 1989).

Traitement	Génotype	GY (t.ha ⁻¹)	SDM (t.ha ⁻¹)	RDM (t.ha ⁻¹)	R:S (-)
I ⁺ N ⁺	Miradoux	8.79	10.53	1.56	0.15
	Apache	9.04	10.85	1.24	0.11
	Hystar	10.33	11.84	1.67	0.14
	Nogal	9.12	11.02	1.48	0.13
Moyenne I ⁺ N ⁺		9.32	11.06	1.49	0.13
ETR/EC I ⁺ N ⁺		0.44	1.23	0.18	0.05
I ⁺ N ⁻	Miradoux	7.12	8.22	0.88	0.11
	Apache	8.31	8.21	0.96	0.12
	Hystar	9.87	9.75	0.91	0.09
	Nogal	7.34	8.32	1.08	0.13
Moyenne I ⁺ N ⁻		8.16	8.62	0.96	0.11
ETR/EC I ⁺ N ⁻		0.57	1.05	0.12	0.02
I ⁻ N ⁺	Miradoux	4.91	8.30	1.13	0.14
	Apache	5.19	8.89	1.10	0.11
	Hystar	6.26	9.24	1.05	0.11
	Nogal	6.14	9.25	0.80	0.09
Moyenne I ⁻ N ⁺		5.62	9.17	1.02	0.11
ETR/EC I ⁻ N ⁺		0.52	0.72	0.14	0.02
I ⁻ N ⁻	Miradoux	5.79	7.50	0.91	0.12
	Apache	7.17	9.06	1.39	0.15
	Hystar	7.65	8.26	1.29	0.16
	Nogal	6.06	8.42	1.25	0.15
Moyenne I ⁻ N ⁻		6.67	8.31	1.21	0.14
ETR/EC I ⁻ N ⁻		0.47	1.00	0.36	0.04

Tableau 1 : Effet des traitements sur les variables racinaires et aériennes à floraison. Le tableau montre les valeurs des moyennes par parcelle de la masse sèche aérienne (SDM, t.ha⁻¹), la masse racinaire sèche (RDM, t.ha⁻¹) et le rapport masse racinaire/aérienne (R:S, sans dimension) et du rendement (GY, t.ha⁻¹) à la récolte. L'écart type résiduel (ETR) des rendements et les écarts types (EC) de la masse sèche aérienne, de la masse racinaire sèche, du rapport masse racinaire/aérienne est donné par modalité (tout cultivar confondu).

Cet effet contre-intuitif des conditions multi-stressées n'est pas lié à une mauvaise évaluation de l'apport en azote (Sharma et Chaudhary, 1983), d'après les indices de nutrition azotés (INN) - les INN des parcelles N⁻ était 0,70 alors que INN des parcelles N⁺ était de 1,03 - , même si en conditions pluviales les parties aériennes affichent une teneur nettement plus faible en azote.

De plus, les écarts de rendement (Δ GY) entre les conditions multi-stressées (I⁻N⁻) et optimales (I⁺N⁺) étaient plus faibles pour le cultivar de blé tendre que pour le cultivar de blé dur (Δ GY = 1,87 t.ha⁻¹ et Δ GY = 3 t.ha⁻¹, pour les cultivars Miradoux et Apache), ce qui illustre une meilleure adaptation des cultivars de blé tendre à une combinaison d'un stress azoté constant et d'une sécheresse tardive.

2) Variation variétale de la plasticité du système racinaire

Parallèlement à ces écarts de rendement, il apparaît que le cultivar de blé dur et le cultivar de blé tendre présentent deux profils d'enracinement différents, notamment dans des conditions de culture sous-optimales. Dans ces conditions multi-stressées (I⁻N⁻), le cultivar de blé tendre (Apache) présente un système racinaire profond, tandis que le système racinaire du cultivar de blé dur

(Miradoux) est plus superficiel (Figure 6). La densité racinaire du cultivar de blé tendre ne diminue avant le fond des tubes de minirhizotron, contrairement aux systèmes de racines de blé dur qui présente une diminution significative (Figure 6)

Ainsi, ce système racinaire plus profond a procuré une plus grande tolérance à la sécheresse en augmentant la capacité à capturer l'eau située dans les horizons profonds du sol (Lopes et Reynolds, 2010), et finalement, les rendements du cultivar Apache sont supérieurs à ceux de Miradoux dans ces conditions multi-stressées.

Les profils densités racinaires semblent être dépendants des cultivars, et un parallèle peut être établi entre les rendements des cultivars en conditions multi-stressées et l'architecture racinaire vue par minirhizotrons, illustré par la Figure 4. Le cultivar Hystar - cultivar hybride d'Apache - présente une architecture racinaire similaire à celui du cultivar Apache en conditions optimales (I⁺N⁺, non présenté) et en conditions multi-stressées (I⁻N⁻, Figure 4), dénotant les mêmes traits de résistance à la sécheresse qu'Apache (Δ GY = 1,87 t.ha⁻¹ et Δ GY = 3 t.ha⁻¹, pour les cultivars Apache et Miradoux).

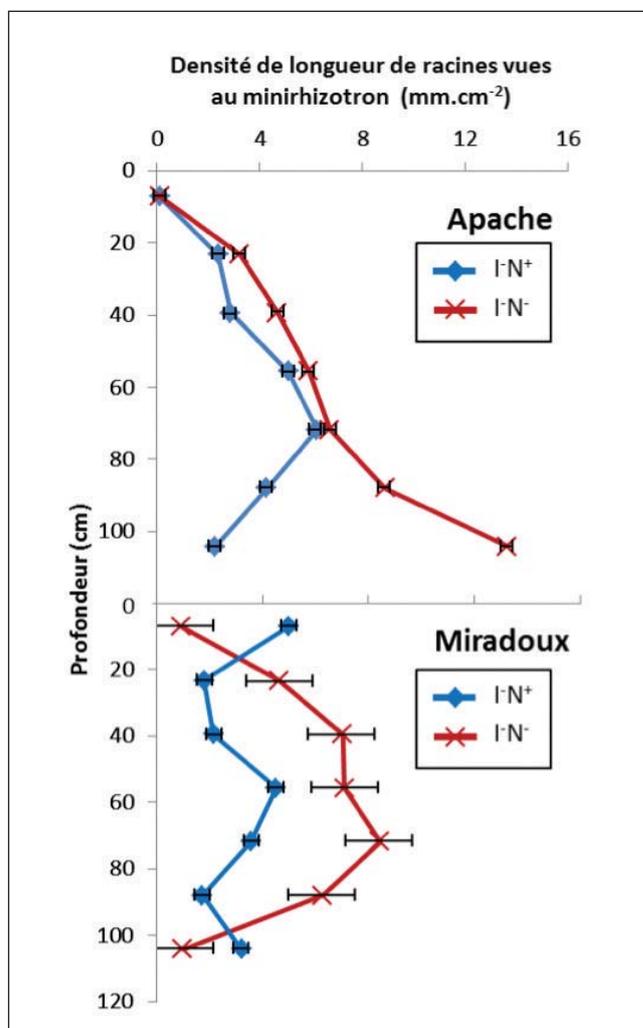


Figure 6 : Comparaison des profils d'enracinement des cultivars de blé dur Miradoux et de blé tendre Apache en conditions pluviales (I⁺N⁺ en bleu, et I⁻N⁻ en rouge) à floraison (Z65). En conditions de stress azoté (courbe rouge), le système racinaire de la variété Apache est bien plus développé en profondeur que sa contrepartie subissant uniquement un stress hydrique. Cette différence de profil d'enracinement est nettement moins prononcée pour le cultivar de blé dur Miradoux. L'écart de rendement (GY) entre (I⁺N⁺ et I⁻N⁻) pour Apache est de 3 t.ha⁻¹, supérieur à celui de Miradoux (1,87 t.ha⁻¹).

A l'inverse, une relation plus complexe lie le cultivar de blé synthétique et le cultivar de blé dur (Nogal et Miradoux). Le cultivar synthétique Nogal présente la même architecture racinaire que le cultivar de blé tendre Apache en conditions optimales (I+N⁺), alors que leurs architectures racinaires en conditions multi-stressées (I-N) sont comparables.

Les génotypes de blés hexaploïdes synthétiques, développés pour accroître la variabilité génétique du blé, n'ont pas été spécifiquement testés pour la tolérance au stress (Pradhan *et al.*, 2012). En conséquence, l'architecture racinaire du cultivar Nogal pourrait ne pas être adaptée à des conditions sous-optimales, contrairement à celles des cultivars de blé tendre.

► Estimations racinaires non invasives

Optimisation de la méthode électrique en conditions contrôlées

Le but de cette étape en conditions contrôlées est d'améliorer les estimations de biomasses racinaires dans des conditions plus proches du champ en utilisant des sols réels au lieu de cultures hydroponiques - publié dans Postic & Doussan (2016).

1) Effet de la fréquence du signal sur la qualité d'estimation de masse racinaire

Les coefficients de détermination tirés des corrélations linéaires entre la masse racinaire sèche et la capacité parallèle (C) sont représentés sur la Figure 7 en fonction de la fréquence du signal électrique. Cette corrélation varie selon la fréquence dans les 3 classes texturales de sols utilisés. En moyenne pour les 3 types de sols, le coefficient de détermination maximal ($p < 0,01$), tout sol confondu, entre la masse racinaire sèche et C est égal à $r^2 = 0,787$ et se produit à une fréquence de 116 Hz. Dans cette configuration, la relation masse racinaire sèche (RDM, en g) avec C (en nF) est : $C = 4.2 \times RDM + 0.37$

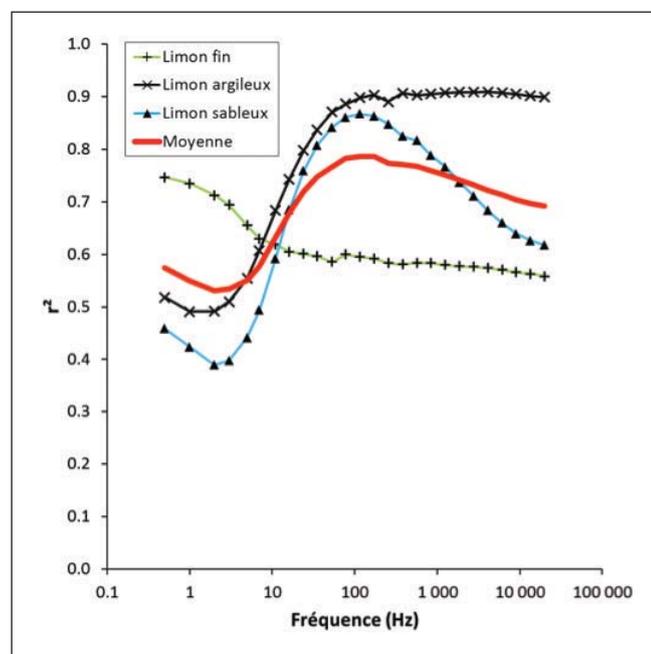


Figure 7 : Coefficient de détermination (r^2) entre la masse racinaire sèche et la capacité électrique, en fonction de la fréquence. Le tracé semi-logarithmique a été obtenu à partir de mesures en configuration 3 électrodes (3T), sur une plage de fréquences de 0,5 à 20 000 Hz (en échelle logarithmique). Les plantes ont été cultivées dans des limons fins (+), des limons (x) et des limons sableux (? I'N). La ligne rouge représente la moyenne des trois types de sols. La fréquence optimale pour le sol moyen est de 116 Hz.

Ce travail montre que la précision des variables électriques utilisées pour prédire la biomasse dépend de la fréquence. Les meilleures estimations ont été obtenues dans une plage de fréquences spécifique, en utilisant la capacité parallèle comme approximation de l'estimateur de la biomasse.

2) Effet du type d'électrode utilisé : pince vs aiguille

Les pinces étant moins destructrices et plus praticables que les aiguilles, leur utilisation en tant qu'électrode de contact à la plante est préférable, à condition qu'elles ne biaisent pas les mesures capacité électrique.

Les différences relatives moyennes de la capacité parallèle ΔC , entre les mesures obtenues à l'aide d'une aiguille et d'une pince, tendent à augmenter avec la fréquence du signal électrique. En configuration 2T, la différence relative n'était pas statistiquement significative ($p\text{-value} > 0,01$) dans la plage de fréquences de 0,5 Hz à 13458 Hz. La même chose s'est produite pour les configurations 3T et 4T, mais dans la gamme de fréquences plus étroite de 0,5 Hz à 381 Hz.

Ainsi l'utilisation de pinces apparaît préférable pour les estimations de masse racinaires via la capacité électrique, en dehors des plages de fréquences plus élevées, où les mesures d'aiguille et de pince peuvent présenter des écarts.

3) Effet du nombre d'électrodes utilisées

Selon le nombre d'électrodes utilisées, les mesures peuvent être biaisées de différentes manières. Par exemple, avec 2 électrodes (2T), les mesures sont biaisées par des impédances dites de contact. A l'opposée, la configuration avec 4 électrodes (4T) est connue pour être plus fiable, et est utilisée dans l'électronique de précision. Elle élimine l'impédance de contact et permet des mesures précises de l'impédance. La configuration avec 3 électrodes (3T) est une configuration intermédiaire, où seule l'impédance de contact de l'électrode de la centrale est impliquée.

Nos mesures en (3T) présentent les meilleures valeurs de r^2 , tandis que les mesures de 2 électrodes ont des valeurs de r^2 légèrement plus faibles. La configuration 4T affiche la pire qualité d'estimation de la masse racinaire, avec $r^2 < 0,5$. Les mauvaises qualités d'estimations de la masse sèche racinaire en configuration 4T sont probablement dues à des problèmes de positions des électrodes sur la plante. En effet, il a été montré que la capacité mesurée est très sensible à la position de l'électrode sur la tige (Chloupek, 1972, Chloupek *et al.*, 2010], en particulier pour l'électrode située près de la base de la tige. Nos mesures en 4T impliquaient un contact de l'électrode très proche de la base de la tige (quelques mm). Ainsi, un petit écart sur la position de l'électrode située à la base de la tige pourrait impliquer une grande différence dans la capacité mesurée.

Domaine d'application de la méthode électrique en conditions au champ

Le but de cette étape au champ est de tester la validité des mesures électriques et de juger du meilleur proxy de masse racinaire à utiliser selon les différents stades et conditions de sol.

1) Estimations de masse racinaire sur de jeunes plants de maïs au champ

La relation linéaire entre capacité électrique et masse racinaire mesurées sur des jeunes plants de maïs est illustrée par la Figure 8. La teneur en eau du sol au moment des mesures était relativement élevée avec humidité gravimétrique moyenne de $0,25 \text{ g.g}^{-1}$. La masse racinaire sèche moyenne était de $0,70 \text{ g}$, avec un écart type (SD) de $0,31 \text{ g}$. Une corrélation forte a été obtenue ($R^2 = 0,69$) entre la masse racinaire sèche et la capacité électrique (C).

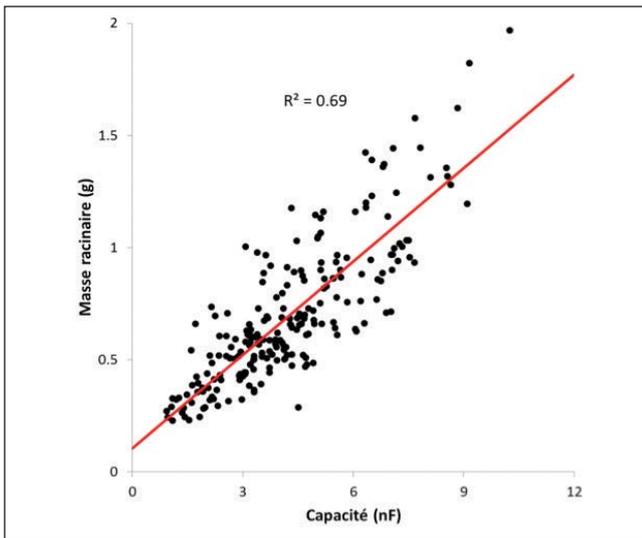


Figure 8 : Corrélation entre masse racinaire sèche et capacité électrique, in situ sur plants de maïs au stade 6-8 feuilles dans des conditions de sol humide. La régression linéaire est représentée par la ligne rouge et son coefficient de détermination R^2 est présenté. Au cours des expériences, la teneur en eau du sol gravimétrique était de $0,25 \text{ g.g}^{-1}$.

Il semble qu'une humidité élevée du sol couplée à un stade de développement précoce de la plante forment les meilleures conditions pour obtenir une relation significative. Il a été récemment montré que, dans ces conditions (humide du sol), la capacité électrique mesurée est plus déterminée par la section transversale de la racine ou de la tige à la surface du sol que par les tissus racinaires sous la surface (Dietrich *et al.*, 2012). La relation entre la capacité et la biomasse racinaire découlerait alors de la relation allométrique entre la section de la tige et la masse de la plante.

2) Qualité de la capacité électrique pour l'estimation racinaire sur des plants de blé en fonction du stade de développement

Les coefficients de détermination R^2 pour chaque condition, pour les différents compartiments de profondeur de la masse racinaire (masse totale, profonde et superficielle) sont présentés dans le Tableau 2 pour chaque stade de développement donné. Le coefficient de détermination r^2 entre la capacité et la masse racinaire sèche des plants de blé à chaque étape de croissance est représenté Figure 9b.

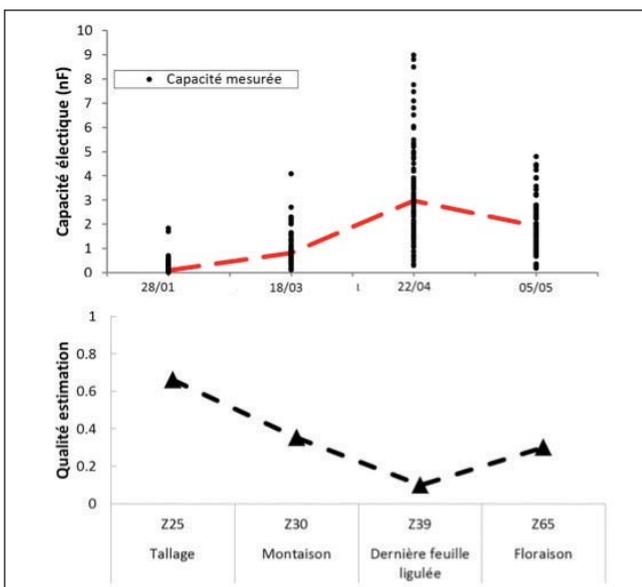


Figure 9 : Variation et performance in situ de la capacité pour l'estimation de la masse racinaire sèche durant la période de culture du

blé. (A) Evolution temporelle des capacités mesurées sur les plantes (C, en Farad) de chaque parcelle expérimentale (points), la ligne pointillée représentant la valeur médiane à chaque date d'échantillonnage, correspondant à 4 stades de développement contrastés. Les valeurs médianes (et l'écart-type) de C sont de 0,11 (0,4), 0,81 (0,75), 2,97 (2,27) et 1,92 (1,11) nF, aux stades tallage (Z25), à montaison (Z30), dernière feuille ligulée (Z39) et floraison (Z65). (B) Les données utilisées pour la régression comprennent les parcelles irriguées et pluviales (la sécheresse ayant débutée au stade Z39). Les changements dans le coefficient de détermination R^2 (triangles noirs pleins) montrent que de bonnes estimations de la masse des racines sont produites dans les premiers stades de développement, avant la sécheresse (Z25 et Z30), alors que de mauvaises estimations sont produites pendant la période sèche (stades Z39 et Z65).

Traitement	Variable	Stade	Coefficient de détermination r^2		
			Masse racinaire totale	Masse racinaire superficielle	Masse racinaire profonde
Irrigué	C	Z25	0.86	0.86	0.72
		Z30	0.83	0.83	0.44
		Z39	0.19	0.27	0.34
		Z65	0.36	0.17	0.31
	X	Z25	0.79	0.84	0.69
		Z30	0.78	0.78	0.54
		Z39	0.12	0.34	0.25
Pluvial	C	Z25	0.34	0.20	0.91
		Z30	0.54	0.53	0.32
		Z39	0.28	0.32	0.08
		Z65	0.18	0.37	0.07
	X	Z25	0.65	0.47	0.86
		Z30	0.89	0.89	0.23
		Z39	0.35	0.39	0.14
Tout	C	Z25	0.66	0.64	0.56
		Z30	0.35	0.35	0.21
		Z39	0.10	0.29	0.05
		Z65	0.30	0.14	0.17
	X	Z25	0.39	0.32	0.65
		Z30	0.31	0.31	0.27
		Z39	0.32	0.33	0.09
Z65	0.17	0.38	0.08		

Tableau 2 : Performances in situ de la capacité parallèle (C) et de la réactance (X) dans l'estimation de la masse racinaire totale, superficielle et profonde. Le coefficient de détermination r^2 a été calculé pour chaque stade de développement, pour les différents compartiments racinaires (masse totale, profonde et superficielle).

La capacité électrique semble être un outil peu efficace pour surveiller le développement in situ des racines dans des conditions de sol hétérogènes. En effet, la qualité d'estimation (le coefficient de corrélation R^2) de masses racinaires avec les mesures de capacité varie sur la période de culture (Figure 9b), diminuant après Z30, jusqu'à atteindre des niveaux de corrélation non significatifs ($r^2 = 0,10$ à Z39 et $r^2 = 0,30$ à Z65). De plus, la tendance suivie par les mesures de capacité aux stades de croissance entre Z39 et Z65 (Figure 9a) ne correspond pas à la tendance générale de la croissance de la masse racinaire. Ainsi, une comparaison directe entre les mesures électriques effectuées à différents stades de développement de la plante peut ne pas conduire à des estimations fiables de changement de masse de racine.

3) Variable électrique et conditions d'humidité du sol à considérer au stade reproductif

À floraison, La masse de la racine a été mieux détectée par les mesures de réactance que celles de capacité (Tableau 2). Cette estimation de la masse des racines a été renforcée par la faible teneur en eau du sol dans les conditions pluviales, laissant les

racines superficielles dans un sol électriquement résistif. En outre, à mesure que le déficit hydrique augmentait, la performance de la réactance comme estimateur de la masse racinaire superficielle a augmenté (Tableau 2, augmentation entre Z39 et Z65). En revanche, dans les conditions irriguées, ses performances d'estimation de la réactance étaient plus faibles, en raison de la conductivité électrique du sol élevée.

Ces observations impliquent que la conductivité des tissus des racines est plus élevée que la conductivité d'un sol sec. Une différence suffisante entre les conductivités du sol et des tissus racinaires pourrait expliquer une telle corrélation.

L'utilisation de la réactance comme proxy de masse racinaire repose sur l'hypothèse que le diamètre des racines ne varie pas significativement. Dans les cultures de blé, la section moyenne des racines est peu variable avec la profondeur (Fan *et al.*, 2016) et sa variance reste faible (Munoz-Romero *et al.*, 2010). Ainsi, dans ce cas de faible variance du diamètre de la racine, la réactance reste une approximation fiable de la masse racinaire située dans un sol faiblement conducteur.

4) Implications pour l'estimation racinaire en conditions contrôlée et au champ

Le stade de développement semble être un facteur dominant dans la précision de la capacité électrique en tant qu'estimateur de masse racinaire au champ. Nos expériences montrent que les masses racinaires des blés mesurées avant Z39 était fortement corrélée à C. La teneur en eau du sol était le deuxième facteur principal dans la précision de l'estimation. Dans nos expériences, les mesures aux stades précoces ont été effectuées dans des sols humides, alors que les mesures ultérieures ont été effectuées dans des sols secs, notamment les horizons supérieurs.

Par conséquent, la conception d'une campagne de mesures électriques doit tenir compte du stade de développement et de la teneur en eau du sol. En conditions contrôlées, pendant les premiers stades de développement encore représentatifs des conditions in situ, et pendant que les relations allométriques sont prédominantes, il semble que la capacité électrique puisse être utilisée comme estimateur de masses racinaires, uniquement en sols humides. In situ, lorsque les stades de développements plus avancés sont accessibles, les relations allométriques impliquant la masse racinaire peuvent différer selon le traitement appliqué. Ainsi, si des conditions de sol sec peuvent être atteintes dans les horizons supérieurs du sol, la réactance pourrait fournir une précieuse estimation de la masse de racines peu profondes.

Néanmoins, il apparaît que ce type de méthode électrique, en utilisant cette fois-ci la réactance comme proxy de la masse racinaire, serait applicable dans des conditions de sécheresse. Cela constituerait un outil précieux pour la sélection de cultures en cas de résistance à la sécheresse, applicable aux études sur les abris de pluie pour simuler la sécheresse ou les régions touchées par la sécheresse dans le monde telles que les régions méditerranéennes et les régions tropicales semi-arides.

5) Utilisation de la réactance en tant que proxy de la masse racinaire en sélection variétale

L'échantillonnage de biomasse racinaire par prélèvements étant lui-même sujet à une certaine variabilité, la puissance d'estimation de la biomasse racinaire à partir de la réactance pourrait être en réalité plus grande. En utilisant la réactance en tant que proxy de la biomasse racinaire, nous pouvons évaluer la pertinence de son utilisation en conditions pluviales ou irriguées, et nous pouvons juger de la quantité de répliques à effectuer pour discriminer des effets liés aux génotypes ou aux traitements de fertilisation.

En supposant que la distribution des valeurs de réactance dans une parcelle suive une distribution normale, on constate que les données permettent de déterminer un effet de la variété sur la réactance uniquement en pluvial (Tableau 3). Ceci indique que la variance des mesures est suffisamment faible pour distinguer au moins deux groupes parmi les variétés. Dans notre cas seul Apache obtient des mesures statistiquement différentes des trois autres variétés. En extrapolant les résultats pour un nombre plus grand d'échantillons, qui suivent la même distribution statistique que nos mesures expérimentales, il est possible d'évaluer l'effet de l'augmentation du nombre de mesures par parcelle sur la possibilité de distinguer des génotypes (Tableau 3).

Traitement		Nombre de mesures n par parcelle					
		6†	6	9	12	16	21
Source de la variance	Génotype	NS	NS	.	.	*	*
	Fertilisation	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	Irrigation	**	**	***	***	***	***
	G×N	NS	.	*	**	**	***
	G×I	.	**	**	**	***	***
	N×I	*	.	.	*	*	**
	G×N×I	NS	NS	*	**	**	**
Conditions irriguées	Génotype	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	Fertilisation	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	G×N	.	*	**	***	***	***
Conditions pluviales	Génotype	*	**	***	***	***	***
	Fertilisation	*	.	.	.	*	**
	G×N	NS	NS	NS	NS	NS	NS
NS	non significatif						
.	p < 0.1						
*	p < 0.05						
**	p < 0.01						
***	p < 0.001						
†	Mesures in situ						

Tableau 3 : Analyse de variance ANOVA de l'effet du génotype (G), de la fertilisation azotée (N) et de l'irrigation (I) sur la réactance échantillonnée au champ (†) et sur des échantillons simulés. La population de mesures de réactance simulées suit une distribution normale ayant pour moyenne et écart type celle de la population mesurée au champ. Les résultats présentés sont des moyennes sur 100 tirages aléatoires.

À floraison, la réactance est un estimateur de la biomasse, uniquement en conditions de sol peu humide. En effet, en conditions irriguées, nous constatons une absence d'effets significatifs du génotype ou de la fertilisation sur les mesures de réactance. Dans ces conditions irriguées, il est alors impossible d'estimer des valeurs de réactance spécifiques à des génotypes, empêchant toute forme de sélection avec un critère basé sur la réactance.

En effet, l'apport d'azote induit une augmentation de la masse racinaire superficielle, et devrait avoir un effet significatif sur les mesures de réactance - celle-ci étant un estimateur de la biomasse racinaire des couches superficielles du sol. En conditions pluviales, nous constatons un effet significatif de l'azote sur nos mesures de réactance, issues de 6 mesures par situation. D'après nos tirages aléatoires en conditions pluviales, un effet significatif de l'azote serait mesurable à partir de 16 échantillons. Afin de réduire la source inexpliquée de la variance des mesures, il faut améliorer la corrélation entre réactance et masse racinaire. Celle-ci est dominée par le contraste électrique sol-racine, qui dépend principalement de l'humidité du sol.

► Conclusions

1) Estimations invasives : Minirhizotrons

Bien que les minirhizotrons soient des outils invasifs, ils permettent un suivi direct des dynamiques de croissance des systèmes racinaires. Ils nous ont ainsi permis de mettre en évidence la réaction du système racinaire du blé en condition de faible apport en azote, à l'aide de suivis de croissance dans des situations de cultures contrastées.

Les expériences menées sur le site expérimental de Gréoux-Bains durant la saison 2014-2015 montrent un résultat étonnant concernant les rendements : les rendements en conditions de stress hydrique seul sont inférieurs à ceux obtenus s'il y a à la fois stress hydrique et azoté. À travers les données racinaires fournies par les minirhizotrons, il apparaît que l'apparition d'un stress de fertilisation azoté pendant la période végétative peut induire, suivant les variétés, la mise en place d'un système racinaire colonisant plus la profondeur. La distribution des racines, notamment celle des racines profondes, semble être liée à la capacité des plantes à résister à la sécheresse. Ce type de phénomène a pu être quantifié et mesuré grâce à l'aspect non destructif de cette méthode.

Cependant plusieurs limites techniques freinent l'emploi à grande échelle des minirhizotrons modernes de type scanner pour du phénotypage. Ces limites sont de différents ordres : la pose des tubes, l'acquisition des images, le traitement des images. Ce dernier est le goulet d'étranglement majeur à un tel emploi. Les défis posés par le traitement des images issues des scans des tubes ne sont pas encore résolus. Le défi principal

réside en la présence d'éléments du sol, ayant des teintes et des diamètres similaires à ceux des racines, qui sont détectés à tort comme des racines, engendrant des faux positifs. Les tracés effectués sur nos nombreuses images (environ 1000 images) peuvent servir de base d'apprentissage afin d'ajuster les paramètres d'algorithmes de traitement créés par le chercheur (apprentissage statistique) ou ceux d'algorithmes d'apprentissage automatique (apprentissage profond).

2) Estimations racinaires non invasives : Mesures d'impédances électriques

Les méthodes basées sur les propriétés électriques des plantes ont l'avantage d'être non-invasives et non destructives, mais la fiabilité de ces mesures et des théories sous-jacentes sont mises en question. D'après nos expériences in situ et de récentes études, la capacité électrique ne serait pas un estimateur direct de la biomasse de racine, mais reposerait plutôt sur une relation allométrique entre la section de la base de la tige et la masse du système racinaire. Dans ce cas, la relation allométrique reliant la capacité électrique à la biomasse racinaire semble être variable in situ, en particulier une fois le stade végétatif dépassé.

Toutefois, en exploitant la théorie formulée par Dietrich (2012) nous montrons que la réactance pourrait être un estimateur de la biomasse racinaire, principalement dans les couches superficielles du sol, lorsque l'humidité du sol est faible, et que le diamètre des racines a une assez faible variance. De plus, les analyses de variances indiquent que la variabilité intra-cultivar de la réactance est suffisamment faible pour que l'on puisse identifier des effets liés au génotype.

Références bibliographiques

- Alexandratos N, Bruinsma J.** (2012). World agriculture towards 2030/2050: the (2012) revision. ESA Working paper Rome, FAO.
- Allard V, Martre P, Le Gouis J.** (2013). Genetic variability in biomass allocation to roots in wheat is mainly related to crop tillering dynamics and nitrogen status. *European Journal of Agronomy* **46**, 68-76.
- Aulen M, Shipley B.** (2012). Non-destructive estimation of root mass using electrical capacitance on ten herbaceous species. *Plant and Soil* **355**, 41-49.
- Barracough PB, Kuhlmann H, Weir AH.** (1989). The Effects of Prolonged Drought and Nitrogen Fertilizer on Root and Shoot Growth and Water Uptake by Winter Wheat. *Journal of Agronomy and Crop Science* **163**, 352-360.
- Barracough PB, Leigh RA.** (1984). The growth and activity of winter wheat roots in the field: the effect of sowing date and soil type on root growth of high-yielding crops. *The Journal of Agricultural Science* **103**, 59-74.
- van Beem J, Smith ME, Zobel RW.** (1998). Estimating root mass in maize using a portable capacitance meter. *Agronomy Journal* **90**, 566-570.
- Brisson N, Gate P, Gouache D, Charmet G, Oury F-X, Huard F.** (2010). Why are wheat yields stagnating in Europe? A comprehensive data analysis for France. *Field Crops Research* **119**, 201-212.
- Chaudhuri UN, Kirkham MB, Kanemasu ET.** (1990). Root growth of winter wheat under elevated carbon dioxide and drought. *Crop Science* **30**, 853-857.
- Chloupek O.** (1972). The relationship between electric capacitance and some other parameters of plant roots. *Biologia Plantarum* **14**, 227-230.
- Chloupek O, Dostál V, Stěda T, Psota V, Dvořák O.** (2010). Drought tolerance of barley varieties in relation to their root system size. *Plant Breeding* **129**, 630-636.
- Dalton FN.** (1995). In-situ root extent measurements by electrical capacitance methods. *Plant and Soil* **173**, 157-165.
- Dietrich RC, Bengough AG, Jones HG, White PJ.** (2012). A new physical interpretation of plant root capacitance. *Journal of Experimental Botany* **63**, 6149-6159.
- Dietrich RC, Bengough AG, Jones HG, White PJ.** (2013). Can root electrical capacitance be used to predict root mass in soil? *Annals of Botany* **112**, 457-464.
- Fan J, McConkey B, Wang H, Janzen H.** (2016). Root distribution by depth for temperate agricultural crops. *Field Crops Research* **189**, 68-74.
- Gregory PJ.** 1979. A periscope method for observing root growth and distribution in field soil. *Journal of Experimental Botany* **30**, 205-214.
- Herrera JM, Stamp P, Liedgens M.** (2007). Dynamics of root development of spring wheat genotypes varying in nitrogen use efficiency. *Wheat Production in Stressed Environments*. Springer, 197-201.
- Iglesias A, Garrote L, Quiroga S, Moneo M.** (2012). A regional comparison of the effects of climate change on agricultural crops in Europe. *Climatic Change* **112**, 29-46.
- Judy C, Adrian M, Baussard C, et al.** (2016). RhizoTubes as a new tool for high throughput imaging of plant root development and architecture: test, comparison with pot grown plants and validation. *Plant Methods* **12**.

Références bibliographiques (suite)

- Johnson MG, Tingey DT, Phillips DL, Storm MJ.** (2001). Advancing fine root research with minirhizotrons. *Environmental and Experimental Botany*, 263-289.
- Keating B., Carberry P., Hammer G., et al.** (2003). An overview of APSIM, a model designed for farming systems simulation. *European Journal of Agronomy* **18**, 267-288.
- Kmoch HG, Ramig RE, Fox RL, Koehler FE.** (1957). Root development of winter wheat as influenced by soil moisture and nitrogen fertilization. *Agronomy journal* **49**, 20-26.
- Li F-M, Liu X-L, Li S-Q.** (2001). Effects of early soil water distribution on the dry matter partition between roots and shoots of winter wheat. *Agricultural water management* **49**, 163-171.
- Lilley JM, Kirkegaard JA.** (2011). Benefits of increased soil exploration by wheat roots. *Field Crops Research* **122**, 118-130.
- Lobet G, Pages L, Draye X.** (2011). A Novel Image-Analysis Toolbox Enabling Quantitative Analysis of Root System Architecture. *Plant Physiology* **157**, 29-39.
- Løes A-K, Gahoonia TS.** (2004). Genetic variation in specific root length in Scandinavian wheat and barley accessions. *Euphytica* **137**, 243-249.
- Lopes MS, Reynolds MP.** (2010). Partitioning of assimilates to deeper roots is associated with cooler canopies and increased yield under drought in wheat. *Functional Plant Biology* **37**, 147.
- Justes E, Mary B, Meynard J-M, Machet J-M, Thelier-Huche L.** (1994). Determination of a Critical Nitrogen Dilution Curve for Winter Wheat Crops. *Annals of Botany* **74**, 397-407.
- Manschadi AM, Christopher J, deVoil P, Hammer GL.** (2006). The role of root architectural traits in adaptation of wheat to water-limited environments. *Functional Plant Biology* **33**, 823.
- Manschadi AM, Hammer GL, Christopher JT, deVoil P.** (2008). Genotypic variation in seedling root architectural traits and implications for drought adaptation in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant and Soil* **303**, 115-129.
- Merrill SD, Doering EJ, Reichman GA.** (1987). Application of a minirhizotron with flexible, pressurized walls to a study of corn root growth. *Minirhizotron Observation Tubes: Methods and Applications for Measuring Rhizosphere Dynamics*, 131-143.
- Munoz-Romero V, Benítez-Vega J, López-Bellido L, López-Bellido RJ.** (2010). Monitoring wheat root development in a rainfed vertisol: Tillage effect. *European journal of agronomy* **33**, 182-187.
- Nakhforoosh A, Grausgruber H, Kaul H-P, Bodner G.** (2014). Wheat root diversity and root functional characterization. *Plant and soil* **380**, 211-229.
- Passioura JB.** (1977). Grain yield, harvest index, and water use of wheat. *Journal of the Australian Institute of Agricultural Science* **43**, 117-120.
- Postic F, Doussan C.** (2016). Benchmarking electrical methods for rapid estimation of root biomass. *Plant Methods* **12**.
- Pradhan GP, Prasad PVV, Fritz AK, Kirkham MB, Gill BS.** (2012). Effects of drought and high temperature stress on synthetic hexaploid wheat. *Functional Plant Biology* **39**, 190.
- Preston GM, McBride RA, Bryan J, Candido M.** (2004). Estimating root mass in young hybrid poplar trees using the electrical capacitance method. *Agroforestry Systems* **60**, 305-309.
- Reynolds MP, Pfeiffer WH, Royo C.** (2000). Applying physiological strategies to improve yield potential. *Durum Wheat Improvement in the Mediterranean Region: New Challenges. Options Méditerranéennes* **40**, 95-103.
- Sharma BR, Chaudhary TN.** (1983). Wheat root growth, grain yield and water uptake as influenced by soil water regime and depth of nitrogen placement in a loamy sand soil. *Agricultural Water Management* **6**, 365-373.
- Trachsel S, Kaeppler SM, Brown KM, Lynch JP.** (2011). Shovelomics: high throughput phenotyping of maize (*Zea mays* L.) root architecture in the field. *Plant and Soil* **341**, 75-87.
- Upchurch DR, Ritchie JT.** (1983). Root observations using a video recording system in mini-rhizotrons. *Agronomy journal* **75**, 1009-1015.
- Waines JG, Ehdai B.** (2007). Domestication and crop physiology: roots of green-revolution wheat. *Annals of Botany* **100**, 991-998.
- Watt M, Moosavi S, Cunningham SC, Kirkegaard JA, Rebetzke GJ, Richards RA.** (2013). A rapid, controlled-environment seedling root screen for wheat correlates well with rooting depths at vegetative, but not reproductive, stages at two field sites. *Annals of Botany* **112**, 447-455.
- Zhan A, Schneider H, Lynch JP.** (2015). Reduced Lateral Root Branching Density Improves Drought Tolerance in Maize. *Plant Physiology* **168**, 1603-1615.
- Zhang Z-S, Li X-R, Wang T, Wang X-P, Xue Q-W, Liu L-C.** (2008). Distribution and Seasonal Dynamics of Roots in a Revegetated Stand of *Artemisia ordosica* Kracsh. in the Tengger Desert (North China). *Arid Land Research and Management* **22**, 195-211.
- Zhang X, Zhang X, Liu X, Shao L, Sun H, Chen S.** (2015). Incorporating root distribution factor to evaluate soil water status for winter wheat. *Agricultural Water Management* **153**, 32-41.

Genes to reduce plant height without increasing diseases

Paul NICHOLSON¹, Pascal GIRAudeau*², Sylvie DUTRIEZ³, Stephen SUNDERWITH⁴, Benoît FOUCAULT⁴, Philippe MOMONT⁴, Volker LEIN⁵, Thierry BOUTHILLIER⁵, Jean-Michel DELHAYE⁶

1 - John Innes Centre - Norwich Research Park, Colney Ln, Norwich NR4 7UH, UK

2 - SECOBRA Recherches - Centre de Bois Henry 78580 Maule

3 - CAUSSADE Semences - ZI de Meaux - BP 109 - 82 303 Caussade cedex

4 - KWS Momont - 7 Rue de Martinval, 59246 Mons-en-Pévèle

5 - Saaten Union Recherche - 163 Ter avenue de Flandre BP 6 - 60190 Estrées-Saint-Denis

6 - Lemaire Deffontaines - 180, rue du Rossignol 59310 Auchy-lez-Orchies

* **Coordinator: Pascal GIRAudeau**, pascal.giraudeau@secobra.com

Abstract

Recent research has highlighted the negative relationship between reduced plant height in wheat conferred by the 'Green Revolution' semi-dwarfing (Rht) genes and resistance to some diseases, in particular Fusarium head blight (FHB). This project used a number of parallel approaches to investigate the relationship between plant height and resistance to FHB and other important wheat diseases.

Near isogenic lines differing for plant height QTL on chromosomes 2A, 2D, 3A, 3B and 6A in two genetic backgrounds (Avalon and Cadenza) were assessed for FHB resistance. The 2D and 3B QTL had the greatest influence on plant height and on FHB resistance. In general, the allele conferring increased plant height was also associated with reduced FHB disease. The exceptions to this were the 6A QTL across both backgrounds in 2014 and the 2A QTL in the Cadenza background in both 2014 and 2015.

FHB assessment of lines derived from cultivar Paragon following EMS treatment again found that in general, the taller lines exhibited more resistance than the shorter ones. Such a finding suggests that the effect of plant height on susceptibility to FHB reflects a form of escape, possibly as a result of altered micro climate about the wheat head. However, it should be noted that many of the very short plants appeared to be affected for general fitness and produced fewer seed during the bulking process and fewer plants in field trial plots. Furthermore, while the association between plant height and susceptibility to FHB was moderate it is clear that a relatively large proportion of FHB resistance is independent of plant height.

Analysis of populations with both parents carrying the same semi-dwarfing allele but differing in FHB resistance revealed markedly different genetic basis for the differential resistance. The difference on FHB resistance between Barok and Bermude (both RhtD1-b) appears to be due to the effect of many genes of minor effect whereas that between Sokal and Oakley (both RhtB1-b) was determined to be due to the effect of three potent QTL on chromosomes 3A, 6D and 7B.

1. Introduction

Recent research has highlighted the negative relationship between reduced plant height in wheat conferred by the 'Green Revolution' semi-dwarfing (Rht) genes and resistance to some diseases, in particular Fusarium head blight (FHB).

This project used a number of parallel approaches to identify new alleles controlling plant height (PH) to counter the negative effect of height reducing alleles on major wheat diseases such as FHB.

- 1) Two novel height loci on chromosomes 2D and 3A were characterized for their influence on FHB and other important wheat diseases.

- 2) Height mutants identified within a mutagenized population of wheat cultivar Paragon were screened for disease resistance against FHB and other important diseases.

- 3) Populations with parents differing for FHB resistance but with the same Rht alleles (Rht1 or Rht2) were screened to identify quantitative trait loci (QTL) that enhance resistance to FHB in the presence of these height reducing alleles.

The goal of these studies was to identify alternative semi-dwarfing genes that can provide plant breeders with the desired plant height agronomic character while not compromising other important traits such as disease resistance, in particular FHB.

Context and economic importance

Fusarium head blight (FHB) is important in many parts of the world. For example, in the USA from 1993-7 losses due to FHB exceeded \$1 billion. The incidence and severity of FHB has increased in Europe, linked to agronomic practices such as wheat-maize rotation and reduced or nil-tillage. In addition to reducing yield, this disease contaminates grain with fungal mycotoxins such as deoxynivalenol (DON) for which the EU has established legislative limits.

The introduction of the so-called Green Revolution Rht1 and Rht2 semidwarfing alleles (re-named Rht-B1b and Rht-D1b respectively) underpinned major advances in agricultural production across the world. However, it has become clear that the Rht1 and Rht2 alleles also have negative effects. In particular, susceptibility to FHB is greater in varieties carrying these alleles than in those that do not, the most severe effect being attributed to Rht2. In a recent study of 270 varieties either registered or cultivated in France in the past 20 years, 72% of them contained Rht2 and 22% contained Rht1, while only 6% had neither of them, most of which being EU varieties or Apache derivatives, and are tall.

Despite some recent advances in the breeding of varieties more tolerant to FHB, breeders still have to deal with the negative effects of these semi-dwarfing alleles which prevents major progress. This project aimed to identify alternative PH genes that provide plant breeders with the desired height without compromising resistance to FHB. In addition the goal was to identify genes that increase resistance to FHB, even in the presence of the conventional (Rht1 and Rht2) semi-dwarfing alleles.

Scientific context

The introduction of Rht1 and Rht2 semi-dwarfing alleles were central to the increased yields achieved in wheat across the world in recent decades. These alleles permitted the application of nitrogen fertilizer to crops to achieve the desired yield and protein content essential for bread making without the risk of plants falling over, a serious problem in earlier tall varieties. Furthermore, varieties carrying these alleles apportion a larger percentage of biomass to

the grain than tall varieties. As a consequence of these important, agronomically beneficial traits conferred by Rht1 and Rht2, most modern varieties carry one of these alleles. Given the importance of these alleles to modern agriculture, it is highly disturbing that evidence has accumulated to show that they may also have negative effects for control of FHB.

Taller plant varieties generally show fewer FHB symptoms compared to shorter ones (Miedaner 1997; Steiner *et al.* 2004). In agreement with this, several QTL studies have found FHB resistance loci associated or coincident with PH QTL (Gervais *et al.* 2003; Steiner *et al.* 2004; Draeger *et al.* 2007; Klahr *et al.* 2007). However, not all height QTLs are coincident with FHB QTL indicating that the relationship between height and FHB is not simply a consequence of disease escape.

Draeger *et al.* (2007) concluded that FHB susceptibility associated with Rht2 results from linkage or pleiotropy rather than an effect of height per se. This was supported by a study involving lines near isogenic for Rht2 and a DH population from a Spark x Rialto cross (Rialto carries the Rht2 allele) which revealed that Rht2 compromised Type 1 resistance either because of tight linkage to FHB susceptibility genes or due to a pleiotropic effect of the Rht2 allele itself (Srinivasachary *et al.* 2008). In a further study it was shown that, under high disease pressure, both Rht1 and Rht2 significantly decreased resistance to initial infection (Srinivasachary *et al.*, 2009). In addition, it has been concluded that the negative effects of these Rht alleles on FHB resistance are most probably due to the function of the genes themselves rather than because of linkage to nearby deleterious genes (Yan *et al.* 2011). A meta-QTL analysis confirmed the relationship between Rht2 and susceptibility to FHB and found that susceptibility at this locus had the smallest confidence interval of all those reported, further indicating that the increase in FHB susceptibility is due to the Rht allele itself rather than a nearby gene (Loffler *et al.*, 2009). Furthermore, a recent publication concluded that the negative influence of Rht2 on FHB resistance is so great that two major FHB resistance QTL are required to counter the adverse effect of Rht2 (Lu *et al.*, 2011). We have recently demonstrated, through the use of wheat and barley Rht near-isogenic and mutant lines that Rht also affects resistance to other diseases of cereals (Saville *et al.*, 2012). The product of the Rht gene is a transcription factor termed DELLA, because of the important regulatory motif in the protein (Peng *et al.* 1999). As well as controlling plant growth in response to GA, these proteins appear to control cell death and, as a response, affect resistance to pathogens. Saville *et al.* (2012) determined that the stabilised DELLA dwarf and semidwarf alleles (such as Rht1 and Rht2) show greater susceptibility towards biotrophic and hemi-biotrophic pathogens but show increased resistance to necrotrophic pathogens. This is a classical trade-off in resistance to pathogens with different lifestyles and illustrates the problems associated with this GA-insensitive class of plant growth genes.

Given the finding that GA-insensitive Rht alleles such as Rht1 and Rht2 have pleiotropic effects on disease resistance, it is important to determine whether alternative PH loci might be found that operate through different mechanisms and not impact on disease resistance. For example, in barley the semidwarf 'uzu' phenotype is conferred by mutation in the gene encoding the receptor (BRI1) of a second plant growth phytohormone, brassinosteroid (Chono *et al.*, 2003). Critically, the 'uzu' allele was not observed to influence resistance to FHB (Yoshida *et al.*, 2005).

Most significantly, a recent study has indicated that the reduced height conferred by Rht8 in wheat is also due to altered

sensitivity to brassinosteroid (Gasparini *et al.* 2012). Interestingly, it has been reported that Rht8 does not have any pleiotropic effect on FHB susceptibility, (although a locus conferring increased FHB susceptibility was present on chromosome 2D at a 10.5 cM distance) (Loffler *et al.*, 2009). Together, these findings indicate that PH alleles functioning through pathways other than GA biosynthesis or signalling may provide the agronomically desired plant stature without compromising disease resistance.

2. Materials and methods

Disease assessment of the Avalon x Cadenza height QTL NILS

Several loci affecting plant height were identified in the UK reference mapping population Avalon x Cadenza. Five loci were identified with three (2A, 2D and 3A) derived from Cadenza that increased plant height and two (3B and 6A) derived from Avalon that increased plant height.

In 2013 near isogenic lines for the 2D and 3A plant height loci were analysed. Lines were selected at random and classed according to whether they carried the Avalon (A) allele or the Cadenza (C) allele at the respective height QTL locus. At JIC a total of 108 lines were tested in both Avalon and Cadenza backgrounds whereas at CETAC sites 38 lines were assessed in the Cadenza background only. Field trials were established at the JIC in UK and at CETAC sites in France: CS 28 (Reclainville), MH 28 (Allonnes), SC 78 (Maule) and SUR 60 (Estrees St Denis). Each experimental plot (2 rows of 1.5m) was replicated twice; 8 checks were added and the plots were randomized: Barok, Bermude, Sokal, Oakley, Rubisko, Renan, Oxebo, and Charger. Maize stubbles were spread after emergence and trials were mist irrigated 3 weeks before flowering to activate *Fusarium* inoculum and up to 1 month after flowering. Numerous traits were scored including height, heading date, lodging, leaf rust, yellow rust, *Septoria* and FHB.

In 2014 and 2015 additional NIL height QTL were available (2A, 3B and 6A). In addition lines were selected as pairs derived from parents heterozygous for the selected height QTL and this allowed pair-wise comparison for each height QTL across sites. These lines were tested both years at the JIC and only in 2014 at CS 28, MH 28 and SC 78 under the same experimental protocol.

Fusarium head blight assessment of Paragon EMS-derived height mutant lines

A collection of lines derived from cv. Paragon treated with ethylmethanesulfonate (EMS) processed to M4 have been screened for altered plant height. A number of these lines were screened for resistance to FHB to establish whether any lines significantly shorter than the parent exhibited greater resistance to FHB. Trials were established at the John Innes Centre in 2014 and 2015 and at four CETAC sites (CS 28, MH 28, SC 78 and SUR 60) in 2015. The trials at JIC were subjected to spray inoculation with conidia of *F. culmorum* (1 x 10⁵ conidia ml⁻¹) at mid anthesis and three days later. Trials were mist irrigated for six days.

Limited seed was available at the start of the project for some lines and attempts to produce sufficient seed for field trials was not always successful. Thirty nine lines along with the Paragon parent were assessed at JIC in 2014. Fifty lines were assessed at JIC in 2015 while 34 lines were assessed at CETAC sites in 2015.

Identifying FHB resistance quantitative trait loci (QTL) in RhtB1-b and RhtD1-b backgrounds

Previous studies have revealed that height reducing alleles at the plant height loci RhtB1 and RhtD1 on chromosomes 4B and

4D respectively significantly increase susceptibility to Fusarium head blight (FHB). Two populations were produced for the current study in which the parents carry the same semi-dwarfing allele (either RhtB1-b or RhtD1-b) but that have contrasting susceptibility to FHB. The Barok and Bermude parent lines both carry RhtD1b but differ markedly in FHB resistance with Barok being more resistant than Bermude. The Oakley and Sokal parent lines both carry RhtB1-b but also differ markedly in FHB resistance with Sokal being much more resistant than Oakley.

A population of 132 individuals was produced by single seed descent for the Barok x Bermude population. This was available at the start of the project and was screened for FHB resistance at 8 trial sites in France in 2014 (CS 28, MH 28 and SC 78), 2015 (CS 28, SC 78 and SUR 60) and 2016 (MH 59 and SC 78) under the same experimental design as described before.

A population of 81 genotypes was produced by doubled haploid method for the Oakley x Sokal population. This population was completed within the lifetime of the project and was screened for FHB resistance in 7 trial sites in France in 2015 (CS 28, MH 28, SC 78 and SUR 60) and 2016 (CS 28, MH 28 and SC 78).

DNA was extracted from individual lines of both populations and subjected to analysis to identify single nucleotide polymorphisms (SNPs) using the Affymetrix 'Breeder chip' array consisting of 35,000 SNP markers. DNA marker data of sufficient quality for use in the construction of genetic maps was obtained from 115 genotypes of the Barok x Bermude population and 81 genotypes of the Oakley x Sokal population.

3. Results

1) Avalon x Cadenza height QTL :

- 2013

The Cadenza 2D allele conferred reduced susceptibility to FHB at all three sites where disease was recorded except for the second scoring at SC (FHB-SC). Similarly, the Cadenza 3A allele conferred reduced FHB susceptibility at two of the three sites (SC and CS). Note that at the SC site, there was a high level of infection of *Microdochium nivale* on the spikes together with a very high level of *Fusarium graminearum*.

The FHB inoculated trial at JIC clearly demonstrated that the 'Cadenza allele' for both 2D and 3A (which increase height) conferred reduced FHB susceptibility. The effect was greater for 3A than for 2D at the JIC site. (Table 1)

The combination of data from all sites strongly suggests that the 2D and 3A alleles that increase height (derived from Cadenza) confer reduced susceptibility to FHB.

The data is summarised for height and FHB in table 1.

The 2D QTL had no influence on heading date, leaf rust, lodging or Septoria disease. Surprisingly, the 2D QTL had an effect on resistance to yellow rust in several sites/score dates and for the average score, with the Cadenza allele being associated with reduced yellow rust disease levels.

- 2014

The 2D QTL had the most pronounced effect on plant height at JIC reducing height by an average of over 13cm across the two backgrounds. The 3B effect was smaller (almost 10cm) across the two backgrounds while the 2A, 3B and 6A effects were less than 5cm across the two backgrounds. Interestingly both the 2A and 3B effects were much more pronounced in the Cadenza background than in the Avalon background (See Table 1).

Disease in the Avalon background was much greater than that for NILs in the Cadenza background. In general there was a

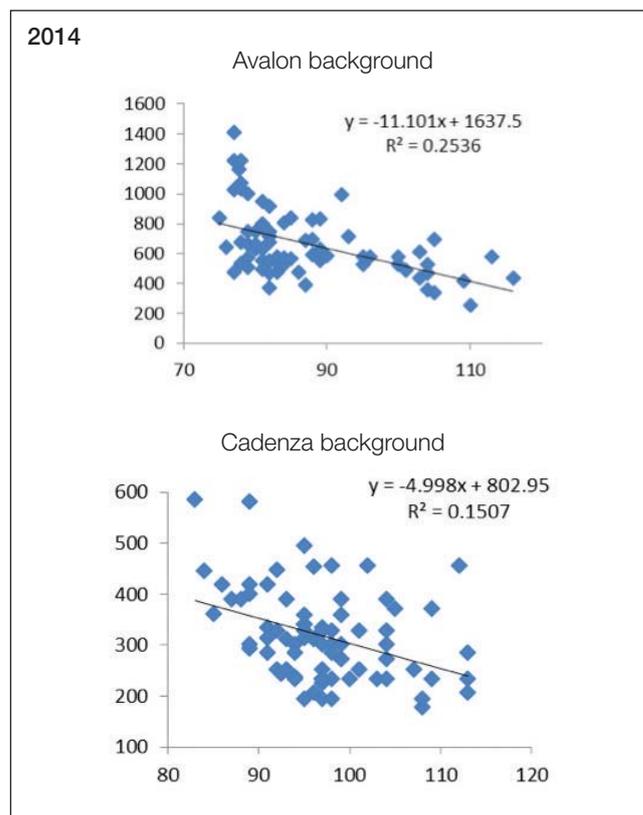
weak correlation between increased plant height and decreased FHB (See Figure 1). For most of the QTL the allele that increased plant height was associated with a decrease in FHB. The exception was 6A where the allele resulting in shorter height was associated with reduced FHB disease. Interestingly both the 2A and 3A QTL had different effects on FHB in the two backgrounds. The 2A allele conferring increased plant height also increased FHB disease in the Cadenza background while the 3A QTL had the same effect in the Cadenza background.

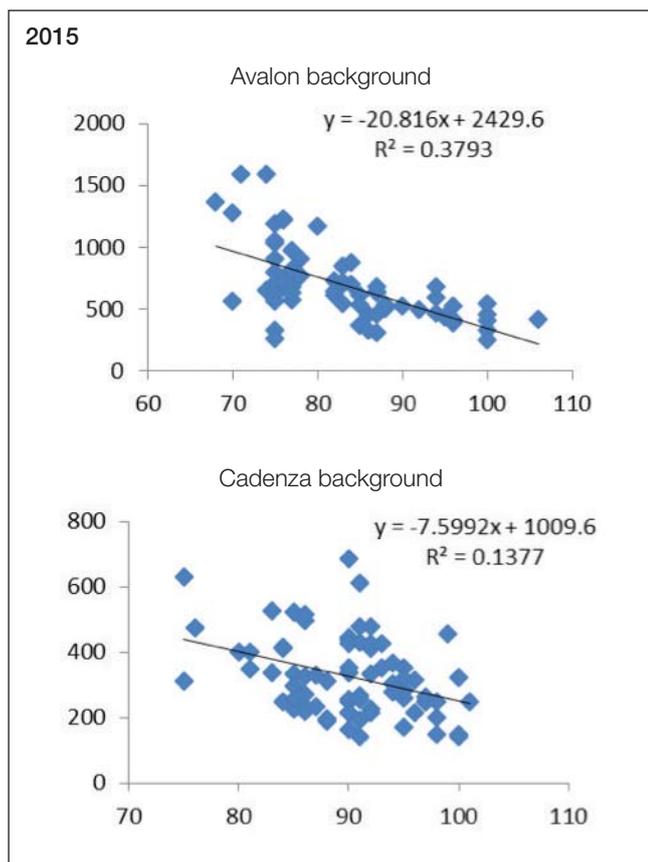
Few significant differences were observed for any of the traits measured at the GETAC sites in 2014. The 2D QTL significantly influenced plant height at all three of the sites (CS 28, MH 28 and SC 78) while the 3B and 6A QTL only significantly influenced height at MH 28. The relative effect of the QTL on plant height was broadly similar at the French and JIC sites. The 2D QTL had the most pronounced effect (average of 12.6 cm) while the 3B effect was again much more pronounced in the Cadenza background (See Table 1). The 2D QTL also influenced the second FHB score at both CS 28 and MH 28 as well as Septoria tritici disease at SC 78.

- 2015

The effects of the QTL on plant height were broadly similar at JIC to those observed in 2014. The 2D QTL had the greatest effect (12.7 cm) with the other QTL being much less potent (3-6 cm). Again, the effect of the 3B QTL was much greater in the Cadenza background than in the Avalon background. Disease in the Avalon background was much greater than that for NILs in the Cadenza background. In general there was a weak correlation between increased plant height and decreased FHB (See Figure 1). Across both backgrounds the allele conferring increased plant height was associated with a decrease in FHB with the exception of the 2A QTL in the Cadenza background (See Table 1).

Figure 1 : Regression of FHB disease AUDPC against plant height for Avalon x Cadenza near isogenic lines differing for QTL 2A, 2D, 3A, 3B and 6A.





Background and year	QTL	A versus C allele differential (cm)
Cadenza 2013	2D	7.3
	3A	4.5
Avalon 2014	2A	2
	2D	12.1
	3A	3.2
	3B	-5
Cadenza 2014	6A	-2.9
	2A	4.5
	2D	13.2
	3A	1.6
	3B	-16.2
	6A	-6.2

Table 1 : Effect of five height QTL on plant height and Fusarium head blight disease at sites in France and the UK across 2013, 2014 and 2015.

The 'C' allele for 2D clearly has a major effect in increasing height in both backgrounds while the 'C' allele for 3B has a major effect in reducing height primarily in the Cadenza background.

Average height and Fusarium head blight disease (AUDPC) differential for the Avalon x Cadenza NILs across two years (2014, 2015) at the JIC site.

Both backgrounds 2014			
QTL	Height differential	AUDPC differential	AUDPC per cm
2A	-3.17	170.05	-53.5
2D	-13.19	109.23	-8.279
3A	-4.62	121.5	-26.27
3B	9.75	-173.87	-17.83
6A	4.75	51.718	10.88

Avalon background 2014			
QTL	Height differential	AUDPC differential	AUDPC per cm
2A	-0.25	86.75	-347
2D	6	-87.5	-14.58
3A	-3.83	-80.16	-20.91
3B	-5.5	195.75	-35.59
6A	-5.37	-43.56	8.10

Cadenza background 2014			
QTL	Height differential	AUDPC differential	AUDPC per cm
2A	4.25	44.04	10.36
2D	12.08	-98.08	-8.11
3A	5.1	-93.9	-18.41
3B	-14	152	-10.85
6A	-6.4	-10.1	1.58

Both backgrounds 2015			
QTL	Height differential	AUDPC differential	AUDPC per cm
2A	-3.0	5.5	-1.81
2D	-12.7	216.2	-17.0
3A	-5.2	223.3	-43.1
3B	6.0	-207.8	-34.6
6A	3.6	-35.6	-10.0

Avalon background 2015			
QTL	Height differential	AUDPC differential	AUDPC per cm
2A	0.75	-20.6	-27.46
2D	13.85	-277.78	-20.04
3A	4.5	-312.3	-69.4
3B	-1.25	271.2	-216.96
6A	-5.5	39.625	-7.20

Cadenza background 2015			
QTL	Height differential	AUDPC differential	AUDPC per cm
2A	5.25	9.65	1.83
2D	12.83	-132.11	-10.29
3A	5.8	-169.88	-29.28
3B	-10.75	144.4	-13.43
6A	-0.875	31.6	-36.11

2) Fusarium head blight assessment of Paragon EMS-treated lines

In 2014 disease levels were high and FHB developed moderately rapidly. Paragon height was 101cm and the height of the mutant lines ranged from 62 cm (line 2989b) to 119 cm (line 1342a). Taller lines tended to be more resistant than the Paragon parent while shorter lines tended to be more susceptible. The correlation between height and FHB disease was 0.54 (see Figure 2). The line that was most resistant for its height was 1461b which had a FHB score of 10% while the line most susceptible for its height was 2132B with a score of 30%. Both lines were 96cm tall.

In 2015 FHB disease developed very slowly at the JIC site because of very cold weather at anthesis. Paragon height was 97 cm and the height of the mutant lines ranged from 60 cm (line 1011a) to 115 cm (line 192a). As observed in 2014, the taller lines tended to be more resistant than the Paragon parent while shorter lines tended to be more susceptible. The correlation between height and FHB disease was less pronounced than in 2014 (R2=0.33) (see Figure 2). The line that was most resistant for its height was 2603a which had a cumulative AUDPC FHB score of 24.5 while the line most susceptible for its height was 1461b with a score of 490. Both lines were 83 cm tall.

In 2015 FHB was assessed at three CETAC sites (CS, MH and Sec). At the MH site, the range of height differed by 50 cm between the shortest and tallest lines. The Paragon height was 105cm and the height of the mutant lines ranged from 70 cm (line 2914a) to 120 cm (line 2184b). At the Sec site the range of heights was much less (33 cm). Paragon height was 100cm and the height of the mutant lines ranged from 80 cm (line 3442a) to 113 cm (line 1419b). Disease developed at the two sites but the limited number of categories in the scale obscured any relationship between height and disease.

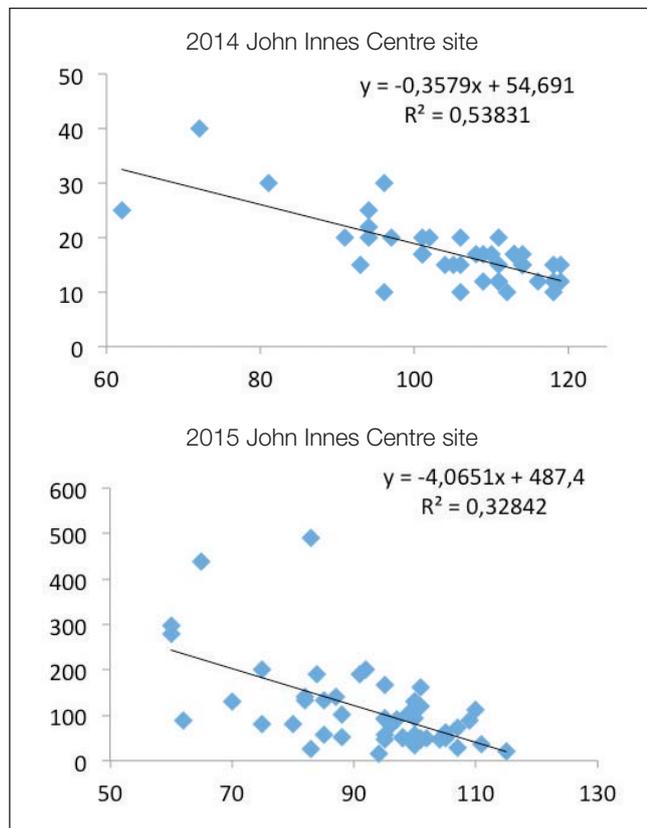


Figure 2 : Regression of *Fusarium* scores against plant height for cv. Paragon EMS mutant lines.

3) Identifying FHB resistance quantitative trait loci (QTL) in RhtB1-b and RhtD1-b) backgrounds.

Barok x Bermude population

The genetic map of the Barok x Bermude population consisted of 2483 markers distributed across 47 linkage groups with a total length of 4272 cM.

The population was fairly homogeneous for height (ranging from 73 cm to 89 cm) and flowering date (ranging from 145 days to 150 days). 2014 was a favourable year for *Fusarium* although the disease pressure was medium at MH 28 site. There was already a mixture of *Fusarium graminearum* and *Microdochium* spp. at SC 78 site (fungal analyses, data not shown). The dry conditions in 2015 did not help the expression of FHB in both sites. In 2016, the relatively low temperatures and exceptionally wet conditions at flowering time favoured the development of *Microdochium* spp. to a level where it was often predominant over *Fusarium graminearum*. The Spearman correlation matrix on *Fusarium* scores (data not shown) demonstrated that the scores at SC 78 over the 3 years correlated poorly with the other locations; this is certainly due to the high infection of *Microdochium* spp. in this location.

Year	Trial	FHB score	Effectives		Values			ANOVA	
			Nb. lines	Nb. Rep.	Min	Max	Avg	F value	PR(>F)
2014	CS 28	1	139	2	1	9	4.4	4.21	3.20E-16
2014	MH 28	1	139	2	1	6	3.3	2.22	1.85E-06
2014	MH 28	2	139	2	2	6	4.0	3.21	1.31E-11
2014	SC 78	1	139	2	1	6	3.0	1.32	5.02E-02
2014	SC 78	2	139	2	4	8	6.0	1.64	1.83E-03
2015	CS 28	1	118	1	1	7	3.0		
2015	SC 78	1	139	2	1	5	1.9	2.15	4.39E-06
2015	SC 78	2	139	2	2	7	3.6	1.64	1.84E-03
2016	MH 59	1	133	1	1	4	1.8		
2016	MH 59	2	133	1	1	6	3.0		
2016	SC 78	1	139	2	2	7	5.2	2.33	5.16E-07
2016	SC 78	2	139	2	4	9	6.7	2.67	7.72E-09

Table 2 : Descriptive statistics of the Barok x Bermude population FHB trials

Numerous QTL for FHB resistance were identified across the different trials (1B, 2A, 2B, 2D, 3A, 3B, 4A, 4B, 5A, 5D, 6A, 6D, 7A, 7B, 5B-7B and 7D). In most instances these QTL were of minor effect (explaining less than 10% of the phenotypic variance). The FHB resistance conferring alleles were contributed by both parents although the majority were contributed by the resistant parent (Barok) (See Table 3).

FHB resistance QTL derived from Barok were observed on 12 linkage groups with more than one QTL being present on 2B, 2D, 5A and 7A. However most QTL were observed only at single trial sites or at single score dates. One of the 2B QTL (219-306 cM) was observed at three sites and accounted for up to 16% of the phenotypic variance. The second 2B QTL (0-16 cM) was also observed more than once. It is unclear whether the effect conferred is due to the presence of two independent QTL or reflects inherent imprecision in locating the peak markers associated with the trait.

The FHB QTL of greatest magnitude were detected on chromosome 2D. In 2014 at the MH site the QTL positioned at 10cM and accounted for 23% of the variance while in 2016 a QTL on “D” was located at 110 cM and accounted for 15% of the variance. The FHB resistance was derived from Barok in both cases and was observed at the first score date suggesting that it may be considered to be a ‘type 1’ resistance.

FHB resistance QTL derived from Bermude were observed on 10 linkage groups with more than one QTL being present on chromosomes 1B and 4A. FHB QTL were generally observed only at single locations or at single score dates but the Barok-derived FHB resistance on 1B was observed at all three score dates at the MH site in 2014 as well as at the first score date at the SC site in 2016. In some instances the ‘phase’ of the QTL was different for different sites or scores. For example, the QTL on 2B between 132 and 148 cM and the QTL on 4A at 41-47 cM both had the resistance associated with both parents (depending upon the trial). It was noted that in such instances the outlying origin was observed using the data from the second replicate of the 2015 trial at the SC site.

A single height QTL was detected on chromosome 3A in this population with Barok contributing the allele for greater height. Curiously, this allele was also associated with greater FHB susceptibility for one set of data (2015 SC site FHB first score). No QTL for flowering time were detected within this population.

QTL of major effect for foliar diseases were detected in this population. A QTL for yellow rust resistance derived from Bermude accounted for up to 59% of the variance and was observed at three sites across different years. QTL of minor effect for yellow rust resistance were also observed on chromosomes 6D and 7B with Bermude and Barok, respectively contributing the resistance.

Barok contributed a QTL on 7B of major effect (21% variance accounted for) for brown rust resistance at the SC site in 2016. Barok also contributed a QTL on 2B of major effect (18% variance) for *Septoria tritici* resistance while Bermude contributed two QTL of minor effect on 5A and 6A.

Marker	Chrom. Position (cM)	Log(10)	Max. % Expl.	High Allele
AX-94758722_1BL	1B (3.2 cM)	4.19	11.75	Barok
AX-95160899_2BS	2B (278 cM)	6.07	16.99	Bermude
AX-95024486_2DL	2B (16 cM)	3.25	14.50	Bermude
AX-94574405_5AL	5A (129 cM)	4.6	10.33	Bermude
AX-95008466_7AL	7A (66 cM)	5.58	13.11	Bermude

Table 3 : Main QTL identified in the Barok x Bermude population for *Fusarium head blight* (FHB).

Oakley x Sokal population

The genetic map of the Oakley x Sokal population consisted of 927 markers distributed across 57 linkage groups with a total length of 3784 cM.

The range of height (from 68 cm to 90 cm) in this population was wider than the previous one. Flowering date range was very large and varied from 144 days to 158 days, which may be a problem to assess FHB properly. Weather conditions and *Fusarium* and *Microdochium* spp. occurring on the heads were the same as described above. Due to a very low infection, the ANOVA showed no varietal effect at the CS 28 site in 2015. The Spearman correlation matrix on *Fusarium* scores (data not shown) demonstrated that the 2015 SC 78 score and MH 28 score 2 correlated poorly with the locations in 2016 where *Microdochium* spp. was predominant.

Year	Trial	FHB score	Effectives		Values			ANOVA	
			Nb lines	Nb. Rep.	Min	Max	Avge	F value	PR(>F)
2015	CS 28	1	103	2	1	6	2.2	1.13	2.67E-01
2015	MH 28	1	100	2	2	7	3.2	3.90	3.20E-11
2015	MH 28	2	100	2	2	7	4.5	2.81	2.37E-07
2015	SC 78	1	96	2	1	9	3.7	5.55	1.08E-15
2016	CS 28	1	93	1	1	9	5.8		
2016	MH 28	1	89	2	2	6	2.9	2.48	1.40E-05
2016	MH 28	2	88	2	2	9	5.0	9.62	2.20E-16
2016	SC 78	1	92	2	2	7	4.4	4.58	1.2E-12
2016	SC 78	2	92	2	4	9	6.5	6.63	2.2E-16

Table 4 : Descriptive statistics of the Barok x Bermude population FHB trials

Fewer FHB QTL were detected in the Oakley x Sokal population than in the Barok x Bermude population with QTL detected on chromosomes 2B, 3A, 3B, 6D 7A, and 7B-5B. Almost all the FHB resistance derived from Sokal. A QTL on 2B of major effect was observed at the MH site for the first score date of 2016. This QTL was not observed at any other occasion. Chromosome 3A conferred FHB resistance QTL at 113 cM that was derived from Sokal and accounted for up to 42% of the variance. This QTL was detected at numerous sites and in different years. It is highly unusual to detect a QTL for FHB resistance of such potency in European winter wheat varieties. 3A also contributed a QTL from Sokal of lesser magnitude in different trials or at different score dates being positioned at 162-170 cM. These may represent a single QTL or represent the effects of independent QTL acting at different times or under different environmental conditions.

A QTL derived from Sokal on chromosome 7A was observed at the SC site in 2016 being more pronounced in effect at the second score date (27% variance accounted for). The linkage

group identified as 7B-5B also carried a FHB QTL with resistance derived from Sokal. The position of the peak marker for this QTL was between 137 and 139 cM and the QTL accounted for up to 23% of the observed variance.

QTL for resistance to foliar diseases were detected in various years and at different trial sites. Chromosome 1B appeared to carry two QTL of great potency against yellow rust with the resistant allele derived from Sokal in both cases. The QTL located at approximately 36-39 cM was detected in three trials (MH in 2015, SUR in 2015 and MH in 2016). This QTL accounted for up to 56% of the observed variance and probably reflects the presence of a so-called R gene for yellow rust resistance in Sokal. A second QTL of similar magnitude was detected at 115-119 cM at both score dates in the SUR trial in 2015. The detection of the two potent QTL on 1B in the same trial indicates that they may represent distinct loci. QTL for yellow rust resistance were also detected on chromosome 4B, 6A and 6D with resistance conferred by both parents (Oakley - 4B and Sokal 6A and 6D). A single QTL of major effect on brown rust resistance was detected on chromosome 4A at 33 cM accounting for 72% of the observed variance suggesting the effect of a major gene, probably a conventional so-called R-gene.

QTL for resistance to *Septoria tritici* were also detected in this population. Four QTL derived from Sokal were present on 1A, 1B (two QTL) and 6D. While the 1A and 6D QTL were of minor effect, both the 1B QTL were of major effect accounted for up to 34% of the observed variance. A QTL for *Septoria tritici* resistance was detected on 3A with resistance derived from Oakley. This QTL was coincident with one for heading date where Oakley contributed the allele for later heading and resistance to *S. tritici*. The same locus also contributed to FHB resistance for the first score date at the MH site in 2016.

QTL for plant height were also detected in this population. Chromosome 3A had a QTL at 129-133 cM with the allele for greater height contributed by Sokal. This location is only 10 cM from the major FHB QTL. However the effect on plant height was only observed at two sites whereas that for FHB was observed at 5 sites suggesting that the FHB resistance is not pleiotropic to the plant height allele. Oakley contributed three plant height QTL (3B, 7A and 7B-5B). While the 3B and 7A effects were minor, the QTL on 7B-5B accounted for up to 43% of the observed variance. The peak-marker for this QTL was approximately 40-70 cM distant from that for FHB resistance suggesting that the two are independent. Furthermore the allele for greater plant height and increased susceptibility to FHB both derived from Oakley indicating that the effect on FHB is not due to some form of escape.

QTL for heading and flowering time were also detected. The major effect for heading and flowering time was observed on 5A at approximately 85 cM. Curiously two additional QTL for flowering time were detected on this chromosome with one positioned at 4 cM and one at 28 cM with the allele for later flowering contributed for the former by Sokal and for the latter by Oakley. Additional QTL for heading date were detected on 5B at 53 cM and 109 cM, again with the allele for later flowering contributed for the former by Sokal and for the latter by Oakley.

Marker	Chrom. Position (cM)	Log(10)	Max. % Expl.	High Allele
AX-94433044_3AS	3A (113cM)	8.66	41.91	Oakley
AX-94540502_3DL	3A (117 cM)	4.75	20.69	Oakley
AX-94571885_1DL	6D (20 cM)	6.03	21.36	Oakley
AX-94465240_7BL	7B/5B (139 cM)	5.12	23.69	Oakley

Table 5 : Main QTL identified in the Oakley x Sokal population for *Fusarium head blight* (FHB).

4. Discussion

Effect of plant height QTL on FHB and other diseases

Across the different years and trial sites the 2D and 3B QTL had the most significant effect on plant height (See Table 1). The 2D QTL had the greatest influence on plant height and appeared to be equally potent in both the Avalon and Cadenza backgrounds. Curiously, the effect of the 3B QTL was much greater in the Cadenza background than in the Avalon background (See Table 1). The 2A, 3B and 6A had much less effect on plant height and the effect of the 2A QTL was greater in the Cadenza than in the Avalon background.

In general, the allele conferring increased plant height was also associated with reduced FHB disease. The main exceptions to this were the 6A QTL across both backgrounds in 2014 and the 2A QTL in the Cadenza background in both 2014 and 2015.

Effect of EMS-induced alteration of plant height on FHB resistance

No EMS line was observed to express very high levels of resistance to FHB in any trial. In general, the taller lines exhibited more resistance than the shorter ones. If it is assumed that lines altered in plant height may be altered in other genes in a random manner then it might be concluded that the relationship between plant height and disease resistance to FHB is at least in part due to some passive form of disease escape. This view is supported by the moderate correlation between plant height and FHB disease observed at the JIC site in both 2014 and 2015. However, many of the shorter plants appear to be affected for general fitness. Many of these lines produced fewer seed during the bulking process and fewer plants in field trial plots. Overall, the results from this investigation indicate that, while taller plants tend to be more resistant to FHB than shorter plants a relatively large proportion of FHB resistance may still be independent of plant height.

QTL analysis of FHB resistance of populations with parents differing in FHB susceptibility but fixed for RhtB1-b or RhtD1-b

The two populations differed markedly in the apparent genetic basis for the differential FHB resistance of the parents.

The larger, single seed decent-derived, population of Barok x Bermude (both RhtD1-b) was subjected to more field trials than

the smaller doubled-haploid derived Sokal x Oakley (both RhtB1-b) population. This potentially provided more opportunity to identify QTL associated with the differential resistance of the parents. The FHB QTL identified in the Barok x Bermude population tended to be of small effect, observed only at single or very few locations and were often ill defined for position on the linkage group. Furthermore, both parents appeared to contribute alleles for greater FHB resistance. These results suggest that the differential FHB resistance of these two varieties is due to the action of a relatively large number of genes of small effect. In contrast to the resistance to FHB, the genetic basis of differential resistance against yellow rust, brown rust and *Septoria tritici* appeared to be due to the action of relatively few genes of major effect.

The differential resistance of Sokal and Oakley to FHB appeared to be relatively simply inherited with QTL of major effect being present on linkage groups ascribed to chromosomes 3A, 6D and 7B-5B. The alleles for greater FHB resistance all originated from Sokal and they were relatively robust, being observed across years and trial sites. Again, QTL of major effect against yellow rust, brown rust and *Septoria tritici* foliar diseases were also observed in this population.

The QTL analysis reveals loci where the two parents differ in the alleles that they carry against FHB. It is not possible to determine whether the Sokal parent carries particularly potent alleles or whether the Oakley parent carries particularly ineffective alleles relative to other varieties. However, comparison of the markers associated with FHB resistance in Sokal with those of other varieties may indicate whether Sokal carries potentially interesting alleles that might be used on breeding programmes through use of marker-assisted selection.

The QTL for foliar diseases often accounted for a very large proportion of the variance indicating that they are so-called R-genes. Two QTL for yellow rust resistance on 1B of Sokal were of particular significance because they co-localised with those for resistance to *Septoria tritici*. Additional research will be required to establish whether the same genes are functioning against the two pathogens. It is conceivable that the effect observed at the SUR site reflects confusion between symptoms for yellow rust and *S. tritici* blotch where those identified for the latter might actually be yellow rust lesions in which the spores have been lost.

Références bibliographiques

- Chono M, Honda I, Zeniya H, Yoneyama K, Saisho D, Takeda K, Takatsuto S, Hoshino T, Watanabe Y** (2003). A semidwarf phenotype of barley uzu results from a nucleotide substitution in the gene encoding a putative brassinosteroid receptor. *Plant Physiology* 133: 1209-1219.
- Draeger R, Gosman N, Steed A, Chandler E, Thomsett M, Srinivasachary, Schondelmaier J, Buerstmayr H, Lemmens M, Schmolke M, Nicholson P** (2007). Identification of QTLs for resistance to Fusarium head blight, DON accumulation and associated traits in the winter wheat variety Arina. *Theoretical and Applied Genetics* 115:617-625.
- Gasperini B, Greenland A, Hedden P, Dreos R, Harwood W, Griffith S** (2012). Genetics and physiological analysis of Rht8 in bread wheat: an alternative source of semi-dwarfism with a reduced sensitivity to brassinosteroids. *Journal of Experimental Botany* 63(12):4419-36
- Gervais L, Dedryver F, Morlais J-Y, Boduseau V, Negre S, Bilous M, Groos C, Trottet M** (2003). Mapping of quantitative trait loci for field resistance to Fusarium head blight in an European winter wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 106:961-970.
- Klahr A, Zimmermann G, Wenzel G, Mohler V** (2007). Effects of environment, disease progress, plant height and heading date on the detection of QTLs for resistance to Fusarium head blight in an European winter wheat cross. *Euphytica* 154:17-28.
- Löffler M, Schön C-C, Miedaner T** (2009). Revealing the genetic architecture of FHB resistance in hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) by meta-analysis. *Molecular Breeding* 23: 473-488.
- Lu Q, Szabo-Hever A, Bjørnstad A, Lillemo M, Semagn K, Mesterhazy A, Fang J, Shi J, Skinnes H** (2011). Two major resistance quantitative trait loci are required to counteract the increased susceptibility to Fusarium head blight of the Rht-D1b dwarfing gene in wheat. *Crop Science* 51: 2430-2438.
- Miedaner T** (1997). Breeding wheat and rye for resistance to Fusarium diseases. *Plant Breeding* 116:201-220.
- Peng J, Richards D E, Hartley N M, Murphy G P, et al.** (1999). 'Green revolution' genes encode mutant gibberellins response modulators. *Nature* 400: 256-261.
- Saville R J, Gosman N, Burt C J, Makepeace J, Steed A, Corbitt M, Chandler E, Brown J K, Boulton M I, Nicholson P** (2012). The 'Green Revolution' dwarfing genes play a role in disease resistance in *Triticum aestivum* and *Hordeum vulgare*. *Journal of Experimental Botany* 63(3):1271-83.
- Srinivasachary, Gosman N, Steed A, Simmonds J, Leverington-Waite M, Wang Y, Snape J, Nicholson P** (2008). Susceptibility to Fusarium head blight is associated with the Rht-D1b semi-dwarfing allele in wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 116: 1145-1153.
- Srinivasachary, Gosman N, Steed A, Hollins T W, Bayles R, Jennings P, Nicholson P** (2009). Semi-dwarfing Rht-B1 and Rht-D1 loci of wheat differ significantly in their influence on resistance to Fusarium head blight. *Theoretical and Applied Genetics* 118: 695-702.
- Steiner B, Lemmens M, Griesser M, Scholz U, Schondelmaier J, Buerstmayr H** (2004). Molecular mapping of resistance to Fusarium head blight in the spring wheat cultivar Frontana. *Theoretical and Applied Genetics* 109:215-224.
- Yan W, Li H B, Cai S B, Ma H X, Rebetzke G J, Liu C J** (2011). Effects of plant height on type I and type II resistance to fusarium head blight in wheat. *Plant Pathology* 60:506-512.
- Yoshida M, Kawada N, Tohnooka T** (2005). Effect of row type, flowering type and several other spike characters on resistance to Fusarium head blight in barley. *Euphytica* 141: 217-227.

PYRAMIDE : Développement d'une nouvelle stratégie de sélection pour l'obtention de lignées élites cumulant des résistances aux principales maladies fongiques

Ellen GOUEMAND^{1*}, Marie-Reine PERRETANT², Denis BEGHIN¹, Pierre DEVAUX¹,
Brigitte DEVAUX¹, Gilles CHARMET²

1 - FLORIMOND DESPREZ VEUVE & FILS, 59242 Cappelle-en-Pévèle

2 - INRA GDEC, 63039 Clermont-Ferrand

* *Coordinatrice* : Ellen GOUEMAND, ellen.goudemand@florimond-desprez.fr

1. Introduction

Pour répondre aux enjeux d'une agriculture française et européenne compétitive et durable, il est nécessaire d'adapter les futures variétés à des systèmes «écologiquement intensifs», permettant d'optimiser le rendement et la qualité des produits tout en réduisant les impacts négatifs sur l'environnement. Dans ces systèmes, les résistances génétiques aux maladies sont un élément clef pour maintenir le potentiel de rendement avec des conduites culturales ayant recours à une protection chimique réduite et raisonnée (directives européennes, Ecophyto2018...). Cependant, ce type de conduite nécessite que les variétés utilisées présentent des résistances efficaces et durables. L'hypothèse centrale du projet est que le cumul dans un même génotype de plusieurs sources (gènes ou QTLs) de résistance, de préférences ayant des modes d'action complémentaires (par exemple stade jeune/stade adulte, résistance vertical/résistance partielle) permet d'obtenir une résistance efficace et durable, c'est-à-dire ayant moins de risque d'être contournée par mutation du pathogène. Il a été démontré, par exemple, chez le pathosystème colza/*L. maculans* que le cumul de résistances quantitatives et de gènes majeurs de résistance permettait d'accroître la durabilité de la résistance (Brun *et al.*, 2010). De même, chez le blé, le cumul de résistances partielles à la rouille noire a permis d'obtenir des lignées présentant un haut niveau de résistance au champ avec une faible probabilité de contournement (Singh *et al.* 2006). Dans le projet, nous proposons de construire, par sélection assistée par marqueurs, des géniteurs cumulant des gènes et QTLs de résistance pour trois des maladies fongiques du blé les plus préjudiciables pour le rendement et la qualité : la fusariose de l'épi (*Fusarium graminearum*), la rouille jaune (*Puccinia striiformis*) et la rouille brune (*Puccinia triticina*).

Généralement, les gènes de résistance, identifiés dans des lignées ou variétés exotiques, peu adaptées aux conditions de culture françaises, voire dans des espèces sauvages apparentées au blé, sont transférés dans un fonds génétique adapté par une série de rétro-croisements (backcross). Au cours de la dernière décennie, la méthode de back-cross assisté par marqueurs a été largement développée, puis étendue à d'autres schémas de croisement permettant d'optimiser le cumul ou « pyramidage » de gènes/QTLs (Servin *et al.* 2004, Ishii and Yonezawa 2007, Ishii *et al.* 2008). Dans ces méthodes, le parent récurrent, c'est-à-dire la variété « receveuse », est considéré comme possédant le fonds génétique optimal, dont la récupération doit être maximisée par l'utilisation de marqueurs moléculaires. Toutefois, la durée de vie commerciale d'une variété de blé tendre est relativement courte, comparée au temps nécessaire pour achever une construction par rétro-croisements récurrents. Autrement dit, une

fois le cumul de résistances réalisé dans une variété élite, cette variété risque d'être dépassée, pour d'autres caractères comme le rendement, par les nouvelles variétés inscrites entre temps.

L'originalité de ce programme provient de la stratégie utilisée qui consiste, d'une part à utiliser des marqueurs liés à des gènes/QTL identifiés pour piloter leur cumul (pyramidage) et d'autre part à utiliser des marqueurs densément répartis sur l'ensemble du génome dans le but d'améliorer le fonds génétique dans lequel les QTLs de résistance seront cumulés. La méthode utilisée propose de remplacer la « récupération » d'un fonds génétique donneur « fixe » par une amélioration du fonds génétique réalisée en même temps que le transfert et le cumul des gènes/QTLs. Il s'agit d'une combinaison des théories actuelles du pyramidage assistée par marqueurs pour les gènes/QTLs « discrets » et des méthodes plus récentes de sélection génomique pour les caractères à déterminisme plus complexe (nombreux QTLs à effets faibles). Les lignées obtenues devraient révéler un excellent niveau de résistance (durable) face à ces 3 maladies et être au niveau des meilleures variétés pour les autres caractères (rendement, qualité du grain...). Ainsi, ces lignées constitueront un matériel de choix pour la diversification du germplasm dans le cadre de programmes d'amélioration variétale.

2. Matériels et méthodes

L'introduction des résistances aux rouilles (*Puccinia striiformis* et *Puccinia triticina*) d'une part et à la fusariose de l'épi (*Fusarium graminearum*) d'autre part a été effectuée dans des schémas de pyramidage séparés mais menés en parallèle par des partenaires distincts. Les schémas de pyramidage et sélection ont été construits uniformément. Deux types d'hybrides 4-voies ont été produits : des hybrides cumulant les différentes sources de résistance ciblées (rouilles ou fusariose) et des hybrides regroupant une certaine diversité élite présentant d'autres caractères d'intérêt. Ces deux types d'hybrides 4-voies ont été croisés afin d'obtenir des hybrides 8 voies cumulant à la fois les gènes/QTLs de résistance ciblés et une part de génome élite d'origine diverse. Ces hybrides 8-voies ont ensuite été fixés génétiquement par haplo-diploïdisation, permettant d'obtenir une large population d'haploïdes doublés (HD) par caractère cible.

► 2.1 - Choix des parents

Schéma Rouilles

Bien qu'il existe plus de 70 gènes de résistance à la rouille jaune recensés chez le blé tendre et tout autant à la rouille brune (McIntosh *et al.*, 2016), seulement une petite partie de ces résistances est utilisée en pratique dans les variétés cultivées.

Deux lignées, porteuses de résistance aux rouilles peu introduites dans les variétés françaises, ont été choisies comme parents pour initier le pyramidage. La première est la lignée KS91WGRC11, dérivée du rétrocroisement de Century avec une accession Ae. tauschii TA2450 contenant le gène de résistance à la rouille brune *Lr42*. Cette source de résistance est utilisée dans les variétés cultivées aux Etats-Unis (Martin *et al.*, 2003). La seconde lignée est la lignée TA5089 (KS11WGRC53-J) dérivée de l'accession TA5602 possédant les gènes de résistance aux rouilles *Lr57* et *Yr40*. Cette lignée possède un chromosome recombinant T5DL-5DS-5MgS composé du bras long du chromosome 5D du blé, de la plus grande partie du bras court du chromosome 5D et d'un petit segment dérivé du bras court du chromosome 5Mg d'Ae. geniculata portant *Lr57* et *Yr40*. Cette source de résistance est efficace contre la plupart des isolats de rouilles aux Etats-Unis et en Inde (Kuraparthi *et al.*, 2009).

Les parents à haut potentiel agronomique ont été choisis parmi les variétés présentes sur le marché français au début du projet FSOV (2012). Le premier critère a été de choisir des variétés possédant le même gène de nanisme, ici *Rht1*, afin d'observer peu de ségrégation de hauteur dans la descendance finale. Les variétés utilisées comme géniteurs ont ensuite été sélectionnées pour provenir de différents obtenteurs afin d'élargir la diversité génétique du matériel qui sera obtenu à l'issue de ce projet. Enfin, chaque variété sélectionnée était porteuse d'une caractéristique particulière, ayant un intérêt en sélection, et étant complémentaire de la résistance aux rouilles qui sera apportée par ailleurs. Les variétés choisies sont regroupées dans le tableau ci-dessous.

Variétés	Inscription	Obtenteurs	Caractéristiques
CELLULE	2012	FD	Rht1, BPS, septo +
KARILLON	2010	AO	Rht1, BPS, Pch1
PAKITO	2011	RAGT	Rht1, BPS, QTL5A
ADHOC	2011	Momont	Rht1, BP, QTL5A, froid +
SY MOISSON	2011	Syngenta	Rht1, BPS, oïdium +

La variété KARILLON est porteuse du gène de résistance au piétin verse *Pch1*. Les variétés PAKITO et ADHOC sont toutes deux porteuses du QTL5A de résistance à la fusariose de l'épi.

Schéma Fusariose

Une étude bibliographique a été réalisée pour recenser les sources de résistance et la cartographie des principaux gènes et QTLs. On peut citer plus particulièrement les revues de Buerstmayr *et al.* (2009) ou les méta-analyses réalisées par Liu *et al.* (2009). Cette compilation nous a permis de choisir 4 sources de résistances d'origines diversifiées, susceptibles d'apporter des facteurs génétiques indépendants dont le cumul permettrait d'améliorer le niveau global et/ou la durabilité de la résistance. Ces 4 sources sont :

- Sumai 3 : une variété chinoise bien connue pour porter un QTL à effet majeur sur le chromosome 3B (*Fhb1* : Anderson *et al.* 2001), ainsi que de nombreux QTLs mineurs.
- Wangshuibai : une variété chinoise possédant également un très haut niveau de résistance, avec un effet plus faible au locus *Fhb1* (autres formes alléliques), mais d'autres QTLs que Sumai3.
- Apache : La variété française qui est toujours la référence comme variété tolérante, avec des QTLs identifiés sur les chromosomes 4A, 5A, 5B et 6A (Holzapfel *et al.* 2008).
- Renan : une variété tolérante, possédant en outre des introgressions d'*Aegilops ventricosa* apportant des résistances aux rouilles et au piétin verse (*Pch1*). Elle possède des QTLs de résistance à FHB sur les chromosomes 2A, 2B, 5A et 3B, mais à un locus différent de *Fhb1* (Gervais *et al.* 2003).

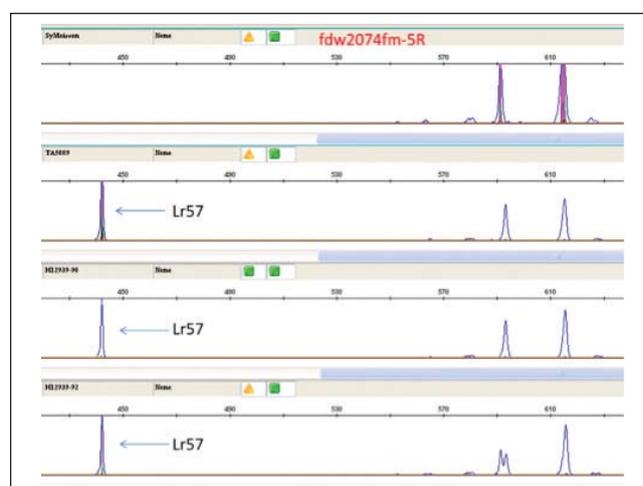
Pour réaliser des populations à base large donnant prise à la sélection génomique pour l'amélioration des caractères polygéniques (rendement, qualité...), nous avons choisi les géniteurs parmi des variétés inscrites au catalogue français, ainsi que deux lignées issues d'un programme FSOV d'introgression de diversité du génome D à partir de blés synthétiques. Les 2 lignées choisies : Resy18-6 et Resy045 présentent un excellent niveau de résistance à la septoriose.

Variétés	Inscription	Obtenteurs	Caractéristiques
AREZZO	2007	RAGT	BPS
BAROK	2009	AO	BAU
FOLKLOR	2011	AO	BPS, RU +
LYRIK	2012	AO	BPS
RESY18-6	-	INRA	Septo +
RESY045	-	INRA	Septo +
APACHE	1998	LG	BPS, Fusa +
RENAN	1990	AO	BAF, Fusa +

► 2.2 - Génotypage

Dans le schéma de pyramidage « rouilles », 4 gènes/QTLs de résistance ont été suivis, de façon ciblée, par marquage.

Sun *et al.* (2010) ont détecté les marqueurs SSR *Xwmc432* et *Xcfd15* comme liés au gène de résistance à la rouille jaune *Lr42*. La résistance se situe sur le chromosome 1Ds et les deux marqueurs se trouvent en position proximale du gène, à 0.8 cM et 1.6 cM. Ces deux marqueurs SSR ont été utilisés pour le marquage des hybrides 4-voies. Les deux marqueurs étaient totalement cohérents mais le marqueur *Xcfd15* étant parfois difficile à lire et plus éloigné du gène *Lr42*, il n'a pas été réutilisé pour la suite des étapes. En 2013, Liu *et al.* ont publié un nouveau marqueur SSR lié au gène *Lr42*. Le marqueur *Xgdm33*, situé à 13.64 cM du gène *Lr42* en position distale, permettrait de pouvoir encadrer le gène en l'utilisant conjointement avec l'un des deux autres marqueurs situés en position proximale. Cependant, ce marqueur *Xgdm33* n'a pas été utilisé dans ce projet car il a été considéré comme trop éloigné du gène à suivre. Le marqueur CAPS *XLr57/Yr40-MAS-CAPS16* a été détecté par Kuraparthi *et al.* (2009) comme lié aux gènes *Lr57/Yr40*. Il a été utilisé pour suivre les gènes *Lr57/Yr40* dans les hybrides 4-voies. Ce marqueur CAPS s'est révélé difficilement répétable et peu lisible. Un marqueur KASPAR a donc été développé en interne chez Florimond Desprez. La figure ci-dessous représente la lecture de ce marqueur KASPAR chez un individu non-porteur et chez 3 individus porteurs de la résistance conférée par les gènes *Lr57/Yr40*.



Le QTL5A a été suivi à l'aide des marqueurs SSR publiés par McCartney *et al.* (2004). Le gène majeur *Pch1*, quant-à-lui, a été suivi tout au long du programme avec un marqueur SNP développé en interne chez Florimond Desprez, avant ce projet FSOV.

Dans le schéma de pyramidage « fusariose », 2 gènes/QTLs ont principalement été suivis par marquage.

Pour le gène majeur *Fhb1*, nous avons utilisé des marqueurs SNP développés dans des séquences consensus d'EST localisées à l'intérieur ou proche de l'intervalle [*Xgwm533* - *Xgwm493*] (Bernardo *et al.*, 2012).

Un set de huit SNP a finalement été choisi, dont l'un a été dessiné dans une séquence de 4.8kb couvrant *Umn10* (Choulet, com perso 2013). Parmi ces SNP, dans la population Ning7840 X Clark, 6 sont associés au QTL de résistance à la maladie avec des LOD de valeur comprise entre 1.76 et 11.62 et des pourcentages de variabilité expliquée compris entre 11 et 54%. L'un d'entre eux est associé à une protéine identifiée comme possédant une fonction de défense. On notera que le comportement bi-allélique des marqueurs SNP, la possibilité du haut débit et le marquage au plus près de la fonction sont des propriétés particulièrement intéressantes pour la SAM.

Des marqueurs SSR ont été utilisés pour suivre le QTL *Fhb5*, sur le bras court du chromosome 5A (source Wangshuibai).

Enfin, les différentes populations HD produites à la fin de chaque schéma de pyramidage ont été génotypées avec la puce SNP 35K Axiom® (Axiom® Wheat Breeder's Genotyping Array) afin d'obtenir un génotypage dense avec des marqueurs anonymes répartis sur l'ensemble du génome du blé tendre.

► 2.3 - Sélection génomique

Des équations de prédiction ont été développées par les partenaires, notamment dans le cadre du projet PIA Breedwheat (www.breedwheat.fr). En utilisant 5 à 10 000 marqueurs choisis parmi les 200 000 SNP polymorphes dans une population de type « breeding », la qualité des prédicteurs (appelés GEBV), estimée par validation croisée, est de l'ordre de 0.6 à 0.7 pour des caractères comme le rendement, la teneur en protéines ou le score fusariose. Pour des raisons de coût, c'est une autre puce SNP qui a été utilisée dans ce projet. Néanmoins, en utilisant les 5 900 marqueurs communs aux 2 puces, la reliabilité des prédictions reste correcte (# 0.5) et pourra sans doute être améliorée par l'utilisation de méthodes d'inférence. Bien que les populations pyramide comportent des géniteurs génétiquement éloignés de la population de référence utilisée pour l'entraînement du modèle de sélection génomique, la présence de plus de 50% de géniteurs « élites » nous rend confiant dans la portabilité des équations et la précision des prédicteurs.

Ces données de génotypage haut-débit seront disponibles aux partenaires dès le début de l'année 2017 et les premiers modèles pourront ainsi être testés rapidement.

► 2.4 - Phénotypage

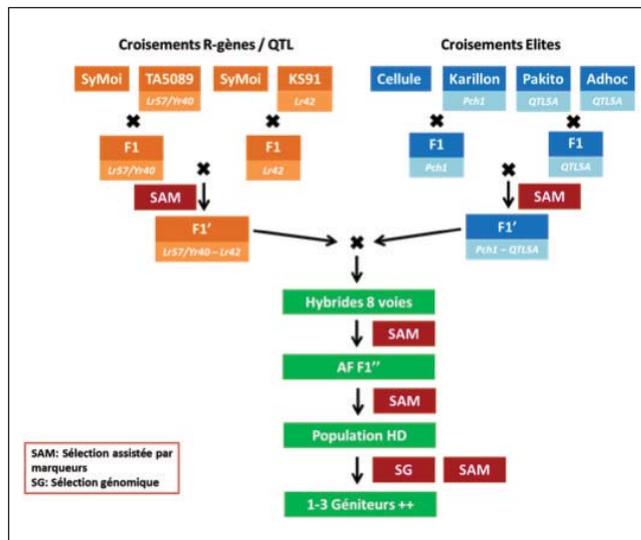
Une fois les populations HD produites, celles-ci seront phénotypées en 2016-2017 en pépinières pour des caractères de développement et de résistance aux maladies. Ces premiers résultats permettront d'analyser notamment la résistance réelle aux rouilles du matériel produit en conditions naturelles.

La récolte ainsi obtenue permettra de semer en octobre 2017 des premiers essais mono-répétition en 3 lieux. Ces essais permettront d'évaluer le rendement des HD et de valider les résultats obtenus par sélection génomique.

3. Résultats et Discussion

Schéma Rouilles

Le schéma de pyramidage des résistances aux rouilles effectué est présenté dans la figure ci-dessous.



Le premier croisement pyramidal à 4 parents (en orange sur la figure) avait pour objectif principal le transfert des résistances aux rouilles (*Lr57/Yr40* et *Lr42*). 220 grains F1' (hybrides 4-voies) ont été obtenus en février 2013.

Un second croisement pyramidal à 4 parents (en bleu sur la figure) avait pour objectif le mélange de fonds génétiques élites. En parallèle, deux gènes/QTLs de résistance ont été suivis (*QTL5A* et *Pch1*). 189 grains F1' (hybrides 4-voies) ont été obtenus en février 2013. Les grains F1' n'étaient pas tous porteurs des gènes d'intérêt et une sélection assistée par marqueurs (SAM) a donc dû être effectuée. 33 plantes étaient porteuses à la fois du gène *Lr42* et des gènes *Lr57/Yr40* à l'état hétérozygote. 43 plantes étaient porteuses à la fois du gène *Pch1* et du *QTL5A* à l'état hétérozygote.

Les plantes F1' issues de chaque croisement 4-voies et sélectionnées par SAM ont été croisées entre-elles en juin 2013. 178 croisements ont pu être réalisés. A l'issue de ces croisements, 2122 grains F1'' (hybrides 8-voies) ont été récoltés en août 2013. Ces individus ont été marqués pour les gènes/QTL de résistance *Lr42*, *Lr57/Yr40*, *Pch1* et *QTL5A* et sélectionnés. Au total, seulement 97 plantes étaient porteuses de l'ensemble des gènes/QTLs à l'état hétérozygote. Si l'on avait décidé de produire des HD directement à partir des 97 plantes possédant les 4 gènes/QTLs de résistance, théoriquement on aurait pu espérer obtenir 500 HD dont uniquement 1/16^{ème} auraient été porteurs des 4 gènes/QTL, soit seulement 30 HD environ. Le nombre final d'HD disponibles pour la suite du programme étant trop faible, il a été décidé d'effectuer un cycle d'autofécondation supplémentaire à partir des hybrides 8-voies, avant la production des HD, afin de permettre de fixer les gènes/QTL majeurs à l'état homozygote. Les 97 plantes F1'' ont donc été autofécondées en juillet 2014 et 6122 grains issus de l'autofécondation des hybrides 8-voies ont été récoltés et marqués pour les 4 gènes/QTL de résistance. 67 plantes ont été sélectionnées comme potentiellement porteuses des 4 gènes/QTL de résistance à l'état homozygote.

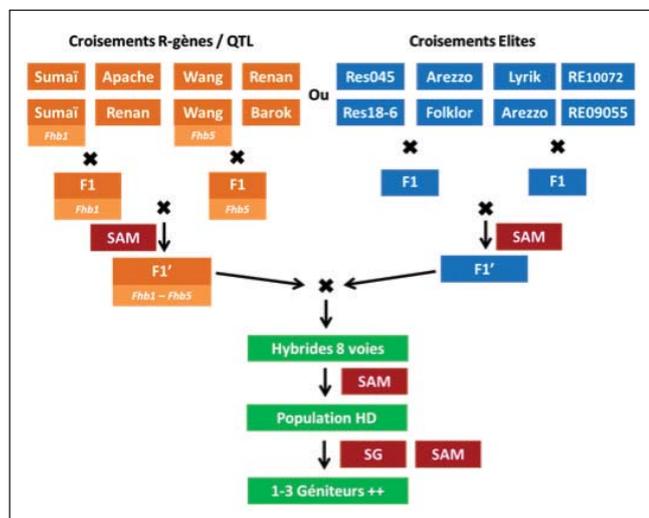
A partir de ces 67 plantes, une production d'HD a été initiée au début de l'année 2015. En août 2016, 695 lignées HD ont été produites cumulant des gènes de résistance aux rouilles (*Lr42* et *Lr57/Yr40*) et 2 gènes/QTL de résistance à d'autres maladies d'intérêt (*Pch1* et *QTL5A*).

Ces 695 lignées HD sont en cours de génotypage Axiom au fin d'année 2016 et devraient être sélectionnées par sélection génomique vers mi-2017.

Schéma Fusariose

Le schéma de pyramidage des résistances à la fusariose effectué est présenté dans la figure ci-contre.

Pour la partie gauche du plan de croisement, 127 et 83 grains F'1 ont été produits respectivement pour chaque hybride double. Après marquage *Fhb1* et *Fhb5*, 20 et 10 plantes F'1 R-gène ont été croisées avec des F'1 élite.



Au total, 950 grains hybrides 8 voies ont été obtenus (500 et 450). Après un tri sur les marqueurs de *Fhb1*, *Fhb5* et *Rht1/2*, 221 plantes mères ont été sélectionnées, 162 du croisement (Sumai3/Apache //Wangshuibai/Renan) et 59 du croisement (Sumai3/Renan//Wangshuibai /Barok). Celles-ci ont été utilisées au printemps 2015 pour la fixation de lignées recombinantes par haplo-diploïdisation (méthode Zea).

Malheureusement, un certain nombre de ces plantes hybrides 8 voies ont présenté un phénomène de nécrose hybride, connu pour apparaître en particulier dans les croisements entre le pool européen et le pool asiatique (photo ci-après).

Sur les plantes présentant un développement normal, 520 épis ont été prélevés, représentant un total de 19122 fleurs, qui ont donné 7955 grains d'où 2202 embryons haploïdes. 367 plantes ont été régénérées et implantées en serre après traitement à la colchicine. Au final, 238 plantes se sont révélées fertiles. Elles ont été semées pour multiplication et extraction d'ADN pour le marquage avec la puce Axiom® Wheat Breeder's Genotyping Array.



Echange des géniteurs entre les partenaires

Les GEBV pour les caractères agronomiques et la qualité du grain seront utilisées pour sélectionner, parmi les centaines de descendants porteurs des gènes et QTLs de résistance, ceux qui présentent les meilleures valeurs génétiques attendues pour le rendement et la qualité du grain. Ainsi, 10 à 20 géniteurs les plus prometteurs seront transférés aux sélectionneurs des deux partenaires dès la fin de l'été 2017.

Ces géniteurs pourront être utilisés dans leurs programmes de sélection respectifs, permettant ainsi l'apport de nouvelles sources de résistance à la fusariose et aux rouilles déjà incorporées dans un fonds génétique élite et donc une valorisation très rapide de cette diversité génétique.

Valorisation scientifique

En attendant des résultats sur l'évaluation agronomique du matériel créé, qui pourrait donner lieu à une publication scientifique comme preuve de concept d'une démarche associant SAM et sélection génomique, une communication par affiche, intitulée « Development of a new pre-breeding scheme combining marker-assisted selection and genomic selection for improving wheat disease resistance », a été proposée à la prochaine conférence IWGS (<http://iwgs2017.boku.ac.at/>).

Références bibliographiques

- Plan Ecophyto 2018 <http://agriculture.gouv.fr/le-plan-ecophyto-pour-reduire-lutilisation-des-produits-phytosanitaires-en-france>
- Anderson JA, Stack RW, Liu S, Waldron BL, Fjeld AD, Coyne C, Moreno-Sevilla BR, Mitchell J, Song QJ, Cregan PB, Frhberg RC (2001) **DNA markers for a Fusarium head blight in two wheat populations.** Theor. Appl. Genet. 102: 1164-1168
- Bernardo AN, Ma HX, Zhang DD, Bai GH (2012) **Single nucleotide polymorphism in wheat chromosome region harboring Fhb1 for Fusarium head blight resistance.** Molecular Breeding 29:477-488
- Brun H., Chèvre A.M., Fitt B.D.L., Powers S., Besnard A.L., Ermel M., Huteau V., Marquer B., Eber F., Renard M., Andrivon D., 2010. **Quantitative resistance increases the durability of qualitative resistance to Leptosphaeria maculans in Brassica napus.** New Phytologist 185, 285-299.
- Buerstmayr H, Ban T, Anderson JA (2009) **QTL mapping and marker-assisted selection for Fusarium head blight resistance in wheat: A review.** Plat Breed. 128:1-26
- McCartney CA, Somers DJ, Fedak G, Cao W (2004) **Haplotype diversity at fusarium head blight resistance QTLs in wheat.** Theor Appl Genet 109:261-271
- Gervais L, Dedryver F, Morlais JY, Bosusseu V, Negre S, Bilous M, Groos C, Trottet M (2003) **Mapping quantitative trait loci for Fusarium head blight resistance in a European winter wheat.** Theor. Appl. Genet. 110:1218-1225
- Holzappel J, Voss HH, Miedaner T, Korzun V, Häberle J, Schweizer G, Mohler V, Zimmermann G, Hartl L (2008) **Inheritance of resistance to Fusarium head blight in three European winter wheat populations.** Theor. Appl. Genet. 117:1119-1128
- Ishii T, Yonezawa K (2007) **Optimization of the marker-based procedures for pyramiding genes from multiple donor lines: I. Schedule of crossing between the donor lines.** Crop Sci 47:537-546
- Ishii T, Hayashi T, Yonezawa K (2008) **Optimization of the marker-based procedures for pyramiding genes from multiple donor lines: III. Multiple gene assemblage using background marker selection.** Crop Sci 48:2123-2131
- Kuruparthi V, Sood S, See DR, Gill BS (2009) **Development of a PCR Assay and Marker-Assisted Transfer of Leaf Rust and Stripe Rust Resistance Genes Lr57 and Yr40 into Hard Red Winter Wheats.** Crop Science 49:120-126
- Liu S, Hall MD, Griffey CA, McKendry AL (2009) **Meta-analysis of QTL associated with Fusarium Head blight resistance in wheat.** Crop Science 49: 1955-1968
- Liu Z, Bowden RL, Bai G (2013) **Molecular Markers for Leaf Rust Resistance Gene Lr42 in Wheat.** Crop Science 53:1566-1570
- Martin, J.N., B.F. Carver, R.M. Hunger, and T.S. Cox (2003) **Contributions of leaf rust resistance and awns to agronomic and grain quality performance in winter wheat.** Crop Science 43:1712-1717.
- McIntosh R.A., Dubcovsky J., Rogers J., Morris C., Appels R., Xia X. 2010: **Catalogue of Gene Symbols for Wheat: 2015-2016 Supplement.**
- Servin B, martin OC, Mezard M, Hospital F (2004) **Toward a theory of marker-assisted gene pyramiding.** Genetics 168:513-523
- Singh R.P., Hodson D.P., Jin Y., Huerta-Espino J., Kinyua M.G., Wanyera R., Njau P., Ward R.W. (2006) **Current status, likely migration and strategies to mitigate the threat to wheat production from race Ug99 (TTKS) of stem rust pathogen.** Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources 1:54
- Sun X, Bai G, Carver BF, Bowden R (2010) **Molecular Mapping of Wheat Leaf Rust Resistance Gene Lr42.** Crop Science 50:59-66

Criblage de gènes/QTLs de résistance à la septoriose et à la fusariose du blé tendre

Ellen GOUEMAND^{1*}, Marc LEMMENS², Laure DUCHALAIS³, Gert KEMA⁴, Delphine HOURCADE⁵, Denis BEGHIN², Brigitte MANGIN⁶

1 - Florimond Desprez Veuve & Fils, 59242 Cappelle-en-Pévèle

2 - University of Natural Resources and Applied Life Sciences - Department for Agrobiotechnologies (BOKU IFA), 3430 Tulln (Autriche)

3 - RAGT 2n, 28150 Louville La Chenard

4 - Plant Research International (PRI), 3708 Wageningen (Pays-Bas)

5 - Arvalis - Institut du Végétal, 31450 Bazilège

6 - INRA - LIPM, 31326 Castanet-Tolosan

* **Coordinatrice** : Ellen GOUEMAND, ellen.goudemand@florimond-desprez.fr

1. Introduction

La septoriose et la fusariose sont deux maladies qui affectent particulièrement le développement du blé tendre, causant des pertes pouvant aller jusqu'à 70% du rendement et diminuant la qualité des grains si les conditions sont favorables à leurs développements. La septoriose du blé tendre, ou *Septoria tritici blotch* (STB), est la maladie la plus importante du blé tendre du fait de sa fréquence et de l'importance des dégâts causés. Elle est principalement causée par le champignon *Zymoseptoria tritici* qui affecte les feuilles de la plante. La maladie se propage alors des feuilles inférieures vers les étages foliaires supérieurs par le biais des éclaboussures de pluie, ou grâce au chevauchement des feuilles. La fusariose de l'épi, ou *Fusarium head blight* (FHB), peut être causée par plusieurs champignons. Celle provoquée par *Fusarium graminearum* est la plus répandue en France mais aussi la plus problématique en raison de sa production de mycotoxines dans les grains, notamment de déoxynivalénol (DON) qui est très toxique. La législation européenne a défini une teneur maximale en mycotoxines au-delà de laquelle les grains ne peuvent plus être consommés.

Pour contrer ces maladies, la lutte phytosanitaire est fortement utilisée. Cependant, avec les nouvelles normes concernant l'utilisation des produits phytosanitaires comme le plan Ecophyto, l'utilisation de ces produits est de plus en plus restreinte. De nouveaux moyens de lutte doivent donc être trouvés. La recherche de résistances variétales s'est ainsi développée pour limiter l'utilisation des fongicides tout en maintenant un potentiel de rendement élevé.

A l'heure actuelle, 18 gènes majeurs de résistance à la septoriose ont été découverts, ce qui est bien peu comparé aux 73 détectés pour la résistance à la rouille jaune. Pour la fusariose, sur une centaine de QTLs recensés, uniquement 3 gènes/QTLs (Fhb1, Qfhs-ifa-5A, Fhb2) seraient réellement utilisables dans des programmes de sélection (Buerstmary *et al.*, 2009). Le manque de variabilité utilisée en sélection est un frein à la production de variétés durablement résistantes. Récemment, trois nouveaux gènes de résistance à la septoriose (Stb16q, Stb17 et Stb18) ont été découverts grâce au projet FSOV 2008 B, ainsi que deux nouveaux gènes de résistance à la fusariose (Fhb4 et Fhb5) (Xue *et al.*, 2010 ; Xue *et al.*, 2011). Ces avancées récentes démontrent bien les possibilités de progrès.

Ce projet a pour but d'étudier le déterminisme génétique de lignées précédemment sélectionnées pour leur résistance à la septoriose et à la fusariose grâce à l'utilisation de 5 populations d'haploïdes doublés (HD). L'identification de marqueurs liés à ces nouveaux facteurs de résistance serait une aide précieuse pour transférer efficacement ces sources de résistance dans du matériel en cours de sélection et obtenir ainsi de nouvelles variétés résistantes à ces deux maladies fortement dommageables en France.

2. Matériels et méthodes

► Matériel végétal

Le projet précédent (FSOV 2004 : Détection et exploitation de résistances durables aux septorioses et fusarioses du blé tendre) a permis l'identification de lignées ou variétés présentant un excellent niveau de résistance à la septoriose (*Zymoseptoria tritici*) au champ et en conditions contrôlées avec différents isolats, ainsi que des lignées possédant une très bonne résistance à la fusariose (*Fusarium graminearum*) quel que soit le mode de contamination utilisé. Une partie des lignées résistantes à la septoriose a déjà été analysée grâce à la production de populations haploïdes doublés (Apache x Balance, Bermude x Timber, Bio110 x Nogal) dans le FSOV 2008 B, permettant la découverte de trois nouveaux gènes majeurs de résistance à la septoriose (Stb16q, Stb17 et Stb18). A la vue de ces résultats encourageants, d'autres populations HD ont été produites pour les lignées qui ont montré lors du FSOV 2004 des résistances intéressantes à la fois vis-à-vis de la septoriose et de la fusariose. Cinq de ces populations ont été utilisées dans ce projet : FD3 x Bio4036, FD3 x 04CYBHFU25, FD3 x A40.22.1.2, FD3 x Bio5019 et FD3 x Bio719. Le parent FD3, commun aux 5 populations, est sensible aux deux pathogènes alors que les autres parents présentent une certaine résistance à la septoriose et à la fusariose. Les parents résistants sont de sources variées, issus de lignées CIMMYT, hollandaises et autrichiennes.

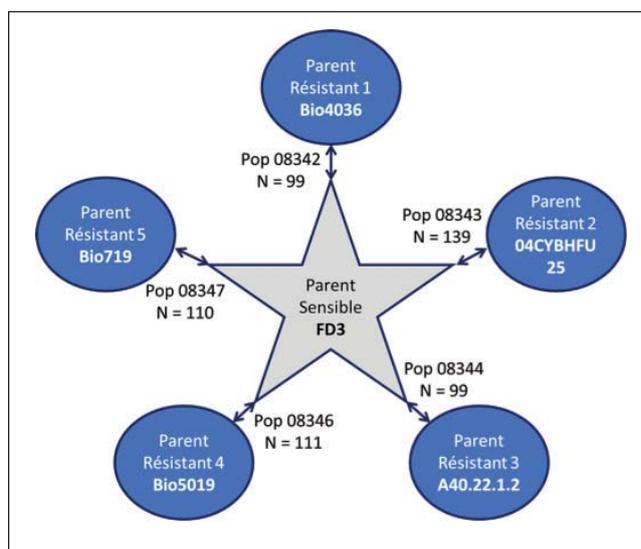


Figure 1 : Représentation des 5 populations connectées utilisées dans ce projet.

Les populations possèdent entre 99 et 139 individus (Figure 1).

► Phénotypage

Tests de résistance à la septoriose

Des tests précoces de résistance à la septoriose ont été effectués sur les 6 parents des populations afin de déterminer le ou les isolats permettant de mieux distinguer le parent sensible du parent résistant pour chaque population biparentale. Les isolats testés sont : IPO98021, IPO99048, IPO98050, IPO98032, IPO98001, IPO323, IPO94269, IPO99031, IPO99032, IPO98113, IPO99042 et IPO98038. Ensuite, les tests précoces ont été effectués en 2 répétitions sur les descendants des populations avec l'isolat IPO323 pour la population 08344 et l'isolat IPO98050 pour les 4 autres populations. Le protocole pour les tests précoces est le suivant : cinq grains par individu ont été semés et les plantules ont été cultivées sous conditions contrôlées en serre. Une solution contenant l'inoculum a été pulvérisée sur les plantules au stade première feuille (7 à 10 jours après le semis). Le niveau de résistance a été estimé par un pourcentage de symptômes (nécroses et pycnides) observés sur la première feuille. Cette notation a été effectuée 21 jours après inoculation.

Les cinq populations ont également été phénotypées pour leur résistance à la septoriose au stade adulte, sur deux lieux (Cappelle-en-Pévèle et Louville La Chenard) et deux années (2014 et 2015). Les populations ont été semées en 1 répétition en pépinière irriguée à Cappelle et non-irriguée à Louville. Selon les lieux, chaque génotype comporte entre 30 et 50 plantes réparties sur 3 lignes. Des témoins, communs à tous lieux et dont le comportement face aux maladies est très bien connu, sont intégrés très régulièrement dans le dispositif. En 2014, deux isolats (IPO323 et IPO98047), produits par PRI, ont été pulvérisés en mélange. En 2015, l'isolat préconisé par les tests précoces a été utilisé (IPO98050). Chaque test regroupe deux inoculations. La première est effectuée au stade montaison/début épiaison en fonction des conditions climatiques, puis est suivie d'un second passage 7 jours plus tard. Deux notations de résistance à la septoriose ont été réalisées par essai, 21 jours après l'inoculation et environ 7 jours après la première note. La sévérité de la maladie a été évaluée avec la méthode de l'AUDPC (Area Under the Disease Progress Curve) qui permet d'appréhender la progression de la maladie entre plusieurs notations.

Tests de résistance à la fusariose

La résistance à la fusariose des cinq populations a été évaluée sur deux lieux (Cappelle-en-Pévèle et Tulln en Autriche), et deux années (2014 et 2015). Les populations ont été semées en 1 (Cappelle) ou 2 répétitions (Tulln) en pépinière irriguée. Deux méthodes d'inoculation de la fusariose ont été menées en parallèle. Afin de provoquer une infection primaire de fusariose, des cannes de maïs ont été appliquées sur la parcelle à partir du mois d'avril, suivie par une inoculation par pulvérisation de spores de *F. graminearum* afin d'évaluer le matériel avec une pression parasitaire maximale. A Cappelle-en-Pévèle, les notations de résistance à la fusariose ont été effectuées tous les 100 degrés jours à partir de 250 degrés jours après le stade floraison (3 notations). Par génotype, le pourcentage d'épis touchés par la fusariose a été noté (0% : aucun épi touché ; 100% : tous les épis ont au moins un épillet touché), ainsi que la moyenne du nombre d'épillets touchés sur 10 épis touchés pris au hasard. L'IFA de Tulln a effectué, pour sa part, 4 notations : 10, 14, 18 et 22 jours après la floraison. Le pourcentage d'épillets touchés sur l'ensemble de la parcelle a été noté. La progression de la maladie a été évaluée comme pour la septoriose par la méthode de l'AUDPC. Après récolte, une notation de FDK (Fusarium damaged kernels) a été effectuée pour chaque lignée dans les deux lieux d'étude de la fusariose. A Tulln, pour chaque lignée, 100g de grains ont été

récoltés dans chaque répétition et mélangés afin d'effectuer une analyse de la quantité de DON par HPLC.

Des notations morphologiques et de développement ont également été réalisées pour caractériser les lignées (précocité d'épiaison, précocité de floraison, hauteur). En conséquence d'une année à forte pression rouille jaune, des notations pour cette maladie ont également été effectuées. A savoir que lorsque la pression rouille jaune était trop importante sur les feuilles (supérieure à une note de 5/9), aucune notation septoriose n'était effectuée.

► Génotypage

Le génotypage des 5 populations a été effectué avec la puce SNP Axiom, 420K, développée dans le cadre du projet BreedWheat (<http://www.breedwheat.fr/>).

► Analyse des données

Les données de phénotypage ont été nettoyées (outliers) et les effets terrains (blocs) ont été corrigés grâce à un modèle linéaire mixte sous R.

Les données de génotypage ont été nettoyées (délétion des marqueurs monomorphes, délétion des marqueurs et individus présentant un taux d'hétérozygotie supérieur à 20%, délétion des marqueurs et individus présentant un taux de données manquantes supérieur à 20%, délétion des marqueurs distordus grâce au test de Chi2).

La cartographie des marqueurs a été effectuée, population par population, grâce au logiciel Carthagène (Givry *et al.*, 2005). Un LOD seuil de 3 et une distance maximale entre marqueurs de 30 cM ont été retenus. Le logiciel Biomecator (Sosnowski *et al.*, 2012) a ensuite été utilisé pour générer une carte consensus des 5 populations.

Les maladies étudiées ici sont complexes, expliquées par plusieurs gènes interagissant entre eux et avec des facteurs de l'environnement. De nombreuses recherches portent sur le développement de méthodes d'identification de loci génétiques impliqués dans la variabilité de tels caractères. Il en résulte deux approches méthodologiques, fondamentalement basées sur le même principe : les études de liaison et les études d'association.

Les données de génotypage et de phénotypage ont, dans un premier temps, été mises en relation pour chaque population prise indépendamment. Cette analyse de liaison population par population a été effectuée grâce au package R/qtl (Broman *et al.*, 2003), via une analyse CIM (composite interval mapping). Une méta-analyse a ensuite été réalisée afin de compiler les QTLs détectés sur les différentes populations avec le logiciel Biomecator. Pour gagner de la puissance de détection et de la précision de localisation sur les QTLs « généralistes », c'est-à-dire sur les loci qui sont polymorphes et ont un effet sur la résistance dans plusieurs populations, les cinq populations connectées du projet ont été analysées ensemble grâce au logiciel MCQTL-LD (Jourjon *et al.*, 2005).

L'autre approche d'association a été entreprise par un modèle mixte multi-locus (MLMM) proposé par Segura *et al.* (2012). Contrairement au modèle multi-allélique de MCQTL, le modèle d'association postule que le QTL est bi-allélique. Dans le modèle, l'apparement est informé par une matrice de covariance, la matrice Kinship, calculée à partir des génotypes des individus. Une matrice de structure est également mise dans le modèle pour décrire l'appartenance des génotypes aux cinq populations. Cependant, MLMM ne fonctionne pas lorsqu'il manque des données au niveau des génotypes. Les données manquantes ont donc été imputées grâce au logiciel Beagle (Ayres *et al.*, 2011).

3. Résultats

► Analyse des données phénotypiques

Les tests de résistance à la septoriose au champ ont été perturbés par le développement important de la rouille jaune sur les feuilles. Les populations 08344 et 08346 n'ont pas pu être phénotypées pour la septoriose sur les deux lieux (Cappelle et Louville) et les deux années.

Les contaminations de septoriose et de fusariose ont bien fonctionné sur les différents sites. La pression fusariose à Cappelle en 2014 était presque trop forte pour permettre une bonne discrimination des individus. La figure 2 représente la distribution des AUDPC du caractère de résistance à la fusariose sur épi des 5 populations à Tulln en 2015, chaque couleur représentant une population biparentale.

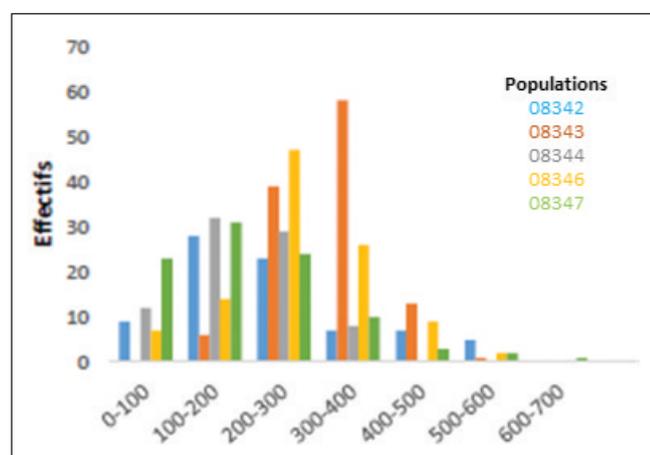


Figure 2 : AUDPC fusariose sur épi à Tulln en 2015.

► Cartographie génétique

Après génotypage, la matrice de données brutes comportait 218 786 marqueurs et 525 individus. Les filtres de qualité ont permis de conserver 63 678, 50 661, 71 283, 62 089 et 73 706 marqueurs pour les populations 08342, 08343, 08344, 08346 et 08347.

Les cartes génétiques individuelles ont été construites à partir de bins de marqueurs générés automatiquement par le logiciel Carthagène. Ces bins regroupent des marqueurs situés à la même position, puisqu'ayant les mêmes profils sur tous les individus d'une population. Travailler en bins permet de réduire les temps de calculs et d'éviter lors de la construction d'une carte consensus d'avoir une somme de petites distances génétiques qui n'ont pas raison d'être. Le nombre de bins cartographiés est de 5586 au total et varie de 784 pour la population 08342 à 1530 pour la population 08347. Au sein de chaque population, la cartographie génétique contient de 13 (chromosome 4D de la population 08344) à 102 bins (chromosome 3B de la population 08343). Enfin, la couverture des cartes génétiques s'étend de 41.9 cM pour le chromosome 2D de la population 08346 à 493.3 cM (chromosome 3B de la population 08347).

La carte consensus réalisée avec Biomecator regroupe 6081 bins sur 5137.5cM, avec en moyenne 1 bin tous les cM (Tableau I).

► Analyse de liaison population par population

L'analyse de liaison classique, effectuée avec le package R/qtl, a permis la mise en évidence de 363 QTLs sur l'ensemble des populations (Tableau II).

Le plus faible nombre de QTLs détectés pour la septoriose, par rapport aux autres caractères, s'explique par le nombre peu important de notations effectuées.

Chr	Nombre de bins consensus	Distance génétique (cM) consensus	Distance moyenne (cM) entre bins consensus
1A	143	162.4	1.145
1B	171	198.8	1.169
1D	180	211.5	1.888
2A	247	236.9	0.967
2B	185	184	1
2D	165	216	1.325
3A	267	266.3	1.005
3B	345	239.1	0.697
3D	206	316.9	1.554
4A	301	259.3	0.867
4B	1534	418.5	0.23
4D	166	148.6	0.906
5A	331	290.9	0.884
5B	274	289.1	0.915
5D	230	246	1.079
6A	184	305.1	1.676
6B	204	190.4	0.929
6D	156	199.6	1.288
7A	312	260.6	0.841
7B	267	234.2	0.884
7D	213	263.3	1.248
Total	6081	5137.5	1.071

Tableau I : Carte consensus réalisée (nombre et positionnement des bins de marqueurs).

QTL	Pop 08342	Pop 08343	Pop 08344	Pop 08346	Pop 08347	Total
Fusariose	15	35	25	18	32	125
Septoriose	16	11	0	7	4	38
Rouille Jaune	12	5	9	13	7	46
Développement	19	36	24	32	43	154
Total	62	87	58	70	86	363

Tableau II : Nombre de QTLs détectés par population et par type de caractères.

La méta-analyse a permis de mettre en évidence 131 Méta-QTLs (MQTL) pour les caractères de résistance à la septoriose, à la fusariose et à la rouille jaune ainsi que pour les caractères de précocité et de morphologie. 28 MQTLs correspondent à un unique QTL initial et 103 MQTLs regroupent plusieurs QTLs initiaux (allant de 2 à 30 QTLs). Sur l'ensemble des 103 MQTLs, 10 MQTLs correspondent à un unique caractère. C'est le cas pour les caractères de précocité (3 MQTLs), de hauteur (1 MQTL) et de résistance à la fusariose (6 MQTLs). Le reste des MQTLs regroupent plusieurs caractères de résistance aux maladies ou de développement.

► Analyse en populations connectées

MCQTL a été utilisé pour analyser les caractères intra-populations et inter-populations. Un QTL a, par exemple, été détecté pour la hauteur sur le site de Cappelle lors de l'analyse inter-populations. En revanche, il n'a pas été retrouvé lors des analyses intra-populations. L'utilisation de MCQTL avec une analyse multi-populationnelle permet donc de gagner en puissance pour la détection de QTLs. Au total, 59 QTLs inter-populations ont été détectés dont 21 de résistance à la fusariose et 1 de résistance à la septoriose (Tableau III). A noter que l'analyse multi-populations est possible uniquement avec des caractères phénotypés sur l'ensemble des populations (problème avec la septoriose). Au total, l'analyse en populations connectées a permis la détection de 106 QTLs distincts.

► Analyse d'association (MLMM)

QTL	Pop 08342	Pop 08343	Pop 08344	Pop 08346	Pop 08347	Multi-pop	Total distincts
Fusariose	6	14	11	9	9	21	50
Septoriose	8	2	0	1	0	1	9
Rouille Jaune	9	3	6	11	7	18	25
Développement	12	26	15	25	37	19	22
Total	35	45	32	46	53	59	106

Tableau III : Nombre de QTLs détectés par population et inter-populations (multi-pop).

L'approche MLMM a mis en évidence 623 QTLs sur l'ensemble des caractères étudiés, dont 397 liés à des caractères de résistance (fusariose, septoriose et rouille jaune). Les QTLs détectés sont répartis sur l'ensemble des chromosomes (Figure 3).

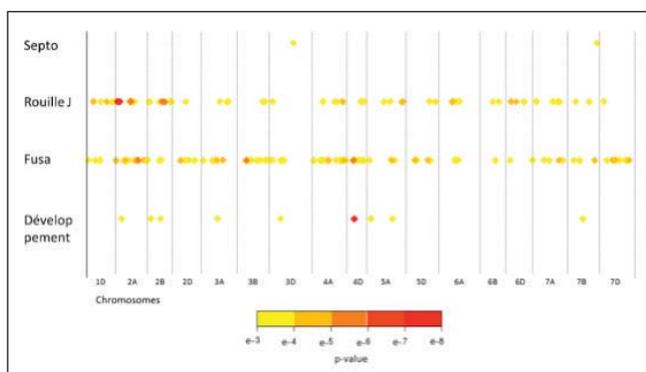


Figure 3 : Répartition des QTLs associés aux caractères phénotypés à Cappelle en 2014.

4. Discussion

► Comparaison des différentes méthodes de détection

L'analyse par association a permis de détecter plus de QTLs que les différentes analyses de liaison. Bien que robuste, l'analyse de liaison donne une information assez imprécise : un QTL est détecté dans une région chromosomique assez importante, comme le montrent les intervalles de confiance parfois très larges. Cela est dû au fait que les populations étudiées sont des populations HD. Le déséquilibre de liaison y est très fort à cause du faible nombre de recombinaisons. Cependant, tout comme pour les QTLs détectés avec l'analyse par liaison, des intervalles de confiance devraient être associés à ces QTLs détectés par MLMM, intervalles qu'aucun logiciel à ce jour ne permet de construire. Il ne faut pas regarder le locus exact associé au QTL mais plutôt la zone dans laquelle il se situe à plus ou moins 3 cM. Le nombre de QTLs distincts détectés par MLMM est donc surestimé.

► Lien entre QTLs de résistance et QTLs de développement

La majorité des QTLs détectés, expliquant une partie des résistances à la septoriose, à la fusariose et à la rouille jaune ne semble pas être des résistances strictes puisqu'ils colocalisent le plus souvent avec des QTLs de développement. Ils correspondraient donc, soit à des processus d'échappement des maladies grâce à la taille des individus, soit à des biais apportés par les notations du fait de la précocité variable des individus. Plus un individu est précoce, plus il a tendance à être exposé longtemps à la maladie, notamment pour la septoriose pour laquelle les notations de résistance ne prennent pas en compte la précocité. En parallèle, il existe une relation entre la

hauteur des plantes et leurs résistances à la septoriose et à la fusariose. Plus un individu est haut, plus il aura tendance à être résistant (Simon *et al.*, 2005) par diminution du phénomène de contamination des étages foliaires supérieurs par splashing, mais également grâce à une meilleure ventilation de l'épi. Cependant, des plantes trop hautes auront tendance à verser plus facilement et auront un impact négatif sur le rendement.

Sur le chromosome 4B, on peut noter la colocalisation de QTLs de résistance à la fusariose avec des QTLs de hauteur expliquant une grande partie de la variabilité du caractère. Or, le gène de nanisme Rht1 a été détecté sur ce même chromosome. On peut donc supposer que cette zone de résistance correspond en réalité à l'effet négatif du gène Rht1. De même, sur le chromosome 4D, de nombreux QTLs de résistance à la fusariose et à la septoriose ont été détectés entre 42.1 et 57.9 cM, ainsi que des QTLs de hauteur, grâce aux différentes méthodes de détection (Figure 4). Le gène de nanisme Rht2 a été détecté sur ce même chromosome, laissant supposer que les résistances mises en évidence sur le chromosome 4D correspondent à l'impact de l'absence du gène de nanisme.

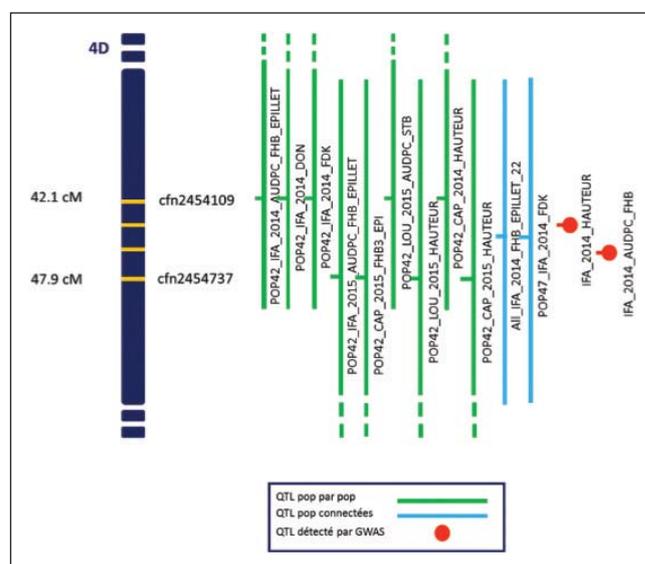


Figure 4 : Colocalisation de QTLs sur le chromosome 4D.

► QTLs de résistance « pure »

Les marqueurs liés à des résistances au sens strict seront les plus utiles en sélection puisque leur utilisation n'aura pas d'impact sur la morphologie, ni sur le développement de la plante. De plus, les QTLs retrouvés par différentes méthodes peuvent être considérés comme potentiellement les plus fiables pour une introduction dans du matériel en sélection. Sur cette étude, 17 QTLs de résistance pure, potentiellement intéressants en sélection ont été mis en évidence pour les caractères rouille jaune, septoriose et fusariose. Les QTLs de résistance à la rouille jaune, détectés sur les chromosomes 2A-2B-6A permettent d'expliquer une part importante de la résistance, avec des LOD scores pouvant atteindre 50.9 et des p-valeurs de 10-48. Les QTLs de résistance à la septoriose et à la fusariose expliquent quant-à-eux une part beaucoup plus faible de la variabilité, bien que toujours significative.

La figure 5 représente l'un de ces QTLs de résistance pure à la fusariose détecté sur le chromosome 2D entre 128 et 133.1 cM. Cette région a été détectée comme liée à la fusariose dans la population 08344 sur les deux lieux et deux années, avec les 3 méthodes statistiques de détection de QTLs. Aucun QTLs de développement ne colocalise dans cette zone.

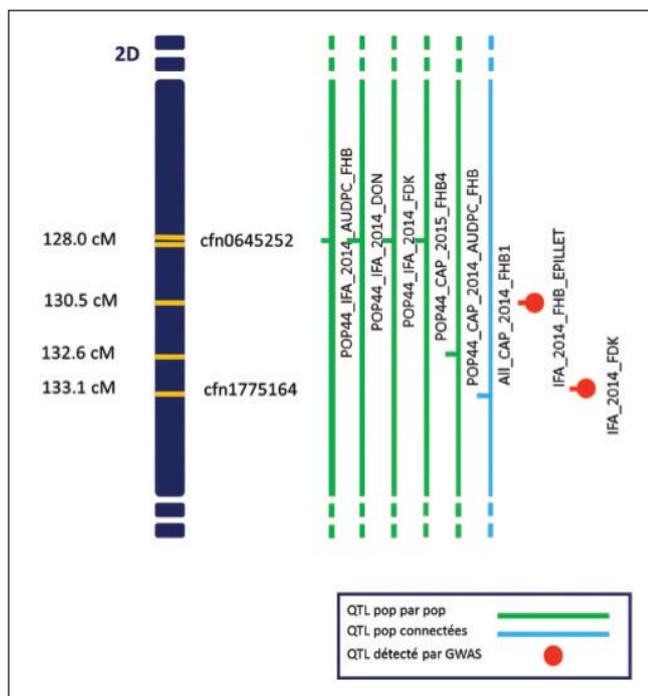


Figure 5 : Colocalisation de QTLs de résistance à la fusariose sur le chromosome 2D.

5. Conclusions

Ce programme a permis d'identifier 17 QTLs de résistance stricte à la rouille jaune, à la septoriose et à la fusariose chez le blé tendre. La comparaison des différentes méthodes de détection, ainsi que le phénotypage dans plusieurs environnements permet de confirmer l'intérêt de ces régions.

Pour les QTLs les plus informatifs, des schémas de rétrocroisements assistés par marqueurs vont être entrepris pour permettre l'introduction de ces nouvelles résistances dans du matériel élite.

Ce projet est un bel exemple de continuité entre projets FSOV. En 2004, un premier projet FSOV avait permis de mettre en évidence un certain nombre de lignées de blé tendre résistantes à la septoriose et/ou à la fusariose. Le déterminisme génétique de ces résistances a ensuite été analysé dans le cadre de deux projets FSOV (PRI2 en 2008 et Criblage en 2012).

Références bibliographiques

- Ayres, D.L., Darling, A., Zwickl, D.J., Beerli, P., Holder, M.T., Lewis, P.O., Huelsenbeck, J.P., Ronquist, F., Swofford, D.L., Cummings, M.P., *et al.* (2011). **BEAGLE: An Application Programming Interface and High-Performance Computing Library for Statistical Phylogenetics**. *Syst. Biol.* 100:100-110.
- Broman K. W., H. Wu, S. Sen and G. A. Churchill. 2003. **R/qtl: QTL mapping in experimental crosses**. *Bioinformatics*. 19:889-890.
- Buerstmayr H, Ban T, Anderson JA (2009) **QTL mapping and marker-assisted selection for Fusarium head blight resistance in wheat: a review**. *Plant Breed* 128:1-26
- Givry S, Bouchez M, Chabrier P, Milan D et Schiex T (2005) **CARTHAGENE: multipopulation integrated genetic and radiated hybrid mapping**. *Bioinformatics* 21:1703-1704.
- Jourjon M-J, Jasson S, Marcel J, Ngom B et Mangin B (2005) **MCQTL: multi-allelic QTL mapping in multi-cross design**. *Bioinformatics* 21:128-130
- Segura V, Vilhjalmsón BJ, Platt A, Korte A, Seren U, Long Q et Nordborg M (2012) **An efficient multi-locus mixed-model approach for genome-wide association studies in structured populations**. *Nature Genetics* 44:825-830
- Simon M.R., Perello A.E., Cordo C.A., Larran S., van der Putten P.E.L., et Struik P.C. (2005) **Association between Septoria tritici Blotch, Plant Height, and Heading Date in Wheat**. *Agronomic journal* 97:1072-1081.
- Sosnowski O, Charcosset A Joets J (2012) **BioMercator V3: an upgrade of genetic map compilation and QTL meta-analysis algorithms**. *Bioinformatics* 28:2082-2083
- Xue S, Li G, Jia H, Xu F, Lin F, Tang M, Wang Y, An X, Xu H, Zhang L, Kong Z, Ma Z (2010) **Fine mapping Fhb4, a major QTL conditioning resistance to Fusarium infection in bread wheat (*Triticum aestivum* L.)**. *Theor Appl Genet* 121:147-156
- Xue S, Xu F, Tang M, Zhou Y, Li G, An X, Lin F, Xu H, Jia H, Zhang L, Kong Z, Ma Z (2011) **Precise mapping Fhb5, a major QTL conditioning resistance to Fusarium infection in bread wheat (*Triticum aestivum* L.)**. *Theor Appl Genet* 123:1055-1063

Cartographie et développement de marqueurs liés au gène de résistance à la septoriose *Stb16q* en vue de son clonage

Cyrille Saintenac¹, Florence Cambon¹, Justin Faris², Steven Xu², Olivier Soudière¹, Pauline Lasserre-Zuber¹, Marc-Henri Lebrun³, Laure Duchalais⁴, Williams Marande⁵, Helene Berges⁵, Delphine Hourcade⁶, Mahmod Tabib Ghaffary⁷, Lamia Aouini⁸, Gert H.J. Kema⁸, Thierry Langin¹ et Olivier Robert^{9*}

1 - INRA/UBP UMR 1095 GDEC (Genetics, Diversity and Ecophysiology of Cereals), 5 chemin de Beaulieu, Clermont Ferrand, 63100, France

2 - USDA-ARS, Cereal Crops Research Unit, 1307 18th Street North, Fargo, ND 58102, USA

3 - INRA UR BIOGER-CPP (Biologie et Gestion des Risques en Agriculture - Champignons Pathogènes des Plantes), BP01, 78850 Thiverval Grignon

4 - RAGT 2n SAS, Route d'Epincy, 28150 Louville la Chenard

5 - Centre National des Ressources Génétiques Végétales, INRA UPR 1258, Castanet-Tolosan, France

6 - ARVALIS - Institut du végétal, 6 chemin de la Côte Vieille 31450 Baziege

7 - Seed and Plant Improvement Institute, P.O. Box 4119, Karaj 31585, Iran

8 - Wageningen University and Research, Wageningen Plant Research, Laboratory of Phytopathology, P.O. Box 16, 6700 AA Wageningen, The Netherlands

9 - Florimond Desprez, BP41, 59242, Cappelle-en-Pévèle, France

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

1. Introduction

La septoriose, causée par le champignon *Zymoseptoria tritici*, est l'une des maladies les plus dommageables sur blé en France avec des pertes de rendement avoisinant, en moyenne chaque année, les quinze quintaux à l'hectare. L'utilisation des fongicides est actuellement le principal moyen de lutte contre cette maladie. Cependant, les populations de *Z. tritici* développent de plus en plus de résistances aux fongicides. Les strobilurines, principalement utilisées pour lutter contre cette maladie à l'origine, ne sont que très peu utilisées à l'heure actuelle car la résistance à ce type de fongicides est devenue commune dans les populations européennes du champignon. De plus en plus de populations du champignon développent aussi des pertes de sensibilité aux azoles. Cette maladie représente ainsi une menace grandissante pour la production de blé. L'utilisation de variétés de blé résistantes est une des alternatives les plus respectueuses de l'environnement et de la société pour lutter contre cette maladie et limiter les pertes de rendement.

A ce jour, seulement 21 gènes majeurs de résistance, appelés gènes *Stb*, ont été identifiés chez le blé (Brown *et al.*, 2015). Ce nombre est relativement faible comparé au nombre de gènes (environ 70 gènes de résistance) conférant une résistance à chaque type de rouille. L'origine des gènes *Stb* est très diverses. La plupart proviennent de variétés de pays et d'espèces ancestrales comme *TmStb1* (identifié chez *Triticum monoccocum*) et seul quelques-uns ont été identifiés chez des variétés cultivées. D'après les résultats de GWAS obtenus lors d'un précédent projet FSOV 2010I et au cours du programme BREEDWHEAT ainsi que d'après les données issues de la littérature (Arraiano and Brown, 2006; Kollers *et al.*, 2013; Miedaner *et al.*, 2013), peu de ces gènes majeurs sont présents dans le matériel européen. Seul le gène *Stb6* et *Stb15* sont connus pour être présents dans une proportion importante de variétés européennes et dans une moindre mesure le gène *Stb9* (Arraiano and Brown, 2006). D'autres sont postulés comme étant présents dans les blés cultivés mais leur présence reste à démontrer. Aucun marqueur diagnostique de ces gènes n'a encore été identifié, limitant la sélection de variétés résistantes. Une relation de type gène pour gène a clairement été démontrée pour le gène *Stb6* et le gène d'avirulence *avrStb6* (Brading *et al.*, 2002). La plupart des autres gènes majeurs déjà contournés

par le pathogène pourrait donc faire partie de cette catégorie considérée comme non durable si utilisés seuls. Lors d'un précédent projet FSOV2008B (Tabib Ghaffary *et al.*, 2012), le blé synthétique M3 porteur du gène *Stb16q*, a été montré comme résistant contre l'ensemble des souches testées. A ce jour encore, toujours aucune souche de *Z. tritici* n'a été identifiée comme étant virulente sur l'accession M3. Cette dernière et plus particulièrement le gène *Stb16q* représente ainsi potentiellement un mécanisme de résistance unique large spectre à fort potentiel pour la sélection française.

Au cours de ce projet, nous proposons de réaliser la cartographie fine du gène de résistance *Stb16q*, l'identification de marqueurs diagnostics pour le suivi de ce gène en sélection et le phénotypage d'une collection de blés synthétiques pour identifier de nouvelles sources de résistance à la septoriose.

2. Matériel et méthode

► Matériel végétal et inoculation par le champignon *Z. tritici*

Une population de cartographie biparentale issue d'haploïdes doublés de 170 individus ainsi qu'une population F2 d'environ 20 000 individus ont été créées à partir de croisements entre le blé synthétique TA4152-19 et l'accession ND495 sensible à la septoriose.

Un panel de 98 blés synthétiques a été commandé auprès du centre de ressources biologiques de l'université du Kansas (WRGC, <https://www.k-state.edu/wgrc/>). Ces accessions ont été multipliées au champ en première année. Seul 76 ont fournies un stock de grains suffisant pour des tests de phénotypage au stade plantule et au champ (Tableau 1).

Le phénotypage des populations de cartographie génétique a été réalisé au PRI avec les souches IPO88018, IPO95036 et IPO02159. Les plantes issues de la première série ont été inoculées par spray alors que l'inoculation des plantes issues de la deuxième série a été réalisée au pinceau. La première feuille a été inoculée et la lecture des symptômes a été effectuée à 21 dpi. L'inoculation des blés synthétiques a été réalisée au stade plantule sur la deuxième feuille de plantes âgées de 15 jours avec cinq souches (IPO92006, IPO9415, IPO9455, IPO86036 et IPO2166). Trois plantes par accession ont été

inoculées et la lecture des symptômes a été réalisée à 21 dpi. Le phénotypage de la collection de blés synthétiques au stade adulte a été réalisé avec la souche IPO9415. Trois inoculations successives ont été réalisées à partir de l'étalement complet de la feuille drapeau chez l'accession la plus précoce. La lecture des symptômes a été réalisée à six dates après inoculation.

Analyses moléculaires

Le génotypage des marqueurs SSR a été réalisé suivant le protocole décrit au sein de l'article suivant (Saintenac *et al.*, 2008). Le génotypage des SNP a été conduit en utilisant le système de génotypage de type KASPar suivant le protocole du fournisseur.

La construction de la banque BAC et le criblage de cette dernière a été réalisé par le CNRGV suivant les protocoles décrits chez Peterson *et al.* 2000 et Gonthier *et al.* 2010, respectivement. Le séquençage des clones BAC a été réalisé à l'aide de la technologie Pacific Biosciences et leur annotation avec le pipeline Triannot (Leroy *et al.*, 2012).

Pour développer la population de mutants, environ 600 grains de l'accession TA4152-19 ont été traités avec une solution d'EMS à 0.3% pendant 16 heures. Après plusieurs lavages à l'eau, ces grains ont été semés et les 310 plantes M1 générées ont donné naissance à des graines M2 qui ont été directement utilisées pour les tests de phénotypage. Un total de 10 plantes par famille M2 a été phénotypé.

Le re-séquençage partiel du gène *Stb16q* a été réalisé par amplification PCR du premier exon. L'ensemble des produits PCR a été envoyé à GATC pour un séquençage suivant la méthode Sanger.

3. Résultats et discussion

Le projet FSOV2008B a permis de cartographier le gène *Stb16q* sur le chromosome 3D à partir de la population M3 (*Stb16q*) x Kulm (Tabib Ghaffary *et al.*, 2012). Cependant, l'inhibition de la recombinaison au niveau du locus *Stb16q* chez cette population, nous a contraints à développer une nouvelle population de cartographie. Au cours de nos précédentes études de phénotypage, nous avons observé que le blé synthétique TA4152-19 montrait le même spectre de résistance que le blé synthétique M3. Ainsi, une population de 170 haploïdes doublés (HD) issus du croisement entre le blé synthétique TA4152-19 et l'accession ND495 (sensible à la septoriose) a été construite, phénotypée au stade plantule par trois souches de *Z. tritici* (IPO88018, IPO95036 et IPO02159) et génotypée avec 22 marqueurs SSR localisés sur le chromosome 3D. L'analyse QTL de ces données a mis en évidence la présence d'un QTL majeur expliquant jusqu'à 68% de la variabilité phénotypique et localisé au niveau du locus *Stb16q*. Ce travail a permis de montrer que le parent synthétique TA4152-19 portait vraisemblablement le gène *Stb16q*.

La densification du locus *Stb16q* en marqueurs s'est déroulée en plusieurs étapes. L'ensemble des 300 ESTs assignés au bin de délétion le plus distal du chromosome 3D (où se situe le gène *Stb16q*) a été utilisé pour dériver des marqueurs. Ceci a permis d'ajouter neuf nouveaux marqueurs sur la carte génétique dont deux fortement liés au locus *Stb16q* (Figure 1). Nous avons ensuite utilisé les cartes génétiques internationales de référence CsxRe et ITMI (Saintenac *et al.*, 2013) à très haute densité en marqueurs. Ces deux populations ont été génotypées avec les marqueurs Xbarc323 et Xcfd9 encadrant le locus *Stb16q*. Alors qu'aucun marqueur n'a été identifié sur la carte CsxRe dans l'intervalle Xbarc323/Xcfd9, un total de 42 SNPs a été retrouvé sur la carte ITMI. Les séquences contextes de ces 42 marqueurs

SNP, trop courtes pour définir des marqueurs SNP de type KASPar, ont permis d'identifier par analyse BLASTN un total de 10 scaffolds cartographiés génétiquement sur le bras long du chromosome 3D par Jia *et al.* 2013. L'étude de la carte physique d'*Aegilops tauschii* portant ces 10 scaffolds a révélé la présence de 16 scaffolds supplémentaires dans la région (Jia *et al.*, 2013). Ainsi, les 26 scaffolds ont été utilisés pour développer de nouveaux marqueurs de type SNP et SSR. Nous avons pu identifier 18 marqueurs SNP issus de Luo *et al.* 2013 (Luo *et al.*, 2013) et présents sur ces 26 scaffolds qui ont été transformés en marqueurs KASPar. Parmi eux, cinq ont été cartographiés génétiquement sur la population HD, les plus près se situant à 1,2 cM en position proximale et à 6.5 cM en position distal. En parallèle, un total de 15 marqueurs SSR (cfd300 à cfd314) a été développé à partir de la séquence de ces 26 scaffolds. Dix ont été cartographiés génétiquement et deux issus de deux scaffolds différents co-ségréguaient avec le gène *Stb16q*. Un nouveau set de 12 marqueurs SSR (cfd315 à cfd326) issus uniquement de ces deux scaffolds a été développé. Trois d'entre eux ont été cartographiés et montré comme totalement lié à *Stb16q*.

En conclusion, nous avons cartographié le gène *Stb16q* dans un intervalle de 1,9 cM et nous avons identifié 5 marqueurs SSR totalement liés à ce gène (Figure 1).

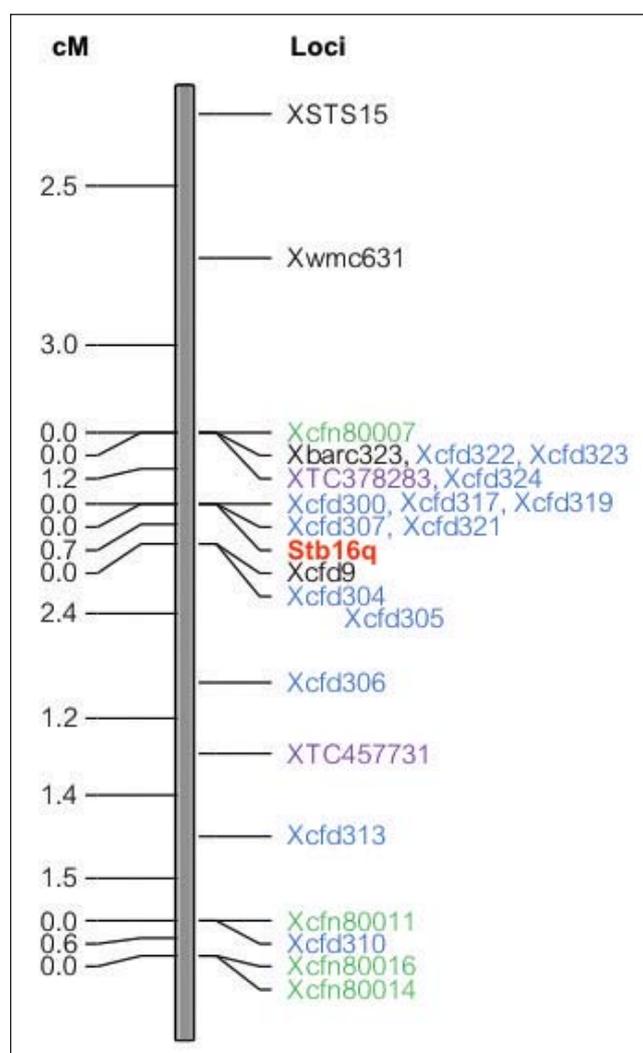


Figure 1 : Cartographie génétique du locus *Stb16q* à partir de la population HD issue du croisement entre le blé synthétique TA4152-19 (*Stb16q*) et l'accession sensible ND495. Bleu = marqueurs SSR, vert = marqueurs SNP, violet = marqueurs dérivés d'EST et noir = marqueur présent sur les cartes génétiques de référence.

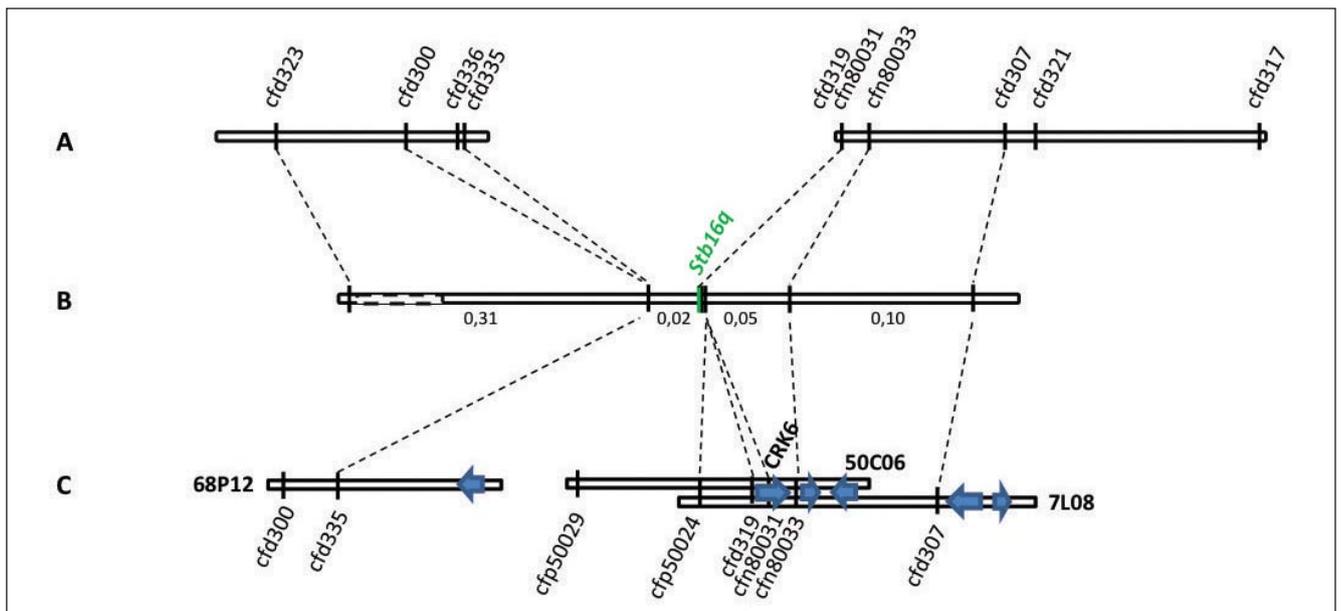


Figure 2 : Cartographie fine du locus *Stb16q*. A/ Carte physique développée par Jia et al. 2013 à partir d'*A. tauschii*. B/ carte génétique réalisée à partir de 2170 F2 issus du croisement entre TA4152-19 et ND495 (distances en cM). C/ carte physique développée lors de cette étude à partir de l'accension résistante TA4152-19, les flèches bleues indiquent les gènes identifiés par TriAnnot (Ref).

Cartographie fine du gène *Stb16q*

La résolution de la population HD étant limitée, nous avons ensuite développé une population F2 de haute résolution issue du croisement entre le parent résistant TA4152-19 et l'accension sensible ND495. Lors de la première inoculation, 1680 plantes F2 ont été phénotypées. Seules les plantes présentant un phénotype totalement résistant (537) ou à l'inverse totalement sensible (129) ont été échantillonnées. Lors de la deuxième vague d'inoculation, 7420 F2 ont été phénotypées et 1504 ont été échantillonnées. Le génotypage des 2170 F2 avec les marqueurs *cfd323* et *cfd306* a permis d'identifier 87 individus présentant des événements de recombinaison entre ces deux marqueurs. Ces derniers ont été génotypés avec l'ensemble des marqueurs SSR identifiés comme co-ségrégant avec *Stb16q* lors de l'étude de la population HD.

Dans le même temps, deux nouveaux marqueurs SSR (*cfd335* et *cfd336*) et deux marqueurs SNP (*cfn80031* et *cfn80033*) ont été développés à partir des deux scaffolds de la carte physique d'*Aegilops tauschii* précédemment décrits. Cette approche nous a permis de réduire l'intervalle encadrant le gène *Stb16q* à 0,07 cM et d'identifier deux marqueurs (*cfd319* et *cfn80031*) totalement liés au gène (Figure 2).

Carte physique du locus *Stb16q*

Pour construire la carte physique du locus *Stb16q*, une banque BAC a été développée à partir de l'accension TA4152-19 et criblée avec quatre marqueurs couvrant la région *Stb16q* (*cfd336*, *cfn80031*, *cfn80033* et *cfd307*). Ce premier crible a permis d'identifier deux clones BAC avec les marqueurs *cfd307*, *cfn80031* et *cfn80033*. Aucun BAC clone n'a été identifié avec le marqueur distal *cfd336*. Le plus long des deux BAC positifs (7L08, 150 kb) a été séquencé et annoté.

Une marche chromosomique a ensuite été initiée pour établir la carte physique complète du locus *Stb16q*. Quatre marqueurs SSR (*cfd337* à *cfd340*) et deux marqueurs ISBP (*cfp50023* et *cfp50024*) ont été développés à partir de l'extrémité distale du clone BAC 7L08. Les marqueurs *cfd337* et co-ségrégant avec le gène *Stb16q* ont été utilisés pour cribler à nouveau la banque BAC. Un clone BAC (50C06, 145 kb) a été identifié, séquencé et annoté. Trois nouveaux marqueurs SSR (*cfd341* à *cfd343*) et trois ISBP (*cfp50027* à *cfp50029*) ont été développés sur l'extrémité distale

de ce clone. Le marqueur *cfp50029* co-ségrégant avec le gène *Stb16q* a été utilisé pour cribler la banque BAC. Cependant, aucun nouveau clone BAC n'a été identifié. Nous avons réalisé une première augmentation de la couverture de notre banque BAC et criblé cette dernière avec les marqueurs *cfd336* et *cfp50029*. Un clone BAC (68P12) a été identifié avec le marqueur *cfd336* uniquement. Ce clone BAC a été séquencé et annoté mais il n'a pas permis de combler le trou présent dans la carte physique.

Une deuxième augmentation de couverture a été réalisée mais cela n'a pas permis d'identifier de clone BAC positif supplémentaire avec le marqueur *cfp50029* laissant ainsi un trou dans la carte physique. Dans les dernières étapes du projet, la nouvelle séquence de référence du blé étant disponible, nous avons identifié, grâce à l'ensemble des marqueurs liés au gène, une région de 7 Mb portant le locus *Stb16q* chez l'accension Chinese spring. Aucun gène supplémentaire n'a été identifié sur la séquence de référence du blé par rapport aux séquences provenant de l'accension résistante TA4152-19.

Ces données nous ont permis de délimiter l'intervalle *Stb16q* à deux gènes dont l'un ne possède aucun domaine protéique connu et l'autre code pour un récepteur à activité kinase riche en cystéine nommé *Crk6* (Figure 2).

Validation fonctionnelle du gène *Crk6*

Une population de TILLING issue de l'accension TA4152-19 a été développée par traitement des grains à l'EMS. Dix plantes M2 pour chacune des 310 familles de la population ont été phénotypées et neuf ont été identifiées comme sensibles à *Z. tritici*. La partie codante de notre gène candidat (*Crk6*) a été re-séquencé chez ces neuf familles ainsi que 3 kb couvrant la partie promotrice du gène. Chez cinq la présence d'un nombre important de SNPs au sein du gène *Crk6* par rapport à la séquence du parent TA4152-19 suggère vraisemblablement une contamination de la population de mutants par des grains d'une autre accession. Parmi les quatre autres familles, nous avons identifié une présentant une mutation au sein du 5^{ème} exon du gène *Crk6* et prédite comme délétère pour la fonction de la protéine. L'étude de plusieurs individus M2 appartenant à cette famille a montré que la mutation était totalement liée avec le phénotype de sensibilité suggérant l'implication de ce gène dans la résistance à la septoriose.

En parallèle, nous avons montré que l'introduction du gène Crk6 par biolistique dans une variété de blé sensible confère la résistance à *Z. tritici*. Ces deux expériences nous ont permis de prouver que notre gène candidat était bien Stb16q.

Développement de marqueurs diagnostics pour le gène *Stb16q* et étude de la distribution de ce gène

Dans un premier temps, l'ensemble des blés synthétiques a été génotypé avec les marqueurs *cfd319*, *cfn80031* et *cfn80033* fortement lié avec le gène *Stb16q* mais ces derniers n'étaient pas totalement diagnostics de *Stb16q*. Ainsi, le premier exon du gène *Stb16q* (852 bp) a été re-séquéncé chez 184 accessions de blé, comprenant 96 blés synthétiques et 88 variétés de blés anciennes ou récentes. Au total, 14 haplotypes ont été identifiés mais seulement 3 chez les variétés de blé anciennes et récentes.

Sur la base de ces séquences, quatre marqueurs SNP KASPar ont été développés et testés sur les témoins portant l'allèle de résistance (TA4152-19, M3) ou l'allèle de sensibilité (Chinese Spring, Courtot et Renan). Deux marqueurs (*cfn80044* et *cfn80045*) ont permis de discriminer l'allèle résistant de l'allèle de sensibilité (Figure 3). Ces marqueurs ont ensuite été utilisés pour évaluer la présence du gène *Stb16q* au sein de la diversité du blé tendre. Ainsi, une core-collection de 372 accessions maximisant la diversité génétique mondiale (Balfourier *et al.*, 2007) et un panel de 220 variétés de blé européennes ont été génotypées. Parmi ces 592 accessions, le gène *Stb16q* a été

trouvé uniquement chez les variétés Cellule et Nogal et chez une accession issue du Cimmyt (Cimmyt-01, Figure 3).

Recherche de nouvelles sources de résistance au sein d'un panel de blés synthétiques

Nous avons évalué la résistance de 76 blés synthétiques au stade plantule contre trois souches de *Z. tritici* possédant des virulences différentes (IPO92006, IPO9455, IPO9415). Les accessions résistantes ont ensuite été évaluées avec deux autres souches (IPO86036 et IPO2166). Parmi les accessions ne possédant pas le gène *Stb16q*, nous en avons identifié 17 totalement résistantes à plusieurs isolats (Tableau 1). Ces dernières représentent potentiellement des sources de résistance nouvelles intéressantes pour la sélection.

Les essais aux champs de cette collection de blés synthétiques n'ont pas donné les résultats escomptés et seul un essai inoculé avec la souche IPO9415 a permis d'évaluer la résistance des accessions contre cette souche. Cependant, l'ensemble des accessions se sont montrés sensibles (Tableau 1). Au cours de l'année 2016 la pression de maladies étant très fortes, il est difficile de dire si les résistances retrouvées au stade plantule ne se sont pas exprimées au stade adulte lors de cet essai ou si les résistances identifiées au stade plantule n'ont pas permis de conférer la résistance aux contaminations naturelles par d'autres souches de *Z. tritici* ou d'autres champignons nécrotrophes.

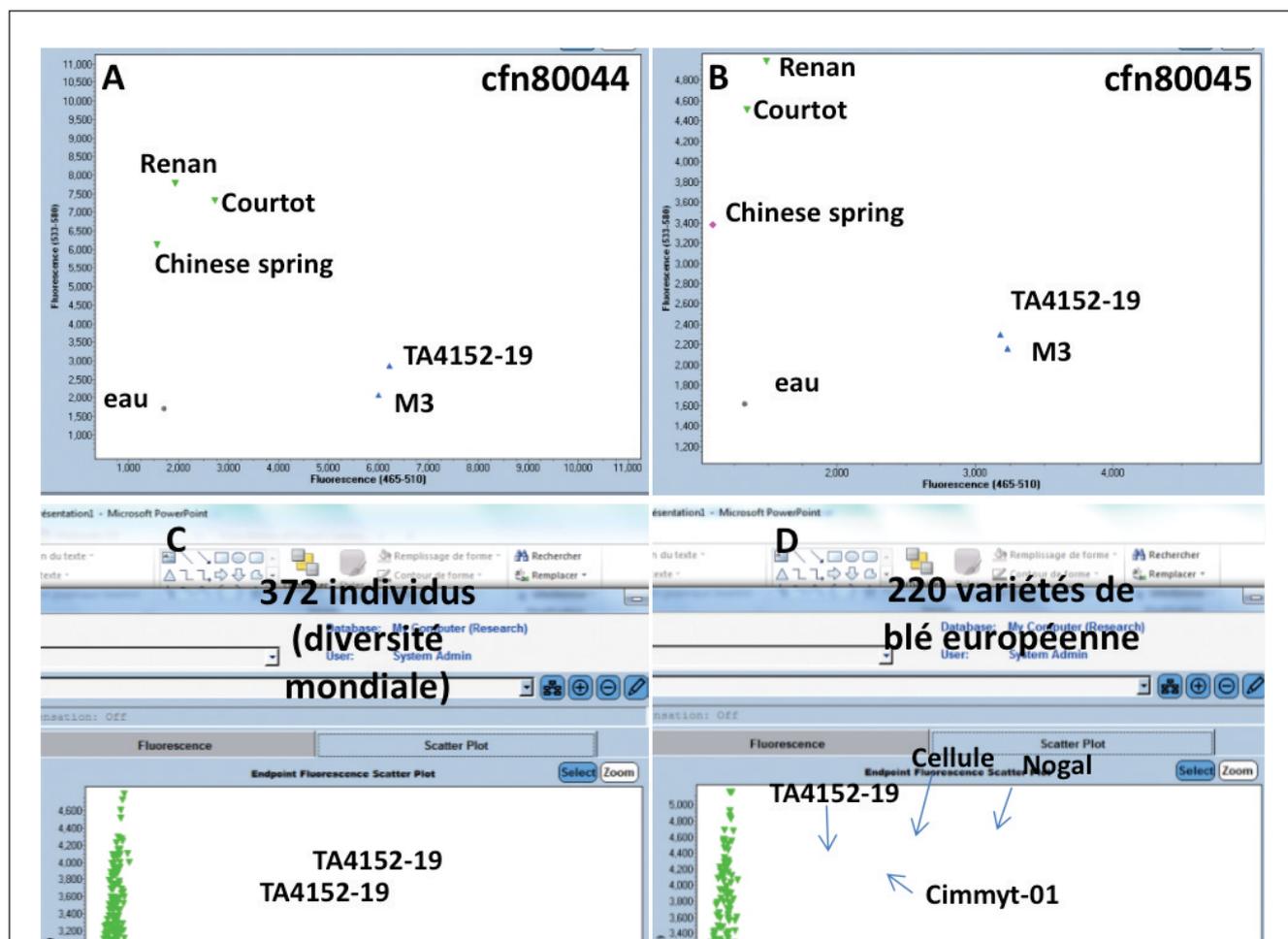


Figure 3 : Identification de deux marqueurs diagnostics, *cfn80044* (A) et *cfn80045* (B) pour le gène *Stb16q*. Trois accessions sensibles (Chinese spring, Courtot, Renan) et les deux blés synthétiques (M3 et TA4152-19) portant le gène *Stb16q* ont été génotypés avec les deux marqueurs par la technologie KASP. Le marqueur *cfn80044* a ensuite été utilisé pour évaluer la présence de *Stb16q* au sein de la diversité mondiale (C) et des variétés de blé européennes (D).

Accessions	Stade plantule					Commentaires	Stade adulte
	IPO9415	IPO9455	IPO92006	IPO83036	IPO2166		
ELITE95-2	R?	0	13	-	-		10
ELITE95-3	-	0	0	0	0		10
ELITE95-4	R?	43	3	-	-		8
ELITE95-5	-	0	0	0	0		8
ELITE95-8	S	0	60	-	-		9
ELITE95-10	-	0	0	-	-		3.5
ELITE95-11	-	0	0	0	0	R plantule (sans Stb16q)	5
ELITE95-12	-	0	0	-	-		7
ELITE95-13	-	0	0	20	0		9
ELITE95-15	-	23	7	80	57		7
ELITE95-22	S	0	0	-	-		5
ELITE95-23	-	31	0	-	-		5
ELITE95-24	R?	0	0	-	-		4
ELITE95-30	-	0	0	-	-		9
ELITE95-32	-	0	0	0	0	R plantule (sans Stb16q)	10
ELITE95-33	R	0	0	0	0	R plantule (sans Stb16q)	5
ELITE95-35	-	0	20	-	-		9
ELITE95-36	-	1	47	-	-		10
ELITE95-37	-	0	0	0	0		10
ELITE95-42	-	0	8	-	-		10
ELITE95-45	R	0	0	0	-	R plantule (sans Stb16q)	9
ELITE95-47	R	0	0	-	-	Nécrose importante avec IPO92006	6
ELITE95-49	R?	0	1	-	-		8
ELITE95-51	-	10	2	-	-		7
ELITE95-52	-	0	0	43	0		7
ELITE95-54	-	0	0	0	0		6
ELITE95-55	-	2	43	-	-		8
ELITE95-56	R	0	0	0	0	R plantule (sans Stb16q)	4
ELITE95-59	-	0	0	-	-		9
ELITE95-62	R	0	0	0	0		9
ELITE95-63	-	0	0	0	0		9
ELITE95-64	-	0	0	0	-	R plantule (sans Stb16q)	8
ELITE95-66	-	0	0	-	-		8
ELITE95-67	R	0	0	-	-		5
ELITE95-71	R	0	0	0	0	R plantule (sans Stb16q)	6
ELITE95-78	-	0	0	0	0	R plantule (sans Stb16q)	4
ELITE95-79	-	0	2	-	-		10
ELITE95-83	R	0	0	0	0	R plantule (sans Stb16q)	5
ELITE95-90	-	0	0	-	-		7
ELITE95-91	-	0	30	-	-		9
ELITE95-92	R	0	20	0	0		8
ELITE95-93	-	63	47	-	-		10
ELITE95-95	-	0	0	0	0	R plantule (sans Stb16q)	6
ELITEII-2	-	52	15	-	-		10
ELITEII-9	-	42	43	-	-		9
ELITEII-12	-	0	10	-	-		6
ELITEII-13	-	0	0	0	0		7
ELITEII-16	-	0	0	20	0		10
ELITEII-19	-	3	0	0	0		4
ELITEII-20	-	0	0	-	-		4
ELITEII-21	-	0	0	0	0	R plantule (sans Stb16q)	7
ELITEII-22	R	0	0	0	0	R plantule (sans Stb16q)	6
ELITEII-23	R	0	0	0	0	R plantule (sans Stb16q)	5
ELITEII-26	-	0	0	0	0	R plantule (sans Stb16q)	7
ELITEII-27	-	0	0	0	0	R plantule (sans Stb16q)	8
ELITEII-28	-	0	0	0	0		6
ELITEII-30	R	0	0	0	0		7
ELITEII-31	-	0	0	2	0		9
ELITEII-33	-	13	20	0	20		9
ENTRY-1	-	50	85	-	-		10
ENTRY-2	-	0	0	0	0		5
ENTRY-4	-	2	67	0	70		10
ENTRY-21	-	0	10	-	-		9
ENTRY-24	-	0	0	0	0	R plantule (sans Stb16q)	8
ENTRY-27	-	0	67	-	-		9
ENTRY-36	-	0	0	-	-		9
ENTRY-40	-	0	27	-	-		6
ENTRY-61	-	0	0	0	0	R plantule (sans Stb16q)	6
ENTRY-71	R	0	0	-	-		7
ENTRY-72	R?	0	0	-	-		7
ENTRY-73	-	0	17	-	-		10
ENTRY-74	-	6	65	-	-		10
ENTRY-75	-	0	37	-	-		10
ENTRY-85	-	0	4	-	-		5
ENTRY-91	-	0	0	0	2		6
ENTRY-95	S?	25	17	-	-		8
TA4152-19	-	0	0	0	0		-
M3	-	0	0	0	0		-
Cs	-	77	90	97	30		-
Riband	-	73	0	-	-		-
Obelisk	-	83	42	-	-		-
ND495	-	67	82	-	-		-
Taichung	-	83	87	77	73		-

Tableau 1 : Evaluation d'un panel de 76 blés synthétiques pour leur résistance à la septoriose. Seules les dernières notes de phénotypage au stade adulte sont présentées.

4. Conclusions

L'objectif initial de ce projet était la cartographie fine du gène *Stb16q* en vue de son clonage. Les compétences complémentaires des différents partenaires réunis dans ce projet ont permis d'aller plus loin que l'objectif initial est ainsi d'identifier pour la première fois un gène majeur de résistance large spectre à la septoriose. Ce résultat résulte d'un phénotypage à très large échelle, d'une densification rapide en marqueurs possible grâce aux nouveaux outils de génomiques et à l'utilisation d'outils de validation pertinents. Ce clonage a permis, suite au re-séquençage de *Stb16q* chez 184 accessions de blé, de développer deux marqueurs diagnostics qui seront un atout majeur pour suivre ce gène dans les programmes de sélection et pour créer les variétés de demain.

Le deuxième objectif était l'identification de nouvelles sources de résistance à la septoriose à travers l'étude d'un panel de blés synthétiques. Suite au phénotypage de ce panel par cinq souches de *Z. tritici*, nous avons identifiés 17 accessions totalement résistantes qui représentent potentiellement un renouveau en sources de résistance à la septoriose pour les nouvelles variétés de blé françaises.

Références bibliographiques

- Arraiano, L.S., and Brown, J.K.M.** (2006). Identification of isolate-specific and partial resistance to septoria tritici blotch in 238 European wheat cultivars and breeding lines. *Plant Pathol.* 55, 726-738.
- Balfourier, F., Roussel, V., Strelchenko, P., Exbrayat-Vinson, F., Sourdille, P., Boutet, G., Koenig, J., Ravel, C., Mitrofanova, O., Beckert, M., et al.** (2007). A worldwide bread wheat core collection arrayed in a 384-well plate. *Theor. Appl. Genet.* 114, 1265-1275.
- Brading, P.A., Verstappen, E.C.P., Kema, G.H.J., and Brown, J.K.M.** (2002). A Gene-for-Gene Relationship Between Wheat and *Mycosphaerella graminicola*, the Septoria Tritici Blotch Pathogen. *Phytopathology* 92, 439-445.
- Brown, J.K.M., Chartrain, L., Lasserre-Zuber, P., and Sainenac, C.** (2015). Genetics of resistance to *Zymoseptoria tritici* and applications to wheat breeding. *Fungal Genet. Biol.* 79, 33-41.
- Gonthier, L., Bellec, A., Blassiau, C., Prat, E., Helmstetter, N., Rambaud, C., Huss, B., Hendriks, T., Bergès, H., and Quillet, M.-C.** (2010). Construction and characterization of two BAC libraries representing a deep-coverage of the genome of chicory (*Cichorium intybus* L., Asteraceae). *BMC Res. Notes* 3, 225.
- Jia, J., Zhao, S., Kong, X., Li, Y., Zhao, G., He, W., Appels, R., Pfeifer, M., Tao, Y., Zhang, X., et al.** (2013). *Aegilops tauschii* draft genome sequence reveals a gene repertoire for wheat adaptation. *Nature* 496, 91-95.
- Kollers, S., Rodemann, B., Ling, J., Korzun, V., Ebmeyer, E., Argillier, O., Hinze, M., Plieske, J., Kulosa, D., Ganai, M.W., et al.** (2013). Genetic architecture of resistance to Septoria tritici blotch (*Mycosphaerella graminicola*) in European winter wheat. *Mol. Breed.* 32, 411-423.
- Leroy, P., Guilhot, N., Sakai, H., Bernard, A., Choulet, F., Theil, S., Reboux, S., Amano, N., Flutre, T., Pelegri, C., et al.** (2012). TriAnnot: A Versatile and High Performance Pipeline for the Automated Annotation of Plant Genomes. *Front. Plant Sci.* 3.
- Luo, M.-C., Gu, Y.Q., You, F.M., Deal, K.R., Ma, Y., Hu, Y., Huo, N., Wang, Y., Wang, J., Chen, S., et al.** (2013). A 4-gigabase physical map unlocks the structure and evolution of the complex genome of *Aegilops tauschii*, the wheat D-genome progenitor. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 110, 7940-7945.
- Miedaner, T., Zhao, Y., Gowda, M., Longin, C.F.H., Korzun, V., Ebmeyer, E., Kazman, E., and Reif, J.C.** (2013). Genetic architecture of resistance to Septoria tritici blotch in European wheat. *BMC Genomics* 14, 858.
- Peterson, D.G., Tomkins, J.P., Frisch, D.A., Wing, R.A. and Paterson, A.H.** (2000) Construction of plant bacterial artificial chromosome (BAC) libraries: an illustrated guide. *Journal of Agricultural Genomics*, 5, 1-100.
- Sainenac, C., Falque, M., Martin, O.C., Paux, E., Feuillet, C., and Sourdille, P.** (2008). Detailed Recombination Studies Along Chromosome 3B Provide New Insights on Crossover Distribution in Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Genetics* 181, 393-403.
- Sainenac, C., Jiang, D., Wang, S., and Akhunov, E.** (2013). Sequence-Based Mapping of the Polyploid Wheat Genome. *G3* 3, 1105-1114.
- Tabib Ghaffary, S.M., Faris, J.D., Friesen, T.L., Visser, R.G.F., van der Lee, T.A.J., Robert, O., and Kema, G.H.J.** (2012). New broad-spectrum resistance to septoria tritici blotch derived from synthetic hexaploid wheat. *Theor. Appl. Genet.* 124, 125-142.

Résistance durable à la rouille brune du blé : production d'un panel de QTL cartographiés et diversifiés

Jérôme AUZANNEAU¹, Gustavo AZZIMONTI², Denis BEGHIN³, Mathilde BERTON², Sébastien CAIVEAU⁴, Sejr CHAOUCH⁵, Philippe DU CHEYRON⁶, Clément DEBITON⁷, Jean-Michel DELHAYE⁸, Laure DUCHALAIS⁹, Sylvie DUTRIEZ¹⁰, Benoit FOUCAUD¹⁴, Pascal GIRAUDEAU¹¹, Henriette GOYEAU^{*2}, Volker LEIN¹², Philippe LEREBOUR⁷, Thierry MARCEL², Olivier ROBERT³, Bernard ROLLAND¹³, Patrice SENNELLART⁴, Jayne STRAGLIAT¹⁵, Stephen SUNDERWIRTH¹⁴

1 - ARVALIS-Institut du végétal - ZA des Gravières 91190 Villiers-le-bâcle, France

1 - Agri Obtentions Ferme de Gauvilliers - 78660 Orsonville

2 - INRA - BIOGER 78850 Thiverval Grignon

3 - Florimond Desprez - 3 rue Florimond Desprez, BP 41, 59242 Cappelle en Pévèle

4 - Syngenta Seeds - BP 5, 78910 Orgerus

5 - Limagrain Europe - 5 rue de l'Egalité, 28130 Chartainvilliers

6 - Arvalis Institut du Végétal Route de Châteaufort ZA des Gravières 91190 Villiers le Bâcle

7 - UNISIGMA 60480 Froissy

8 - Ets Lemaire-Deffontaines SA - 180 rue du Rossignol, 59310 Auchy Lez Orchies

9 - RAGT R2N 28150 Louville La Chenard

10 - Caussade Semences - ZI de Meaux, BP 109, 82303 Caussade Cedex

11 - Secobra - Centre de Bois-Henry, 78580 Maule

12 - Saaten Union Recherche - 163 avenue de Flandre, BP 6, 60190 Estrées Saint Denis

13 - INRA IGEPP Domaine de La Motte au Vicomte - BP 35327, 35653 Le Rheu

14 - Adrien Momont & fils SARL, Station de Recherche - RN 154, 28150 Allonnes

* **Coordinatrice : Henriette GOYEAU**, henriette.goyeau@inra.fr

1. Introduction

Le contrôle des maladies foliaires représente une partie importante des charges de production du blé tendre : l'économie est d'environ 30€ /ha pour une variété résistante comparée à une variété sensible, pour les pertes occasionnées par la septoriose et la rouille brune qui représentent les principaux risques (Arvalis, Choisir et Décider, Synthèse Nationale 2014). En moyenne, les pertes de rendement dues à la seule rouille brune (différence traité-non traité en présence uniquement de rouille brune en 2007, ainsi que 2014 et 2015 essais Sud) a été évaluée à 30 qx/ha dans les essais Arvalis. En raison des enjeux environnementaux appelant à une réduction des intrants phytosanitaires, la résistance génétique reste un élément fondamental du contrôle des maladies foliaires.

Plus de 70 gènes Lr de résistance spécifique à la rouille brune, causée par le champignon *Puccinia triticina*, ont maintenant été répertoriés. Toutefois l'efficacité de ces gènes est compromise car la plupart ont été contournés suite à l'émergence de pathotypes virulents (Singh *et al.*, 2009). Dans les variétés cultivées en France, 10 gènes Lr de résistance spécifique à la rouille brune sont présents dans les variétés, seuls ou en combinaisons de deux, trois ou quatre gènes (Goyeau et Lannou 2011). Toutes les combinaisons identifiées sont actuellement contournées, car les populations françaises de *P. triticina* sont très diversifiées, avec des pathotypes complexes portant les combinaisons de virulence correspondantes, et cumulant couramment plus de 10 gènes de virulence (Goyeau *et al.*, 2006). Ces populations évoluent rapidement, en suivant l'évolution des combinaisons de gènes de résistance dans le paysage cultivé (Goyeau et Lannou 2011, Papaix *et al.* 2011).

La résistance génétique de type quantitatif (réduction de la sévérité de la maladie au champ) est en général associée à un déterminisme polygénique impliquant plusieurs QTL (Quantitative Trait Loci). Ce type de résistance a longtemps été considéré comme non spécifique, c'est-à-dire efficace contre tous les individus de l'espèce pathogène, quelle que soit leur combinaison de virulences. La diversité des gènes et mécanismes en jeu exercerait des contraintes diversifiées

difficiles à contourner simultanément pour le pathogène (Stuthman *et al.*, 2007). Toutefois dans quelques cas, une érosion de la résistance quantitative par le pathogène a pu être montrée (Gonzalez *et al.*, 2012). Il convient donc de conserver un impératif de diversification dans le déploiement de résistances de type quantitatif, ce qui implique de disposer d'un panel de QTL à partir duquel on peut proposer des combinaisons de QTLs variées. La combinaison de résistances quantitatives et qualitatives (gènes majeurs) peut même permettre d'augmenter la durabilité des gènes majeurs, comme dans le cas du poivron pour le Potato Virus Y (Paloix *et al.*, 2009). Ainsi des gènes majeurs, même contournés, peuvent conserver un intérêt au sein de combinaisons. La sélection pour la résistance de type quantitatif débutée dans les années 70 au CIMMYT a permis d'obtenir en une trentaine d'années des variétés de blé avec une résistance très élevée aux rouilles jaune et brune, grâce à la combinaison de quelques gènes de résistance quantitative à effet additif (Singh *et al.* 2011). Le temps nécessaire pour arriver à ce résultat s'explique par la complexité du phénotypage de ces caractères quantitatifs, l'absence de marqueurs fiables pour la sélection des QTLs, et un coût élevé d'utilisation de marqueurs multiples (Singh *et al.*, 2011).

Nous avons mené à bien deux projets successifs soutenus par le FSOV, visant à comprendre le fonctionnement de la résistance quantitative du blé à la rouille brune et à identifier des sources de résistance. Le premier programme (FSOV 2004) a permis la caractérisation phénotypique de sources de résistance quantitative au champ, et la sélection d'un panel de sources de résistance diversifiées. Le deuxième programme (FSOV 2008) a permis de confirmer par phénotypage la nature diversifiée de ces sources, et de construire des populations pour la cartographie des QTLs associés. Il a également permis de cartographier des premiers QTLs. En tâche de fond de ces deux programmes, nous avons également apporté une information, jusqu'alors totalement inconnue, sur les résistances de type spécifique présentes dans le paysage cultivé en France, ainsi que sur les combinaisons de virulence dans les populations pathogènes.

Ces connaissances sont un préalable indispensable à toute caractérisation phénotypique de la résistance quantitative.

Ainsi les acquis des programmes précédents nous ont permis de définir les objectifs suivants pour les travaux présentés ici :

- 1) Cartographie de QTLs de résistance à la rouille brune provenant de sources de résistance diversifiées, pour faciliter l'utilisation de ces QTLs en sélection
- 2) Actualisation des connaissances et méthodologies indispensables au phénotypage de la résistance quantitative à la rouille brune.

2. Cartographie de QTLs diversifiés de résistance à la rouille brune

a. Matériel et méthodes

Populations de cartographie

Six populations de cartographie ont été créées à partir de parents résistants différents, et de deux parents sensibles dont un commun à 5 des 6 populations. Les parents résistants sont soit des cultivars de blé tendre d'hiver inscrits au catalogue de variétés, soit des lignées.

Le croisement initial de chaque population a été réalisé en 2007 à l'INRA du Rheu. Les populations obtenues sont soit des Single Seed Descents (SSD) conduites jusqu'en F7, soit des haploïdes doublés (HD) et sont composées de 98 à 284 individus. Les haploïdes doublés ont été créés en 2009 à partir de F1 par KWS. Les caractéristiques des 6 parents résistants (PR1 à PR6) à l'origine des six populations de cartographies sont détaillées dans le tableau 1.

	PR1	PR2	PR3	PR4	PR5	PR6
Gènes majeurs	Lr13 Lr37	Lr13 Lr14a	Lr10 Lr13	Lr13 Lr37	Lr13 Lr14a	Lr14a, Lr37
Composantes de résistance quantitative	PL	EI	EI, Sporulation	EI, PL	PL	Résistance totale

Tableau 1 : Caractéristiques des parents à l'origine des 6 populations de cartographie. **PL :** Période de Latence, **EI :** Efficacité d'Infection

Les parents sont porteurs de gènes majeurs de résistance mais ceux-ci sont contournés par la souche utilisée pour les inoculations artificielles afin de n'observer que la résistance quantitative. Ils ont été choisis selon leur profil de résistance quantitative (établi au cours du projet FSOV précédent) afin de faire appel à des composantes de résistances et à des niveaux de résistances différents. Le parent PR6 exprime au champ une résistance totale non contournée, de déterminisme génétique inconnu, issue de VPM qui a été très utilisé comme source de résistance à plusieurs maladies dans le fonds génétique utilisé en France. La population correspondante est déjà étudiée à l'INRA (unité GDEC Clermont Ferrand) pour plusieurs caractères, et son génotypage était déjà partiellement disponible. Les caractéristiques des 6 populations de cartographie sont présentées dans le tableau 2.

Populations	Type	Effectif	Génotypage	Phénotypage
POP1	SSD F7	180	Puce SNP 90k	2013
POP2	SSD F7	115	Puce SNP 90k	2013
POP3	SSD F7	124	Puce SNP 90k	2013
POP4	HD	142	Puce SNP 90k	2012
POP5	HD	98	Puce SNP 90k	2015
POP6	SSD F6	284	Puce SNP 420k	2015

Tableau 2 : Caractéristiques des 6 populations de cartographie.

Génotypage et construction des cartes génétiques

Le génotypage des populations, excepté celui de la population 6, a été sous-traité à l'entreprise TraitGenetics. Le génotypage a été réalisé à partir d'une puce SNP 90k illumina Infinium (Wang *et al.* 2014). Le logiciel JoinMap 4.0 program (Van Ooijen, 2006) a été utilisé pour construire une première carte génétique avec les marqueurs SNP. Les groupes de liaisons formés ont ensuite été associés pour former 21 chromosomes en utilisant la position connue des marqueurs SNP sur la carte référence de TraitGenetics (basée sur la population HD ITMI et 15000 marqueurs SNP).

La cartographie finale des marqueurs et les distances génétiques (distance de Kosambi) entre les marqueurs ont été optimisées manuellement en minimisant le nombre de crossovers et la longueur des groupes de liaison. Les données de génotypage au format ABH ont été analysées à l'aide du logiciel MapManager QTX (Manly *et al.*, 2001).

La population 6 a été génotypée avec la puce BreedWheat 420k SNP (non publié). L'extraction des ADNs et l'obtention des données de génotypage ont été réalisés sur la plateforme Gentyane de l'Unité INRA GDEC à Clermont-Ferrand en collaboration avec Pierre Sourdille et Etienne Paux. La construction de la carte génétique de la population 6 a été réalisée par Benoit Darrier.

Construction de la carte consensus

L'alignement et l'ordre des marqueurs communs entre les cartes génétiques des différentes populations ont été vérifiés pour chacun des 21 chromosomes et pour chaque population à l'aide du logiciel MapChart (Voorrips, R.E., 2002). Une fois l'ordonnement des marqueurs vérifiés, le package LPmerge (Endelman et Plomion, 2014) sur R (x64 version 3.1.2, R Development Core Team, 2008) a été utilisé afin d'estimer la position de chaque marqueur sur une carte consensus regroupant les cartes génétiques individuelles.

Pour la population 5, des inversions de blocs de marqueurs ainsi que la difficulté de séparer les groupes de liaisons correspondant aux chromosomes 2A/5A et 5B/7B ne permettaient pas de l'intégrer à la carte consensus. La population 6 n'a pas pu être intégrée dans la carte consensus non plus car elle possédait très peu de marqueurs en commun avec les autres populations. Des cartes bins individuelles ont donc été construites pour les populations 5 et 6.

Le programme LPmerge a été utilisé pour associer les cartes génétiques des quatre populations POP1 à POP4, et calculer la position consensus de chaque marqueur. Un poids est appliqué à chaque carte en tenant compte du nombre d'individus de chaque population; ainsi, une population avec un effectif plus grand aura un poids plus important lors de la résolution des conflits de position de marqueurs communs entre cartes. L'ordre des marqueurs sur la carte consensus créée a ensuite été vérifié avec le logiciel Mapchart en comparant l'alignement des marqueurs de cette carte consensus avec celui d'une autre carte consensus construite et publiée par Wang *et al.* (2014). Un grand nombre de marqueurs SNP ayant une position identique sur cette carte consensus, nous avons construit une carte bin en enlevant tous les marqueurs redondants que nous avons ensuite utilisée pour la détection QTL.

Phénotypage

Les quatre populations P1 à P4 ont été phénotypées au champ en 2013 en 2 ou 3 lieux, avec 2 répétitions à chaque lieu, et 3 ou 4 dates de notation. Les populations POP5 et POP6 ont été phénotypées en 2015 dans 3 lieux différents, avec 2 répétitions par lieu. L'inoculation de chaque essai a été réalisée par pulvérisation des rangs de contaminateur (variété 'Buster') juste avant la montaison avec une suspension de spores d'un isolat appartenant à un pathotype virulent pour Lr1, 2c, 3, 10, 13, 14a,

15, 17, 17b, 20, 23, 26, 27, 31, 37 dans de l'huile Soltrol® oil (Phillips Petroleum). 2 mL par mètre linéaire sont appliqués à une concentration de 9mg de spores/mL.

La sévérité de maladie a été notée sur la feuille drapeau en utilisant l'échelle de Cobb (Peterson *et al.*, 1948).

Détection QTL par analyse de liaison

La détection de QTL a été réalisée avec le logiciel R version 3.1.2 et le package R/qtl suivant une analyse de liaison selon trois méthodes : la méthode Simple Interval Mapping (SIM), la méthode Composite Interval Mapping (CIM) et la méthode Multiple QTL Interval Mapping. Les QTL détectés en SIM sont utilisés en CIM comme covariables afin de détecter des QTL à plus faible effet. Nous avons fixé le risque alpha à 10 %, calculé la grille de génotypage tous les 2 cM, et le Lod Score seuil avec 1000 permutations. Dans la suite, sont uniquement présentés les QTL qui ont été détectés au moins deux fois, dont au moins une fois avec un lod supérieur au Lod seuil de 5%, pour un lieu et pour une population donnée.

b. Résultats

Carte consensus et QTLs des quatre populations POP1-POP4

Notre carte consensus construite pour les populations P1 à P4 a été comparée avec la carte consensus établie par Wang *et al.* (2014), ces deux cartes étant basées sur les données de génotypage obtenues à partir de la même puce SNP Illumina 90k. L'ordre des marqueurs est similaire entre les deux cartes (Figure 1), excepté pour les chromosomes 1 et 2 du génome D sur lesquels plusieurs inversions de marqueurs se produisent. Cette comparaison nous permet de valider notre carte consensus pour la détection et la comparaison des QTL.

Le QTL détecté sur le chromosome 1B (Figure 2) est commun aux 4 populations. Neufs autres QTLs ont été détectés, dont certains sont spécifiques à une période de l'épidémie (2A-1, 4B, 6A, 6B). Le QTL2D a été détecté dans 2 populations.

QTLs des populations POP5 et POP6

Dans la population POP5, quatre QTLs ont été détectés (Figure 3), dont 2 QTL proches (40cM) sur le 1B, qui ne sont peut-être qu'un seul QTL.

Pour la population POP6, quatre QTL ont été détectés sur les chromosomes 2A, 2B, 3D et 7D (Figure 4). Le QTL du 2B est spécifique à un lieu, mais aucun QTL n'est spécifique à une date de notation. Les 3 autres QTL ont été trouvés dans chaque lieu, à toutes les dates de notation et dans toutes les répétitions. Seul le QTL du chromosome 2A est localisé au niveau d'une introgression d'*Aegilops ventricosa* (Figure 4).

3. Actualisation des connaissances pour le phénotypage

a. Suivi des populations pathogènes

Ce suivi permet de déterminer les pathotypes (ou combinaisons de virulences vis-à-vis des gènes Lr) de rouille brune auxquels les variétés sont confrontées au champ. Un suivi annuel des populations de *P. triticina* par échantillonnage sur les principales variétés cultivées reste indispensable, d'une part pour surveiller l'émergence de nouvelles virulences ou pathotypes, car les populations évoluent constamment, essentiellement en fonction des gènes de résistance utilisés dans les variétés cultivées; d'autre part, il apporte les informations nécessaires au choix du ou des pathotypes à utiliser pour évaluer la résistance partielle, en

fonction de leurs caractéristiques de virulence (contournement de gènes de résistance spécifique) et d'agressivité (fréquence dans les populations naturelles reflétant leur « succès » au champ). Ce suivi s'appuie entièrement sur les réseaux d'essais des partenaires sélectionneurs et Arvalis, et la caractérisation des pathotypes est effectuée par l'INRA-BIOGER.

Au cours des campagnes 2012, 2013, 2014 et 2015, au total 1499 isolats ont été prélevés dans toute la France, en ciblant particulièrement les variétés les plus cultivées. Une quarantaine de pathotypes est identifiée chaque année. Pour simplifier la présentation des résultats, nous regroupons ces pathotypes en familles, une famille étant composée de pathotypes différant sur 2 ou 3 virulences maximum, et présentant le même génotype SSR (microsatellites).

La période 2012-2015 a vu apparaître le début du déclin de deux familles, la famille 106314 dominante depuis 2006, et la famille 166 fortement présente depuis 2009. Cette évolution s'est faite au profit des nouvelles familles virulentes sur les gènes 24 et/ou 28 : dès l'inscription de variétés portant ces gènes, non utilisés dans les variétés inscrites en France, jusqu'en 2009 et 2011 respectivement pour les gènes 24 et 28, quelques individus virulents ont été détectés en 2009-2011. Les pathotypes porteurs des virulences 24/28 se sont ensuite rapidement et fortement diversifiés, puisqu'on les retrouve dans 6 familles divergeant par leur génotype SSR. Ces résultats nous ont permis de faire évoluer la méthodologie d'évaluation des variétés au champ (essais CTPS, essais Arvalis évaluation de la résistance quantitative au champ), en proposant des pathotypes représentatifs du contexte épidémiologique et virulents sur les combinaisons de gènes de résistance spécifiques des variétés à évaluer.

b. Postulation des gènes de résistance Lr dans les variétés inscrites

La postulation des combinaisons de gènes Lr dans les variétés s'effectue en interprétant les types d'infection observés, après inoculation au stade jeune plante en serre, avec une collection de 15 isolats standards. Nous avons ainsi testé 150 variétés sur la période 2012-2015. Les combinaisons de gènes postulées comprennent les gènes Lr1, Lr2a, Lr2c, Lr3, Lr3ka, Lr10, Lr13, Lr14a, Lr24, Lr28, Lr37. Par ailleurs 11 variétés possèdent, en plus de gènes Lr identifiés, des gènes de résistance majeurs inconnus, exprimés dès le stade jeune plante. Lr37 demeure le gène le plus fréquent, présent dans 64% des nouvelles variétés inscrites sur cette période. Les gènes Lr13 et Lr14a restent également très fréquents, respectivement dans 47 et 45% des variétés. La combinaison la plus fréquente est donc Lr13, Lr14a, Lr37 présente dans 19% des variétés testées.

4. Conclusion - Perspectives

Les travaux conduits dans les précédents programmes FSOV consacrés à la résistance à la rouille brune du blé ont mis en évidence la présence, dans le pool génétique utilisé en France, de résistance quantitative de bon niveau (Goyeau *et al.*, 2010), agissant sur des composantes diverses du cycle du pathogène, et donc pouvant être basée sur des mécanismes diversifiés (Azzimonti *et al.*, 2013, 2014). Le présent programme FSOV 2012-2015 a permis d'obtenir une cartographie de 15 QTLs de résistance à la rouille brune à partir de lignées ou variétés inscrites en France (Berton, 2015). Il reste donc à produire des marqueurs diagnostiques fiables de ces QTLs pour permettre leur utilisation en sélection assistée par marqueurs ou en sélection génomique.

Grâce aux populations phénotypées, génotypées et cartographiées dans le présent projet, nous avons le matériel nécessaire pour

développer des lignées quasi-isogéniques (NILs) recombinantes pour la validation des QTLs et l'obtention de marqueurs diagnostiques. Les NILs nécessaires à la cartographie fine peuvent être obtenues par rétrocroisement assisté par marqueur avec le parent sensible de la population (van Berloo *et al.*, 2001), en utilisant les marqueurs SNP de l'intervalle de confiance des QTLs ciblés obtenu dans le présent programme (Berton, 2015). Le génotypage sera réalisé avec des marqueurs KASP-SNP, qui offrent une solution économique et évolutive pour les applications nécessitant de géotyper un grand nombre d'individus avec un nombre modéré de marqueurs, comme nous serons amenés à le faire pour l'identification d'individus recombinants dans les intervalles QTL (Semagn *et al.*, 2014).

Par ailleurs en ce qui concerne les gènes majeurs Lr, des marqueurs ont été proposés dans la bibliographie (McIntosh *et al.* 2010), mais la fiabilité de ces marqueurs demeure faible dans la plupart des cas car ils restent génétiquement trop éloignés des gènes Lr (travaux en cours Arvalis). Le présent projet a permis, comme les précédents, d'actualiser et adapter au contexte épidémiologique notre expertise en phénotypage des virulences du pathogène et des résistances des variétés. Nous proposons ainsi, sur la base indispensable de cette expertise, de développer des populations spécifiques pour le développement de marqueurs des principaux gènes Lr présents dans le pool génétique utilisé en France.

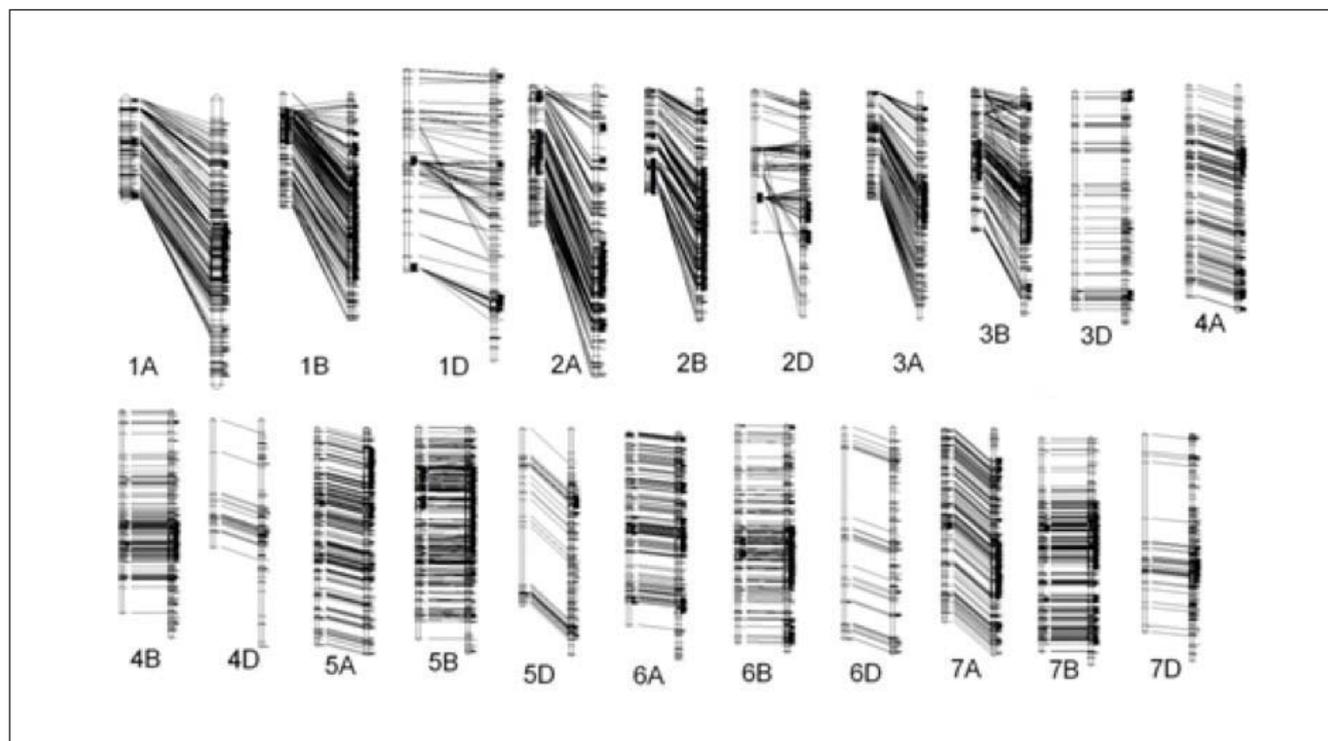


Figure 1 : comparaison de l'ordre des marqueurs entre la carte consensus des populations P1-P4, (chromosomes de gauche) et la carte consensus de Wang (chromosomes de droite).

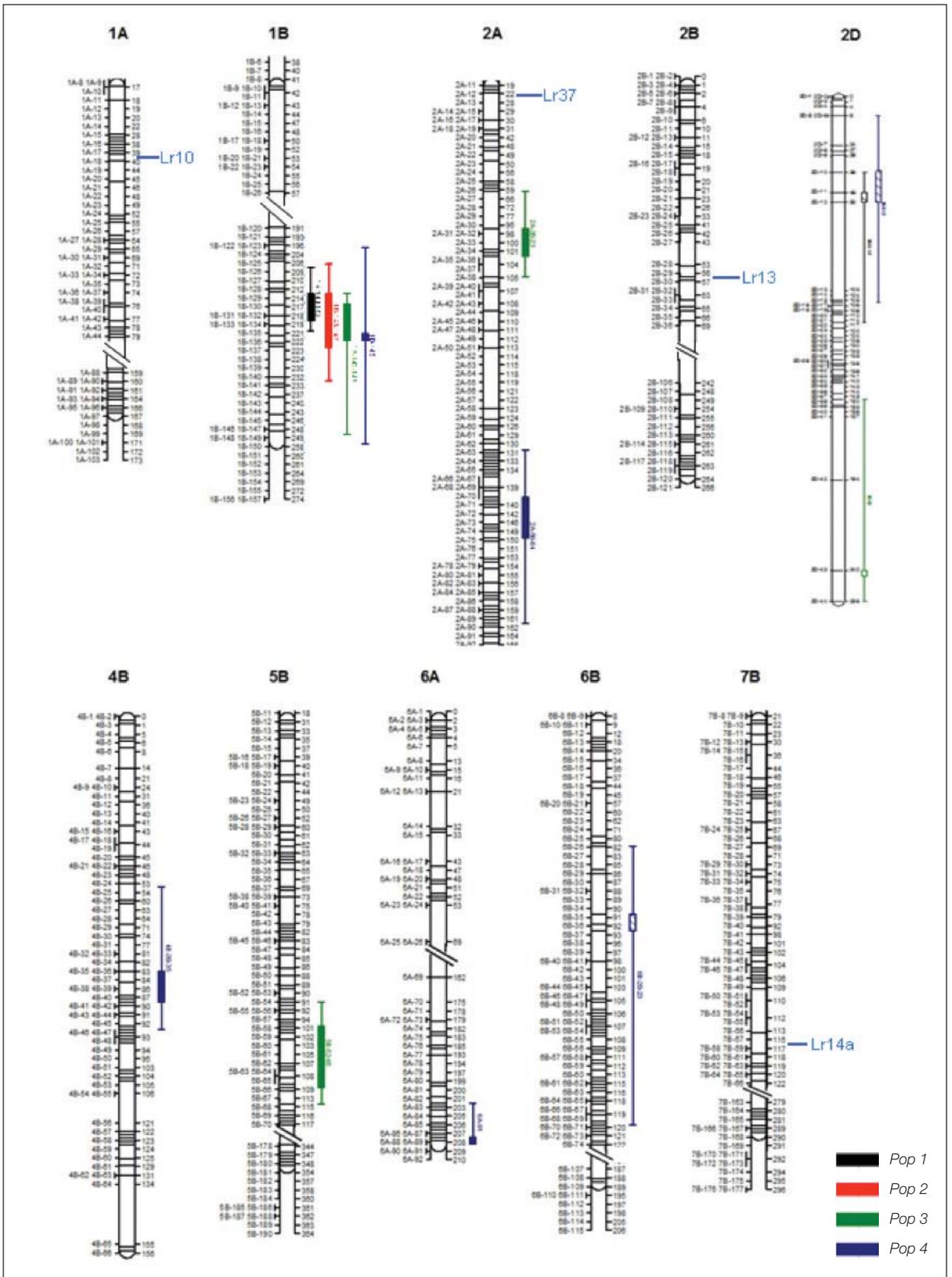


Figure 2 : Localisation des QTL détectés, leurs intervalles de confiance (boite : décroissance du LOD de 1, trait : décroissance du LOD de 2) et des gènes *Lr* des parents (bleu) sur la carte consensus des populations P1 à P4. Les rectangles remplis en tirets indiquent que le QTL/gène *Lr* vient du parent sensible et les rectangles en trait plein, du parent résistant.

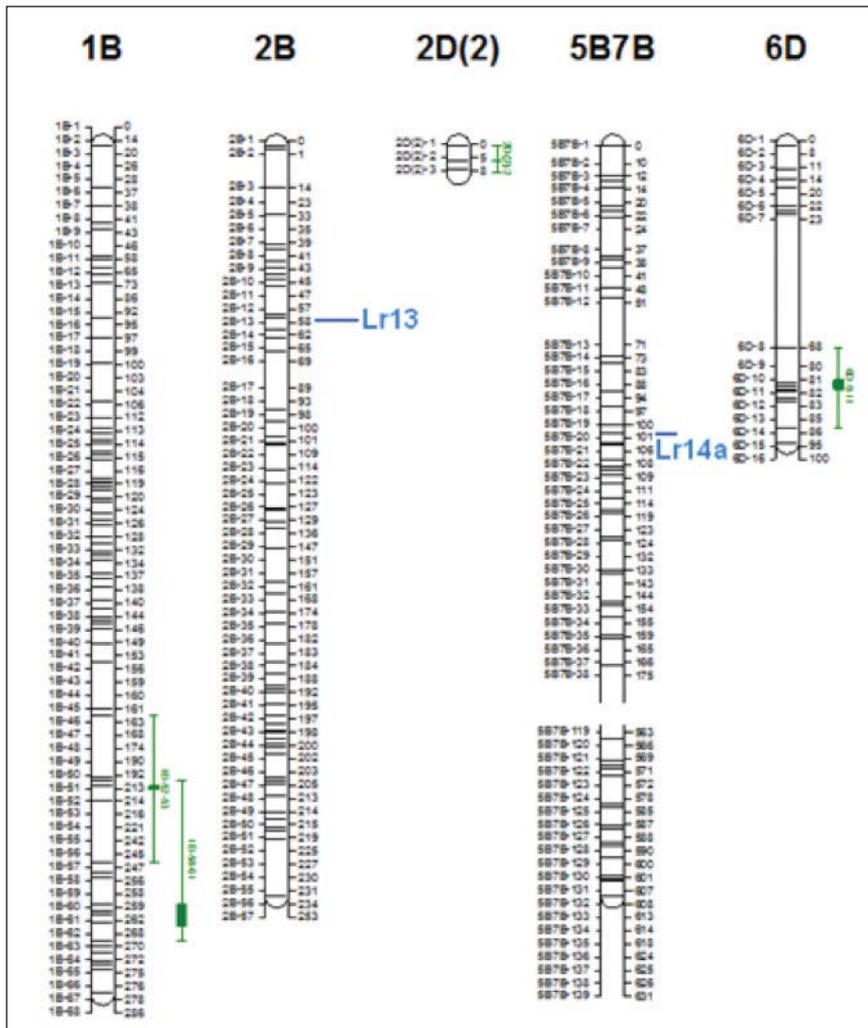


Figure 3 : Localisation des QTL détectés, leurs intervalles de confiance (boîte : décroissance du LOD de 1, trait : décroissance du LOD de 2) et des gènes Lr des parents (bleu) sur la carte consensus de la population P5.

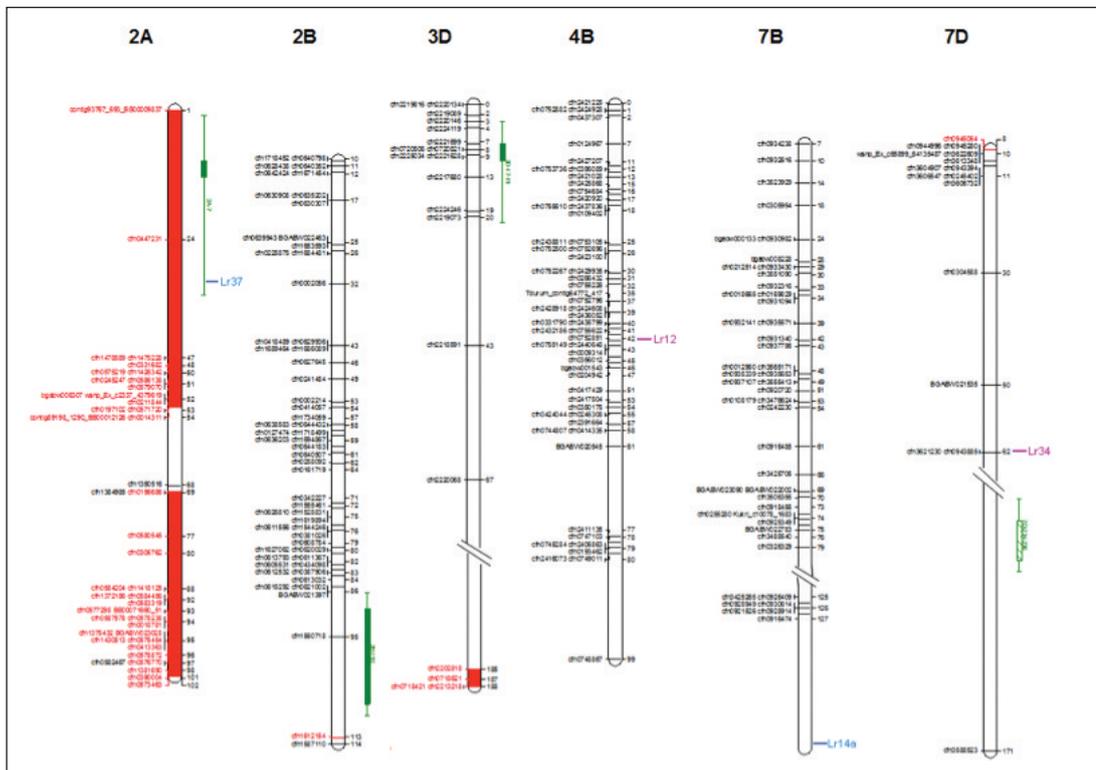


Figure 4 : Localisation des QTLs détectés, leurs intervalles de confiance (boîte : décroissance du LOD de 1, trait : décroissance du LOD de 2) dans la population 6. En rouge zone d'introgression d'*Aegilops ventricosa*, Source : T.C. Marcel.

Références bibliographiques

- Azzimonti G, Lannou C, Satche I, Goyeau H** (2013) Components of quantitative resistance to leaf rust in wheat cultivars: diversity, variability and specificity. *Plant Pathology* 62, 970-981.
- Azzimonti G, Marcel TC, Robert O, Paillard S, Lannou C, Goyeau H** (2014) Diversity, specificity and impacts on field epidemics of QTLs involved in components of quantitative resistance in the wheat leaf rust pathosystem. *Molecular Breeding* 34, 549-567.
- Berton, M.** (2015). Diversité des loci de résistance quantitative à la rouille brune pour une sélection de variétés de blé tendre à résistance plus durable. Mémoire de fin d'études d'Ingénieur AgroCampus Ouest, soutenu à Rennes le 14/09/2015, 50 p.
- Endelman J, Plomion C,** (2014). LPmerge : an R package for merging genetic maps by linear programming. *Bioinformatics* doi: 10.1093/bioinformatics/btu091
- González, A.M., Marcel T.C., Niks, R.E.** (2012). Evidence for a minor gene-for-minor gene interaction explaining non-hypersensitive polygenic partial disease resistance. *Phytopathology* 102: 1086-1093.
- Goyeau, H., Park, R.F., Schaeffer, B., Lannou, C.** (2006). Distribution of pathotypes with regard to host cultivars in French wheat leaf rust populations. *Phytopathology* 96, 264-273.
- Goyeau, H., Lannou, C., Pariaud, B., Azzimonti, G., du Cheyron, P., Couleaud, G., Maumené, C.** (2010). La résistance génétique du blé à la rouille brune causée par *Puccinia triticina* : comment évaluer sa durabilité pour mieux la gérer? *Phytoma* 631, 21-25.
- Goyeau, H., Lannou, C.** (2011). Specific resistance to leaf rust expressed at the seedling stage in cultivars grown in France from 1983 to 2007. *Euphytica* 178, 45-62.
- Manly KF, Meer JM,** (2001). Map manager QTX cross-platform software for genetic mapping, *Mammalian Genome* 12, 930-932
- McIntosh RA, Dubcovsky J, Rogers WJ, Morris C, Appels R, Xia XC** (2010). Catalogue of gene symbols for wheat: 2013-2014 supplement available at <http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/symbolClassList.jsp>
- Palloix, A., Ayme, V., Moury, B.** (2009). Durability of plant major resistance genes to pathogens depends on the genetic background, experimental evidence and consequences for breeding strategies. *New Phytol* 183.
- Papaix, J., Goyeau, H., du Cheyron, P., Monod, H., Lannou, C.** (2011). Influence of cultivated landscape composition on variety resistance: an assessment based on wheat leaf rust epidemics. *New Phytol* 191, 1095-1107.
- Peterson RF, Campbell AB, Hannah AE** (1948). A diagrammatic scale for estimating rust intensity on leaves and stems of cereals. *Canadian Journal of Research* 26, 496-500.
- Semagn, K., Babu, R., Hearne, S., Olsen, M.** (2014). Single nucleotide polymorphism genotyping using Kompetitive Allele Specific PCR (KASP): overview of the technology and its application in crop improvement. *Mol Breed* 33, 1-14.
- Singh, D., Simmonds, J., Park, R.F., Bariana, H., Snape, J.W.** (2009). Inheritance and QTL mapping of leaf rust resistance in the European winter wheat cultivar 'Beaver'. *Euphytica* 169, 253-261.
- Singh, R.P., Huerta-Espino, J., Bhavani, S., Herrera-Foessel, S.A., Singh, D., Singh, P.K., Velu, G., Mason, R.E., Jin, Y., Njau, P., Crossa, J.** (2011). Race non-specific resistance to rust diseases in CIMMYT spring wheats. *Euphytica* 179, 175-186.
- Stuthman, D.D., Leonard, K.J., Miller-Garvin, J., Donald, LS** (2007). Breeding crops for durable resistance to disease. In: Sparks D (ed) *Advances in agronomy*, vol 95. Academic Press, London, pp 319-367
- van Berloo, R., Aalbers, H., Werkman, A., Niks, R.E.** (2001). Resistance QTL confirmed through development of QTL-NILs for barley leaf rust resistance. *Mol Breed* 8, 187-195.
- Van Ooijen JW** (2006). JoinMap 4: Software for the calculation of genetic linkage maps in experimental populations. *Kyazama B.V., Wageningen, Netherlands*
- Voorrips RE** (2002). MapChart: Software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs. *The Journal of Heredity* 93, 77-78.
- Wang S, Wong D, Forrest K, Allen A, Chao S, Huang BE, Maccaferri M, Salvi S, Milner S, Cattivelli L, Mastrangelo AM, Whan A, Stephen S, Barker G, Wieseke R, Plieske J, Lillomo M, Mather D, Appels R, Dolferus R, Brown G, Korol A, Akhunova AR, Feuillet C, Salse j, Morgante M, Pozniak C, Luo MC, Dvorak J, Morell M, Dubcovsky J, Ganai M, Tuberosa R, Lawley C, Mikoulitch I, Cavanagh C, Edwards KJ, Hayden m, Akhunov E** (2014). Characterization of polyploid wheat genomic diversity using a high-density 90000 single nucleotide polymorphism array. *Plant Biotech Journal* doi: 10.1111/pbi.12183

Stabilité de la résistance à la rouille jaune : Complémentarité entre recherche, sélection et développement

Simon LEFEVRE^{1*}, Axel OLIVIER¹, Antoine POUPART¹, Pierre RIGOLLE², Marc LECONTE³, Bernard ROLLAND⁴, Jean-Pierre LeMONNIER⁴, Sarah HOLTGATE⁵, Amelia HUBBARD⁵, Emma COVENTRY⁵, Ian MIDGLEY⁵, David ELLERTON⁶, Colin BUTTON⁶, Bob BULMER⁶, Philippe LEREBOUR⁷, Clément DEBITON⁷, Jayne STRAGLIATI⁸, Florianne OUDIN⁸, Bernard DUPERRIER⁸, Jean-Bruno BEAUFUME⁸, Denis BEGHIN⁹, Philippe LONNET⁹, Laure DUCHALAIS¹⁰, Patrice SENELLART¹¹, Sébastien CAIVEAU¹¹, Pauline BANSEPT¹¹, D. GUIARD¹¹, Jérôme AUZANNEAU¹², Claude de VALLAVIEILLE-POPE³

1 - AgroSolutions, 83, avenue de la Grande Armée, 75782, Paris cedex 16

2 - GIE Recherche Génétiques Céréales, 83 avenue de la Grande Armée, 75782 Paris Cedex 16

3 - UMR BIOGER, INRA, AgroParisTech, Université Paris-Saclay, 78850 Thiverval-Grignon

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

5 - NIAB, Huntingdon Road, Cambridge, CB3 0LE, UK

6 - Hutchinson, Cambridgeshire, UK

7 - Unisigma, 2, rue Petit Sorri, 60480 Froissy

8 - Limagrain Europe, 5 rue de l'Égalité, 28130 Chartainvilliers

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

10 - R2N, Route d'Épincy, BP 28150 Louville-la-Chenard

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

12 - Agri-obtentions URD78, Ferme de Gauvilliers, 78660 Orsonville

* **Coordinateur** : Simon LEFEVRE, slefevre@agrosolutions.com

Résumé

La période épidémique (2013-2015) est caractérisée à la fois par des différences de pression de maladie - faible en 2013, très élevée en 2014 et intermédiaire en 2015 - selon les observations sur le terrain (confirmées par le calcul du nombre de générations du parasite mensuel), et par l'évolution des races de rouille jaune avec la dominance de la race Warrior1 en 2013 et de la race Warrior- en 2015. L'étude fine du comportement des variétés au stade adulte vis-à-vis de la rouille jaune en France au cours de cette période montre quelques différences de niveau de résistance selon les sites et les années. Ces observations sont la conséquence de pressions de maladie et éventuellement de races, différentes. L'implantation de onze génotypes révélateurs d'un gène ou d'une combinaison de gènes de résistance sur les sites des coopératives a permis de repérer des changements de virulences dans la population parasite. L'intérêt des génotypes révélateurs dans les deux pays partenaires du projet est démontré. Cependant, l'évaluation des variétés en cours d'inscription met en évidence le bon comportement d'une grande partie d'entre elles, indépendamment du site et de l'année (80 % des variétés en cours d'inscription ont une surface foliaire malade inférieure à 15 %). Les postulons de gènes de résistance au stade plantule dans les lignées en deuxième année d'inscription et les variétés nouvellement inscrites montrent que plus d'un tiers d'entre elles sont résistantes à toutes les races détectées en France. Cette information confirme l'importance du travail mené par les sélectionneurs. L'emploi de variétés résistantes reste aujourd'hui le levier majeur pour les agriculteurs dans la gestion de la rouille jaune. Comme en France, au Royaume-Uni, de nouvelles variétés ou de plus anciennes comme Soissons ont montré des niveaux de résistance très intéressants quel que soit le site ou l'année. En parallèle, des différences de comportement interannuel ont également été remarquées pour certaines variétés. D'un point de vue méthodologique, l'analyse des différentes notations de la rouille jaune suggère une importante corrélation entre intensité et sévérité de la maladie. De plus, les deux premiers étages foliaires présentent des intensités également fortement corrélées. Une notation d'incidence ainsi qu'une notation d'intensité sur les étages inférieurs viennent

compléter l'observation. Par ailleurs, l'analyse de descendants d'une population Soissons x Nogent a mis en évidence trois QTL de résistance issus de Soissons.

1. Introduction

La rouille jaune du blé (*Puccinia striiformis* f.sp. *tritici*, *Pst*) est l'une des maladies du blé les plus répandues et les plus dévastatrices. Elle se manifeste surtout dans les régions au climat frais et humide (de Vallavieille-Pope *et al.*, 2000 ; Hau et de Vallavieille-Pope, 2006), mais depuis 2000, des souches adaptées aux hautes températures sont à l'origine d'épidémies dans des régions considérées comme ayant un climat trop chaud pour cette maladie comme l'Ouest de l'Australie et le Sud des Etats-Unis (Milus *et al.*, 2009 ; Wellings, 2011).

Une attaque sévère des feuilles supérieures et des glumes pénalise particulièrement les récoltes, réduit le poids de mille grains et provoque des pertes de rendement pouvant atteindre 40 à 80 %. 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. Une variété sensible avec un climat favorable nécessite en effet l'application de fongicides. La sélection de variétés résistantes apporte donc des solutions permettant de réduire l'emploi de produits phytopharmaceutiques. Cependant, ces solutions s'avèrent souvent de courte durée car certains gènes de résistance sont rapidement contournés par l'agent pathogène. Dès lors, la sélection de variétés présentant des résistances plus durables ainsi que leur évaluation après leur inscription s'impose. Les résistances partielles qui s'expriment au stade adulte sont considérées comme plus durables que les résistances totales s'exprimant dès le stade jeune plante (Chen, 2005) et l'on doit être capable d'évaluer le niveau de résistance des variétés inscrites dans les conditions des différentes régions de culture et de suivre l'évolution des races dans la région.

Suite aux conditions climatiques favorables et à l'émergence de nouvelles races, des épidémies précoces, difficiles à enrayer, se sont déclenchées sur les variétés devenues sensibles. Les années de fortes épidémies de rouille jaune en France ont coïncidé avec des contournements de gènes de résistance

spécifique : 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) (Bayles *et al.*, 2000 ; de Vallavieille-Pope *et al.*, 2012). Par ailleurs, depuis 2000, deux nouvelles souches de *Pst*, très agressives et adaptées aux hautes températures, se sont propagées dans le monde (Walter *et al.*, 2016). Cependant, leurs spectres de virulence ne leur permettent pas de se développer sur les variétés cultivées actuellement dans le Nord-Ouest de l'Europe, car elles sont avirulentes vis-à-vis des gènes de résistance Yr1, Yr3, Yr4, Yr17, Yr25, Yr32 communs dans les variétés cultivées en France (de Vallavieille-Pope *et al.*, 2012). En 2011, une nouvelle race de rouille jaune, Warrior1, a été isolée dans toute l'Europe et diffère des races précédemment déterminées ; en particulier au stade plantule, elle contourne les variétés Apache et Camp Rémy et ne se développe pas sur Renan, toutefois leur résistance adulte demeure efficace (Hubbard *et al.*, 2015 ; Hovmöller *et al.*, 2015). D'autres souches se sont également développées en Europe récemment, Warrior-, Kranich, Sterling, Triticale agressive (www.wheatrust.org). De plus, les conditions climatiques hivernales ont permis le développement de la maladie dès l'hiver, ce qui était plus rare par le passé (Lefèvre *et al.*, 2015).

Des variétés sélectionnées comme résistantes au cours de leur sélection et de leur inscription peuvent devenir sensibles en fonction de l'évolution des races ou à l'inverse montrer un niveau de résistance adulte partielle satisfaisant pour se maintenir en dessous du seuil de sévérité nécessitant un traitement fongicide dans les conditions de plein champ. Les tests d'évaluation de niveau de résistance ne doivent pas être conduits uniquement précocement sous forte pression d'inoculum mais ils doivent également être poursuivis dans les conditions naturelles, proches de celles de l'utilisation par les agriculteurs après l'inscription au cours de la période de multiplication des semences.

La fréquence des races de *Pst* est publiée annuellement sur la plateforme internet européenne (<http://www.wheatrust.org>). Il apparaît ainsi qu'il y a souvent un délai de quelques années entre le développement d'une race en France et en Angleterre comme cela a été analysé en détail pour le contournement de Yr17 survenu en 1995 en Angleterre et en 1998 en France (Bayles *et al.*, 2000). La migration de spores sur de longues distances a été démontrée entre l'Angleterre et le Danemark (Hovmöller *et al.*, 2002). L'analyse du niveau de résistance des variétés françaises est élargie à un inoculum présent en Angleterre même s'il n'est pas détecté sur notre territoire mais pourrait y migrer.

Par ailleurs, l'observatoire de races de rouille jaune établi depuis 1984 (de Vallavieille-Pope *et al.*, 2012) a permis de détecter que la résistance de quatre variétés françaises s'est montrée durable pendant plus de 10 ans en France. L'INRA (Département de Génétique et Amélioration des Plantes) de Rennes a déterminé les QTL de résistance impliqués dans trois de ces variétés : Camp Rémy (Maillard *et al.*, 2005), Renan (Dedryver *et al.*, 1999) et Apache (Paillard *et al.*, 2012). Une quatrième source de résistance durable issue de la variété Soissons est analysée au cours de cette étude.

Le niveau de résistance au stade adulte dépend des conditions de l'environnement, de la pression d'inoculum et des modalités de notation de l'intensité de la maladie. C'est pourquoi il n'est pas possible de transférer directement les observations réalisées par les sélectionneurs en pépinières contaminées où la pression d'inoculum artificiel est élevée et les notations orientées vers l'élimination des lignées sensibles plutôt que la sélection de résistance partielle. Dans cette étude, les résistances

variétales sont évaluées dans les conditions réelles de leur développement, en collaboration avec les coopératives agricoles du réseau InVivo qui assurent le relai pour les variétés nouvellement inscrites en effectuant leur distribution chez les agriculteurs et jouent un rôle majeur dans le conseil des agriculteurs sur le choix variétal. Dans les conditions de microparcelles et d'infection naturelle, on évalue le niveau de résistance des variétés qui seront utilisées dans la région et détecte un éventuel contournement. La présence de lignées testeurs portant des gènes de résistance spécifique bien caractérisés, implantées à proximité de chaque essai au champ, permet de repérer les gènes de résistance spécifique qui sont efficaces ou contournés. Si une résistance est contournée, les coopératives auront l'information tôt et la postulation du gène contourné se fera également rapidement.

L'objet de notre étude est d'identifier de nouvelles sources de résistance durable et d'établir des complémentarités entre la recherche sur le niveau de résistance variétale et le développement des variétés chez les agriculteurs. Pour ce faire, nous créons un réseau entre les expérimentations conduites en France et en Angleterre pour anticiper des pressions d'inoculum qui pourraient arriver sur notre territoire.

Le projet évalue la résistance à la rouille jaune en inoculation contrôlée au champ, sur des variétés en pré et en post inscription du réseau GIE Recherche Génétiques Céréales. Cette évaluation a lieu en France et en Angleterre. Les variétés semées en pépinière sont inoculées avec la race dominante de chaque pays. La résistance à la rouille jaune est également évaluée en milieu naturel sur les mêmes variétés et également dans les deux pays. Les virulences des souches naturelles issues des deux pays sont déterminées. La présence de gènes Yr sur ces variétés est postulée au stade plantule en conditions contrôlées. Nous concluons sur les résistances contournées et sur les évolutions de souches. Enfin, la recherche de nouveaux QTL provenant de la variété résistante Soissons est étudiée sur une population issue d'un croisement entre Soissons et Nogent.

2. Matériels et Méthodes

► 2.1 - Postulation de gènes Yr au stade plantule de nouvelles lignées

Nous avons testé au stade plantule 180 lignées et variétés fournies par les sélectionneurs vis-à-vis de 12 races de *Pst* dans des conditions contrôlées de serre et de chambre climatique à l'INRA Bioger. Les spectres de virulence des races qui ont servi de testeurs sont : 6E16 (Vr2, 6, 7, 8), 43E138 (Vr1, 2, 3, 7, 25, Sd), 106E139 (Vr2, 3, 4, 7, 25, Sd, Su), 45E140 (Vr1, 2, 3, 6, 25, Sd), 109E141 (Vr1, 2, 3, 4, 6, 25, Sd, Su), 169E136V17 (Vr1, 2, 3, 9, 17, 25, Sd), 232E137 (Vr2, 3, 4, 9, 25, Sd, Su), 233E169V17 (Vr1, 2, 3, 4, 9, 17, 25, 32, Sd, Su) race Robigus, 237E141A17 (Vr1, 2, 3, 4, 6, 9, 25, Sd, Su), 237E141V17 (Vr1, 2, 3, 4, 6, 9, 17, 25, Sd, Su) race Ornicar, 237E173V17 (Vr1, 2, 3, 4, 6, 9, 17, 25, 32, Sd, Su) race Oakley, Solstice et 239E175V17 (Vr1, 2, 3, 4, 6, 7, 9, 17, 25, 32, Sd, Su, Sp(I)) race Warrior1 (de Vallavieille-Pope *et al.*, 2012).

► 2.2 - Analyse des virulences et génotypage des souches isolées dans les essais au champ

Les obtenteurs et les coopératives ont expédié des prélèvements de feuilles sporulantes issues de leurs essais. Les essais des obtenteurs étaient inoculés par la race Warrior1 ou par le mélange de la race Warrior1 et de la race Solstice. Les essais des coopératives avaient uniquement un inoculum naturel. Tous les isolats reçus sont multipliés de façon à en

produire une quantité de spores nécessaires aux tests de pathotypage et génotypage qui ont été réalisés à l'INRA Bioger et au NIAB (UK). Les virulences des isolats sont testées sur des jeunes plantes d'une gamme d'hôtes différentiels (de Vallavieille-Pope *et al.*, 2012), cultivées en serre jusqu'au stade 2 feuilles puis inoculées par 5 mg de spores de chacun des isolats (suspendues dans de l'huile Novec). Les plantes inoculées 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 μ E m⁻² s⁻¹ à 17°C suivies de 8 h à l'obscurité à 14°C. Les types d'infection (0-9) sont notés 15 jours après l'inoculation. Un isolat est classé virulent (*Vr*) (types d'infection 7-9), avirulent (types d'infection 0-4), ou intermédiaire (*I*) (types d'infection 5-6).

Note	Plantes affectées (%)	Surface foliaire attaquée (%)
1	Absence de dégât	
2	Traces	
3	25 < x < 50	10
4	≥ 50	25
5	100	50
6	100	60
7	100	75
8	100	90
9	Maximun possible	100

Tableau 1 : Echelle de notation de l'intensité de maladie sur les variétés / lignées dans les sites des obtenteurs.

Les isolats anglais sont testés au NIAB sur des variétés supplémentaires en plus de la gamme internationale : Rendezvous (*Yr17*), Talon (*Yr32*), Robigus (WYR 'Rob'), Solstice (WYR 'Sol'), Warrior (WYR 'Warrior'), KWS Sterling (WYR 'Ster'), Cadenza (WYR6,7+APR), Claire (WYR 'Claire'), Crusoe, Ambition (WYR 'Amb'), Avocet *Yr24* (*Yr24*), Opata (*Yr27+*), Apache (*Yr7*, *17*), Brigadier, Kranich, Vuka. Quatorze jours après l'inoculation, les tests sont évalués avec une échelle de 0-4 : 0-2,3 pour une réaction d'avirulence ; 2,4-2,6 pour une réaction intermédiaire et 2,7-4 pour une réaction d'avirulence.

Les isolats sont multipliés à partir d'une seule lésion sporulante, sur la variété sensible Victo. Les spores récoltées 17 jours après l'inoculation sont placées dans un dessiccateur pendant 4 jours à 4°C et conservées dans l'azote liquide. L'ADN est extrait à partir de 5 mg de spores de chaque isolat (Ali *et al.*, 2011). Le génotypage est réalisé avec 19 microsatellites répartis en deux multiplex.

► 2.3 - Evaluation de la résistance à la rouille jaune en milieu naturel et contrôlé de variétés récentes

De 2013 à 2015, sur 21 sites, près de 60 génotypes ont été évalués vis-à-vis de leur comportement face à la rouille jaune.

Parmi l'ensemble des génotypes évalués, nous différencions :

- les génotypes révélateurs choisis pour les gènes de résistance majeurs qu'ils portent.
- les variétés récentes qui permettent de juger la résistance quantitative dans le matériel français.
- les variétés CTPS1, testées uniquement en conditions de contamination artificielle.
- les variétés CTPS2, évaluées en conditions de contamination artificielle et naturelle.

Les tests des variétés CTPS1 et CTPS2 permettent de juger la résistance quantitative dans le matériel génétique français à venir prochainement.

Les évaluations ont été réalisées selon deux modes de contamination :

- en contamination naturelle en microparcelles (une répétition sur 6 sites mis en place par les coopératives en France - Agrial (14), Triskalia (22), Unéal (59), Capseine (76), Noriap (80) et InVivo (91)- et 2 répétitions sur 4 sites en Angleterre.
- en contamination artificielle par la race Warrior1, dominante en France depuis 2011 (isolat J11019), sur sept sites en France (départements 28 et 78 (2 sites), départements 35, 59 et 60 (1 site)). Certains sites ont également été contaminés par la race Solstice (isolat J1043), prédominant jusqu'en 2011. Selon les années, 20 à 30 génotypes supplémentaires, correspondant aux variétés CTPS1, ont été évalués.

Pour les analyses, seules les notations les plus tardives sont prises en compte. Pour les coopératives, les notations ont été effectuées pour la plupart en pourcentage de surface malade sur les deux premiers étages foliaires. Pour les sites en inoculation artificielle, l'échelle de notation utilisée était celle du CTPS (Tableau 1). Une notation supplémentaire sur épi a parfois été réalisée.

Nous appelons ici sévérité le pourcentage de surface malade des plantes malades et intensité de maladie le pourcentage de surface malade rapporté à l'ensemble des plantes échantillonnées.

Dans ce rapport, une variété est considérée :

- **Résistante (totale)**, lorsque sur l'ensemble des sites considérés, l'intensité de rouille jaune est strictement inférieure à 3 % (seuil correspondant à l'absence de symptômes ou présence de traces),
- **Moyennement résistante**, lorsque sur l'ensemble des sites considérés, l'intensité de rouille jaune est strictement inférieure à 15 % et au moins un des sites présente une intensité supérieure ou égale à 3 %,
- **Moyennement sensible**, lorsque sur l'ensemble des sites considérés, l'intensité de rouille jaune est strictement inférieure à 40 % et au moins un des sites présente une intensité supérieure ou égale à 15 %,
- **Sensible**, lorsque pour au moins un des sites considérés, l'intensité de la rouille jaune est supérieure à 40 %.

Pour les études conduites par le NIAB en Angleterre, les variétés de RL (*Recommended List*) et les variétés candidates à RL ainsi que des témoins sont semés à la main au champ pour une évaluation avec des isolats choisis. Chaque parcelle est répétée deux fois, et chaque parcelle correspond à une race inoculée. Une variété contaminatrice est semée dans chaque parcelle, l'inoculation est réalisée au printemps par des plantules infectées par un isolat identifié en conditions contrôlées. Les notations sont effectuées sur les feuilles supérieures jusqu'à la sénescence.

► 2.4 - Recherche de QTL dans la population Soissons x Nogent

D'un croisement entre deux variétés de blé panifiable français, la variété résistante Soissons et la variété sensible Nogent, l'UMR IGEPP INRA (Le Rheu) a obtenu 206 lignées recombinantes (RILs) issues de Single Seed Descent (SSD) en génération F6. La population a été phénotypée pour son niveau de résistance adulte au champ vis-à-vis de deux races prédominantes. Deux cent six RILs, leurs parents et des lignées de la gamme hôte différentielle (*Yr1* à *Yr14*, *Yr16*, *Yr17*, *Yr32*, *Su* et *SD*) ont été évaluées au champ à la station expérimentale de l'INRA Versailles (Ile de France) en 2013 avec les races Ornicar et Warrior1. Ces deux races ont été retenues car la première a servi au phénotypage des populations d'autres croisements (issus de Renan, de Camp Rémy, d'Apache), la seconde est la race prédominante depuis 2011 en France et contourne un grand nombre de gènes de résistance majeurs au stade jeune plante.

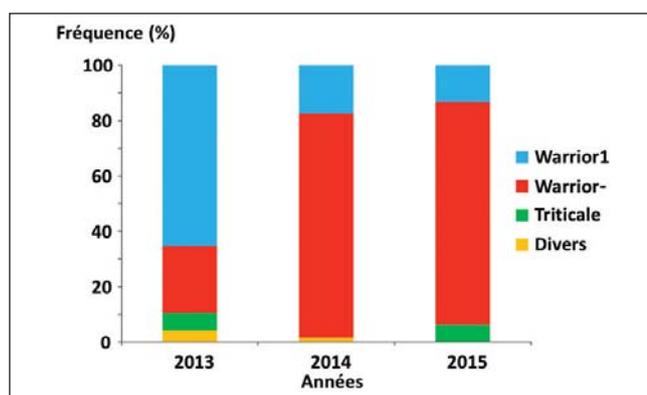


Figure 1 : Fréquence des races de *Puccinia striiformis f.sp. tritici* à l'échelle nationale en France pendant la période 2013-2015.

Trente graines de chaque lignée sont semées en ligne à la fin du mois d'octobre dans un dispositif randomisé, avec deux répétitions. Une bande d'une variété contaminatrice (Victo) est semée perpendiculairement aux lignes. Les essais inoculés par les deux races sont séparés de 800 m et par plusieurs haies d'arbres. Des plantes au stade deux feuilles sont inoculées en conditions contrôlées par les deux races séparément et transplantées au champ en Mars à raison d'une plantule tous les 2,5 m. Les notations de sévérité de rouille jaune sont réalisées par une estimation visuelle du pourcentage de surface foliaire sporulante au cours de notations aux stades phénologiques DC32, DC39, DC64 et DC79 (Zadoks *et al.*, 1974). La dernière notation est utilisée pour la recherche de QTL. A la fin de l'expérimentation, il y a une vérification de la race présente dans la parcelle, à l'aide de trois variétés témoins incluses dans l'essai (Talent (Yr7), Toisonдор (Yr32), Ambition (YrAmb)). Ces trois variétés sont en effet contournées par la race Warrior1 et ne sont pas attaquées par la race Ornicar.

Le génotypage a été réalisé par la plateforme Gentyane de l'INRA de Clermont Ferrand en utilisant 960 SNP ; 334 sont polymorphes sur les parents et présentent une bonne distribution au sein de la descendance (test du Chi-Deux). La construction de la carte génétique a été réalisée grâce au logiciel MapDisto v1.7.2 beta 9 (Lorieux, 2012). Les groupes de liaison ont été établis dans un premier temps pour un LOD score de 3 avec un taux de recombinaison inférieur à 0,40. Lorsque des marqueurs appartenaient à des chromosomes différents, la valeur du LOD a été augmentée à 5 afin de séparer les groupes. Les distances génétiques entre marqueurs ont été estimées en distance de Kosambi.

Chaque groupe de liaison a ensuite été attribué à un chromosome quand il portait au moins deux marqueurs du chromosome. La détection de QTL a été réalisée sur la carte génétique, construite avec MapDisto, avec le logiciel WinQTLcartographeur v2.5 (Wang *et al.*, 2012) par CIM (Composite Interval Mapping), avec 300 permutations à une valeur seuil de 5 %. Les dernières notations des 2 répétitions et la moyenne des dernières notations de maladie des 2 répétitions ont été analysées une par une pour chacune des deux souches sur tout le génome. Le logiciel a recherché un QTL tous les 2 cM. Le LOD seuil a été défini de manière arbitraire à 3 et les intervalles de confiance ont été estimés par décroissance du LOD de 1 par rapport au pic de LOD score correspondant à la présence d'un QTL. Lorsqu'un QTL a été détecté pour une seule variable par CIM, une ANOVA (Analyse Of Variance) a été réalisée pour tester l'efficacité (p-value < 0.05) de ce marqueur sur les autres variables.

3. Résultats

► 3.1 - Postulation de gènes Yr au stade plantule de nouvelles lignées

Beaucoup de lignées en cours d'inscription (32) et de variétés inscrites (35) sont résistantes à toutes les races françaises testées, 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 (Tableau 2). Nous avons postulé la présence des gènes de résistance Yr4, Yr6, Yr7, Yr17 et Yr32, seuls ou en combinaison, maintenant tous contournés en France et déjà présents dans les variétés communes en France. Yr17 est postulé dans 22 lignées et 23 variétés ; ce gène est présent chez Renan et Apache et de nombreuses variétés françaises actuelles qui ont servi de géniteurs. Yr7, présent chez Camp Rémy et Apache, est postulé dans 14 variétés et aucune lignée. La combinaison Yr7+Yr17 décrite chez Apache, est retrouvée dans 6 lignées et aucune variété. Yr6, présent dans la variété Récital, est postulé dans 5 variétés et aucune lignée. La combinaison Yr6+Yr17 est retrouvée dans 5 des lignées et 8 variétés. Yr32 est postulé dans 5 des lignées et 5 variétés, ce gène détecté chez la variété Toisonдор est contourné en France depuis 2002. La virulence 32 est devenue très fréquente depuis 2007. La combinaison Yr6+Yr32 dont le contournement correspond au développement de la race dite 'Oakley/Solstice' est postulée dans 2 lignées et 2 variétés. Nous avons également trouvé 3 lignées et 5 variétés possédant Yr2 ou sensibles à toutes les races.

Gènes de résistance	Nombre de lignées / variétés			Pourcentage de lignées / variétés		
	pré-inscription	post-inscription	témoin	pré-inscription	post-inscription	témoin
résistants à 12 races	32	35	2	41	34	11
Yr4	-	2	-	-	2	-
Yr6	-	7	2	-	7	11
Yr7	-	14	3	-	14	17
Yr17	22	23	2	28	23	11
Yr32	5	5	1	6	5	6
Yr1 + Yr9	-	1	-	-	1	-
Yr6 + Yr17	5	8	-	6	8	-
Yr6 + Yr32	2	2	1	3	2	6
Yr7 + Yr17	6	-	1	8	-	6
sensibles ou Yr2	3	5	6	4	5	33
indéterminé	3	-	-	4	-	-
Total	78	102	18	100	100	100

Tableau 2 : Gènes de résistance majeurs postulés dans 180 lignées ou variétés de blé tendre de la période 2013 à 2015 au stade jeune plante, après inoculation en conditions contrôlées par 12 races de *Puccinia striiformis f.sp. tritici*.

Pathotype	France	UK	2013	2014	2015	Virulence																			
						1	2	3	4	6	7	8	9	10	17	32	24	25	27	Sd	Su	Sp	St	Wa	Am
Warrior1	+	+	+	+	+	1	2	3	4	6	7	-	9	-	17	32	-	25	-	Sd	Su	Sp	-	Wa	Am
Warrior-	+	+	-	+	+	1	2	3	4	6	7	-	9	-	17	32	-	25	-	Sd	Su	Sp	-	-	-
Sterling	+	+	+(UK)	+	-	1	2	3	4	6	7	-	9	-	17	32	-	25	-	Sd	Su	Sp	St	-	-
Warrior avSp	-	+	+	+	-	1	2	3	4	6	7	-	9	-	17	32	-	25	-	Sd	Su	-	St	-	-
Warrior avSp	-	+	+	+	+	1	2	3	4	6	7	-	9	-	17	32	-	25	-	Sd	Su	-	-	-	-
Warrior av4	-	+	-	+	+	1	2	3	-	6	7	-	9	-	17	32	-	25	-	Sd	Su	Sp	-	-	-
Warrior av4, Sd	-	+	+	-	-	1	2	3	-	(6)	7	-	9	-	(17)	32	-	25	-	-	Su	Sp	-	-	-
Warrior av4, 7	-	+	-	+	-	1	2	3	-	(6)	-	-	9	-	17	32	-	25	-	Sd	Su	Sp	St	-	-
Oakley / Solstice	-	+	+	+	+	1	2	3	4	6	-	-	9	-	17	32	-	25	-	Sd	Su	-	-	-	-
Warrior av1, 9, 17	+	-	+	-	-	-	2	3	4	6	7	-	-	-	-	32	-	25	-	Sd	Su	Sp	-	-	-
Triticale agressive	+	-	+	-	+	-	2	-	-	6	7	8	9	10	-	-	24	-	-	-	-	-	-	-	-
Triticale non agressive	+	-	+	-	+	-	2	-	-	6	7	8	-	10	-	-	24	-	-	-	-	-	-	-	-

St = Sterling
Wa = Warrior
Am = Ambition

Tableau 3 : Spectre de virulences des races de *Puccinia striiformis f.sp. tritici* isolées par les coopératives en France et en Angleterre en 2013, 2014 et 2015.

Lieux	2013		2014			2015	
	Warrior1	Warrior-	Oakley	Warrior1	Warrior-	Warrior1	Warrior-
Oise	-	-	-	-	2	-	-
Yvelines	-	-	-	1	-	-	-
Nord	1	-	-	-	3	-	2
Eure-et-loir	-	-	1	1	-	-	1
Ille et Vilaine	3	-	-	-	2	-	2
Eure-et-loir	1	-	-	-	5	-	1
Yvelines	-	-	-	-	-	-	-

Tableau 4 : Races de *Puccinia striiformis f.sp. tritici* isolées à partir d'échantillons des obtenteurs français en 2013, 2014, 2015, déterminées par pathotypage et génotypage.

Coopératives	2013		2014		2015	
	Warrior1	Warrior-	Warrior1	Warrior-	Warrior1	Warrior-
Agrial	6	3	2	8	-	-
Cap-Seine	-	3	1	13	1	1
InVivo	1	-	-	10	-	3
Triskalia	3	4	5	4	-	-
Noriap	-	-	-	1	-	-

Tableau 5 : Races de *Puccinia striiformis f.sp. tritici* isolées à partir d'échantillons de coopératives françaises en 2013, 2014, 2015, déterminées par pathotypage et génotypage.

Ces mêmes lignées sont testées au stade adulte dans les pépinières de sélectionneurs vis-à-vis de la race dominant actuellement en France, la race Warrior1 qui combine un grand nombre de virulences détectées au stade plantule.

► 3.2 - Analyse des races de rouille jaune à l'échelle nationale

Deux races principales sont détectées durant la période 2013-2015 : Warrior1 isolée depuis 2011 et Warrior- identifiée à partir de 2013. Warrior1 dominait en 2013. En 2014, Warrior1 ne représente plus que 18 % alors que Warrior- domine avec 81 % de la population (Figure 1). En 2014, un isolat de la race KWS Sterling est observé en Seine et Marne sur la variété Apache ainsi que quelques isolats de la race Oakley, en Eure et Loir et dans la Somme (Tableau 3). Warrior- est également la race la plus fréquente en 2015, Warrior1 représentant 13,5 % et Warrior- 83 % de la population. La race Triticale est également présente à une fréquence de 3 %. Warrior1 et Warrior- se distinguent à l'aide de marqueurs microsatellites. Leur distinction pour leurs spectres de virulences est possible au stade plantule avec des variétés qui ne sont pas utilisées habituellement comme différentielles. Warrior1 contourne en effet les variétés Warrior et Ambition et n'attaque pas la variété KWS Sterling, alors que la race Warrior- n'attaque aucune de ces trois variétés Warrior, Ambition et KWS Sterling (Tableau 3). Nous n'observons pas de régionalisation dans la répartition des races Warrior. La race Triticale agressive est isolée essentiellement dans le sud de la France sur du triticale.

Les isolats issus des parcelles des obtenteurs qui avaient été inoculées avec les races Warrior1 et Oakley montrent la même répartition des races qu'à l'échelle nationale, avec le remplacement de Warrior1 par Warrior, ce qui suggère des contaminations extérieures (Tableau 4).

Les isolats provenant des essais menés par les coopératives partenaires du projet montrent qu'en 2014 la race Warrior- dominait sur les sites de CapSeine (76) et InVivo (91) et que Warrior1 était significativement présente sur les sites de Triskalia (35) (Tableau 5).

Les 15 isolats anglais de 2013 et les 20 isolats de 2014 et de 2015 montrent par leur spectre de virulences une diversité globalement plus importante qu'en France (Tableau 3). Ces isolats et races sont représentatifs des isolats analysés à l'échelle nationale par *UK Cereal Pathogen Virulence Survey*⁽²⁾ pour les trois années du projet. Certains isolats sont typiques de la race Warrior1 identifiée en Angleterre en 2011, portant ainsi les virulences Vr1,2,3,4,6,7,9,17,32, Robigus, Solstice, Warrior, Timber. D'autres diffèrent par l'avirulence sur Warrior, Timber et Ambition ou par la virulence sur Rendezvous et l'avirulence pour Spaldings Prolific. La variété différentielle Spaldings Prolific est identifiée comme la variété permettant de différencier les types 'Warrior' et variants 'Warrior'. Enfin, certains isolats ont le pathotype 'Solstice' identifié en 2008 en Angleterre.

Les fréquences des races isolées dans les essais conduits dans les coopératives sont comparables à celles présentes sur l'ensemble de la population française et anglaise analysée durant la même période au niveau national. Les résultats obtenus en France et en Angleterre montrent que la race Warrior- prédomine largement en 2015 (Tableau 3).

(2) *United Kingdom Cereal Pathogen Virulence Survey 2013 Annual Report* Amelia Hubbard, Laura Pritchard, Emma Coventry and Sarah Holdgate NIAB, Huntingdon Road, Cambridge, CB3 0LE.

United Kingdom Cereal Pathogen Virulence Survey 2014 Annual Report Amelia Hubbard, Laura Pritchard, Emma Coventry and Sarah Holdgate NIAB, Huntingdon Road, Cambridge, CB3 0LE.

United Kingdom Cereal Pathogen Virulence Survey 2015 Annual Report Amelia Hubbard, Laura Pritchard, Emma Coventry and Sarah Holdgate NIAB, Huntingdon Road, Cambridge, CB3 0LE.

► 3.3 - Evaluation de la résistance à la rouille jaune en milieu naturel et contrôlé de variétés récentes

Caractérisation des années épidémiques par le nombre de cycles infectieux calculés en fonction de la température.

La campagne 2012/2013 se caractérise par une pression rouille jaune faible. En revanche, la campagne 2013/2014 a été particulièrement favorable au développement de la rouille jaune très précocement en France, ce qui a conduit à l'application de traitements fongicides avant le stade épi 1cm dans les parcelles des agriculteurs et la nuisibilité a été très importante. Nombres d'acteurs affirment alors que « 2014 est sans conteste l'année épidémique la plus importante en surface et en intensité de ces quinze dernières années »⁽³⁾. La pression de la rouille jaune au printemps 2015 peut être jugée moyenne, intermédiaire entre celle de 2013 et de 2014.

En se basant sur le modèle de Zadoks (1971), revu par Rapilly (1976), et les données de températures journalières fournies par MétéoFrance, le nombre théorique de générations mensuelles du pathogène a été calculé afin de rendre compte de ce constat terrain sur une cinquantaine de lieux (Figure 2), situés dans des régions traditionnelles de la rouille jaune où les essais des coopératives et des obtenteurs ont été implantés.

(3) Source : Arvalis, Lettre Yvoir du 14 août 2014, à propos de la rouille jaune en 2014.

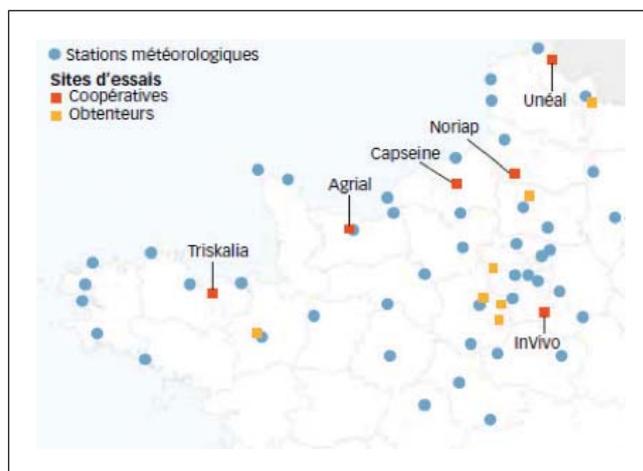


Figure 2 : Localisation des essais 2013, 2014 et 2015 mis en place par les coopératives et les obtenteurs. La carte situe également les stations météorologiques relatives au calcul du nombre de générations mensuelles théoriques de *Puccinia striiformis* f.sp. *tritici*.

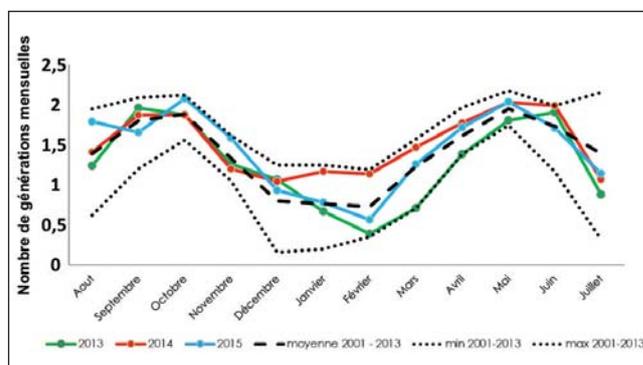


Figure 3 : Nombre de générations mensuelles théoriques pour les campagnes culturales 2012/2013, 2013/2014 et 2014/2015 en région nord-ouest de la France.

Le calcul du nombre de générations théoriques mensuels de *Pst* pour la période de référence des 13 années déroulées avant l'étude (août 2000 à juillet 2013, couvrant ainsi des années ayant des pressions de maladie différentes) permet de définir pour chaque mois de cette période le nombre de générations mensuelles théoriques moyen. De plus, à chaque mois sont associées une valeur maximale et une valeur minimale de générations mensuelles ayant eu lieu pour le mois considéré sur l'ensemble de la période août 2000 - juillet 2013. Le nombre de générations mensuelles est représenté pour les campagnes 2013, 2014 et 2015 (Figure 3) et comparé aux valeurs de référence de la période 2000-2013.

En 2013, les conditions hivernales sur les stations considérées ont été particulièrement fraîches, avec en moyenne 1,6°C de moins que la normale pour les trois premiers mois de l'année, ce qui a limité l'inoculum. De plus, le printemps a été l'un des plus défavorables à la rouille jaune depuis 2001. Le nombre moyen de générations par mois est en effet régulièrement proche du minimum de générations mensuelles observées entre 2001 et 2013. Avec moins de quatre générations théoriques cumulées entre mars et mai, la multiplication du pathogène au printemps 2013 a ainsi été pénalisée d'une génération par rapport à la normale sur cette période. C'est cette combinaison du faible inoculum associé à un développement très limité pour l'ensemble de la période mars - mai 2013 qui explique la faible épidémie observée.

En revanche, les conditions automnales normales de 2013, puis l'hiver et le printemps 2014 (de janvier à fin mai), marqués par un nombre de générations mensuelles théoriques toujours proches de la valeur maximale, expliquent l'importance de l'épidémie en 2014. Le caractère exceptionnel de l'année 2014, par ses températures moyennes hivernales et printanières, a en effet permis la multiplication élevée du champignon sans discontinuité. Entre décembre et mai, le nombre de générations théoriques est ainsi estimé à 8,6 générations en 2014 contre 6,1 générations en 2013 et 7,1 générations en moyenne.

Pour la campagne 2015, le nombre de générations mensuelles théoriques à l'automne a été supérieur à la normale (0,35 génération théorique supplémentaire par rapport à la moyenne

entre septembre et novembre), proche du maximum observé depuis la campagne 2001. Une bonne gestion des repousses des céréales a toutefois pu limiter la multiplication de l'inoculum primaire. De plus, les conditions hivernales, normales et apparaissant comme déterminantes dans le développement de la rouille jaune, étaient moins propices que pour la campagne 2014. Avec 0,55 génération théorique, le mois de février 2015 a été nettement plus défavorable qu'en moyenne, moins propice que le mois de février 2014 (1,14 génération théorique). Malgré un retour à des températures plus clémentes, le manque d'humidité au printemps (vent séchant provenant du Nord-Est) corrélé à un mois de février pénalisant a limité le développement de la rouille jaune en 2015.

Fréquence, Sévérité, Intensité, étages foliaires : quelles variables étudier ?

Les résultats des trois années des essais menés chez les coopératives françaises (Figure 4) montrent de bonnes corrélations entre l'intensité de maladie sur la F1 ligulée et la F2 ligulée des variétés testées ainsi qu'entre l'intensité globale et celle des étages considérés. Ainsi, seule une note globale a été retenue. De plus, la très bonne corrélation entre intensité globale et sévérité nous a amené à considérer uniquement la variable « intensité de maladie » (Figure 5).

Il apparaît en revanche que l'incidence n'est pas corrélée à la sévérité ou à l'intensité. Les notations d'intensité sur les étages foliaires inférieurs (F3, F4) ne sont pas non plus corrélées aux notations sur les étages foliaires supérieurs (F1, F2).

Analyse pluriannuelle du comportement des génotypes révélateurs et variétés récentes en contamination naturelle (site des coopératives).

Un des objectifs de l'étude est de déterminer la stabilité des résistances génétiques vis-à-vis de la rouille jaune dans le temps sur le territoire français. Pour cela, nous avons déterminé si un changement de comportement des génotypes révélateurs entre les années pouvait suggérer l'apparition d'une nouvelle souche. Onze génotypes révélateurs sur quatre sites ont été étudiés : Agrial (14), Capseine (76), Triskalia (22) et Noriap (80).

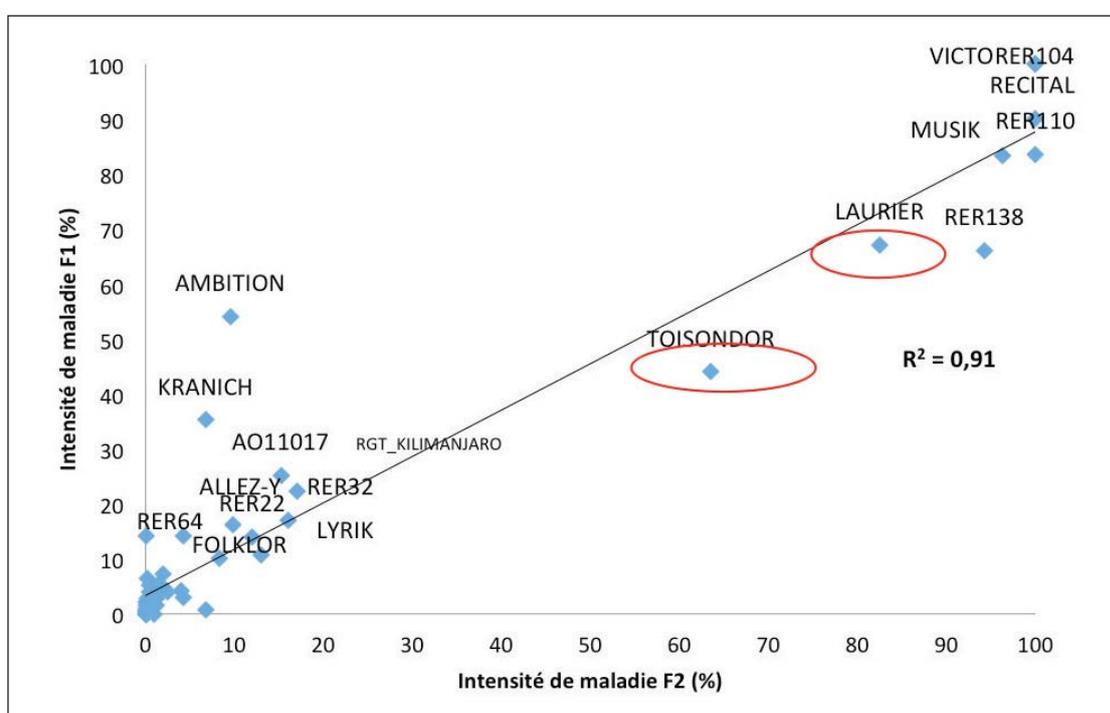


Figure 4 : Relation entre intensité de maladie de la Feuille 1 (F1) et intensité de la Feuille 2 (F2) sur le site de la coopérative de Capseine (76) en contamination naturelle en 2015.

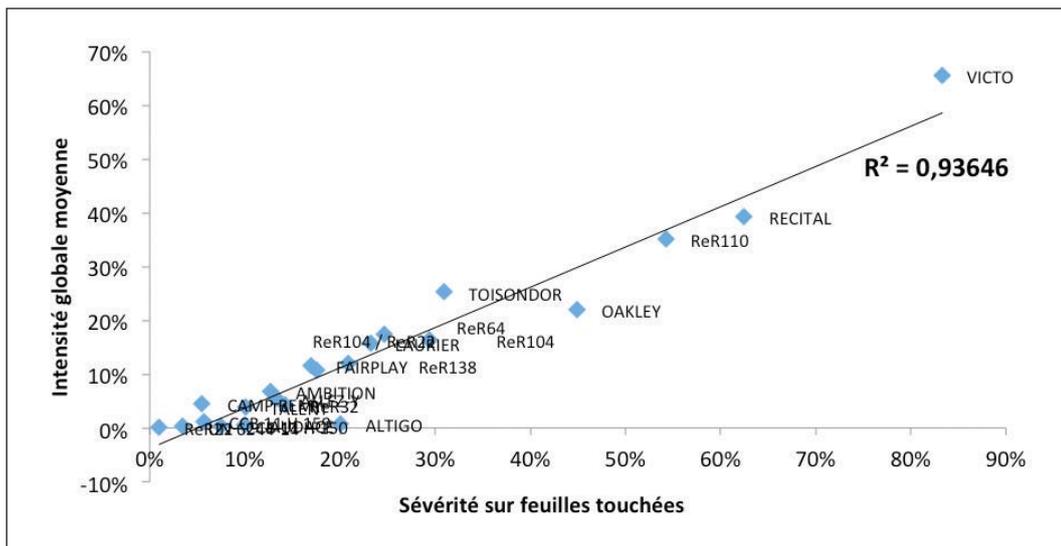


Figure 5 : Relation entre l'intensité globale de maladie et la sévérité des feuilles malades pour les variétés testées dans les essais menés par les des coopératives en France en 2013.

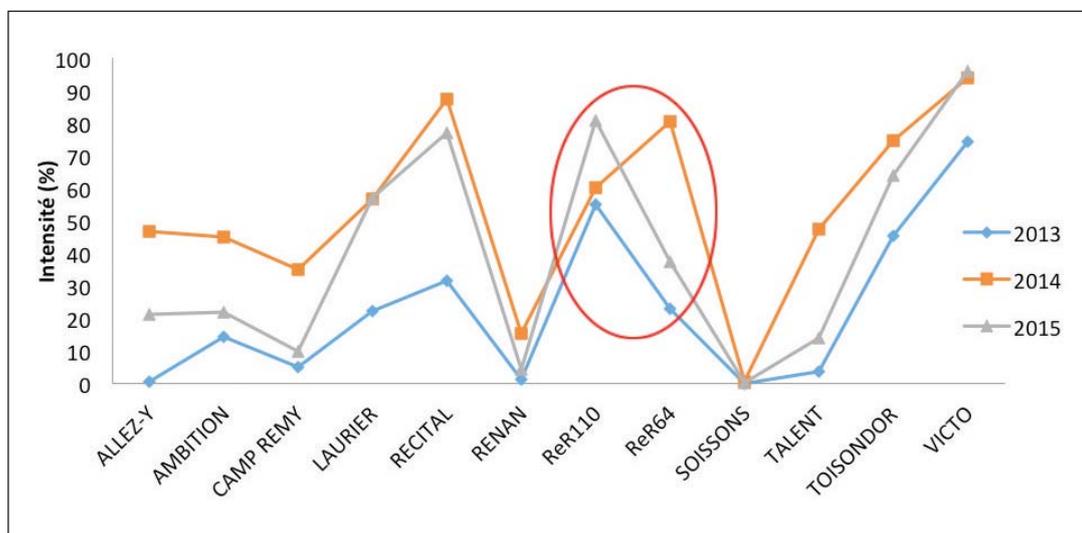


Figure 6 : Evolution de l'intensité de rouille jaune entre 2013 et 2015 pour les génotypes révélateurs en contamination naturelle sur 4 sites de coopératives en France.

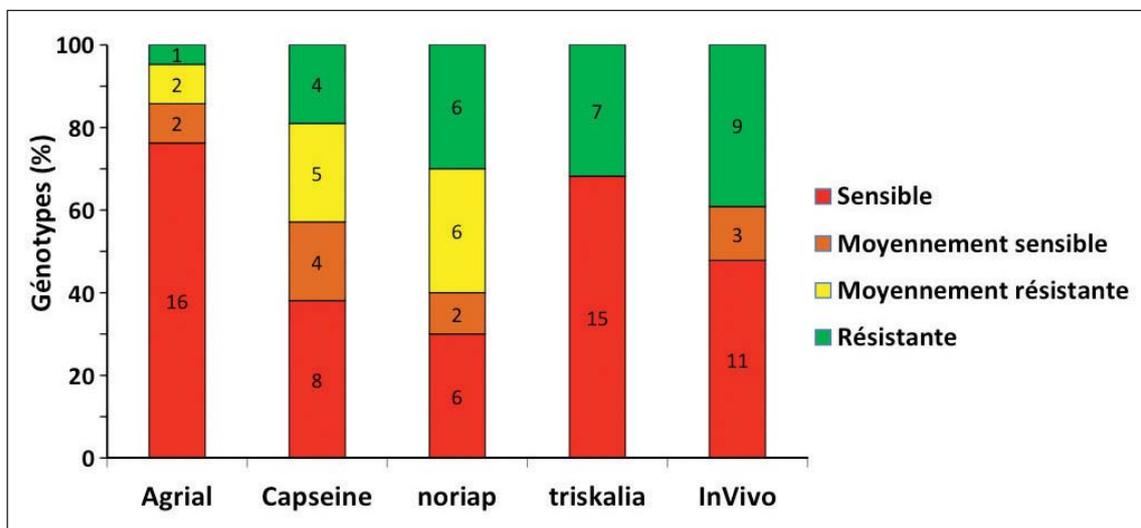


Figure 7 : Interaction génotype x site pour les génotypes révélateurs en contamination naturelle (sites de coopératives françaises) en 2014.

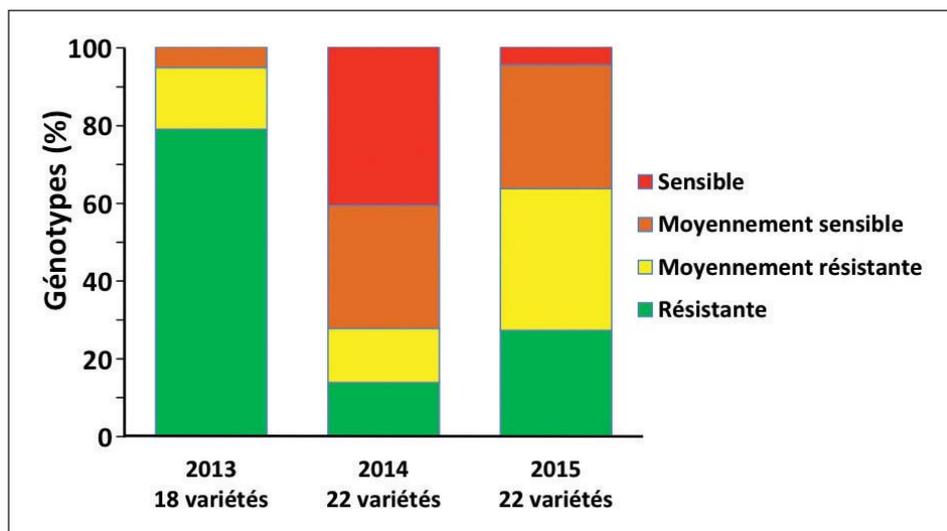


Figure 8 : Analyse pluriannuelle du comportement des variétés récentes en contamination naturelle sur les sites des coopératives françaises (moyenne de 4 sites ; une variété ayant une intensité de maladie > 40% sur un seul site est considérée sensible).

L'étude pluriannuelle du comportement des génotypes révélateurs sur l'ensemble des sites en infection naturelle confirme les différences de pression de rouille jaune observées entre les années avec la hiérarchie suivante : pression 2013 < pression 2015 < pression 2014. Pour un grand nombre de génotypes révélateurs, cette hiérarchie est respectée, ce qui conduit à une stabilité du niveau de résistance pour ces variétés (Figure 6). Cependant en 2013 et 2015, les symptômes étaient plus importants sur ReR110 que sur ReR64. En 2014, l'inverse est observé. Cette observation peut être mise en relation avec l'arrivée de la race Warrior- (de Vallavielle-Pope *et al.*, 2015) et suggère le contournement différentiel de QTL présents dans ReR104 et ReR64 par les différentes races Warrior. Il importe toutefois de mentionner des différences de comportement de certains génotypes selon les sites ; l'importance de l'interaction variété x site est illustrée sur la Figure 7. Par exemple, en 2014, Camp Rémy et Kranich ne présentent peu ou pas de symptômes pour les sites de Capseine (76), InVivo (91) ou Noriap (80) alors que l'intensité globale de maladie de ces variétés était supérieure à 50 % sur les sites d'Agrial (14) et de Triskalia (22). Les trois sites avec l'intensité de maladie la plus faible correspondent à ceux où la race Warrior- dominait (Tableau 5). Les sites d'Agrial (14) et de Triskalia (22) en 2014 apparaissent avoir un nombre de génotypes révélateurs contournés plus important. De plus, les interactions variétés x sites, moins fortes en 2013 et 2015 qu'en 2014, suggèrent une uniformité des souches présentes sur les sites étudiés ces deux années, en accord avec la détermination des races présentes au niveau national (Figure 1).

Concernant l'évaluation des variétés inscrites récemment, et malgré un bon comportement général, de nombreuses variétés ont présenté des symptômes sur au moins un des sites en 2014 et en 2015. En 2013, la faible pression de maladie a mis en évidence que 80 % des variétés récemment inscrites testées ne présentaient pas de symptômes sur aucun des sites (Figure 8). En 2014, plus de 70 % des variétés présentaient sur au moins un des sites une intensité de maladie supérieure à 15 %. Cette information est toutefois à relativiser puisque cette même année, dans près de deux situations variétés x sites sur trois étudiées, le niveau d'intensité de maladie globale des variétés testées était inférieure à 15 % (dont 53 % inférieure à 3 %) (Figure 9). En 2015, suite à une pression de rouille jaune un peu moins importante, le nombre de variétés considérées sensibles a diminué.

L'évaluation des variétés CTPS 2 met en évidence qu'au moins 60 % des variétés testées présentent moins de 15 % de surface malade sur l'ensemble des sites, quelle que soit l'année. En 2013, la faible pression de maladie a mis en évidence que plus de 80 % des variétés CTPS2 présentaient moins de 15 %

de surface malade sur l'ensemble des sites évalués (Figure 10). Malgré une pression plus importante en 2015, le ratio de variétés jugées résistantes ou moyennement résistantes était également supérieur à 80 %. En revanche, en 2014, près d'une variété CTPS2 sur 3 présentaient sur au moins un des sites une intensité de rouille jaune supérieure à 15 %. Là encore, cette information est à relativiser au regard du nombre important de situation génotype x site où les génotypes ne présentaient pas de symptômes maladifs.

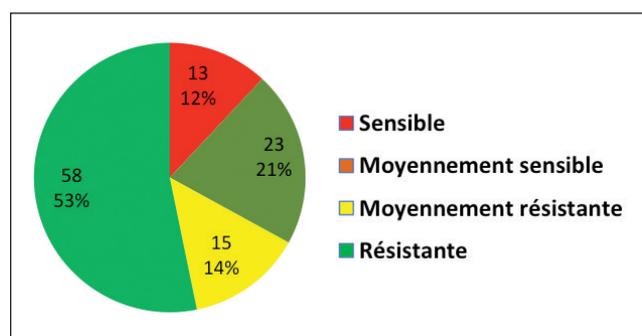


Figure 9 : Répartition des effectifs des inscriptions récentes françaises en contamination naturelle (4 sites de coopératives françaises) en 2014. Chaque variété sur chaque site est considérée comme un individu.

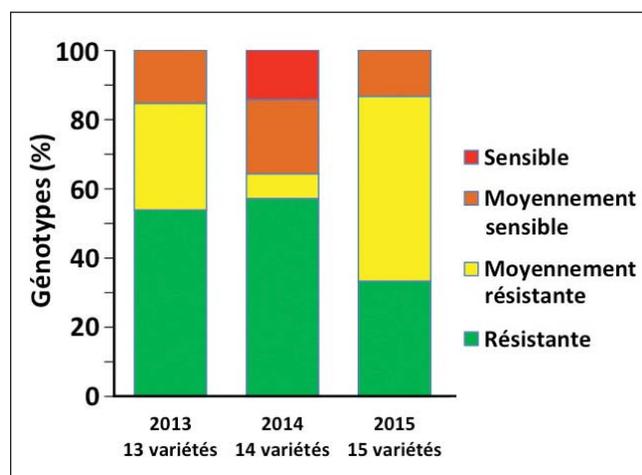


Figure 10 : Analyse pluriannuelle du comportement des variétés en CTPS2 en contamination naturelle sur les sites des coopératives françaises. Les variétés CTPS 2 considérées ne sont pas identiques lors des différentes années du projet.

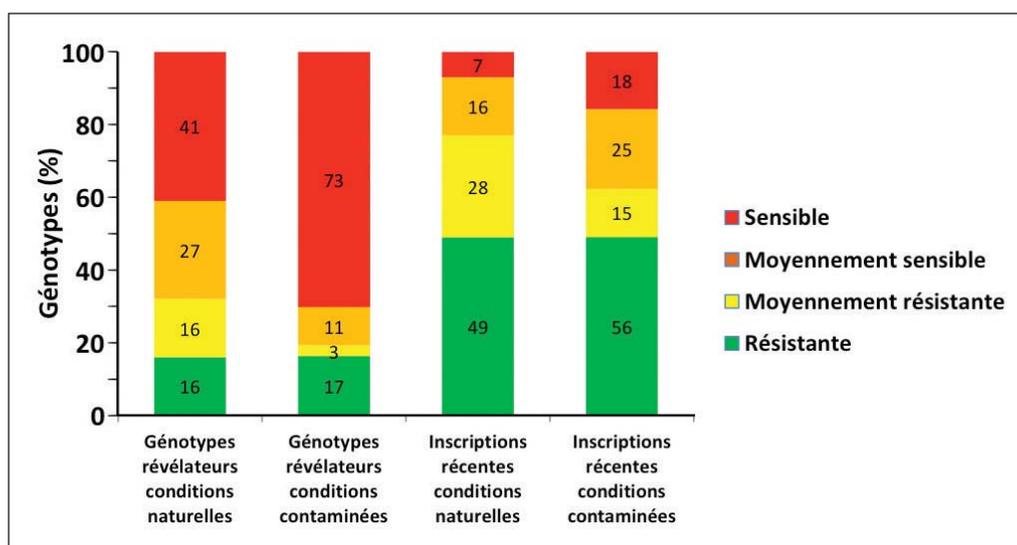


Figure 11 : Comparaison de la répartition des classes de résistance pour les génotypes révélateurs et les variétés récentes selon les dispositifs en 2015.

Les génotypes révélateurs en contamination artificielle en France (sites des obtenteurs)

La race Warrior1 inoculée porte les virulences : Vr1, 2, 3, 4, 6, 7, 9, 17, 25, 32, (Sp). L'étude des symptômes sur les génotypes révélateurs permet ainsi de mettre en évidence le contournement des résistances correspondantes. D'autres sources de résistance adulte (QTL) sont également présentes dans des variétés comme Apache, Renan, Camp Rémy, Soissons. Des contournements éventuels de ces sources peuvent aussi être testés. Par exemple, la présence de symptômes importants sur Audace (Yr17) pour l'ensemble des sites confirme que la souche infestant les essais porte la virulence 17.

De manière générale, l'ensemble des sites présentent des réponses très proches, les coefficients de corrélation des intensités des génotypes révélateurs entre les différents sites sont d'ailleurs très élevés. Cependant, des différences de réponse peuvent parfois interpeller sur la présence de contaminations naturelles également, confirmée par les analyses de souches (Tableau 4). Ce fut par exemple le cas en 2015 pour le génotype révélateur Kranich. Sur les sites de Florimond Desprez et Unisigma, Kranich ne présentait pas de symptômes à la différence des autres sites, suggérant la possible présence de la race Kranich. Rappelons qu'en conditions de contaminations naturelles, quelques symptômes étaient également observés en 2015 sur Kranich (maximum 35 % d'intensité sur le site de Capseine-76). Cette divergence de comportement fut d'autant plus marquée en 2014 que la pression naturelle était importante et précoce, instaurant probablement une réelle compétition entre les contaminations naturelles et artificielles.

Les variétés récentes en contamination artificielle en France (sites des obtenteurs)

De manière globale, l'intensité des symptômes observés sur les inscriptions récentes en contamination artificielle est plus importante que celle observée en contamination naturelle, du fait de la pression de maladie importante. Cette méthode permet ainsi de tester la résistance des variétés dans des conditions très favorables au pathogène, ce qui est rarement le cas en situation de contamination naturelle. Les observations montrent ainsi un nombre de situations (variétés x sites) avec plus de symptômes qu'en conditions naturelles. Cependant, la proportion de variétés résistantes reste similaire avec les deux dispositifs, la hiérarchie du comportement des différentes variétés restant stable (Figure 11).

Concernant les variétés en CTPS 1 et en CTPS 2, rares sont celles

n'ayant été contournées sur aucun des sites. Cependant, chaque année, plusieurs variétés conservent un très bon comportement sur l'ensemble des sites (tout type de contamination confondu). Cette information confirme l'importance du travail mené par les sélectionneurs et l'intérêt du levier variétal pour les agriculteurs dans la gestion de la rouille jaune.

Contaminations naturelles et artificielles en Angleterre

Les essais ont été implantés dans des zones favorables au développement de la rouille jaune, notamment pour les sites de Lincolnshire et Cambridge à l'est du Royaume-Uni. Durant les trois années, la pression de rouille jaune fut élevée avec, en général, 100 % d'attaque (au minimum 60 %) en fin de saison sur Victo, le témoin sensible.

De nouvelles variétés telles qu'Arezzo, Granamax, Lavoisier, RGT_Venezio ou de plus anciennes comme Soissons ont montré des niveaux de résistance très intéressants quel que soit le site ou l'année. La plupart des variétés ont montré un niveau d'attaque similaire entre les différentes années. Cependant, comme ce fut le cas en France, des différences de comportement ont été remarquées pour certaines variétés entre les années. Par exemple, la variété Ambition était plus touchée en 2014, les variétés Apache, Audace et Auckland étaient moins atteintes en 2015) et les variétés Fluor, Folklor, Laurier et Toisondor étaient plus attaquées en 2015) (Figure 12).

L'analyse des souches en 2015 confirme que la majorité des isolats en 2015 étaient du type Warrior-, comme en France, mais qu'ils incluaient également des nouveaux pathotypes (trouvés en Ecosse ou N. Yorks). Cette analyse peut expliquer les changements de comportements observés au cours des années du projet.

Analyse de QTL de résistance adulte issus de la population Soissons x Nogent

Des régions chromosomiques impliquées dans les phénomènes de résistance à la rouille jaune ont été détectées sur cinq loci pour les 6 variables étudiées (Tableau 6, Figure 13).

Deux QTLs (QTL 2Aa et 2Ab) ont été détectés sur le chromosome 2A, par CIM pour la race Ornicar. Ces QTL apportés par Soissons expliquent entre 7 % et 12 % de la variation phénotypique selon la variable prise en compte. Par ANOVA, ces deux QTLs se sont également révélés significatifs pour la race Warrior1. Vingt lignées recombinantes existent entre ces deux QTLs, il est possible qu'il ne s'agisse en réalité que d'un seul QTL.

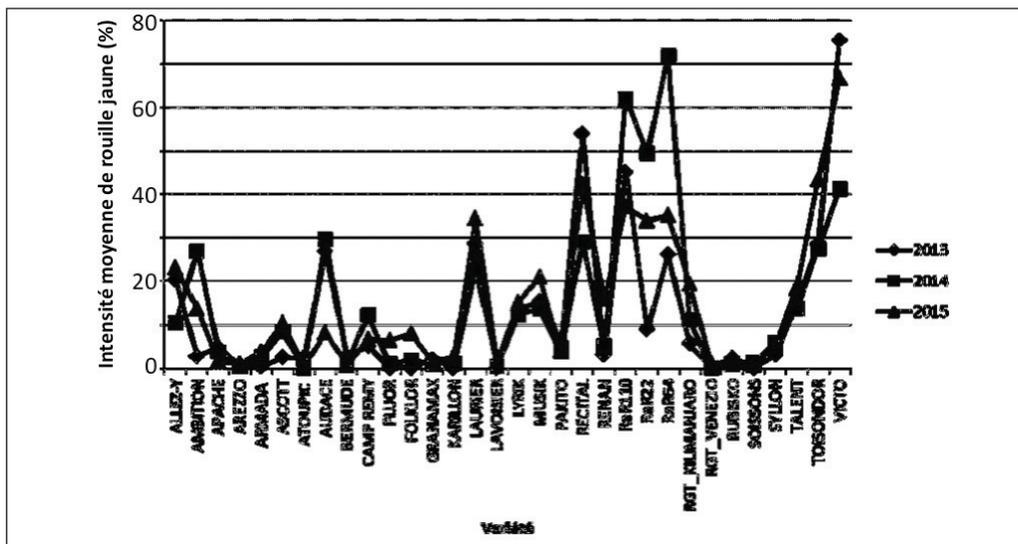


Figure 12 : Evolution de l'intensité de rouille jaune entre 2013 et 2015 pour l'ensemble des sites en Angleterre.

Trait	QTL	Chromosome	LOD max	IC (décroissance du LOD de 1)	IC (LOD de 3)	R ² (%)	a	Allèle de résistance
Ornicar Rep 1	2Aa	2A	4	0,2-7,4	0,2-8	9	7,78	Soissons
Ornicar Mean			3,4	-	2,7-7,2	7	6,76	
Ornicar Rep 1	2Ab	2A	6,2	16,9-20,2	12,9-23,6	10	8,29	Soissons
Ornicar Rep 2			6,4	17,3-21,1	13,8-23,6	10	8,67	
Ornicar Mean			7,6	17,4-20,5	12,5-23,6	12	8,67	
Warrior1 Rep 1	2B	2B	5,6	84,8-105,8	76,4-113,4	29	17,79	Soissons
Warrior1 Rep 2			6,9	84,2-103,4	71,3-112,4	33	19,62	
Warrior1 Mean			6,1	82-103,9	73,3-112	27	16,66	
Ornicar Rep 1	6D	6D	4,7	74,1-102	71,9-105,7	19	11,3	Soissons
Ornicar Rep 2			4,6	75,4-104,6	72,9-107,6	22	12,38	
Ornicar Mean			5	81,4-104	73,4-108	29	13,7	
Ornicar Rep 2	7B	7B	3,1	-	68,7-70,7	5	6	Soissons
Warrior1 Rep 2	7B	7B	3,1	-	79,9-80,6	5	7,99	Nogent

Tableau 6 : QTL détectés pour les 6 variables étudiées (Pourcentage de maladie en fonction des races inoculées, Ornicar et Warrior1, et des répétitions à Versailles en 2014-2015).

Un QTL détecté par CIM sur le chromosome 2B s'exprime pour les 2 souches testées quelle que soit la variable utilisée. Ce QTL apporté par Soissons explique entre 19 % et 29 % de la variation phénotypique. C'est donc un QTL à effet relativement important.

Un QTL a été détecté par CIM sur le chromosome 6D pour la race Ornicar uniquement sur la seconde répétition. Ce QTL est également apporté par Soissons et explique 5 % de la variation phénotypique au cours de cette répétition. Par ANOVA, l'effet de ce QTL a également été validé pour les 5 autres variables mesurées. Il s'exprime donc bien sur les 2 races testées.

Enfin, un dernier QTL identifié par CIM sur le chromosome 7B pour la race Warrior1 sur la seconde répétition est apporté par Nogent et explique 5 % de la variation phénotypique au cours de cette répétition. Par ANOVA, l'effet de ce QTL n'a été validé que pour la race Warrior1 pour les 2 autres variables mesurées bien qu'il apporte également une légère augmentation de résistance vis-à-vis de la race Ornicar.

On observe un taux de corrélation de 0,7 entre les 2 souches, en cohérence avec l'identification de QTLs efficaces vis-à-vis des deux races.

4. Conclusion

L'évolution de l'intensité de maladie sur les variétés de blé entre les trois années du projet semble, au-delà de la différence de pression de maladie, indiquer une évolution des souches présentes. En 2014, une dichotomie semblait apparaître entre l'ouest français (bordure maritime) et la région plus continentale du territoire étudié. En 2015, le comportement au champ, conforté par les analyses de souches, semblent indiquer une homogénéisation à l'échelle Nord-Ouest de la France (domination de la race Warrior- alors que Warrior1 dominait en 2013). Nous pouvons toutefois noter que le climat 2014 a été particulièrement propice au développement de la rouille jaune. La race Warrior- a-t-elle été favorisée en 2014 ?

L'analyse du niveau de résistance des variétés et lignées chez les obtenteurs et chez les coopératives entre 2013 et 2015 montre la grande importance de l'interaction variété x site. Cette interaction confirme l'importance d'une évaluation et d'un suivi du comportement de variétés et lignées sur différents sites expérimentaux répartis sur le territoire. Ainsi, en première approche, le comportement des différents génotypes

révélateurs permet la déduction des virulences présentes sur le site considéré et ainsi de mettre en évidence des différences de races de rouille jaune entre les sites, comme ce fut le cas en 2014. Les isolats de *Pst* isolés dans les essais menés par les coopératives partenaires du projet montrent qu'en 2014 la race Warrior- dominait sur les sites de CapSeine (76) et InVivo (91) et que Warrior1 était significativement présente sur les sites de Triskalia (35) et dans une moindre mesure d'Agrial (14).

Ce dispositif d'évaluation du niveau de résistance permet également de mettre en évidence des comportements différents entre les sites des variétés nouvelles vis-à-vis de plusieurs races de rouille jaune. Cependant, cette déduction ne permet pas de remplacer l'analyse de souches. Une analyse de souches intervient alors en complément pour distinguer les différents pathotypes à l'aide d'une gamme d'hôtes différentiels et de marqueurs microsatellites. Depuis l'incursion de la race Warrior1 en Europe en 2011, la population de rouille jaune a changé tant en France qu'en Angleterre. L'ancienne population européenne a presque entièrement été remplacée par plusieurs races du groupe Warrior et d'autres races. Les résultats de 2014 et 2015 en France, montrent qu'il n'y a pas eu de sélection de nouvelles virulences, mais une évolution avec la race Warrior- qui domine dès lors. A partir d'un échantillon d'isolats de *Pst* isolés en Angleterre et testés sur un plus grand nombre d'hôtes différentiels au stade plantule et adulte en Angleterre, un isolat de 2014 (14/106) s'est montré virulent sur un plus grand

nombre de variétés et appartient à la race Kranich, race d'origine exotique trouvée en Scandinavie depuis 2011.

Le projet a également permis d'affiner la méthodologie d'évaluation du niveau de résistance de variétés nouvelles vis-à-vis de plusieurs races de rouille jaune à la fois au niveau plantule et au niveau adulte. La compréhension des symptômes de rouille jaune sur épis a été initiée lors de ce projet. Des symptômes sur épis ont été constatés sur un nombre important de variétés malgré des niveaux de résistance sur feuilles variables. Le moment d'exposition de l'épi à des contaminations par des spores de *Pst* est un des facteurs évoqués. Afin de tester cette hypothèse, nous avons recherché s'il existait une la corrélation entre la date d'épiaison et l'intensité de symptômes observés sur deux sites (Florimond Desprez et Unisigma) (Figure 14). Les coefficients de corrélation de Spearman montrent une relation entre la précocité à l'épiaison et les symptômes de rouille jaune sur épis (pour le site de Florimond Desprez, coefficient de corrélation -0,37 (P -value = 0,0004 ; 86 génotypes) et pour le site d'Unisigma, -0,50 (P -value < 0,0001 ; 89 génotypes). Des analyses complémentaires devront être réalisées afin de comprendre s'il s'agit d'une observation liée à la dynamique de l'année. D'autres mécanismes non identifiés peuvent entrer en jeu (résistance génétique spécifique de l'épi, durée d'exposition du grain, etc.). En effet, la date d'épiaison n'explique pas à elle seule les symptômes observés sur épi. Cependant, la connaissance des gènes responsables de la résistance des variétés à la rouille jaune sur les épis reste partielle.

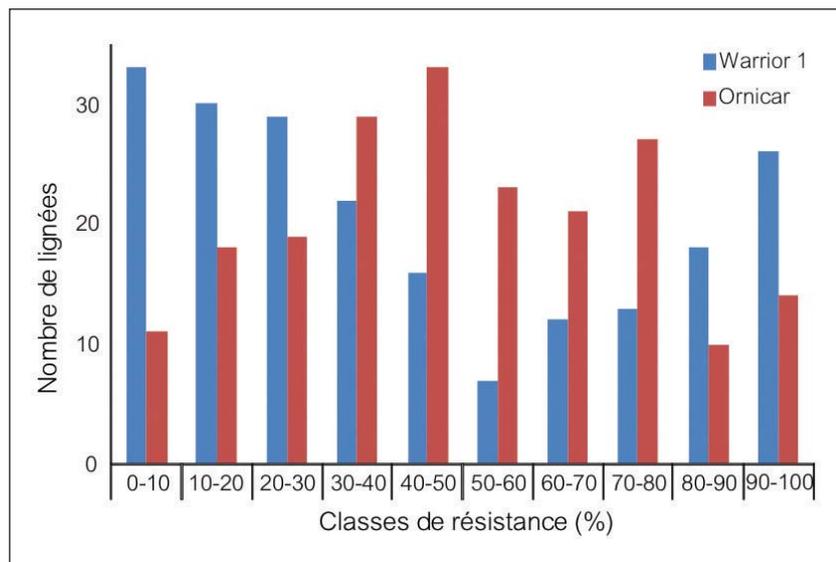


Figure 13 : Distribution des classes de résistance exprimées en pourcentage de surface sporulante au stade fin épiaison sur les lignées issues de la population Soissons x Nogent testées avec deux races de *Puccinia striiformis* (Warrior1 et Ornicar) à l'INRA de Versailles en 2013.

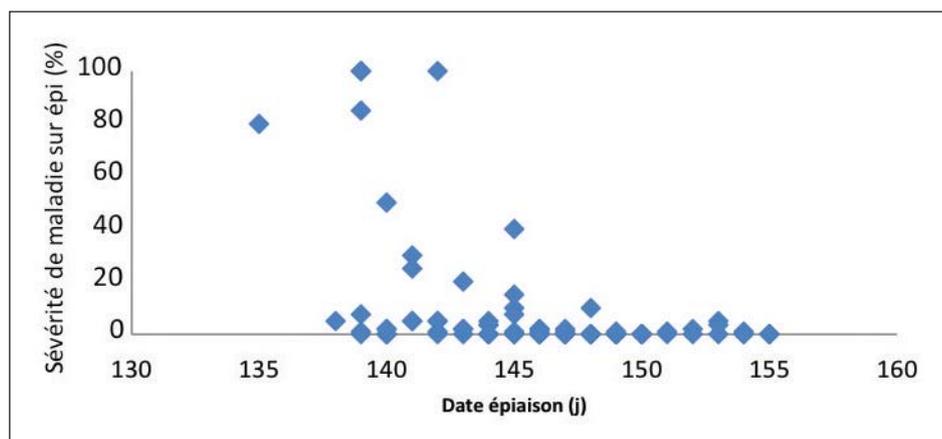


Figure 14 : Relation entre les symptômes observés sur épis et la date d'épiaison sur le site d'obteneur d'Unisigma en 2015.

L'analyse de QTL réalisé sur la population Nogent x Soissons a permis de mettre en évidence cinq QTLs de résistance adulte à la rouille jaune. Quatre sont efficaces pour les deux souches Ornicar et Warrior1 (QTL 2Aa, 2Ab, 2B, 6D) et un est spécifique de la souche Warrior1 (QTL 7B).

5. Remerciements

Ce travail a été réalisé avec l'aide financière du fonds FSOV versé par le GNIS (2012-2015). Les données de températures journalières ont été fournies par MétéoFrance pour le calcul des générations du pathogène.

Références bibliographiques

- Chen X.M.** (2005) Epidemiology and control of stripe rust [*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*] on wheat. *Canadian Journal of Plant Pathology* 27, 314-337.
- 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.
- Decoin M., de Vallavieille-Pope C., Leconte M., Olivier A.** (2014) Rouille jaune du blé l'ex-marginale maritime prend sa revanche. Depuis 2012, la rouille jaune est redevenue une maladie majeure du blé en France. *État des lieux en mai 2014*. *Phytoma* 674, 42-43.
- du Cheyron P., Maufra J.Y., Audigeos D., de Vallavieille-Pope C., Leconte M.** (2014) Rouille jaune : une race s'attaque aux céréales. *Perspectives Agricoles* 410 -Avril 2014, 16-18.
- Couleaud G., du Cheyron P., de Vallavieille-Pope C., Leconte M., Olivier A.** (2014) Maladies des céréales, Rouille jaune : des résistances adultes pas encore en place. *Yvoir* 14 avril, 2014, 4 P
- Hovmøller M.S., Justesen A.F., Brown J.K.M.** (2002) Clonality and long-distance migration of *Puccinia striiformis* f.sp. *tritici* in north-west Europe. *Plant Pathology* 51, 24-32.
- Hovmøller M.S., Yahyaoui A.H., Milus E.A., Justesen A.F.** (2008) Rapid global spread of two aggressive strains of a wheat rust fungus. *Molecular Ecology* 17, 3818-3826.
- Hovmøller M.S., Walter S., Justesen A.F.** (2010) Escalating threat of wheat rusts. *Science* 329, 369.
- Hovmøller M.S., Sørensen C.K., Walter S., Justesen A.F.** (2011) Diversity of *Puccinia striiformis* on cereals and grasses. *Annual Review of Phytopathology* 49, 197-217.
- Hovmøller M.S., Walter S., Bayles R., Hubbard A., Flath K., Sommerfeldt N., Leconte M., Czembor P., Rodriguez-Algaba J., Thach T., Hansen J.G., Lassen P., Justesen A.F., Ali S., de Vallavieille-Pope C.** (2015) Replacement of the European wheat yellow rust population by new races from centre of diversity in the near-Himalayan region. *Plant Pathology* 65, 402-411.
- Hubbard A., Lewis C., Yoshida K., Ramirez-Gonzalez R.H., de Vallavieille-Pope C., Thomas J., Kamoun S., Bayles R., Uauy C., Saunders D.G.O.** (2015) Field pathogenomics reveals the emergence of a diverse wheat yellow rust population. *Genome Biology* 16, 23. DOI 10.1186/s13059-015-0590-8.
- Johnson R.** (1992) Past, present and future opportunities in breeding for disease resistance, with examples from wheat. *Euphytica* 63, 3-22.
- Lefèvre S., Leconte M., de Vallavieille-Pope C.** (2015) Rouille jaune du blé en France trois facteurs interagissent. *Phytoma* 683, 11-14.
- Line R.F.** (2002) Stripe rust of wheat and barley in North America: a retrospective historical review. *Annual Review of Phytopathology* 40, 75-118.
- Lorieux M.** (2012) MapDisto: fast and efficient computation of genetic linkage maps. *Molecular Breeding* 30:1231-1235 (DOI 10.1007/s11032-012-9706-y)
- Mallard S., Gaudet D., Aldeia A., Abelard C., Besnard A.L., Sourdil P., Dedryver F.** (2005) Genetic analysis of durable resistance to yellow rust in bread wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 110, 1401-1409.
- Milus E.A., Kristensen K., Hovmøller M.S.** (2009) Evidence for increased aggressiveness in a recent widespread strain of *Puccinia striiformis* f.sp. *tritici* causing stripe rust of wheat. *Phytopathology* 99, 89-94.
- Paillard S., Trotoux-Verplancke G., Perretant 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.
- de Vallavieille-Pope C., Leconte M., du Cheyron P., Olivier A.** (2014) Rouille jaune des céréales, la race Warrior domine toujours en 2013. *Yvoir* 30 avril 2014, 3 P
- 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.
- de Vallavieille-Pope C., Lefèvre S., Leconte M.** (2015) Évolution de la rouille jaune sur blé en France en 2014-2015. *Phytoma* 689, 9-10.
- Walter S., Ali S., Kemen E., Nazari K., Bahri B.A., Enjalbert J., Hansen J.G., Brown J.K.M., Sicheritz-Pontén T., Jones J., de Vallavieille-Pope C., Hovmøller M.S., Justesen A.F.** (2016) Molecular markers for tracking the origin and worldwide distribution of invasive strains of *Puccinia striiformis*. *Ecology and Evolution* 6, 2790-2804.
- Wang S., Basten C. J., Zeng Z.-B.** (2012). *Windows QTL Cartographer 2.5*. Department of Statistics, North Carolina State University, Raleigh, NC. (<http://statgen.ncsu.edu/qtlcart/WQTLCart.htm>)
- Zadoks J.C., Chang T.T., Konzak C.F.** (1974) A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Research* 14, 415-421.

Valorisation de nouveaux gènes de résistance et de qualité issus d'*Aegilops tauschii*

Laure DUCHALAIS^{1*}, Sébastien CAIVEAU², Denis BEGHIN³, Bernard DUPERRIER⁴, Jérôme AUZANNEAU⁵, Clément DEBITON⁶, Annaïg BOUGUENNEC⁷, Joseph JAHIER⁸, Bernard ROLLAND⁸

- 1 - RAGT 2n, Route d'Epincy, 28 150 Louville-la-Chenard (Représentant GIE RGC)
- 2 - Syngenta France S.A.S., 2 avenue Gustave Eiffel, CS 40346, 28 008 Chartres Cedex (Représentant GIE RGC)
- 3 - Florimond Desprez, BP 41, 59 242 Cappelle-en-Pévèle (Représentant GIE RGC)
- 4 - Limagrain Europe, Station de Mons, 63 203 Riom (Représentant GIE RGC)
- 5 - Agri Obtentions, Ferme de Gauvilliers, 78 660 Orsonville (Représentant GIE RGC)
- 6 - UNISIGMA, 2 rue Petit-Sorri, 60 480 Froissy
- 7 - UMR 1095 GDEC, INRA, UCA, F-63 000, Clermont-Ferrand, France
- 8 - UMR IGEPP, INRA, BP 35327, 35653 Le Rheu

* **Coordinatrice scientifique:** Laure DUCHALAIS, lduchalais@ragt.fr

1. Introduction

La sélection de variétés de blé présentant un niveau de résistance élevé aux maladies est un impératif afin que les agriculteurs puissent appliquer une politique de diminution des intrants phytosanitaires. Pour ceci les sélectionneurs doivent disposer d'une vaste variabilité génétique pour la résistance et/ou la tolérance à diverses maladies. En cas d'insuffisance de variabilité disponible, ce qui est le cas pour plusieurs maladies, le sélectionneur dispose de peu de solutions. Un des recours possible est de transférer les gènes de résistance et QTLs présents chez les espèces apparentées. Ceci passe par la réalisation d'hybrides interspécifiques et la sélection dans leur descendance.

Le blé tendre *Triticum aestivum* est un allohexaploïde ($2n=6x=42$) avec trois génomes A, B et D provenant d'espèces diploïdes différentes [1]. Il s'est constitué à la suite de deux hybridations naturelles successives. Le croisement spontané entre *T. urartu* ($2n=14$, AA) et *Ae. speltoides* (ou une espèce proche d'*Ae. speltoides*) serait à l'origine des blés tétraploïdes dont le blé dur ($2n=28$, AABB). Il y a environ 8000 ans seulement, le blé tétraploïde *T. turgidum* ssp. *dicoccum* s'est croisé avec *Ae. tauschii* ($2n=14$, DD) : le ou les hybrides sont à l'origine des blés hexaploïdes dont le blé tendre.

Les progéniteurs du blé tendre sont a priori, parmi les triticoïdes, les candidats idéaux pour résoudre des problèmes d'insuffisance de variabilité génétique dans le blé tendre. Cependant, il apparaît qu'*Ae. tauschii* offre davantage de perspectives que les deux autres progéniteurs et ceci pour quatre raisons principales:

- sa grande variabilité
- le génome D du blé est peu polymorphe et moins que les génomes A et B
- le génome D a peu évolué dans le blé tendre
- une méthodologie de transfert a été élaborée.

Les blés synthétiques ont été exploités par des méthodes classiques de sélection. Le schéma de sélection le plus courant et qui a été utilisé par le CIMMYT est le suivant : les blés synthétiques sont croisés puis rétrocroisés par des lignées de blé tendre Elites. Les lignées sélectionnées dites SBL (synthetic backcross-derived lines) montrent une nouvelle variation pour différents caractères. Elles constituent de nouveaux géniteurs pour le sélectionneur. Leur exploitation peut être optimisée si les gènes/QTLs introduits, en particulier ceux impliqués dans des caractères quantitatifs, peuvent être identifiés et localisés. Cette opération repose donc la possibilité d'une sélection assistée par marqueurs (SAM).

La mise au point d'une méthode permettant simultanément de sélectionner des lignées d'introgession ayant une bonne valeur agronomique et de détecter les QTL impliqués s'avère donc être un pré requis à une exploitation efficace de germplasm exotiques. En 1996, Tanksley et Nelson [2] s'appuyant sur des résultats d'exploitation en sélection d'hybrides entre la tomate et l'espèce apparentée sauvage *Lycopersicon pennellii* [3] ont élaboré une stratégie pour simultanément découvrir et transférer des QTL de 'germplasm inadaptés' dans du matériel de sélection élite. Cette stratégie, appelée « Advanced Backcross QTL analysis » ou (AB-QTL) présente l'intérêt, par rapport à ce qui était fait auparavant, d'exploiter beaucoup plus efficacement les gènes/QTL impliqués dans les caractères quantitatifs.

L'objectif de ce projet est double. Il consiste à la fois à rechercher des QTL de caractères de résistance et de qualité à partir de populations AB-QTL et à créer de nouveaux géniteurs d'intérêt agronomique avec de nouvelles caractéristiques dues à la variabilité du génome D (*Ae. tauschii*).

L'exploitation de la variabilité d'*Ae. tauschii* permettra, à terme, la mise au point par les sélectionneurs de nouvelles variétés de blé rustiques et de bonne qualité. L'utilisation réfléchie de ces variétés par des itinéraires techniques adaptés permettra une économie d'intrants, une meilleure régularité des rendements et une préservation de l'environnement ainsi qu'une assurance de qualité sanitaire pour les transformateurs et les consommateurs.

2. Matériels et méthodes

► Matériel végétal

Six populations AB-QTL étaient initialement disponibles au stade BC2F4 (Tableau 1). Leur effectif variait de 166 à 276 individus.

Source Synthétiques	Parent Blé	Cible résistance	Effectif
ME11Q03-36	AUBUSSON	S. tritici, R. brune	209
Synth 89 Cimmyt	ALTIGO	R. jaune, R. brune, S. tritici	210
JOY 80	SOISSONS	S. tritici, R. brune, fusa	166
JOY 87	SOISSONS	S. tritici, R. brune, R. jaune, fusa	276
26ESWYT80790	BOLOGNA	R. brune, (S. tritici)	278
Synth 89 Cimmyt	AUBUSSON	R. jaune, R. brune, S. tritici	208

Tableau 1 : Populations disponibles au démarrage du projet

► Phénotypage

Evaluation multilocale des 6 populations

Chacune des 6 populations a été évaluée sur la saison 2012-2013 pour leurs résistances à la Rouille Jaune (RJ) et à la Rouille Brune (RB) en pépinières inoculées et à la Septoriose (ST) en

contamination naturelle dans un lieu par maladie et par population (Tableau 2). Chaque génotype a été implanté en 2 lignes de pépinière, sans répétition.

En fonction de l'intensité de la pression maladie, une, deux ou trois notations variant de 1 (tolérant) à 9 (sensible) ont pu être effectuées sur chacun des lieux.

Chez certains partenaires, la précocité, la hauteur ou encore l'homogénéité des lignées ont pu être notées.

Population	Rouille Jaune	Rouille Brune	Septoriose
ME1IQ03-36/3*AUBUSSON	Unisigma Froissy (60)	Limagrain Mons (63)	INRA Rennes (35)
SYNTH89/3*ALTIGO	Florimond Desprez Cappelle en Pévèle (59)	RAGT 2n Louville la Chenard (28)	Syngenta Orgerus (78)
JOY 80/3*SOISSONS	Florimond Desprez Cappelle en Pévèle (59)	RAGT 2n Louville la Chenard (28)	Syngenta Orgerus (78)
JOY 87/3*SOISSONS	Unisigma Froissy (60)	Limagrain Mons (63)	INRA Rennes (35)
26ESWT80790/3*BOLOGNA	Unisigma Froissy (60)	Limagrain Mons (63)	Agri Obtentions Orsonville (78)
SYNTH89/3*AUBUSSON	Florimond Desprez Cappelle en Pévèle (59)	RAGT 2n Louville la Chenard (28)	Agri Obtentions Orsonville (78)

Tableau 2 : Lieux d'évaluation des différentes maladies et populations

Suite à ce phénotypage, 3 populations ont été retenues afin d'être génotypées et phénotypées plus finement.

Evaluation « maladies » des 3 populations retenues

Les 3 populations retenues ont été implantées pour la saison 2013-2014 :

- En pépinière rouille jaune inoculée chez Florimond Desprez à Cappelle en Pévèle (59) et chez Unisigma à Froissy (60) en 2 lignes par génotype
- En pépinière rouille brune inoculée chez RAGT 2n à Louville la Chenard (28) et chez Limagrain à Mons (63) en 2 lignes par génotype
- En pépinière septoriose chez Agri Obtentions à Orsonville (78) et chez l'INRA à Rennes (35).

Sur chacun des lieux, la date d'épiaison a été notée et toutes les notations maladies ont été faites globalement sur une échelle variant de 1 (tolérant) à 9 (sensible), sauf sur le lieu de Rennes où la septoriose a été scorée en notes variant de 1 (tolérant) à 9 (sensible) sur les 2 premiers étages foliaires indépendamment.

Quand au moins 2 notations maladie ont été effectuées sur un même environnement, l'AUDPC (Area Under the Disease Progress Curve) a été calculée selon la formule suivante :

où y_i et y_{i+1} correspondent aux notes maladies utilisées dans un intervalle de temps donné (t) et où t_i et t_{i+1} correspondant aux dates de réalisation des deux notes.

Evaluation de la qualité des 3 populations retenues

Chacune des 3 populations retenues a été semée en parcelles de 3m² chez Syngenta à Orgerus (78) lors de la saison 2013-2014 afin de produire suffisamment de semences pour la réalisation des tests qualité. Tous ces tests ont été réalisés à l'INRA de Clermont-Ferrand. Le PS (Poids Spécifique, en kilogrammes par hectolitres), le PMG (Poids de Mille Grains, en grammes), la teneur en protéines évaluée par NIRS (Spectroscopie dans le proche infra-rouge), en pourcentage sur mouture complète, obtenue à l'aide d'un moulin Cyclotec, et sur farine blanche, obtenue à l'aide d'un moulin Brabender junior, le test SDS (sédimentation en présence de Sodium Dodecyl Sulfate, en millilitres de dépôt), la dureté du grain (sur une échelle théorique de 1 = soft à 100 = Hard, évaluée par NIRS sur mouture complète Cyclotec) et l'humidité ont été mesurés afin de connaître les caractéristiques technologiques des grains et de la farine. Ces mesures ont permis de retenir un sous échantillon de 100 lignées représentatives par population, dont les

farines Brabender ont été testées au Mixographe afin de connaître les caractéristiques rhéologiques de la pâte, avec une hydratation adaptée selon Martinant *et al.*, 1998 [4].

Beaucoup de paramètres du mixographe étant fortement corrélés et compte tenu de la bibliographie sur ces paramètres, seuls les paramètres suivants (cf. figure 1) ont été retenus pour les analyses :

- mpt : Midline Peak Time, Temps de pétrissage nécessaire à l'apparition du pic sur la courbe moyenne
- mpv : Midline Peak Value, Valeur du pic sur la courbe moyenne
- mpw : Midline Peak Width, Epaisseur de la courbe au moment du pic
- mtvx : Midline Time x Value, Valeur de la courbe moyenne 8 minutes après le début du pétrissage
- mtxi : Midline Time x Integral, Surface sous la courbe moyenne de 0 à 8 minutes de pétrissage.

A partir de ces paramètres, on peut aussi calculer l'affaiblissement de la pâte WS (=mpv-mtxv), et en prenant en compte en plus la dureté et la teneur en protéines une prédiction du W de l'alvéographe de Chopin (W-prédit).

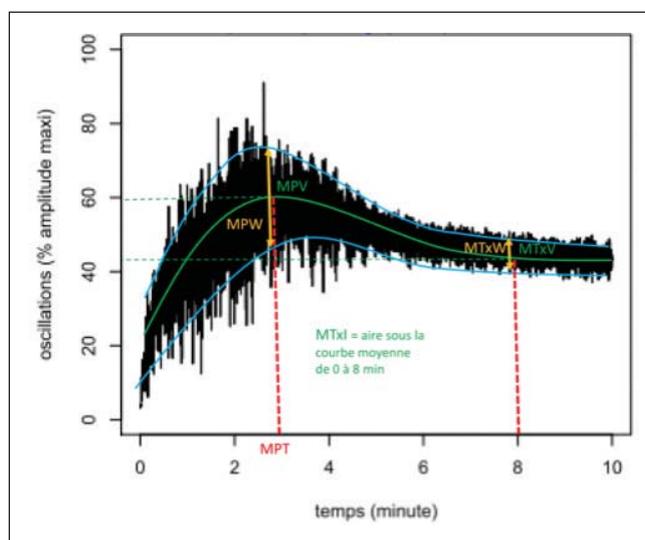


Figure 1 : Courbe de mixographe et principaux paramètres retenus

Sélection et caractérisation fine de potentiels géniteurs

Indépendamment des données de génotypage qui n'étaient pas disponibles lors de la mise en essai, trente six lignées (12 lignées par populations retenues) sélectionnées grâce aux phénotypes « maladies » et « qualité » ont été retenues pour une caractérisation plus fine. Ces génotypes ont été évalués dans deux réseaux d'essais distincts afin de vérifier l'impact des introgressions provenant d'*Aegilops tauschii* sur le rendement ainsi que sur le procédé de panification (test BIPEA).

Le premier réseau d'essai a été déployé sur 3 lieux : Orsonville (78), Joze (63) et Froissy (60) et le second sur 4 lieux : Louville-la-Chenard (28), Andelu (78), Cappelle-en-Pévèle (59) et Pacé (35).

Pour chacun des essais, 2 modalités, traitée fongicide et BNI (Bas Niveau d'Intrants) ont été appliquées en 1 et 2 répétitions respectivement. La réduction des intrants a principalement porté sur :

- la réduction de l'apport azoté
- la réduction du nombre d'application de fongicide ou l'absence totale de fongicide
- l'absence de régulateur (s'accompagnant d'une diminution de densité de semis pour éviter tout problème de verse)

Les parents récurrents et les témoins CTPS ont été inclus sur l'ensemble des sites afin de pouvoir juger le niveau de performances de nos potentiels géniteurs.

Sur chacun des sites, la date d'épiaison, la hauteur, les maladies, la verse, le rendement et le poids spécifique ont été évalués.

Cinq kilogrammes de chaque lignée par site de la modalité traité fongicide ont été envoyés au laboratoire CGAC pour évaluation de la qualité au travers de l'alvéographe de Chopin et du test de panification BIPEA. Les échantillons de Pacé n'ayant pas été prélevés, chaque lignée possède au final 3 échantillons analysés venant de trois sites différents.

Enfin, la détermination des gluténines de Haut poids moléculaire (HPM) et de Faible Poids Moléculaire (FPM) a été réalisée par l'INRA UMR GDEC selon une méthode adaptée de Singh *et al.* [5].

► Génotypage

Pour chaque lignée (parents compris) des 3 populations retenues, 5 jeunes feuilles de plantes BC2F6 ont été prélevées afin d'être envoyées à l'INRA de Clermont-Ferrand. Toutes les extractions d'ADN et le génotypage des 3 populations retenues dans ce projet ont donc été réalisés par la plateforme GENTYANE.

Pour génotyper nos 3 populations, 960 marqueurs SNP (Single Nucleotide Polymorphism), développés dans le cadre du projet Digital, ont été choisis par l'INRA de Clermont-Ferrand afin d'avoir une distribution homogène des marqueurs tout le long du génome. Les résultats de génotypage ont ensuite été analysés avec le logiciel Fluidigm SNP genotyping analysis v4.1.3.

► Analyse des données

Les données de phénotypage ont été simplement nettoyées par suppression des valeurs extrêmes aberrantes (outliers).

Les données de génotypage ont été nettoyées par délétion des marqueurs monomorphes et des marqueurs et individus présentant un taux d'hétérozygotie et/ou un taux de données manquantes supérieur à 20%.

► Cartographie génétique

La cartographie génétique des marqueurs a été effectuée population par population grâce au logiciel MapDisto v2.0 [6]. Les groupes de liaison ont été, dans un premier temps, établis pour un LOD score de 3 avec un taux de recombinaison inférieur à 0,40. Lorsque des marqueurs appartenaient à des chromosomes différents, la valeur seuil du LOD a été augmentée à 5 afin de séparer les groupes. Les distances génétiques entre marqueurs ont été estimées en distance de Kosambi.

► Détection de QTL par analyse de liaison

Au sein de chaque population, l'analyse QTL a été effectuée avec le logiciel WinQTL cartographer (Wang *et al.*, 2007) [7] par CIM (Composite Interval Mapping) avec 300 permutations à une valeur seuil de 5%.

Pour toutes les analyses QTL, chaque notation maladie a été prise en compte comme une variable indépendante.

► Méta-analyse

Une méta-analyse manuelle a été effectuée de façon à vérifier si les QTL détectés dans une population conservaient ou non leurs effets dans les deux autres populations.

3. Résultats et discussion

► Phénotypage

Evaluation multilocale des 6 populations en 2013

En raison du nombre de lignées trop important, les 3 populations

n'ont pu être semées sur les mêmes sites. Par conséquent, les 6 populations n'ont pas pu être évaluées de la même façon.

La figure II présente les distributions de l'ensemble des notations maladies ayant été effectuées sur chacune des 6 populations.

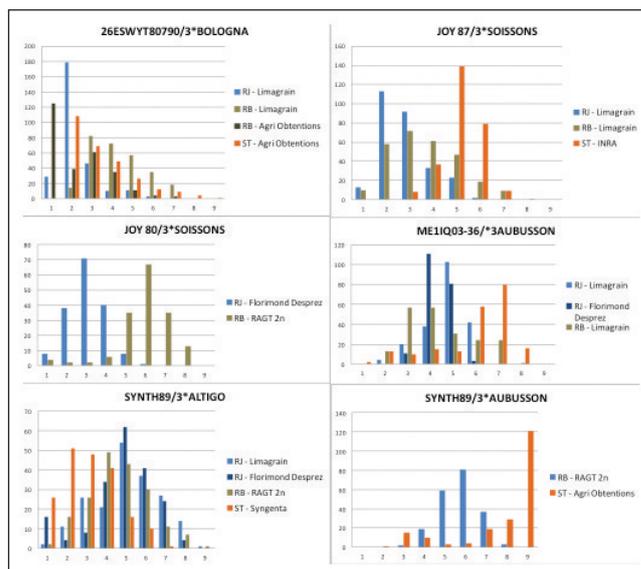


Figure II : Distribution des différentes notations maladies pour chacune des 6 populations

Grâce à cette figure, 3 populations montrent des distributions intéressantes pour la détection de QTL :

- la population 26ESWT80790/3*BOLOGNA présente un haut niveau de résistance aux 3 maladies étudiées
- la population JOY 87/3*SOISSONS présente un niveau de résistance intéressant pour les rouilles et montre une distribution normale des individus pour la septoriose
- la population SYNTH89/3*ALTIGO montre une distribution quasi-normale pour les 3 maladies étudiées avec un nombre intéressant de génotypes tolérants.

Ces 3 populations ont donc été retenues pour la suite de notre projet.

Les 3 autres populations n'ont pas été retenues en raison de leur trop forte sensibilité à la septoriose ou aux rouilles ou en raison de leur proximité génétique avec une population déjà sélectionnée (cas de la population JOY80/3*SOISSONS).

Bien que les lignées n'aient pu être phénotypées que sur un seul couple de lignes, sans répétition, les distributions des notations effectuées dans les 3 populations retenues sont prometteuses quant à la détection de QTL de résistance.

Evaluation « maladies » des 3 populations retenues

Phénotypage Rouille jaune 2014

Les 3 populations ont pu être bien évaluées sur les 2 lieux inoculés RJ. La Figure III représente les distributions des AUDPC du caractère de résistance à la rouille jaune des 3 populations à Cappelle-en-Pévèle et à Froissy, chaque couleur représentant une population.

La population 26ESWT80790/3*BOLOGNA confirme donc son relativement haut niveau de résistance à la RJ.

En raison d'une forte pression RJ en 2014, les 2 autres populations, présentant un niveau de sensibilité plus élevé à la RJ, ont également pu être évaluées à Louville-la-Chenard (28). Comme le montre la Figure IV, une bonne discrimination des individus a pu être également mise en évidence sur ce site.

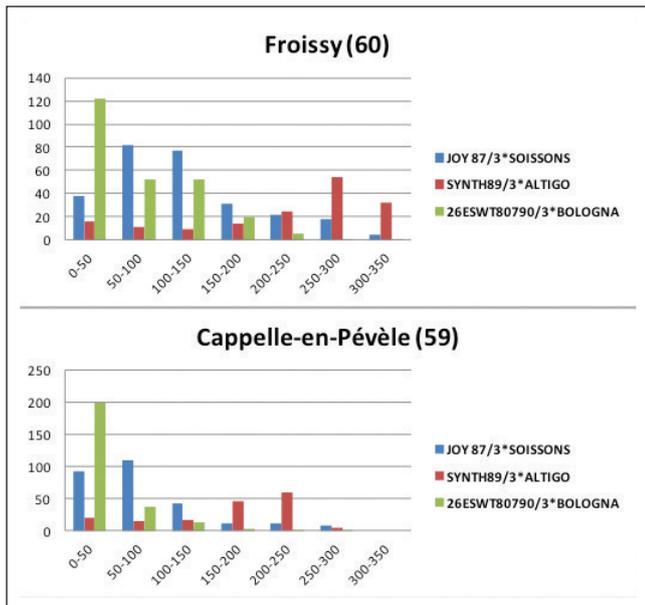


Figure III : Distributions des AUDPC RJ pour les 3 populations retenues sur les 2 lieux inoculés

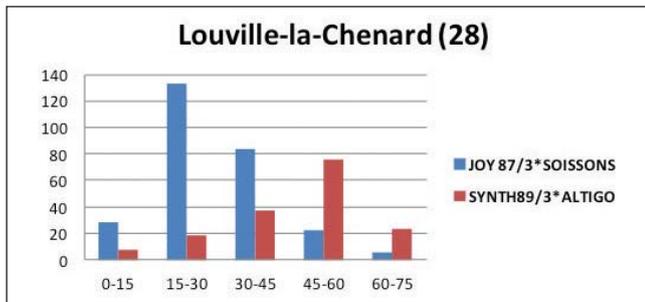


Figure IV : Distribution des AUDPC RJ pour les 2 populations les plus sensibles en conditions naturelles

Au vu des distributions des AUDPC, il existe probablement une résistance d'ordre polygénique à la RJ dans ces 2 populations. Les 3 lieux où la RJ a été évaluée sont pour les 3 populations relativement bien corrélés puisque les coefficients de corrélation entre AUDPC sont compris entre 0,74 et 0,80 pour la population JOY 87/3*SOISSONS, entre 0,84 et 0,90 pour la population SYNTH89/3*ALTIGO et égale à 0,53 entre les 2 lieux où la population 26ESWT80790/3*BOLOGNA a été testée.

Aucune corrélation avec la hauteur ou la précocité n'a pu être mise en évidence.

Phénotypage Rouille brune 2014

En raison d'une très forte pression RJ et bien que les essais aient été inoculés, seules les populations JOY 87/3*SOISSONS et 26ESWT80790/3*BOLOGNA ont pu être évaluées pour la RB sur les lieux de Louville-la-Chenard et de Mons. Deux notations ont pu être réalisées sur le lieu de Louville-la-Chenard et une seule sur le lieu de Mons. Le calcul d'AUDPC n'a donc pu être possible que sur un seul lieu. La Figure V représente la distribution des AUDPC du caractère de résistance à la rouille brune des 2 populations évaluées à Louville-la-Chenard, chaque couleur représentant une population.

D'après cette figure, nous pouvons voir que ces 2 populations possèdent une sensibilité à la RB relativement élevée et qu'il y a peu de discrimination entre les individus d'une même population. La pression d'inoculation a été très certainement trop forte cette année puisque ces résultats sont en contradiction avec les belles courbes de distributions normales qui avaient été mises en évidence pour le phénotypage de 2013 (Figure II).

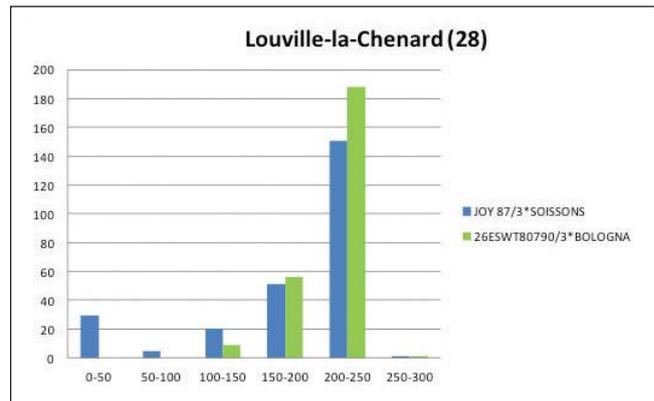


Figure V : Distribution des AUDPC RJ pour 2 des 3 populations sur le lieu inoculé de Louville-la-Chenard

La notation réalisée sur le lieu de Mons n'est que faiblement corrélée avec le lieu de Louville-la-Chenard pour la population 26ESWT80790/3*BOLOGNA ($r=0,40$) et est relativement bien corrélée pour la population JOY 87/3*SOISSONS ($r=0,68$).

Seule une corrélation négative entre résistance à la RB et précocité a pu être mise en évidence au sein de la population JOY 87/3*SOISSONS ($-0,57 < r < -0,40$ selon les lieux). Au sein de cette population, les individus précoces ont donc été globalement plus touchés que les individus tardifs qui ont été moins exposés à la rouille brune.

Phénotypage Septoriose 2014

La septoriose a pu être évaluée sur les 3 populations retenues dans les 2 sites prévus. Quatre notations ont pu être réalisées à Rennes et 2 à Orsonville. Une bonne discrimination du matériel a pu être mise en évidence.

La Figure VI représente les distributions des AUDPC du caractère de résistance à la septoriose des 3 populations évaluées à Rennes et à Orsonville, chaque couleur représentant une population.

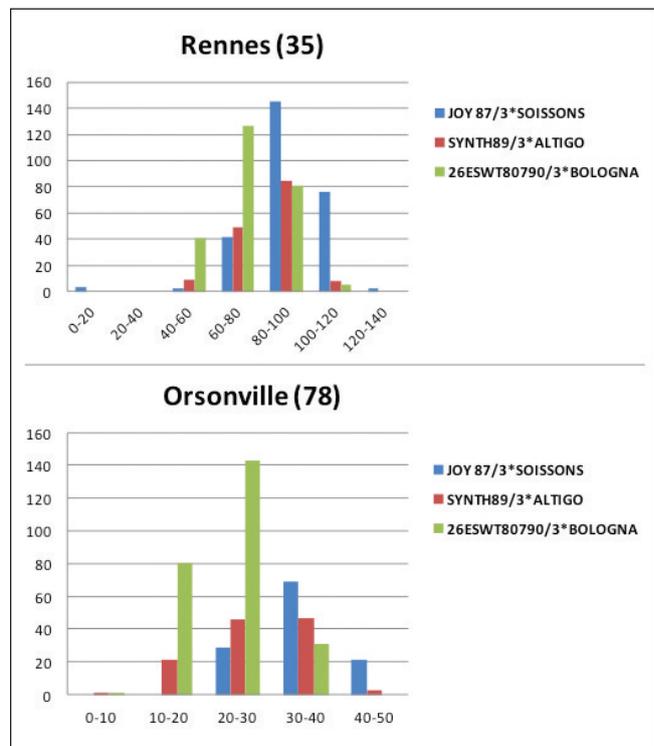


Figure VI : Distributions des AUDPC ST pour les 3 populations sur les lieux de Rennes et d'Orsonville

Les coefficients de corrélation entre AUDPC sur les différents lieux sont relativement corrects pour les populations 26ESWT80790/3*BLOGNA ($r=0,61$) et SYNTH89/3*ALTIGO ($r=0,57$) alors qu'il est quasiment nul pour la population JOY 87/3*SOISSONS ($r=0,18$).

Aucune corrélation entre résistance à la septoriose et la précocité ou la hauteur n'a pu être mise en évidence, sauf pour la population JOY 87/3*SOISSONS où une corrélation négative entre précocité et symptômes de septoriose a pu être mise en évidence ($r=-0,40$ pour le lieu de Rennes et $r=-0,30$ pour le lieu d'Orsonville). Au sein de cette population, les individus précoces ont donc été globalement plus touchés que les individus tardifs qui ont été moins exposés à la rouille brune.

Evaluation de la qualité des 3 populations retenues

Les analyses ont été réalisées en 2 temps : une trentaine de lignées par population a été analysée en septembre pour affiner le choix de la douzaine de lignées par population à semer en essais multiloaux ; les autres lignées ont été analysées plus tard, en mai. Les analyses sur les parents récurrents ont été répétées, en septembre et en mai. Ces répétitions n'ayant pas montré d'effets significatifs de la période d'analyses (à l'exception de la teneur en protéines sur farine Brabender), les données ont pu être regroupées pour ces paramètres. La figure VII présente les distributions des principaux paramètres pour chacune des 3 populations (parents récurrents inclus), chaque couleur représentant une population.

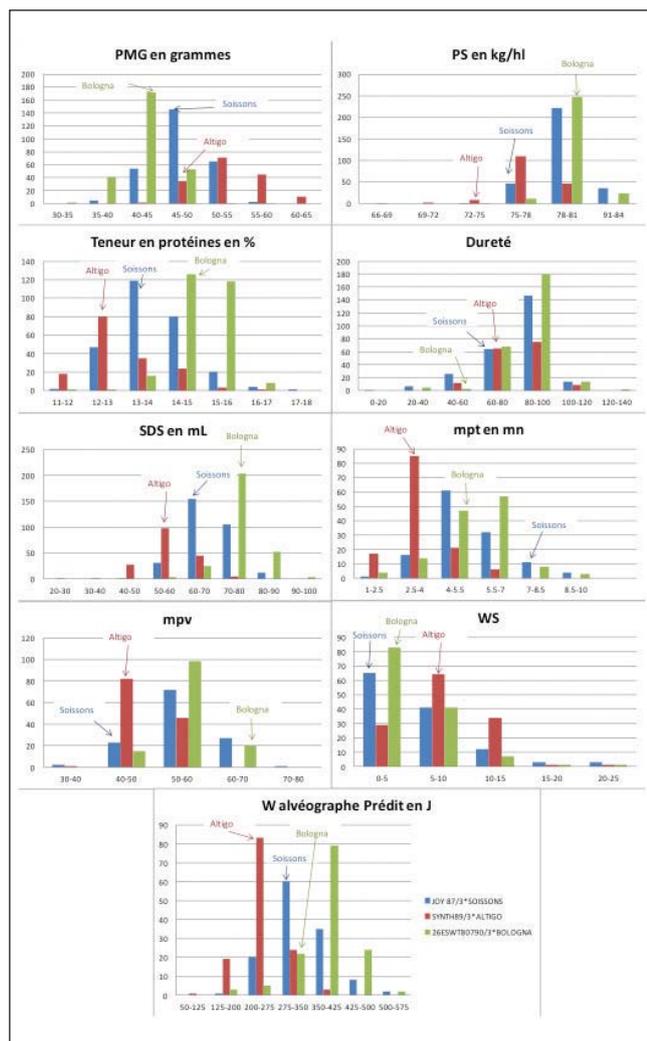


Figure VII : Distribution des principaux caractères qualité pour les 3 populations et leurs parents récurrents

Pour l'ensemble des caractères évalués, les populations montrent une très grande variabilité et transgressent les valeurs de leurs parents récurrents en positif et en négatif. Il sera donc possible de sélectionner dans ce matériel végétal.

Pour le PMG, le PS, la teneur en protéines et le W prédit, le classement des médianes des populations suit celui des parents récurrents. Le fonds génétique dans lequel est intégrée la variabilité *Aegilops* est donc marquant pour ces paramètres. Pour la dureté, ce classement ne serait pas respecté, la population 26ESWT80790/3*BLOGNA est la plus « Hard » alors que Bologna serait la moins « Hard ». Ce résultat n'est pas conforme aux valeurs attendues [8] : Bologna « Hard » et Altigo et Soissons « Médium Hard », ce qui est surprenant. En 2014, les lignées des 3 populations ont montré des médianes supérieures aux valeurs de leur parent récurrent pour le PMG (surtout pour la population SYNTH89/3*ALTIGO), le PS (surtout pour la population SYNTH89/3*ALTIGO) et la dureté du grain. Pour la teneur en protéines, seule la population JOY 87/3*SOISSONS a une médiane supérieure à son parent Soissons.

Pour le test SDS, très influencé par la teneur en protéines, le manque de précision de la mesure (écarts relativement importants entre les mesures des témoins) ne permet pas de mettre en évidence de différences entre les médianes des populations et leur parent récurrent, même pour Soissons.

Concernant la rhéologie de la pâte, Soissons présente une courbe de mixographe assez « plate » : pic peu élevé atteint lentement mais courbe s'affaiblissant peu. Son W prédit est plus élevé que celui d'Altigo. Par rapport à Bologna, Altigo atteint plus rapidement un pic de mixographe moins élevé avec une courbe qui s'affaiblit plus fortement et son W prédit est plus faible. Bologna présente la courbe de mixographe la plus élevée et le plus fort W prédit. Ceci semble conforme aux classes de qualité de ces variétés [8] : Altigo est « Blé Panifiable », Soissons « Blé Panifiable Supérieur » et Bologna « Blé Améliorant ou de Force ».

Pour les paramètres du mixographe, la médiane de la population SYNTH89/3*ALTIGO est le plus souvent assez proche de la valeur d'Altigo ou un peu plus faible ; la médiane de la population 26ESWT80790/3*BLOGNA est généralement plus faible que la valeur de Bologna (sauf pour mpt et mpw) ; inversement pour la population JOY 87/3*SOISSONS, la médiane est plus forte que les valeurs de Soissons (sauf pour mpt). Il résulte de ces variations des médianes des populations par rapport à leur parent récurrent, que les populations JOY 87/3*SOISSONS et 26ESWT80790/3*BLOGNA se retrouvent assez proches généralement l'une de l'autre et de meilleure qualité que la population SYNTH89/3*ALTIGO. Les apports du blé synthétique JOY87 semblent positifs sur les paramètres du mixographe de la population JOY 87/3*SOISSONS par rapport à Soissons.

Sur le W prédit, les populations restent voisines, voire légèrement meilleures, que leur parent récurrent. Cette valeur calculée est cependant à prendre avec précaution.

L'ensemble de ces résultats semble indiquer que l'apport des blés synthétiques ne dégrade pas forcément la valeur technologique et peut même l'améliorer. Cependant, ces résultats ne portent que sur un seul milieu (Orgerus en 2014), ils sont donc à préciser par des essais multiloaux sur un nombre restreint de lignées.

► Cartographie génétique

Après nettoyage des données, 641 SNP polymorphes répondant aux critères de qualité ont donc été retenus. Au final :

- 273 individus de la population JOY87/3*SOISSONS ont été génotypés à l'aide de 350 marqueurs SNP polymorphes (54,6%)

- 254 individus de la population 26ESWT80790/3*BOLOGNA ont été génotypés à l'aide de 302 marqueurs SNP polymorphes (47,1%)
- 162 individus de la population SYNTH89/3*ALTIGO ont été génotypés à l'aide de 493 marqueurs SNP polymorphes (76,9%).

Parmi ces 641 SNP, 111 sont communs aux 3 populations, 145 sont communs aux 2 populations JOY87/3*SOISSONS et SYNTH89/3*ALTIGO, 48 sont communs aux 2 populations JOY87/3*SOISSONS et 26ESWT80790/3*BOLOGNA, 89 sont communs aux 2 populations SYNTH89/3*ALTIGO et 26ESWT80790/3*BOLOGNA et 248 (38,7%) ne sont polymorphes que dans une des 3 populations (Figure VIII).

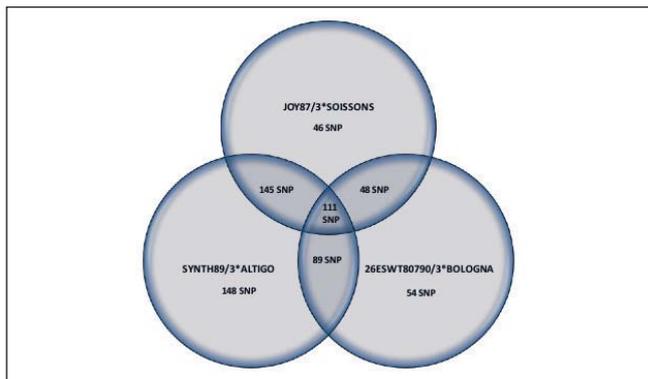


Figure VIII : Distribution des SNP parmi les 3 populations

Grâce notamment à des connaissances antérieures sur certains de ces marqueurs, tous les marqueurs ont pu être cartographiés et assignés sur leurs chromosomes, à l'exception d'un marqueur de la population 26ESWT80790/3*BOLOGNA.

La figure IX montre leur répartition chromosomique.

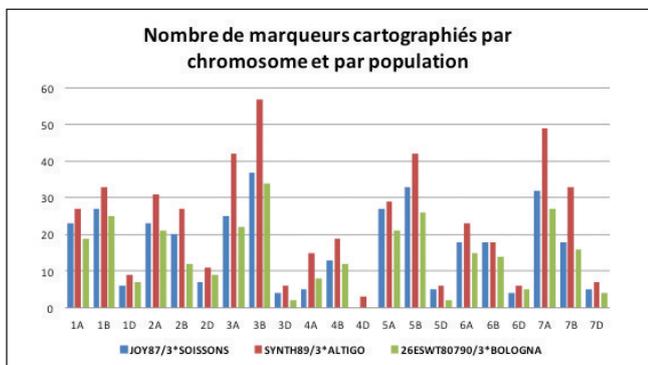


Figure IX : Répartition chromosomique des marqueurs cartographiés pour chacune des 3 populations

La totalité des chromosomes est donc représentée à l'exception du chromosome 4D pour les populations JOY87/3*SOISSONS et 26ESWT80790/3*BOLOGNA. Un plus faible nombre de marqueurs est présent sur le génome D, quelque soit la population. Cela provient probablement du fait que ces marqueurs SNP ont été mis au point sur blé tendre, peu polymorphe sur le génome D, et non sur *Aegilops tauschii*.

Enfin, la couverture des cartes génétiques s'étend de 645 cM pour la population 26ESWT80790/3*BOLOGNA à 1 145 cM pour la population SYNTH89/3*ALTIGO. Elle est donc proportionnelle au nombre de marqueurs cartographiés. La densité de marqueurs est donc quasiment équivalente dans les 3 populations, elle varie d'un marqueur tous les 2,1 cM pour la population 26ESWT80790/3*BOLOGNA à un marqueur tous les 2,4 cM pour la population SYNTH89/3*ALTIGO.

► Détection de QTL par analyse de liaison

Détection de QTL de résistance et de développement

Suite au phénotypage réalisé en 2013 et 2014, 54 variables ont donc été retenues pour la réalisation des analyses de liaison comme le montre le tableau 4.

Caractère	Précocité	Hauteur	RJ						RB				ST			
			2013		2014				2013		2014		2013	2014		
			Mans	Capelle	Mans	Leuville	Frézy	Capelle	Mans	Oranville	Leuville	Mans	Leuville	Oranville	Oranville	Rennes
Année																
Lieu	moynne															
Population																
JOY87/3*SOISSONS	1	1	1	1	1	2	3	4	1		1	2			2	2
SYNTH89/3*ALTIGO	1	1	1	1	1	2	3	4		1	1			1	2	4
26ESWT80790/3*BOLOGNA	1	1	1			3	4	1	1		1	2		1	2	3

Tableau 4 : Nombre de variables utilisées pour la détection de QTL liés au développement ou à des mécanismes de résistance (les variables mises en bleu sont celles pour lesquelles des AUDPC ont été calculées puis prises en compte dans l'analyse QTL)

L'analyse de liaison a permis la mise en évidence de 237 QTL de résistance et de développement au sein des 3 populations étudiées (Tableau 5).

Population	Précocité	Hauteur	RJ	RB	ST	Total
JOY87/3*SOISSONS	3	1	29	10	16	59
SYNTH89/3*ALTIGO	4	4	41	5	33	87
26ESWT80790/3*BOLOGNA	0	1	66	4	20	91
Total	7	6	136	19	69	237

Tableau 5 : Nombre de QTL détectés par population et par type de caractères

Un très grand nombre de QTL a donc été détecté pour la RJ alors que très peu ont pu être détectés pour les caractères de développement ou pour la résistance à la RB. Les distributions des AUDPC des individus observées en 2014 pour la RB expliquent ces résultats.

Le nombre de QTL détectés par population est quasiment similaire pour les populations SYNTH89/3*ALTIGO et 26ESWT80790/3*BOLOGNA alors qu'il est un peu plus faible pour la population JOY87/3*SOISSONS.

Parmi ces 237 QTL, les QTL les plus stables, c'est-à-dire ceux s'exprimant dans la majorité des environnements testés, et les QTL de résistance au sens strict, c'est-à-dire non liés à des caractères de développement ont été recherchés.

Douze régions chromosomiques se sont alors détachées. Deux régions ont été identifiées dans la population JOY87/3*SOISSONS, sept régions ont été identifiées dans la population SYNTH89/3*ALTIGO et enfin trois régions ont été identifiées dans la population 26ESWT80790/3*BOLOGNA. Les caractéristiques de ces 12 QTL sont résumées dans le tableau 6.

Chromosome	Population de détection	Caractère	Nombre d'environnements dans lequel il a été détecté	LOD max	R ² max	Allèle favorable
2B	JOY87/3*SOISSONS	RJ	3	11.3	20%	SOISSONS
		ST	1	5.2	7%	JOY87
6B	JOY87/3*SOISSONS	RJ	4	3.8	3%	SOISSONS
		RJ	3	9.8	26%	SYNTH 89
1D	SYNTH89/3*ALTIGO	RB	2	5.7	12%	SYNTH 89
		RJ	2	5.3	12%	ALTIGO
2A	SYNTH89/3*ALTIGO	RB	1	6.8	15%	SYNTH 89
		RJ	4	5.2	13%	SYNTH 89
5B	SYNTH89/3*ALTIGO	RJ	3	7.2	17%	ALTIGO
		ST	1	7.4	15%	SYNTH 89
6D	SYNTH89/3*ALTIGO	ST	1	6.1	19%	SYNTH 89
		RJ	2	11.7	41%	BOLOGNA
3A	26ESWT80790/3*BOLOGNA	RJ	2	5.3	10%	BOLOGNA
		RJ	3	32.7	67%	BOLOGNA

Tableau 6 : Présentation des 12 QTLs les plus intéressants détectés par analyse de liaison

Ces douze QTL les plus intéressants sont donc des candidats intéressants pour une utilisation en SAM à condition que leur avantage soit bien confirmé dans les populations dans lesquelles ils sont polymorphes et n'ont pas été détectés.

Détection de QTL de caractères technologiques

Cette recherche de QTL ne porte que sur un seul lieu sans répétition, les résultats sont donc à prendre avec précaution. Seuls les principaux paramètres du mixographe ont été utilisés. L'analyse de liaison a mis en évidence 47 QTL sur les 3 populations étudiées (Tableau 7).

Population	PMG	PS	dureté	protéines	SDS	mpt	mpv	mpw	mtxv	mtxi	WS	W prédit	Total
SYNTH89/3*ALTIGO	1	2	2	3	3	1	1	0	3	2	4	2	24
26ESWT80790/3*BOLOGNA	2	1	1	2	1	1	0	0	1	1	0	2	12
JOY87/3*SOISSONS	0	1	1	0	2	2	0	0	0	1	1	3	11
Total	3	4	4	5	6	4	1	0	4	4	5	7	47

Tableau 7 : Nombre de QTL détectés par population et par type de caractères

A l'exception du paramètre mpw du mixographe, tous les caractères ont au moins 1 QTL de détecté et jusqu'à 7 pour le W prédit (résultant du calcul impliquant plusieurs des autres caractères). La population SYNTH89/3*ALTIGO présente 2 fois plus de QTL que chacune des 2 autres populations.

Le QTL ayant le plus fort effet est détecté dans la population JOY87/3*SOISSONS. Il est situé sur le chromosome 5D et concerne 3 caractères : la dureté du grain, le test de sédimentation SDS et le W de l'alvéographe prédit (d'après les mesures du mixographe). Ceci est cohérent avec la présence du gène Ha contrôlant la dureté sur le chromosome 5D.

Les allèles du blé synthétique JOY87 sont associés à une texture moins dure que ceux de Soissons (de 84 à 49 en valeur médiane), une réduction du test SDS (de 69 à 59,5) et du W-prédit (de 348 à 255). L'apport du blé synthétique est donc plutôt négatif dans ce cas.

Sur cette même population, on note aussi, sur le chromosome 1D, un QTL expliquant respectivement 16 et 12% du WS et du mpt. Enfin, le QTL du chromosome 3D explique 10% de la variabilité du W prédit. Les autres QTL, à effets plus faibles, sont portés par les chromosomes 1A, 3A, 5B et 6A.

Sur la population 26ESWT80790/3*BOLOGNA, le QTL ayant le plus fort effet (LOD 17,6) explique 23% de la variabilité et se situe sur le chromosome 6A. Il concerne le Poids de Mille Grains.

Une zone du chromosome 1D est impliquée dans plusieurs caractères (R² de 8 à 11%) : W prédit, mpt et dureté du grain.

Sur la population JOY87/3*SOISSONS, le QTL ayant le plus fort effet (LOD=7,6 et R² de 23%) se situe sur le chromosome 2A et concerne le Poids Spécifique. Ce même chromosome porte aussi un QTL (R² de 19%) pour le mtvx. Ce paramètre est aussi expliqué par un QTL du chromosome 5D (R² de 16%) et le chromosome 3A (R² de 13%). Concernant le génome D, on trouve un QTL sur le 7D (PMG), le 5D (mtvx) déjà cité et le 1D (mpt).

► Méta analyse pour les QTL

QTL de résistance aux maladies

Sur les 12 QTL les plus intéressants, 6 QTL ne sont efficaces que dans le fonds génétique dans lequel ils ont été détectés et un QTL, localisé sur le chromosome 6A, présente un fonctionnement antagoniste en fonction du fonds génétique dans lequel il s'exprime. Ces sept QTL ne sont donc pas à utiliser par SAM en raison de leur spécificité d'efficacité.

A contrario, 4 QTL ne sont polymorphes que dans la population dans laquelle ils ont été détectés (QTL localisés sur les chromosomes 2A, 2B, 5B et 6B) et un QTL polymorphe dans les 3 populations étudiées s'exprime pour la rouille jaune sur le chromosome 1D dans 2 des 3 fonds génétiques testés et sont donc d'intéressants candidats pour une utilisation en SAM (tableau 8).

Chromosome	Population de détection	Caractère	Environnements de détection	LOD max	R ² max	IC	Nb de SNP disponibles	Allèle favorable
2B	JOY87/3*SOISSONS	RJ	3 lieux en 2014	11,3	20%	13 cM	4	SOISSONS
		ST	1 lieu en 2014	5,2	7%			JOY87
6B	JOY87/3*SOISSONS	RJ	3 lieux en 2014	8,8	30%	0,7 cM	1	SOISSONS
1D	SYNTH89/3*ALTIGO	RB	1 lieu en 2013 et 1 lieu en 2014	5,7	12%	9 cM	1	SYNTH 89
2A	SYNTH89/3*ALTIGO	RJ	3 lieux en 2014 + 1 lieu en 2013	5,3	12%	4 cM	5	ALTIGO
		RB	1 lieu en 2014	6,8	15%			SYNTH 89
5B	SYNTH89/3*ALTIGO	ST	1 lieu en 2014	7,4	15%	4 cM	3	SYNTH 89

Tableau 8 : Présentation des 5 QTL candidats pour une utilisation en SAM

Les QTL de résistance à la rouille jaune localisés sur les chromosomes 2A et 2B ont également été détectés dans la population Nogent x Soissons dans le cadre du projet FSOV 2012 O. Le QTL sur le chromosome 2A est dans un même environnement lié à la fois à la rouille jaune et à la rouille brune à Mons en 2014. La résistance aux 2 maladies n'est pas apportée par le même parent. La RB apparaissant plus tardivement que la RJ sur les feuilles, il ne s'agit vraisemblablement pas d'un vrai QTL de résistance à la RB mais d'un problème de phénotypage puisque le développement de la RJ a limité le développement de la RB par la suite. Le QTL de résistance à la RJ sur le chromosome 2B a été également détecté comme significativement lié à la septoriose à l'INRA en 2014. La résistance aux deux maladies n'est pas apportée par le même parent, ce qui peut poser problème. Etant donné que la part de variabilité expliquée par ce QTL est bien plus faible pour la septoriose que pour la rouille jaune et que ce QTL n'a été détecté que dans un seul environnement pour la septoriose, il reste un QTL très intéressant pour travailler la résistance à la RJ. Pour ces 2 QTL, le nombre de SNP disponible dans leur intervalle de confiance est satisfaisant pour introduire ces caractères en SAM.

QTL de caractères technologiques

La plupart des chromosomes sont impliqués dans un ou plusieurs caractères technologiques, sauf les chromosomes : 1B, 4B, 2D, 4D et 6D. Cependant, il faut noter qu'il n'a pas été révélé de marqueurs polymorphes attribués au chromosome 4D pour 2 des 3 populations et les marqueurs sont peu nombreux (3 seulement) sur le 4D de la population SYNTH89/3*ALTIGO, de même que sur le 6D des 3 populations (4 à 5 marqueurs par population sur ce chromosome). Cela ne signifie donc pas que ces chromosomes ne sont pas impliqués mais simplement qu'on n'a pas pu le mettre en évidence, notamment par manque de marqueurs sur le génome D.

On révèle peu de co-localisation de QTL sur plusieurs populations. Trois QTL concernent les populations SYNTH89/3*ALTIGO et JOY87/3*SOISSONS:

- un QTL pour le SDS sur le chromosome 6A (expliquant 8 et 6% respectivement sur les populations SYNTH89/3*ALTIGO et JOY87/3*SOISSONS),
- un QTL pour le mtxi sur le 5B (9% et 9%),
- un QTL pour le W-prédit sur le 3A (13% et 9%).

Un seul QTL concerne les 3 populations : pour le mpt sur le chromosome 1D.

Sur les chromosomes 6A et 5B, il est difficile de déterminer si ce sont bien les mêmes zones chromosomiques. En effet, les marqueurs polymorphes ne sont pas toujours les mêmes ou pas toujours ordonnés de la même façon d'une population à l'autre. Sur le chromosome 3A, un même marqueur est impliqué dans les 2 populations.

Le QTL sur le chromosome 1D explique de 7 à 12% du mpt selon la population. De plus, il implique des marqueurs communs entre populations. Sur la population 26ESWT80790/3*BOLOGNA, ce QTL est situé dans la même zone qu'un QTL de dureté et de W-prédit. La présence de QTL de qualité sur ce chromosome codant pour des protéines de réserve (gliadines et gluténines HPM et FPM) n'est pas surprenant, d'autant plus qu'il existe un polymorphisme pour ces protéines entre les blés synthétiques utilisés et les parents récurrents sur le génome D (cf. électrophorèses).

► Sélection et caractérisation fine de potentiels géniteurs

La mise en place de ces essais intégrant généralement les plateformes d'essais des programmes de sélection, les protocoles ont dû le plus souvent s'adapter à celui de la plateforme pour en faciliter la réalisation.

L'ensemble des conduites réalisées sur les différents sites est ainsi résumé dans les tableaux 9a et 9b.

Réseau 1	AO		UNI		LVH	
lieu (Dept)	Orsonville (78)		Froissy (60)		Joze (63)	
Date semis	12/11/2014		14/10/2014		30/10/2014	
modalité	T	BNI	T	BNI	T	BNI
Densité semis	220	220	260	180	300	200
Azote (kg/ha)	150	150	190	190	200	150
Regulateur	non	non	non	non	oui	non
Fongicides	3	0	2	0	2	1
Date récolte	01/08/2015		02/08/2015		10/07/2015	
moyenne essai (Qx/ha)	74,7	69,9	100,6	91,1	75,7	71
CV (%)	3,4		3,8		3,3	
ETR (Qx/ha)	2,3		3,4		2,2	
verse	-	-	-	-	-	-
pression RJ	-	-	-	***	-	-
pression RB	-	**	-	**	-	-
pression ST	-	*	-	*	-	-
pression Fusa	-	-	-	**	-	-

faible à nulle (-), moyenne (*), assez importante (**), importante (***)

Tableau 9a : Résumé des conditions expérimentales et résultats du réseau d'essai n°1

Réseau 2	RAGT		INRA		FD		SYN	
lieu (Dept)	Louville-Chd (28)		Pacée (35)		Cappelle (59)		Andelu (78)	
Date semis	20/10/2015		28/10/2014		17/10/2014		15/10/2014	
modalité	T	BNI	T	BNI	T	BNI	T	BNI
Densité semis	300	300	250	150	325	235	280	196
Azote (kg/ha)	210	210	150	110	190	130	200	200
Regulateur	non	non	oui	non	oui	non	oui	non
Fongicides	3	0	3	0	3	0	3	0
Date récolte	22/07/2015		22/07/2015		02/08/2015		29/07/2015	
moyenne essai (Qx/ha)	75,1	70,7	100	78,6	103,4	82,5	102,6	92,5
CV (%)	6,3		6,0		4,6		4,6	
ETR (Qx/ha)	4,5		4,7		3,8		4,3	
verse	-	-	*	-	-	-	-	-
pression RJ	-	-	-	**	-	*	-	*
pression RB	-	-	-	*	-	***	-	-
pression ST	-	*	*	***	-	*	-	*
pression Fusa	-	-	-	-	-	-	-	-

faible à nulle (-), moyenne (*), assez importante (**), importante (***)

Tableau 9b : Résumé des conditions expérimentales et résultats du réseau d'essai n°2

Les conditions climatiques du printemps 2015 (Mai-Juin) ont été relativement sèches dans la plupart des régions et n'ont donc pas été trop favorables au développement de la septoriose à l'exception du site de Pacé. Le développement de la rouille jaune a été relativement modeste à faible pour la plupart des sites (excepté pour les sites de Pacé et Froissy). Enfin, les températures élevées de juin ont permis le développement de la rouille brune sur les sites Nord de Seine (Cappelle et Froissy). Ces hausses de températures furent cependant trop tardives pour les sites des régions Centre et Bassin-Parisien par rapport au stade de développement des plantes, à l'exception d'Orsonville où la maladie a pu s'exprimer (semis tardif). L'expression des différentes maladies est donc variable en fonction des sites et fut relativement bien contrôlée par les fongicides évitant un impact sur la modalité traitée. Par ailleurs, peu de sites ont été touchés par la verse.

Performance des lignées en condition traitée

Les performances des lignées en condition traitée ont été mesurées sur une seule parcelle pour chacun des lieux. Les rendements des lignées dans les deux réseaux d'essai (figures Xa et Xb) montrent certaines lignées issues de la population SYNTH89/3*ALTIGO (ABLVH117, ABLVH145, ABLVH168, ABLVH118 et ABLVH048) affichant des performances équivalentes voire meilleures que les témoins CTPS ayant actuellement une importante commercialisation en France.

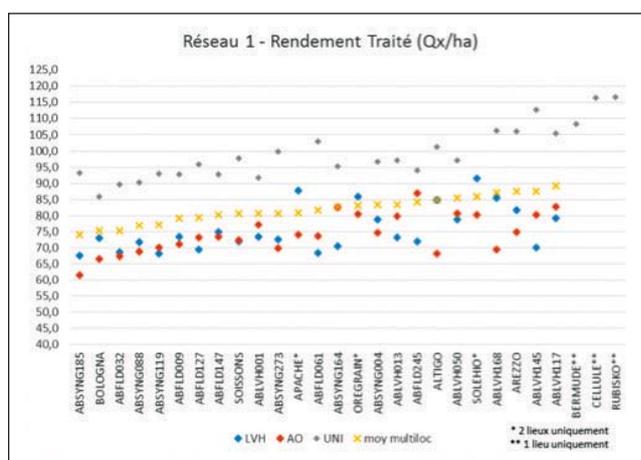


Figure Xa : Rendement en condition traitée des lignées sur l'ensemble des lieux du réseau d'essai n°1.

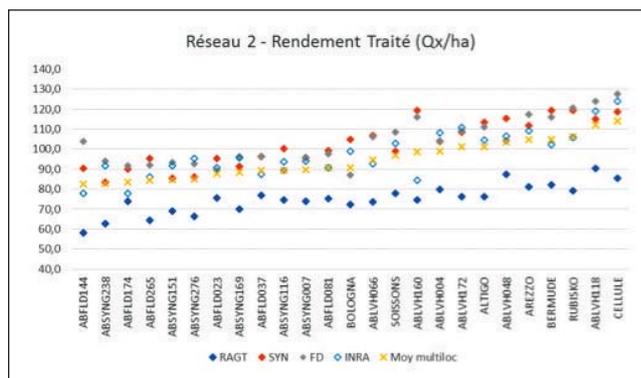


Figure Xb : Rendement en condition traitée des lignées sur l'ensemble des lieux du réseau d'essai n°2.

L'objectif principal du projet n'étant pas d'afficher des performances comparables aux témoins CTPS en raison des précocités, de la classe qualité et de l'année d'inscription des variétés récurrentes (Tableau 10), une étude comparative du rendement des lignées avec la variété récurrente est représentée en figures XIa et XIb.

Parent Récurrent	précocité (Quotation)	Classe Qualité	année d'inscription
SOISSONS	Précoce (7)	BPS	1988
BOLOGNA	Très précoce (7,5)	BAF	2002
ALTIGO	Précoce (7)	BP	2007

Tableau 10 : Caractéristiques des variétés récurrentes utilisées

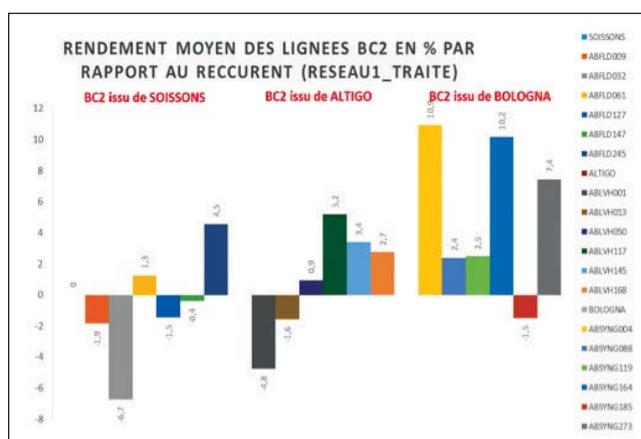


Figure XIa : Ecart moyen du rendement des lignées par rapport au parent récurrent (en %) dans le réseau d'essai n°1 en condition traitée.

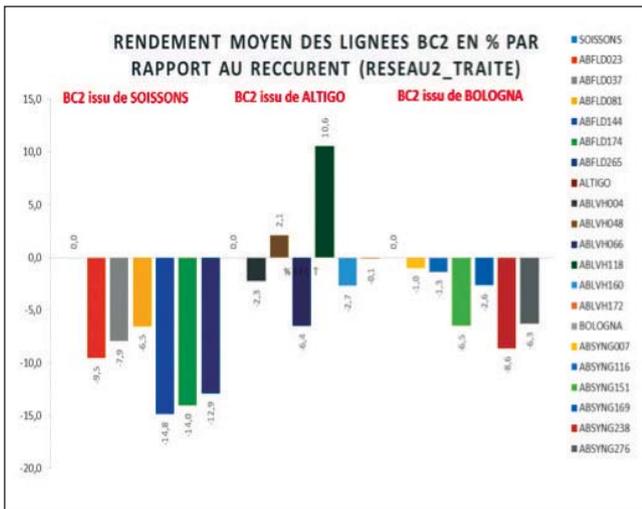


Figure XIIb : Ecart moyen du rendement des lignées par rapport au parent récurrent (en %) dans le réseau d'essai n°2 en condition traitée

On constate alors que l'impact des introgressions sur le potentiel de performance du récurrent varie suivant les croisements. Les lignées BC2 issues du croisement avec Soissons sont dans l'ensemble moins performantes que Soissons en condition traitée. Les rendements sont en moyenne 5% en dessous de ceux de Soissons. Seule la lignée ABFLD245 semble faire mieux que Soissons, résultats tirés par la très bonne performance de la lignée sur le site d'Agri-obtention (+20% par rapport à Soissons). Les back-cross avec Altigo et Bologna présentent des performances plus nuancées. Les rendements sont supérieurs en moyenne de 0,5% par rapport aux récurrents respectifs. Quatre lignées présentent des performances supérieures de plus de 7 % à celles du récurrent : ABSYNG004, ABSYNG164, ABSYNG273 et ABLVH118, ce dernier ayant un rendement moyen égal à 111% d'Altigo.

Performance des lignées en condition « bas niveau d'intrant »

Deux répétitions par lignée et par site ont été réalisées pour mesurer les performances du pool de géniteurs en condition BNI. Les tableaux 11a et 11b récapitulent les notations maladies sur l'ensemble des deux réseaux et confirment l'intérêt des lignées sélectionnées pour leur niveau de résistance face aux maladies en comparaison avec le parent récurrent (en jaune) qui les précèdent dans le tableau.

site	notations maladie modalité BNI (Réseau 1) - 1= résistant et 9= sensible							
	AO	UNI	AO	UNI	AO	UNI	UNI	
maladie	RU	RU	RB	RB	ST	ST	Fusa	
APACHE	1				2,5			
AREZZO	1	3	3	-	3,5	2	3	
OREGRAIN	2,5		1,5		3			
SOLEHIO	1		3		3			
BOLOGNA	1,5	5	4	6	3	4	7	
ABSYNG004	1	1	6	-	2	3	4	
ABSYNG088	1	1	3,5	-	2	3	4	
ABSYNG119	1	1	5	-	2	3	4	
ABSYNG164	1	1	4	-	2	3	5	
ABSYNG185	1	1	4	-	2,5	3	4	
ABSYNG273	1	4	1,5	-	3	3	5	
ALTIGO	1,5	8	1,5	-	3	3	8	
ABLVH001	1	4	2	4	2,5	2	3	
ABLVH013	1	1	2	5	2	3	6	
ABLVH050	1	2	3	6	2,5	3	4	
ABLVH117	1,5	8	1,5	6	2	-	5	
ABLVH145	4	8	1	4	3	-	3	
ABLVH168	1	1	1	6	2	1	3	
SOISSONS	1	2	3,5	5	3	2	7	
ABFLD009	2	5	1,5	4	3	1	6	
ABFLD032	1	1	2	2	2	1	4	
ABFLD061	1	2	3,5	5	2,5	1	5	
ABFLD127	1	1	3	4	3	3	7	
ABFLD147	1	1	2	2	2,5	2	5	
ABFLD245	1	1	3	2	2	1	5	

Tableau 11a : Notations des lignées/variétés sur leur résistance face aux différentes maladies présentes dans les essais du réseau n°1 (1=résistant, 9=très sensible)

site	notations maladie modalité BNI (Réseau 2) - 1= résistant et 9= sensible											
	SYN	FD	INR	SYN	FD	INR	RGT	SYN	FD	INR	RGT	Fusa
maladie	RB	RB	RB	RU	RU	RU	ST	ST	ST	ST	ST	
BERMUDE	1,5	7	3	1	1	1	3	2	3,5	7	2	
CELLULE	1	7	ini	1	1	1	4,5	5	3	8	5,5	
RUBISKO	2	5,5	1	1	1	1	1,75	1	1,5	5	3	
SOISSONS	1	1	1	1	1	1	2,5	3	3,5	3	6	2,5
BOLOGNA	1	7,5	4	1	1	1	2,75	1	1,5	5	2,5	
ABSYNG007	1	7	5,5	1	1	1	2	1,5	1	5	2,5	
ABSYNG116	2,5	7,5	6	1	1	1	2,25	1,5	1,5	5	2	
ABSYNG151	1	5	2	1	1	1	2,25	1,5	1,5	5	2,5	
ABSYNG169	1	6	2,5	1	1	1	2	2	1	5	2,5	
ABSYNG238	1	1,5	3	1	3	1	2,75	2	1	4	2,5	
ABSYNG276	2,5	8	7	1	1	1	2,25	1,5	1	5	2	
ALTIGO	1	5	ini	5,5	4,5	7	4,25	4	2,5	9	2	
ABLVH004	1	1	ini	1	1,5	2,5	3,25	3	2	6	2	
ABLVH048	1	1	1	1	1	1	2	1	1	3	1,5	
ABLVH066	1	4	ini	1	3,5	6	2,5	2,5	7	6	2	
ABLVH118	1	4	3	3	1,5	5,5	2,25	1	1,5	6	1	
ABLVH160	1	1	1	1	1,5	4	2,5	1	2	4	3	
ABLVH172	1	1	ini	1	2	3,5	3,75	6	3	8	1	
SOISSONS	1,5	7	ini	1	1	1	2,75	2	3	6	2,5	
ABFLD023	1	1	ini	1	1,5	1	3	2,5	3	7	2	
ABFLD037	1	3,5	1	1	1	1	2,25	1	2	5	1,5	
ABFLD081	1	1	ini	1	1	1	3	2	2,5	6	1,5	
ABFLD144	1	1	ini	1	1,5	1	3,5	3	3	6	2,5	
ABFLD174	1	1,5	1	1	1	1	2,25	2	2	5	2,5	
ABFLD265	1	3,5	3	1	1	1	2,5	1,5	2	6	3	

Tableau 11b : Notations des lignées/variétés sur leur résistance face aux différentes maladies présentes dans les essais du réseau n°2 (1=résistant, 9=très sensible)

Les rendements des lignées sont présentés dans les figures XIIa et XIIb pour chacun des réseaux d'essai. Les Coefficients de variation (CV) et Ecarts types résiduels (ETR) sont plutôt corrects témoignant de la bonne répétabilité des mesures, seuls les sites de l'INRA et de RAGT présentent des CV moyens (tableaux 9a et 9b).

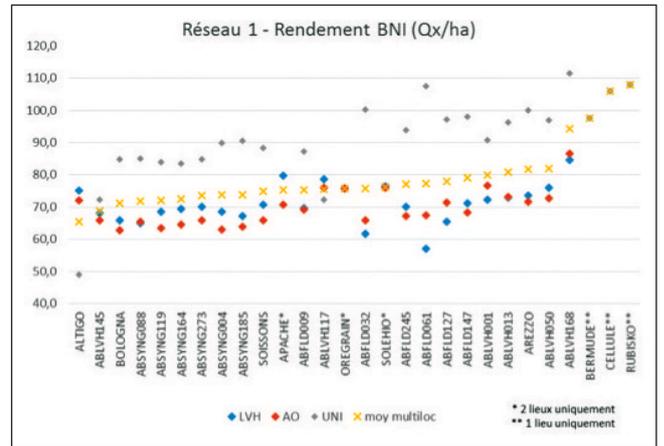


Figure XIIa : Rendement en condition BNI des lignées/variétés sur l'ensemble des lieux du réseau d'essai n°1.

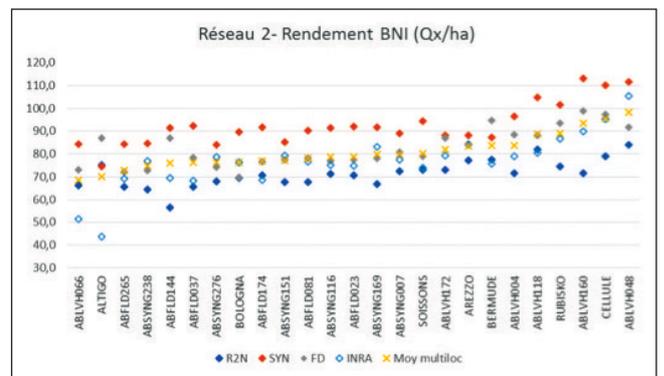


Figure XIIb : Rendement en condition BNI des lignées/variétés sur l'ensemble des lieux du réseau d'essai n°2

Tout comme la condition traitée, plusieurs lignées BC2 présentent en condition BNI des performances équivalentes aux témoins CTPS. En réseau 1 comme en réseau 2, ce sont principalement les lignées issues du back-cross avec Altigo qui se positionnent aux premières places du classement. A l'inverse, ce dernier se situe en bas du classement en raison de sa forte sensibilité à la Rouille jaune

qui impacte fortement ses performances. Dès lors, quand on compare les lignées BC2 à leur récurrent (Figure XIIIa), il n'est pas surprenant de voir que les lignées issues du croisement Altigo sont celles qui présentent la plus grosse différence de rendement. En effet, les lignées « Altigo » ont un rendement dans le réseau 1 supérieur de 22% en moyenne par rapport à Altigo soit environ 15 qx/ha de plus, la lignée ABLHV168 atteignant sur le site de Froissy un rendement supérieur de 144% soit 62 qx/ha de plus qu'Altigo.

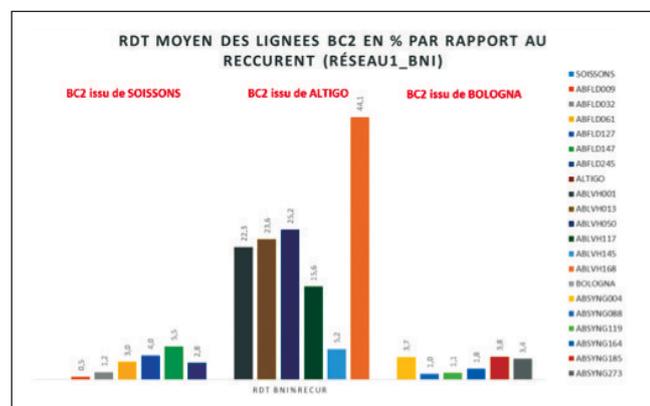


Figure XIIIa : Ecart moyen du rendement des lignées en % par rapport au parent récurrent dans le réseau d'essai n°1 en condition BNI

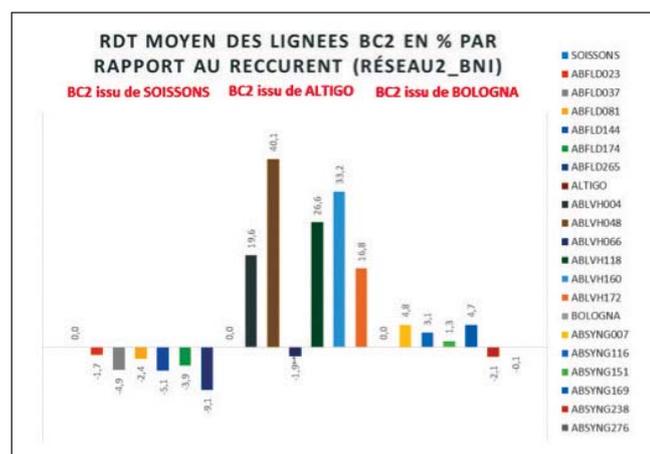


Figure XIIIb : Ecart moyen du rendement des lignées en % par rapport au parent récurrent dans le réseau d'essai n°2 en condition BNI

Le gain en rendement des lignées « Bologna » et « Soissons » par rapport à leur récurrent respectif n'est pas aussi important que celui d'Altigo (respectivement 2,4% et 2,7% de rendement en plus en moyenne). Cependant si pour les lignées « Bologna », le gain reste faible dans les 3 environnements, pour les lignées « Soissons » les écarts sont bien différents suivant les lieux. En effet, sur le site de Froissy (UNI) où les pressions Rouilles (brune et jaune) et fusariose sont relativement importantes, le gain important en rendement des lignées est masqué par la perte sur le site de Jose (LVH) où la pression maladie est inexistante (Tableau 12a).

Dans le réseau 2, les lignées « Altigo » confirment le gain en rendement lié à la résistance aux maladies avec également 22% de rendement en plus en moyenne par rapport à Altigo (tableau 12b). La lignée ABLVH048 affiche l'écart le plus important à Froissy avec un rendement supérieur de 140% en moyenne par rapport à Altigo (soit +62 qx/ha).

Les lignées « Bologna » présentent un gain en rendement de 2,5% en moyenne par rapport à Bologna soit +1,8 qx/ha. La résistance à la rouille brune étant la cible principale de l'introgession, les écarts par rapport au récurrent sont davantage marqués sur le site de Pacé (INRA) et Cappelle (FD) où la pression rouille brune fut importante.

lignée	Différence rendement (Qx/ha) par rapport au récurrent - Réseau 1			
	LVH	AO	UNI	moyenne
SOISSONS	0,0	0,0	0,0	0,0
ABFLD009	-1,2	3,3	-1,1	0,3
ABFLD032	-9,1	-0,1	11,9	0,9
ABFLD061	-13,7	1,4	19,1	2,2
ABFLD127	-5,3	5,5	8,9	3,0
ABFLD147	0,4	2,4	9,6	4,1
ABFLD245	-0,6	1,3	5,6	2,1
ALTIKO	0,0	0,0	0,0	0,0
ABLVH001	-2,7	4,6	41,8	14,6
ABLVH013	-2,1	1,1	47,3	15,4
ABLVH050	1,0	0,6	47,8	16,5
ABLVH117	3,6	3,8	23,3	10,2
ABLVH145	-6,9	-6,1	23,2	3,4
ABLVH168	9,5	14,5	62,5	28,8
BOLOGNA	0,0	0,0	0,0	0,0
ABSYNG004	2,7	0,3	5,0	2,7
ABSYNG088	-0,7	2,6	0,1	0,7
ABSYNG119	2,8	0,5	-0,9	0,8
ABSYNG164	3,5	1,7	-1,4	1,3
ABSYNG185	1,5	1,0	5,7	2,7
ABSYNG273	4,3	3,1	0,0	2,4

Tableau 12a : Ecart de rendement (Qx/ha) entre la lignée BC2 et son parent récurrent dans les différents lieux du réseau n°1.

lignée	Différence rendement (Qx/ha) par rapport au récurrent - Réseau 2				
	RAGT	SYN	FD	INRA	moyenne
SOISSONS	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
ABFLD023	-2,4	-2,3	-1,3	0,7	-1,3
ABFLD037	-7,4	-2,2	-0,4	-5,7	-3,9
ABFLD081	-5,2	-4,2	-0,9	2,5	-1,9
ABFLD144	-16,6	-3,0	8,0	-4,5	-4,0
ABFLD174	-2,3	-2,6	-2,2	-5,5	-3,2
ABFLD265	-7,3	-10,2	-6,8	-4,9	-7,3
ALTIKO	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
ABLVH004	-3,5	22,0	1,3	35,2	13,7
ABLVH048	8,9	37,2	4,7	61,7	28,1
ABLVH066	-8,9	9,7	-14,1	7,8	-1,4
ABLVH118	6,8	30,2	1,0	36,6	18,6
ABLVH160	-3,4	38,6	11,7	46,1	23,3
ABLVH172	-2,0	13,7	-0,1	35,5	11,8
BOLOGNA	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
ABSYNG007	2,9	-0,5	10,8	1,4	3,6
ABSYNG116	1,6	1,8	6,9	-1,0	2,3
ABSYNG151	-2,0	-4,4	7,5	2,9	1,0
ABSYNG169	-2,7	2,1	8,0	6,9	3,6
ABSYNG238	-5,0	-4,9	2,7	0,7	-1,6
ABSYNG276	-1,5	-5,5	4,3	2,4	-0,1

Tableau 12b : Ecart de rendement (Qx/ha) entre la lignée BC2 et son parent récurrent dans les différents lieux du réseau n°2

Contrairement à ce que l'on pouvait espérer les lignées « Soissons » affichent une performance moyenne inférieure au récurrent, malgré un meilleur état sanitaire que ce dernier. A Cappelle, malgré la forte pression rouille brune et le bon niveau de résistance de certaines des lignées (affiché en pépinière lors des années 1 & 2 et confirmé au cours des notations de l'essai), l'introgession des gènes de résistance n'a pas permis de marquer l'écart avec le récurrent. Seul ABFLD144 semble démontrer sur ce site un gain en rendement de 10% par rapport au récurrent (+ 8 qx/ha). A Pacé où la pression rouille brune était également importante, le gain potentiel lié à la résistance au champignon a été effacé par la bonne pression septoriose, contre laquelle les lignées présentent peu de progrès comparée à la résistance du récurrent.

Bilan des performances des lignées en condition traitée et « bas niveau d'intrant »

La combinaison des performances des lignées relatives au récurrent, en condition traitée et en condition BNI, sont présentées dans les figures XIVa et XIVb.

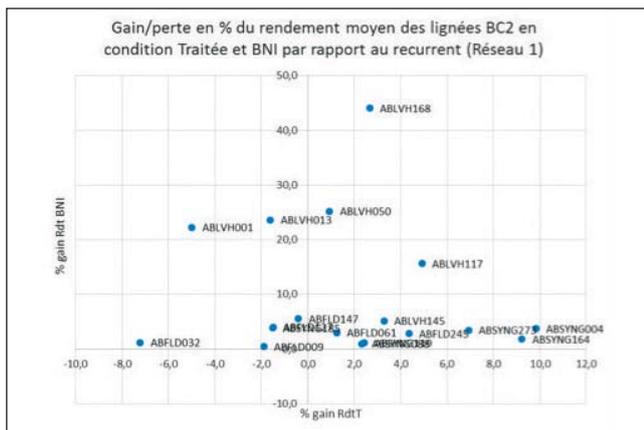


Figure XIVa : Ecart moyen du rendement des lignées en % par rapport au parent récurrent dans le réseau d'essai n°1 en conditions BNI et traitée.

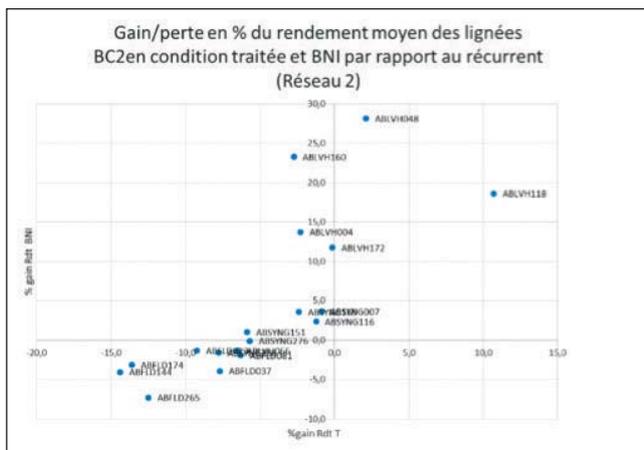


Figure XIVb : Ecart moyen du rendement des lignées en % par rapport au parent récurrent dans le réseau d'essai n°1 en conditions BNI et traitée

Comme il a été remarqué dans les points précédents, les lignées « Altigo » se démarquent par une nette amélioration des performances par rapport au récurrent en condition BNI mais également en condition traitée pour un certain nombre d'entre elles :

- ABLVH168 : +44% en condition BNI et +2,7% en condition traitée par rapport à Altigo
- ABLVH048 : +28% en condition BNI et +2,1% en condition traitée par rapport à Altigo
- ABLVH118 : +18% en condition BNI et +11% en condition traitée par rapport à Altigo.

Les forts écarts en BNI sont d'autant plus prononcés que la pression rouille jaune est importante comme sur les sites de Froissy, Pacé voire Andelu. L'introgression des gènes exotiques dont les gènes de résistance aux maladies dans le fond Altigo n'a semble-t-il pas altéré les performances in fine voire les aurait améliorées comme en témoigne la lignée ABLVH118 qui a des rendements supérieurs à Altigo sur l'ensemble des lieux du réseau 2 (de 101,3% à 118,6% du rendement de Altigo).

Les lignées « Bologna » du réseau 1 n'ont d'une manière générale pas présenté de gains importants en rendement en condition BNI (ni en réseau 2) et qui auraient pu être attribués à la résistance aux maladies mais certains segments chromosomiques de la source exotique sembleraient améliorer la performance in fine de la lignée par rapport à son récurrent :

- ABSYNG004 : +3,7% en condition BNI et +9,8% en condition traitée par rapport à Bologna
- ABSYNG164 : +1,8% en condition BNI et +9,2% en condition traitée par rapport à Bologna.

Toutefois, on peut penser qu'une évaluation des lignées dans la zone sud de France, où la pression rouille brune est généralement plus importante, aurait accentué l'écart de rendement en condition BNI entre les lignées et le récurrent.

L'introgression des gènes exotiques, dont les gènes de résistance, dans le fond « Soissons » semble s'accompagner d'effets défavorables sur le rendement. Le gain potentiel en condition BNI lié à l'introgression de gènes de résistance aux maladies n'a pas compensé l'introgression d'allèles défavorables au rendement que l'on a pu constater dans la modalité traitée. Seules quelques lignées dans le réseau 1 présenteraient un gain en rendement traité et en condition BNI :

- ABFLD061 : +3% en condition BNI et +1,6% en condition traitée par rapport à Soissons
- ABFLD245 : +2,8% en condition BNI et +4,5% en condition traitée par rapport à Soissons (tiré par un seul lieu, Orsonville, où la lignée est à 120% du récurrent).

Comme pour les lignées « Bologna », un dispositif expérimental dans le sud de la France avec une bonne pression rouille brune aurait peut-être pu accentuer l'écart avec le récurrent en condition BNI, même si l'essai de Cappelle où la pression fut intéressante n'a permis qu'à une seule lignée (ABFLD144) de présenter un gain en rendement.

De telles différences entre les croisements peuvent en partie s'expliquer par la source « Aegilops ». La source JOY87, utilisée pour être croisée avec Soissons, est un synthétique issu d'un croisement entre un blé dur (Joyau) et un Aegilops tauschii. Les sources utilisées avec Bologna et Altigo sont issues d'un échange avec le CIMMYT. Les lignées BC2 issues de Soissons ont probablement davantage de segments chromosomiques qui sont défavorables aux performances. Des mécanismes de résistance introgressés venant d'Ae. tauschii 87 et mis en place par la plante pourraient également expliquer cette baisse de rendement si ceux-ci sont coûteux en énergie ou interfèrent avec des mécanismes qui ont un impact sur le rendement (telle que la régulation de l'ouverture des stomates...).

Evaluation de la qualité du pool de géniteurs

Une analyse des résultats site par site témoigne de la variabilité existante de la qualité ainsi que des interactions entre l'environnement et les génotypes (Tableau 13).

Reseau	lieu	TP moy	W moy	P/L moy	Note Moy	Note des témoins / commentaires
1	Orsonville (AO)	11,7	242	1,9	251	Témoins conformes aux attentes
	Joze (LVH)	12,9	253	1,2	237	légèrement inférieurs aux attentes - tendance pâtes tenaces favorisées
	Froissy (UNI)	11,4	233	2,1	225	Soissons et Arezzo inférieures aux attentes
2	Cappelle (FD)	11,8	271	1,7	236	Témoins un peu faibles
	Louville (RZN)	12,7	286	1,1	278	notes peu discriminantes (tous BPS)
	Andelu (Syn)	12,3	290	2,1	255	Témoins conformes aux attentes

Tableau13 : Valeur moyenne des sites pour les caractères de l'alvéographe (W et P/L), la teneur en protéine et la note de panification

Les figures XV à XVIII représentent la moyenne par réseau de chaque lignée/variété pour les différents tests réalisés : teneur en protéine, W et P/L de l'alvéographe et notes de panification.

Bien qu'il n'y ait pas de différences significatives avec le récurrent, les lignées BC2 ont tendance à avoir un meilleur taux de protéines même lorsque leur rendement est supérieur au récurrent (Figures XVa et XVb).

Les W des lignées BC2 ne sont également pas significativement différents de ceux du récurrent (Figures XVIa et XVIb). Si les valeurs semblent un peu plus stables pour les lignées « Altigo » et « Soissons » que leur récurrent respectif, les lignées « Bologna »

semblent montrer un peu moins de stabilité que le récurrent lui-même.

Le P/L est le caractère montrant le plus de variabilité lorsque l'on compare les BC2 avec leur récurrent respectif (Figure XVIIa et XVIIb). Il n'est cependant pas possible d'avancer l'hypothèse que les BC2 sont d'une manière générale plus stables ou moins stables que le récurrent.

Enfin, les notes de panification des lignées BC2 sont d'une manière générale du niveau du récurrent voire meilleures que le récurrent. Certaines lignées présentent également une meilleure stabilité des résultats que le récurrent. Ainsi Bologna, de qualité BAF, présente une note moyenne de 230 en réseau 1 et de 212 en réseau 2 avec un écart-type relativement important. Pourtant 4 lignées BC2 présentent un score moyen supérieur à 250 et semblent également beaucoup plus stables que leur récurrent (ABSNG004, ABSNG007, ABSNG116, ABSNG169). Même remarque pour les lignées ABLVHH004, ABLVH145, ABFLD009 et ABFLD061 qui présentent une bien meilleure note que leur récurrent Altigo.

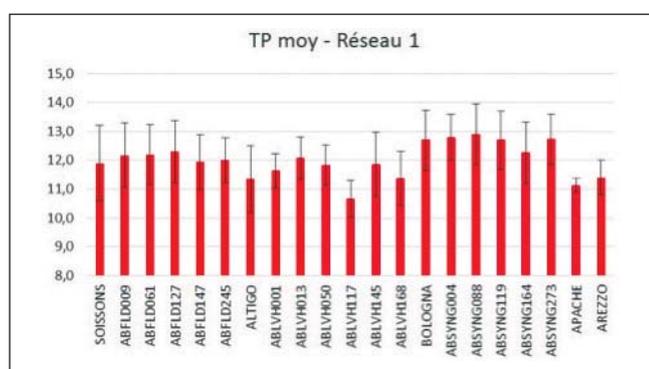


Figure XVa : Teneur moyenne en protéine des lignées et variétés dans le réseau d'essai n°1 en conditions BNI et traitée (3 lieux)

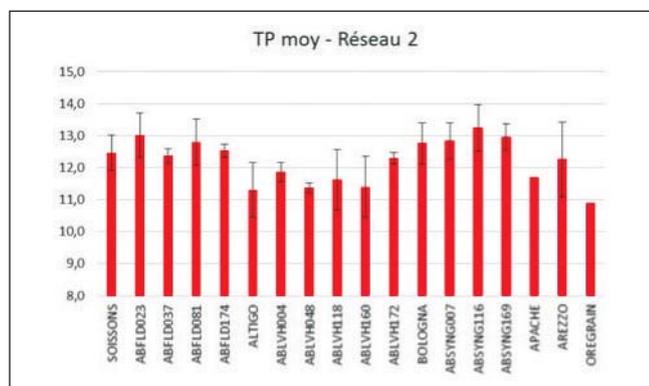


Figure XVb : Teneur moyenne en protéine des lignées et variétés dans le réseau d'essai n°2 en conditions BNI et traitée (3 lieux)

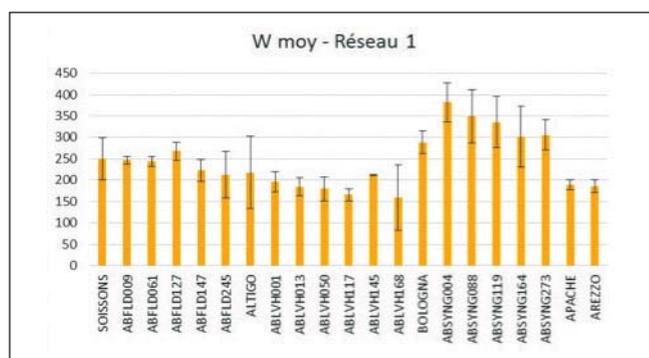


Figure XVIa : W moyen (Alvéographe) des lignées et variétés dans le réseau d'essai n°1 en conditions BNI et traitée (3 lieux)

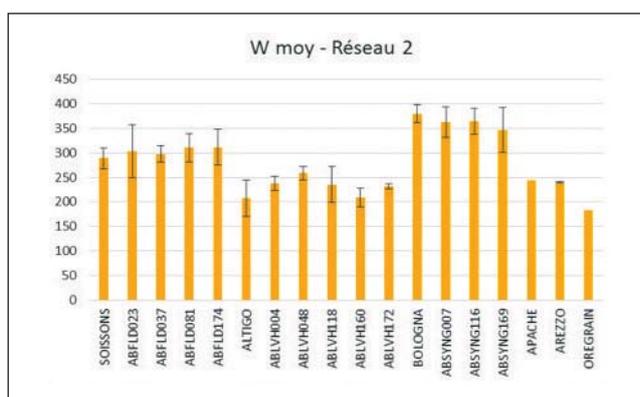


Figure XVIIb : W moyen (Alvéographe) des lignées et variétés dans le réseau d'essai n°2 en conditions BNI et traitée (3 lieux)

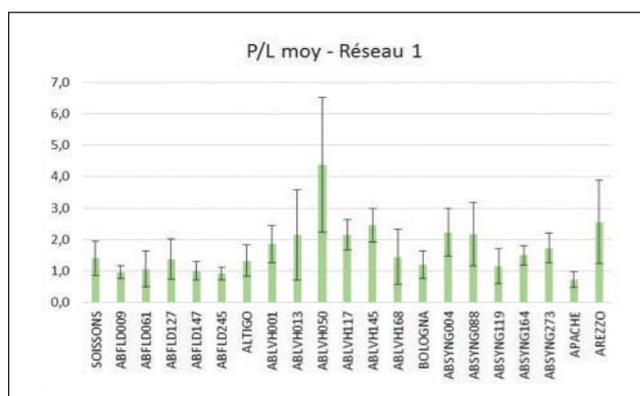


Figure XVIIa : P/L moyen (Alvéographe) des lignées et variétés dans le réseau d'essai n°1 en conditions BNI et traitée (3 lieux)

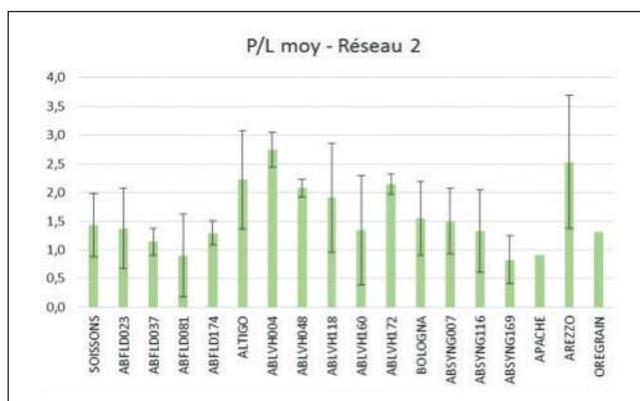


Figure XVIIb : P/L moyen (Alvéographe) des lignées et variétés dans le réseau d'essai n°2 en conditions BNI et traitée (3 lieux)

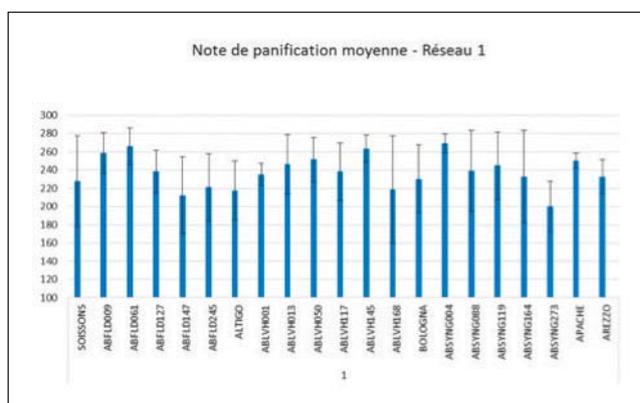


Figure XVIIIa : Note moyenne de panification (PIBEA) des lignées et variétés dans le réseau d'essai n°1 en conditions BNI et traitée (3 lieux)

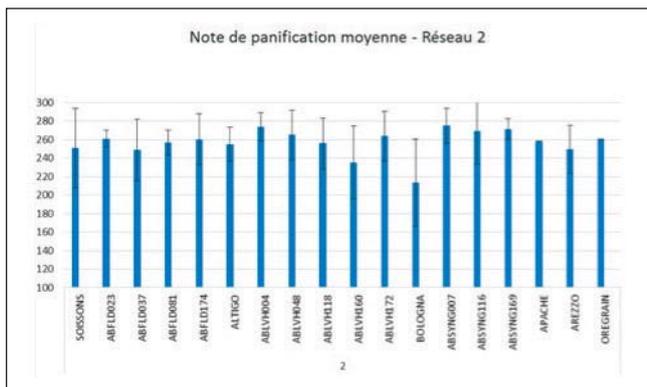


Figure XVIIIb : Note moyenne de panification (PIBEA) des lignées et variétés dans le réseau d'essai n°2 en conditions BNI et traitée (3 lieux)

L'introgression des gènes de lignées exotiques dans le fond élite ne semble pas avoir altéré la qualité des pâtes et de panification pour les lignées sélectionnées comme géniteurs. Certaines lignées BC2 semblent par ailleurs montrer une bonne stabilité dans les différents environnements pour l'ensemble des critères étudiés (ABLVH001, ABLVH004, ABSYNG169 (excepté pour le W), ABFLD009 et ABLVH145 (excepté pour la teneur en protéine)).

Les géniteurs ont aussi été caractérisés pour les gluténines HPM et FPM. La figure XIX illustre les résultats de la population 26ESWT80790/3*BOLOGNA. Le tableau 14 indique les sous-unités ou allèles des parents et des blés synthétiques quand ils sont connus.

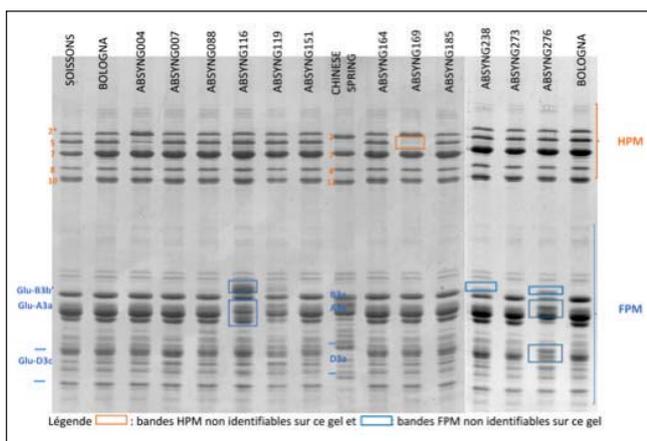


Figure XIX : Gel d'électrophorèse de gluténines HPM et FPM

		ALTIGO	Synth-89	BOLOGNA	SOISSONS	JOY87
HPM	Glu-A1	nul	1	2*	2*	nul
	Glu-B1	7-8	20	7-8	7-8	6-8
	Glu-D1	3-12	2-12?	5-10	5-10	2-11?
FPM	Glu-A3	d	nd	nul	a	nd
	Glu-B3	g	nd	b'	b'	nd
	Glu-D3	c	b	c	c	nd

Tableau 14 : Sous-unités des gluténines HPM et allèles des gluténines FPM des parents (déterminées) et blés synthétiques (informations antérieures) ? nd = non déterminé

Après 3 rétrocroisements avec le parent récurrent, la plupart de ces lignées sont identiques au parent récurrent pour la plupart des gènes. Cependant, certaines se distinguent.

Par rapport à Altigo, on peut différencier : ABLVH013 (sous-unité 20 au gène Glu-B1), ABLVH172 (2-12 au Glu-D1) et ABLVH145 (hétérozygote 2-12/5-10 (provenant probablement d'une contamination, Synth-89 ayant les sous-unités 2-12?). Par contre pour les FPM, plusieurs lignées se distinguent : ABLVH050, 051,

117, 118, 145 et 172 auraient un allèle différent de celui d'Altigo au Glu-A3 et ABLVH048 et 172 au Glu-B3, ABLVH004, 007, 015, 046 et 048 auraient l'allèle b de Synth-89 au Glu-D3.

Par rapport à Bologna, ABSYNG004 et ABSYNG169 montrent des différences d'intensité de bandes électrophorétiques sur Glu-D1 et ABSYNG169 serait hétérozygote sur le Glu-A1. ABSYNG116 se distingue sur Glu-A3 et Glu-B3 mais les allèles n'ont pu être déterminés (il s'agit peut-être de nouveaux allèles ou des électrophorèses supplémentaires seraient à réaliser). Enfin, ABSYNG276 serait hétérozygote au Glu-D3 (allèles c et b, ce dernier pouvant avoir été apporté par 26ESWT80790).

Par rapport à Soissons, ABFLD023 et 072, ABFLD147 et 174, ABFLD009 et 072 seraient hétérozygotes respectivement aux Glu-A1, Glu-B1 et Glu-D1. ABFLD009 et 072 seraient aussi hétérozygotes au Glu-A3 avec un allèle d pouvant donc venir de JOY87, et ABFLD009 a l'allèle g (pouvant venir de JOY87).

La majorité des lignées possédant les allèles des synthétiques ont une note de panification équivalente voir meilleure que le récurrent. Cependant, il est actuellement prématuré de tirer des conclusions sur l'aspect bénéfique ou négatif des allèles HPM et FPM apporté par les synthétiques car d'autres variables pouvant jouer sur la qualité, comme les Gliadines, sont inconnues. Par exemple, ABSYNG007 et ABFLD061 présentent le même profil HPM et FPM, une teneur en protéine, un W, un P/L et une précocité relativement proches de leur récurrent respectif. Néanmoins, ABFLD061 et ABSYNG007 ont une note de panification moyenne de 261 et 275 respectivement contre 240 et 213 pour Soissons et Bologna respectivement.

4. Conclusions et perspectives

La stratégie d' « Advanced Backcross QTL analysis » à partir de 3 populations a permis d'identifier 12 régions chromosomiques impliquées dans la résistance au sens strict à la rouille jaune, à la septoriose et à la fusariose et 47 QTL liés à la qualité. Une approche de type « méta-analyse » a permis de valider 5 QTL de résistance (3 pour la rouille jaune (dont 2 également identifiés dans le FSOV 2012 O), 1 pour la septoriose et 1 pour la rouille brune) et 5 QTL de qualité (1 pour la dureté, le SDS et le W Prédit (cohérent avec la localisation du gène Ha), 1 pour le SDS, 1 pour le mtxi, 1 pour le W Prédit et 1 pour la mpt).

Cette approche « Advanced Back-cross » a également permis d'obtenir des lignées présentant un réel gain dans la résistance à une ou plusieurs maladies du feuillage du blé tendre. Plusieurs lignées ont également démontré de meilleures performances de productivité que les variétés récurrentes aussi bien en conditions BNI qu'en condition traitée, performances pouvant même égaler les témoins CTPS du moment. L'introgression de gènes de résistance aux maladies a pu s'accompagner également d'introgression de nouveaux allèles ou gènes de qualité qui ne semblent pas avoir altéré la qualité de panification type « baguette ». Certaines lignées obtiennent des notes de panification supérieures au parent récurrent mais il est actuellement difficile de démontrer si cette amélioration est liée à ces nouveaux gènes/allèles ou à d'autres facteurs. La poursuite des rétro-croisements et le développement de lignées quasi-isogéniques pourraient alors apporter un premier élément de réponse.

Le projet a ainsi permis de fournir des lignées susceptibles d'être exploitées rapidement dans les programmes création variétale. Les sélectionneurs disposent ainsi de matériel dans un fond élite adapté, ce qui augmentera la chance de succès du déploiement de ces nouveaux gènes dans le germplasm elite ; déploiement qui sera catalysé et facilité par le travail moléculaire effectué en amont.

Références bibliographiques

- [1] McFadden, E.S. and Sears, E.R. 1946. **The origin of *Triticum spelta* and its free-threshing hexaploid relatives.** J. Hered. 37 : 81-89.
- [2] Tanksley, S.D., Nelson, J.C. 1996. **Advanced backcross QTL analysis: a method for the simultaneous discovery and transfer of valuable QTLs from unadapted germplasm into elite breeding lines.** Theor Appl Genet 92, 191-203.
- [3] Eshed Y, Zamir, D (1994). **Introgressions from *Lycopersicon pennellii* can improve the soluble-solids yield of tomato hybrids.** Theor Appl Genet 88, 981-87.
- [4] Martinant J.P., Nicolas Y., Bouguennec A., Popineau Y., Saulnier L., Branlard G. (1998) **Relationships between mixograph parameters and indices of wheat grain quality.** Journal of cereal Science 27, 179-189
- [5] Singh N.K., Shepherd K.W., Cornish G.B. (1991). **A simplified SDS-PAGE procedure for separating LMW subunits of glutenin.** Journal of Cereal Science 14(3) 203-208
- [[6] Lorieux M. (2007) **MapDisto, A Free User-Friendly Program For Computing Genetic Maps.** Computer demonstration (P958) given at the Plant and Animal Genome XV conference, Jan 13-17 2007, San Diego, CA. URL: <http://mapdisto.free.fr/>.
- [7] Wang, S., Basten, C. J. and Zeng, Z. (2007). **Windows QTL cartographer 2.5.** Department of Statistics, North Carolina State University, Raleigh, NC.
- [8] Fiches variétés Arvalis :
- Bologna :**
http://www.fiches.arvalis-infos.fr/fiche_variete/fiches_varietes.php?id_espece=512&mode=fv&id_variete=4256
- Soissons :**
http://www.fiches.arvalis-infos.fr/fiche_variete/fiches_varietes.php?id_espece=512&mode=fv&id_variete=1994
- Altigo :**
http://www.fiches.arvalis-infos.fr/fiche_variete/fiches_varietes.php?id_espece=512&mode=fv&id_variete=4270