

[OWBM2] Identification et validation de nouveaux marqueurs étroitement liés au gène *Sm1* de résistance à la cécidomyie orange du blé tendre

Valérie LAURENT^{1*}, Cristobal UAUY², Delphine Hourcade³, Agnès Tréguier³, Raphaël Ducerf³, Laure DUCHALAIS⁴, Patrice SENELLART⁵, Sébastien CAIVEAU⁵

1 - Florimond DESPREZ - BP41, 59242 Cappelle en pévèle

2 - JOHN INNES CENTRE - NR4 7UH, Colney, Norwich United Kingdom

3 - ARVALIS-Institut du végétal - Chemin de la côte vieille, 31450 Baziège

4 - R2N - Route d'Epincy, 28150 Louville La Chenard

5 - SYNGENTA - 2 Avenue Gustave Eiffel, 28000 Chartres

* **Coordinatrice** : Valérie LAURENT, valerie.laurent@florimond-desprez.fr

1. Introduction

La cécidomyie orange, *Sitodiplosis mosellana*, est un parasite commun du blé responsable de pertes sévères de rendement chaque année dans l'hémisphère nord. Ses larves se nourrissent des grains en cours de formation causant ainsi leur échaudage et des problèmes de germination sur pied. De plus, la présence de ce parasite facilite l'attaque secondaire de champignons comme la fusariose et la septoriose. En 2004, lors d'une pandémie de cécidomyies au Royaume Uni, les pertes de rendement occasionnées par ce parasite furent estimées à 6% (soit environ 1 million de tonnes); ces pertes étaient accompagnées de la diminution de la qualité du grain, malgré l'épandage d'insecticides sur 500 000 ha de blé (Ellis *et al.*, 2009). La cécidomyie orange a une distribution spatiale très inégale et les infestations varient d'année en année en fonction des conditions climatiques, ce qui rend difficile toute prédiction des risques. La principale raison de cette irrégularité est la nécessaire coïncidence entre trois éléments : la phase sensible du blé (début épiaison à fin floraison), la présence de l'insecte adulte en état de pondre, et les conditions climatiques favorables à l'activité de l'insecte à la tombée du jour (vent faible ou nul, températures douces). En plein champ, les dates d'épiaison entre les variétés les plus précoces et les variétés les plus tardives s'échelonnent sur 2 à 3 semaines; la probabilité d'observer des femelles de *S. mosellana* en état de pondre, mais aussi des conditions favorables aux pontes pendant toute cette période, est très faible. L'expérimentation de plein champ est donc assez difficile pour ce type de caractérisation.

La femelle de cécidomyie est un petit insecte qui peut rester caché dans le feuillage du couvert végétal et les larves sont cachées à l'intérieur de l'épi de blé, ce qui les rend difficile à atteindre par pulvérisation d'insecticide. Aussi, pour assurer un contrôle efficace, une application d'insecticide doit être appliquée sans délai avant que les larves ne s'enfoncent dans l'épi.

Un polymorphisme variétal de la résistance à la cécidomyie a été observé dans le matériel de différents pays. Cependant, il y a eu très peu d'études sur la génétique de ces sources de résistance. L'étude la plus importante démontre que la résistance à la cécidomyie des variétés canadiennes est conditionnée par la présence d'un gène majeur unique, *Sm1*, sur le chromosome 2BS du blé tendre. Le marqueur moléculaire PCR (Wm1) du gène *Sm1* (Thomas *et al.* 2005) n'est pas fiable pour l'ensemble du matériel génétique britannique (par exemple, Wm1 ne permet pas de diagnostiquer la présence ou l'absence de *Sm1* dans les variétés Robigus ou Shamrock; Oakley *et al.* 2005). Dans le cadre du précédent projet FSOV FSOV2010L (Robert *et al.* 2015), la colinéarité entre le blé, le riz et *Brachypodium* au niveau de l'intervalle de *Sm1* (entre les

marqueurs Wm1 et gwm210; Thomas *et al.* 2005) a permis de cartographier plus finement le gène *Sm1* entre les 2 marqueurs Kaspar OWBM7 et OWBM9 au niveau du marqueur OWBM6. L'haplotype sensible constitué des allèles de ces 3 marqueurs s'est révélé très prédictif des 97 géotypes français testés. Toutefois pour 3 lignées, les marqueurs ont révélé des faux négatifs (haplotype sensible mais géotype résistant).

Ce projet vise à obtenir des marqueurs totalement fiables du caractère de résistance qui permettront aux sélectionneurs de s'affranchir du phénotypage.

2. Matériel et méthode

► Matériel

Dans le projet FSOV2010L, un ensemble de lignées quasi-isogéniques (NILs) pour la région du chromosome 2BS entre Shamrock (- *Sm1*) et Robigus (+ *Sm1*), a été développé par le John Innes Center (JIC) avec Robigus comme parent récurrent. Sept lignées recombinantes ont été retenues, parmi les 43 présentant une recombinaison au plus près du gène *Sm1*, pour la cartographie fine du gène.

Une nouvelle population de 2796 F2 issue du croisement Rubisko x RW21233, développée par RAGT, a été utilisée pour affiner la cartographie du gène.

Un panel d'Arvalis de 72 variétés de phénotype connu, la liste de 106 variétés recommandées en Angleterre et le panel de 92 variétés utilisé dans le projet FSOV 2010L ont été utilisés pour valider les marqueurs et 811 accessions de la collection Watkins de landraces de blé hexaploïdes (Miller *et al.*, 2001) et 479 variétés de la collection Gediflux (Reeves *et al.*, 2004) pour tester la présence du gène *Sm1*.

► Méthodes

Phénotypage en champs

En 2015, 7 lignées NILs avec une recombinaison flanquant le gène *Sm1* ainsi que les 2 parents ont été phénotypés en plein champ en 3 lieux :

- à Ickleton (UK) à quelques kilomètres au sud-ouest de Cambridge en 6 répétitions semées à 2 dates différentes (3 répétitions le 08 octobre et 3 autres le 27 octobre) afin de maximiser les chances d'avoir un vol de cécidomyies lors de la floraison de ces lignées,
- à Orgerus (78) en 5 répétitions de 6 lignes,
- à Ouzouer-Le-Marché (41) sur une parcelle caractérisée pour son potentiel d'infestation et utilisée annuellement pour l'évaluation en 3 répétitions de la résistance à la cécidomyie des nouvelles inscriptions.

En 2016, à partir de la population Rubisko x RW21233, 32 descendances de 30 plantes F3 chacune ont été phénotypées au champ à Ickleton. Ces plantes correspondent à des plantes F2 suspectées d'être recombinantes (hétérozygotie des marqueurs). En parallèle de leur phénotypage, elles ont été génotypées et les plantes homozygotes informatives pour le gène ont été envoyées à Arvalis pour le comptage des larves.

En 2017, pour affiner la résolution de la cartographie de *Sm1*, 31 plantes F3 de la population Rubisko x RW21233 dans la zone cible ont été phénotypées par le CRAW en conditions contrôlées et en 2 lieux au champ.

31 individus F3 et 2 témoins ont été implantés :

- en 2 répétitions sur le site d'Ouzouer-le-Marché.
- en 3 répétitions de 1 ligne de 1m50 à Theuville (28).

Les dates d'épiaison et de floraison ont été notées pour chaque entrée.

L'importance des vols de cécidomyies orange a été estimée grâce à un relevé de pièges (cuvette jaune) tous les 2 jours de mi-mai à mi-juillet. Les pièges à insectes sont des cuvettes remplies d'eau additionnée d'une dizaine de gouttes de Teepol. Deux cuvettes par essai ont été placées de façon à ce que le bord supérieur soit au niveau de la base des épis.

Dix épis par entrée ont été récoltés 3 semaines après que la lignée la plus tardive ait fleuri. Ces épis ont été immédiatement congelés puis envoyés à Arvalis pour comptage des larves. Un comptage détaillé des larves a été réalisé pour l'essai présentant le niveau d'infestation le plus élevé.

Phénotypage en conditions contrôlées

Afin de s'affranchir de l'irrégularité des émergences et des pontes de l'insecte au champ, une partie du phénotypage a été réalisé en conditions contrôlées par le Centre Wallon de Recherches Agronomiques de Gembloux.

Les mêmes 7 lignées de la descendance Robigus x Shamrock et 32 génotypes de la population Rubisko x RW21233, phénotypés au champ, ont été évalués en 2 répétitions en conditions contrôlées en 2015 et 2017 respectivement.

Après la vernalisation, les plantes ont été repiquées dans des conteneurs disposés à l'extérieur puis à l'approche de l'épiaison, en serre et couverts de voiles. Les lâchers d'insectes ont eu lieu tous les jours de l'épiaison des premiers épis dans les variétés les plus précoces jusqu'à la fin de la floraison des variétés les plus tardives. Au total, plus de 40.000 individus (mâles et femelles) ont été lâchés, ce qui représente près de 4 cécidomyies pour un épi.

Les larves de 20 épis de chaque génotype par répétition ont été comptées.

Génotypage et développement de marqueurs moléculaires

Les SNPs utilisés sont des KASPar dérivés de marqueurs présents sur la puce 90K iSelect.

Suite à la collaboration du JIC avec les laboratoires canadiens de Curt McCartney (Morden Research and Development Centre, Agriculture and Agri-Food Canada,) et Curtis Pozniak (Crop Development Centre, University of Saskatchewan) mise en place durant le projet FSOV2010L (Kassa *et al.* 2016), des marqueurs kwm canadiens cartographiés sur une descendance 99B60-EJ2D x Thatcher ont également été utilisés.

Le génotypage a été réalisé pour affiner la cartographie de la population Robigus x Shamrock, réaliser la cartographie de la zone de *Sm1* pour la population Rubisko x RW21233 et effectuer l'étude de génétique d'association (GWAS). Les meilleurs marqueurs ont également été génotypés sur les 3 panels de validations et 2 panels à caractériser pour la résistance.

3. Résultats

► Phénotypage

En 2015, en plein champ, les vols se sont avérés généralement relativement faibles voire nuls à Ickleton et le vol principal de cécidomyies est arrivé trop tard, après la floraison des lignées à Orgerus. Le pic de vol des cécidomyies a coïncidé avec la phase de sensibilité des variétés (épiaison) seulement sur le site d'Ouzouer (cf Fig. 1). Sur cette figure, les pluies inductrices déclenchant l'émergence des cécidomyies adultes sont mises en évidence.

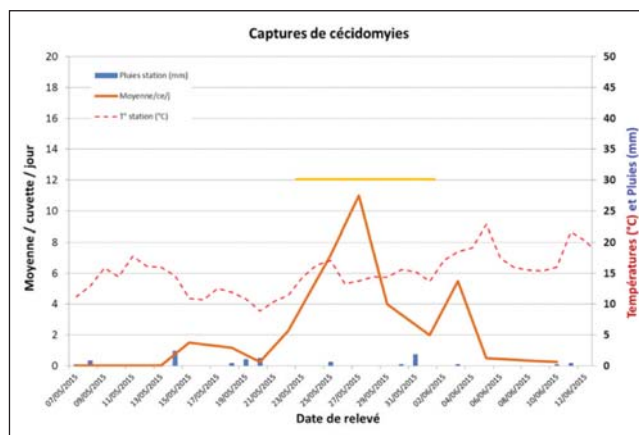


Figure 1: Relevés des conditions climatiques 2015 à Ouzouer en relation avec le nombre de cécidomyies capturées et la période d'épiaison. La période d'épiaison des lignées étudiée est représentée par la trait jaune.

En conditions contrôlées, les lâchers d'insectes ont eu lieu tous les jours de l'épiaison des premiers épis dans les variétés les plus précoces (19/05/2015) jusqu'à la fin de la floraison des variétés les plus tardives (15/06/2015).

A Ouzouer, au champ, le contraste entre le nombre de larves dans le témoin sensible et le parent résistant Robigus est de 3.1/0. A Orgerus, l'essai présente une infestation plus importante avec un pic de 27 cécidomyies par cuvette et par jour en période post floraison, mais le pic de vol des cécidomyies, plus tardif par rapport à la phase de sensibilité, a fait que seulement 0.3 larve en moyenne a été observée dans la variété sensible.

L'expérimentation en conditions contrôlées a soumis les génotypes à une pression beaucoup plus importante de cécidomyies oranges, conduisant à des niveaux moyens d'infestation très élevés, voisins de 100 larves par épi dans les variétés les plus sensibles. Dans ces conditions, Soissons et Bermude, utilisées comme références sensibles, et le parent sensible Shamrock renfermaient beaucoup de larves, alors que Robigus, parent résistant, n'en renfermait que très peu (cf Fig. 2).

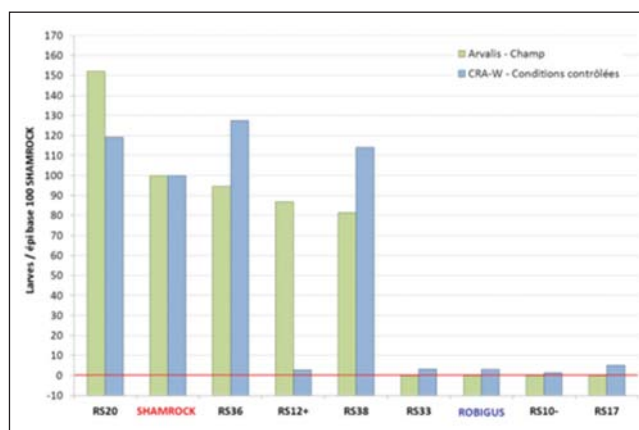


Figure 2 : Comparaison du nombre de larves par épi en 2015 au champ à Ouzouer et en conditions contrôlées au CRA-W.

En plein champ, les NILs RS33, RS10, RS17 confirment leur tolérance à la cécidomyie orange et RS12, RS36 et RS38 leur sensibilité. La résistance des NILs RS17, RS33 et RS10- et la sensibilité des lignées RS20, RS36, RS38 sont confirmées en conditions contrôlées.

Les résultats sont concordants pour toutes les variétés sauf pour RS12+. La NIL RS12+ (sensibile à Rothwell en 2014 et chez Arvalis en 2013) est notée résistante pour le test en conditions contrôlées. Une erreur du lot de semences est envisagée.

En 2017, du fait des conditions climatiques en France, sur les 2 sites de notations, il y a eu un décalage entre la phase d'émergence des larves et la période de sensibilité des variétés provoquant une pression relativement faible pendant l'expérimentation. Il y a en effet eu une période de faible pluviométrie entre le 20 mars et le 20 avril durant la phase d'émergence des adultes, qui ont besoin d'humidité pour que le processus soit favorisé. Cette faible pluviométrie peut expliquer les niveaux d'infestation très faibles observés sur les 2 sites français.

En effet le relevé des cuvettes met en évidence une moyenne de 2 cécidomyies/cuvette au moment de l'épiaison des variétés et à 3 cécidomyies en post épiaison. Le nombre moyen de larves par épi s'élève à 2 larves par épis, confirmant le faible taux d'infestation relevé avec les cuvettes. A Orgerus, le nombre moyen de larves par épi diminue à 0.13, mettant en évidence que l'infestation était quasi inexistante sur ce site en 2017.

Ce décalage entre période d'épiaison et vol de cécidomyie montre que la pression de l'insecte a atteint son maximum après le pic des épiaisons.

En conditions contrôlées, à partir du 16 mai, au début des premières épiaisons, les génotypes ont été mis en contact sous un filet insect-proof avec des cécidomyies prêtes à pondre, chaque jour et jusqu'à

la fin de la floraison, le 3 juin.

Le classement des génotypes entre résistance et sensibilité en conditions contrôlées (cf Fig. 3) est le même que celui obtenu par les mesures en conditions naturelles sur le site d'Ouzouer malgré le faible taux d'infestation. On a pu ainsi identifier 15 individus F4 sensibles, et 16 individus F4 résistants.

► Amélioration de la résolution de la cartographie du gène de résistance *Sm1*

La réduction de l'intervalle de marqueurs cartographiés autour du gène *Sm1* lors du projet FSOV2010L sur la population Robigus x Shamrock a été poursuivie par cartographie à l'aide de marqueurs situés entre 19 et 32 cM sur le chromosome 2B de la carte de Wang *et al.* 2014 (Wheat_2014_90KSNP). L'intervalle a diminué de 1.46 cM à 0.72 cM. De plus, 7 nouveaux marqueurs coségrégant avec *Sm1* ont été identifiés. Ces marqueurs ont été transformés en marqueurs KASPar.

Comme, il n'y avait plus de lignées recombinantes du croisement Robigus x Shamrock, la réduction de l'intervalle de marqueurs cartographiés autour du gène *Sm1* a été poursuivie sur la population Rubisko x RW21233 de 2798 individus F2. Ces individus ont été génotypés avec les marqueurs flanquant le gène *Sm1*, 128838 (distal) et 184137 (kwm29; proximal).

La carte Rubisko x RW21233 obtenue est cohérente avec celle de la population Robigus x Shamrock. Cent-cinquante-deux individus recombinants ont été identifiés entre les marqueurs 128838 et 184137, ils couvrent une zone de 2.63 cM qui correspond parfaitement à la zone de 1.1 cM de la population Robigus x Shamrock (cf Fig. 4).

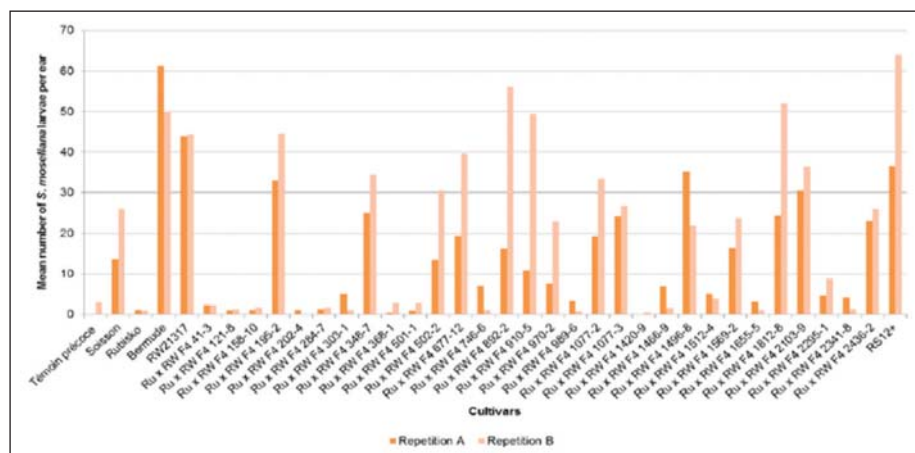


Figure 3 : Nombre moyen de larves par épi en conditions contrôlées au CRA-W en 2017

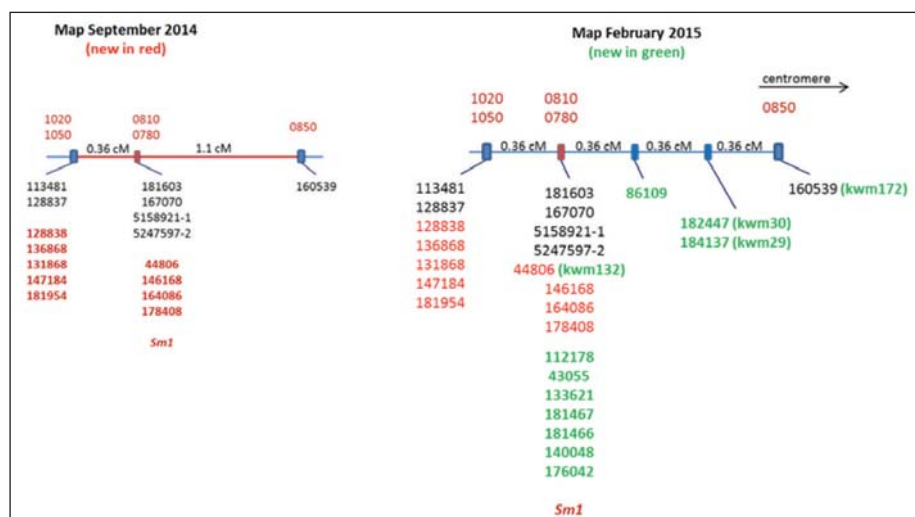


Figure 4 : Représentation de l'avancement de la cartographie de Robigus x Shamrock par ajout des marqueurs canadiens (kwm) et des marqueurs définis sur la population Rubisko x RW21233

La carte obtenue est également concordante avec la carte canadienne 99B60-EJ2D x Thatcher.

Soixante-dix plantes F2 intéressantes ont été identifiées à partir des données de cartographie et une quinzaine de plantes F3 correspondant à 38 de ces F2 ont été semées à Ickleton et génotypées de façon à identifier les plantes homozygotes pour le gène *Sm1*.



Figure 5 : Localisation des marqueurs SNP liés à *Sm1* par cartographie et GWAS. Les chiffres en bleu représentent le nombre de recombinants entre 2 marqueurs.

En se concentrant autour du gène *Sm1*, 23 recombinaisons d'un côté du gène et 15 recombinaisons de l'autre côté ont été identifiées (cf Fig. 5). Trente-deux individus recombinants supplémentaires douteux, dû à la dominance de marqueurs, ont également été retenus pour une caractérisation phénotypique au champ et génotypique. Huit individus recombinants homozygotes supplémentaires dans la région, sont ainsi venus compléter les 23 plantes homozygotes autour du gène *Sm1* sélectionnées en année 1. Les 31 plantes correspondantes ont été autofécondées pour effectuer un phénotypage multilocal en champ et en conditions contrôlées en année 3 et affiner la cartographie.

► Identification de marqueurs par génétique d'association

Les marqueurs de cartographie flanquant *Sm1* (2.63 cM) ont permis de délimiter une zone physique située entre 3.7 Mpb à

17 Mpb sur la version de génome assemblé IWGSC WGA v0.4 (NRGene DeNovoMAGIC publié en juin 2016).

Une analyse d'association a été réalisée avec 22 lignées anglaises séquencées (8 lignées avec *Sm1* et 14 sans *Sm1*), et 1564 SNP provenant de cet intervalle de 14 Mpb (cf Fig. 6).

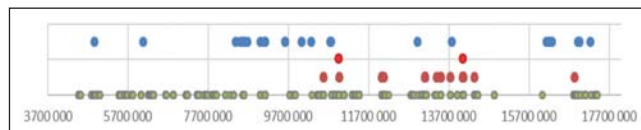


Figure 6 : Répartition le long de la zone cible de 13.3 Mpb du gène *Sm1* des SNP utilisés en génétique d'association. Vert : SNP, bleu les gènes NB-LRR, rouge : SNP parfaitement associés, marron : SNP non associés

Trois marqueurs SNP (BS000128837, BS00160539 et BS00022126) présentent une association parfaite avec la résistance. Seuls les 2 premiers SNP se trouvent également sur la carte Robigus x Shamrock de part et d'autre de *Sm1*. Vingt et un marqueurs SNP ont une association plus lâche.

Vingt-sept gènes de résistance de type NB-LRR, organisés en 6 clusters de gènes, ont été trouvés dans la région de *Sm1*. Les 2 marqueurs parfaits sont situés aux environs de 10 Mpb et 14 Mpb sur le chromosome 2BS; ils ont été génotypés sur le panel de 96 lignées du 1^{er} projet FSOV 2010L pour valider leur fiabilité.

► Recherche de marqueurs parfaits

Les marqueurs 164086 et 16856919 coségrègent parfaitement avec la résistance des 2 populations Robigus x Shamrock et Rubisko x RW21233 (cf Tab. 1).

SNP	Kwm1140										
	128838	181603	16856919	CRAW-2017	164086	133621	176043	23831	5158921-1	182447	184137
Ru (A)	A:A	A:A	A:A	R	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A
RW (B)	B:B	B:B	B:B	S	B:B	B:B	B:B	B:B	B:B	B:B	B:B
303	B:B	B:B	x	A:A	R	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A
1512	B:B	B:B	x	A:A	R	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A
1466	B:B	B:B	x	A:A	R	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A
2295	B:B	B:B	x	A:A	R	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A
1420	B:B	B:B	x	A:A	R	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A
892	B:B	B:B		B:B	S	B:B	x	A:A	A:A	A:A	A:A
910	B:B	B:B		B:B	S	B:B	x	A:A	A:A	A:A	A:A
970	B:B	B:B		B:B	S	B:B	x	A:A	A:A	A:A	A:A
1812	B:B	B:B		B:B	S	B:B	x	A:A	A:A	A:A	A:A
2583	B:B	B:B		B:B	S	B:B	x	A:A	A:A	A:A	A:A
502	B:B	B:B		B:B	S	B:B	x	A:A	A:A	A:A	A:A
195	B:B	B:B		S	B:B	x	A:A	A:A	A:A	A:A	A:A
348	B:B	B:B		B:B	S	B:B	x	A:A	A:A	A:A	A:A
677	B:B	B:B		B:B	S	B:B	x	A:A	A:A	A:A	A:A
1077	B:B	B:B		B:B	S	B:B	x	A:A	A:A	A:A	A:A
1107	B:B	B:B		B:B	S	B:B	x	A:A	A:A	A:A	A:A
1496	B:B	B:B		B:B	S	B:B	x	A:A	A:A	A:A	A:A
1569	B:B	*		B:B	S	B:B	x	A:A	A:A	A:A	A:A
2436	B:B	B:B		B:B	S	B:B	x	A:A	A:A	A:A	A:A
2234	B:B	B:B		B:B	S	B:B	x	A:A	A:A	A:A	A:A
2763	B:B	B:B		B:B	S	B:B	x	A:A	A:A	A:A	A:A
1028	B:B	B:B		B:B	S	B:B	x	A:A	A:A	A:A	A:A
1948	B:B	B:B		B:B	S	B:B	x	A:A	A:A	A:A	A:A
1710	B:B	B:B		B:B	S	B:B	x	A:A	A:A	A:A	A:A
389	B:B	B:B		B:B	S	B:B	x	A:A	A:A	A:A	A:A
868	B:B	B:B		B:B	S	B:B	x	A:A	A:A	A:A	A:A
1128	B:B	B:B		B:B	S	B:B	x	A:A	A:A	A:A	A:A
1486	B:B	B:B		B:B	S	B:B	x	A:A	A:A	A:A	A:A
1705	B:B	B:B		B:B	S	B:B	x	A:A	A:A	A:A	A:A
2270	B:B	B:B		B:B	S	B:B	x	A:A	A:A	A:A	A:A
2717	B:B	B:B		B:B	S	B:B	x	A:A	A:A	A:A	A:A
2720	B:B	B:B		B:B	S	B:B	x	A:A	A:A	A:A	A:A
719	B:B	B:B		B:B	S	B:B	x	A:A	A:A	A:A	A:A
1138	B:B	B:B		B:B	S	B:B	x	A:A	A:A	A:A	A:A
2103	A:A	A:A	x	B:B	S	B:B		B:B	B:B	B:B	B:B
121	A:A	A:A		A:A	R	A:A	x	B:B	B:B	B:B	B:B
158	A:A	A:A		A:A	R	A:A	x	B:B	B:B	B:B	B:B
202	A:A	A:A		A:A	R	A:A	x	B:B	B:B	B:B	B:B
284	A:A	A:A		A:A	R	A:A	x	B:B	B:B	B:B	B:B
368	A:A	A:A		A:A	R	A:A	x	B:B	B:B	B:B	B:B
501	*	A:A		A:A	R	A:A	x	B:B	B:B	B:B	B:B
746	A:A	A:A		A:A	R	A:A	x	B:B	B:B	B:B	B:B
989	A:A	A:A		A:A	R	A:A	x	B:B	B:B	B:B	B:B
2341	A:A	A:A		A:A	R	A:A	x	B:B	B:B	B:B	B:B
1655	A:A	A:A		A:A	R	A:A	x	B:B	B:B	B:B	B:B
41	A:A	A:A		A:A	R	A:A	x	B:B	B:B	B:B	B:B
2560	A:A	A:A		A:A	R	A:A	x	B:B	B:B	B:B	B:B

Tableau 1 : Génotypage de 47 recombinants de la population Rubisko x RW21233

► Validations des marqueurs diagnostiques

Afin de valider les marqueurs diagnostiques du gène *Sm1* identifiés, un panel de 72 variétés élités constitué sur la base d'évaluations phénotypiques menées par Arvalis a été génotypé avec les 2 marqueurs identifiés, celui du FSOV, BS00164086 et celui des canadiens, BS16856919. Le résultat du génotypage a été comparé au phénotypage (cf Tab. 2).

BS00164086	Marqueur R	Marqueur S	total
R phénotype	37	0	37
S phénotype	19	16	35

BS16856919	Marqueur R	Marqueur S	total
R phénotype	37	0	37
S phénotype	0	35	35

Tableau 2 : Comparaison de la fiabilité du génotypage des 2 marqueurs BS00164086 et BS16856919.

Le marqueur BS00164086 présente 33% de faux positifs (variété annoncée résistante alors que le gène est absent) alors que le génotypage obtenu par le marqueur canadien BS16856919 est en adéquation parfaite avec la résistance au champ. Ce marqueur a été positionné sur le génome de référence IWGSC refseq1, il est situé dans le R-gène de type NBS-LRR-like resistance, TraesCS2B01G033700.

L'apparition de faux positifs avec le marqueur BS00164086 est confirmée sur 2 autres panels de génotypes: la liste de variétés recommandées en Angleterre (106 UK Recommended genotypes) et le panel utilisé dans le projet FSOV 2010L.

BS00164086	Marqueur R	Marqueur S	total	
R phénotype	37	0	37	UK Recommended List
S phénotype	2	67	69	

BS00164086	Marqueur R	Marqueur S	total	
R phénotype	54	3	57	panel FSOV2010L
S phénotype	1	34	35	

Tableau 3 : Validation complémentaire du marqueur BS00164086 sur les panels de variétés UK Recommended List et FSOV2010L.

Les 6 individus faux positifs (RGT illustrious, Paragon et K3909) et faux négatifs (As de Cœur, Zobel et LGB OBM 11-08) de ces

2 panels (cf Tab. 3) sont en cours d'étude au Canada en chambre de culture pour confirmer/ infirmer leur singularité et valider le marqueur BS16856919.

► Présence de *Sm1* dans des panels de diversité

Le marqueur BS00164086 du gène *Sm1* a été génotypé sur 811 accessions de la collection Watkins de landraces de blé hexaploïdes (Miller et al, 2001). Seulement 1.7% des landraces (13 génotypes) présentent l'allèle résistant. Aucune origine géographique de la résistance ne semble prédominante, l'allèle résistant semble avoir été introduit faiblement à partir d'origines multiples : 10 à 15% parmi les accessions de Chine, Hongrie, Roumanie et dans une moindre mesure, moins de 5%, parmi les accessions du Maroc, d'URSS et d'Inde.

Le marqueur a également été testé sur 479 variétés de la collection Gediflux. La collection Gediflux est constituée de variétés de blé d'hiver cultivées en Angleterre et au nord de l'Europe de l'Ouest entre les années 1940s et 1980s (Reeves et al, 2004). De nouveau, l'allèle résistant est peu présent, 1.4% (6 variétés dont Renan).

L'ensemble de ces résultats suggère que le gène *Sm1* est récemment apparu en Europe, sa présence étant validée dans moins de 2% de la collection Gediflux et jusqu'à plus de 35% de la liste de recommandation britannique de 2005 à 2018.

4. Conclusions

Durant ce projet, par l'étude d'individus recombinants supplémentaires, nous sommes parvenus à diminuer l'intervalle de confiance autour du gène de résistance à la cécidomyie orange, *Sm1*, de 6.2 cM sur la carte consensus de blé (à la fin du projet FSOV 2010L) à 1.1 cM grâce à la nouvelle population F2 Rubisko x RW21233. Sur le génome de référence RefSeq, cela représente une diminution de 5.7 Mb à 1.2 Mb. Nous avons ainsi obtenu un marqueur parfaitement lié avec l'expression de la résistance au champ grâce à une collaboration avec des chercheurs canadiens mise en place durant le précédent projet FSOV2010L. Ce marqueur sera très utile aux sélectionneurs pour identifier et suivre la résistance dans les lignées sans être tributaire d'une infestation naturelle aléatoire.

Références bibliographiques

Ellis SA, Bruce TJA, Smart LE et al. (2009) Integrated management strategies for varieties tolerant and susceptible to wheat blossom midge. HGCA Poject Report 451.

Kassa MT, Haas S, Schliephake E, Lewis C, You, FM, Pozniak CJ et al. (2016) A saturated SNP linkage map for the orange wheat blossom midge resistance gene *Sm1* Theor Appl Genet 129 : 1507-1517

Miller TE, Ambrose MJ, Reader SM (2001) Linnean special issue, the Watkins collection of landrace derived wheats. Wheat taxonomy: the legacy of John Precival. The Linnean Society of London, special issue 3 : 113-120.

Oakley JN, Ellis SA, Wathling M et al. (2005) Responses of summer cereal aphid populations to reduced rate aphicide applications in field plots of winter wheat. Agriculatural and Forest Entomology 7: 211-218

Reeves J, Chiapparino E, Donini P, Ganal M et al. (2004) Changes over time in the genetic diversity of four major European crops: a report from the GEDIFLUX Framework 5 Project. Genetic variation for plant breeding. Proceedings of the 17th EUCARPIA general congress, 8-11 September 2004: 3-7

Robert O, Uauy C, Taupin, P, Duchalais L, Senellart P et Satragliati, J (2015) Etude et identification de facteurs de résistance à la cécidomyie chez le blé tendre. Synthèse des programmes de Recherche FSOV 8 janvier 2015 : 38-41

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

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