

# TritiRB : Caractérisation de sources de résistance durables à la rouille brune chez le Triticale

Henriette GOYEAU<sup>1</sup>, Anne-Lise BOIXEL<sup>1</sup>, Ghislain DELESTRE<sup>1</sup>, Corentin PICARD<sup>1</sup>, Annaig BOUGUENNEC<sup>3</sup>, Christophe JEUDI<sup>2\*</sup>, Éric DELALEAU<sup>4</sup>, Frédéric FANTIN<sup>5</sup>, Anthony ROULLIER<sup>6</sup>, Philippe Du CHEYRON<sup>7</sup>, Valérie LAURENT<sup>2</sup>, Ellen GOUDEMAM DUGUE<sup>2</sup>

1 - Université Paris-Saclay, INRAE, UR BIOGER, 91123 Palaiseau, FRANCE

2 - SAS Florimond Desprez Veuve et Fils, BP 41, 59242 Cappel en Pévèle

3 - UCA, INRAE, GDEC, 63000, Clermont-Ferrand, FRANCE

4 - Lemaire-Deffontaines, 180 rue du Rossignol, 59310 Auchy les Orchies

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

6 - RAGT 2n, rue Emile Singla, site de Bourran, 12000 Rodez

7 - Arvalis-Institut du Végétal, 3 rue Joseph et Marie Hackin, 75016 Paris

\*Coordinateur : GIE Triticale

## 1 Introduction

La France est le 3<sup>e</sup> producteur Européen de triticale, après la Pologne et l'Allemagne, avec une production annuelle autour de 2 millions de tonnes (FAOSTAT, 2024). Après une augmentation quasi-constante depuis 30 ans, les surfaces de triticale en France ont atteint 416 000 ha en 2012, et étaient de 326 000 ha en 2023 (source Agreste 2016 et 2023), répartis sur 5 bassins : Bretagne, Centre-Est, Pays de Loire, Centre-Ouest et Occitanie. Chez cette espèce destinée essentiellement au marché fourrager, le progrès génétique a permis une amélioration de la qualité du grain (moins d'échaudage notamment) et du rendement en grains et en pailles. L'offre variétale s'est élargie, avec actuellement une trentaine de variétés disponibles en France. Issu du croisement entre un blé (*Triticum spp.*) et un seigle (*Secale cereale*), le triticale (*x Triticosecale*) est une céréale récente : les premiers programmes de sélection ont débuté dans les années 1960. L'origine récente de l'espèce a pour conséquence une base génétique encore relativement étroite.

En conditions climatiques et édaphiques peu favorables, le rendement du triticale est supérieur à celui du blé. En conséquence, le triticale est une culture indispensable dans des zones où les stress tels que les sols hydromorphes, la sécheresse et l'acidité du sol ne permettent pas la culture du blé (Audenaert *et al.*, 2014). Par ailleurs, le triticale est particulièrement adapté à la culture à bas niveaux d'intrants, par ses besoins en nutriments plus modestes que le blé, et par un bon niveau de résistance aux bioagresseurs. La rouille brune, causée par *Puccinia triticina*, est une préoccupation importante, puisque sur variétés sensibles, en 2016 en Bretagne, elle a provoqué des pertes de rendement de 30 à 60 quintaux (Culture du triticale – ARVALIS 2023). Dès le début des années 80, les triticales ont été utilisées en croisement pour introgresser leur très bonne résistance à la rouille brune dans des variétés de blé tendre américaines (Wilson and Shaner, 1984, 1987), ou du CIMMYT (Wilson, 1989). Cependant, dès les années 1990, la question de la sensibilité du triticale aux rouilles s'est posée en Allemagne (Schinkel 2002, cité par Audenaert *et al.*, 2014), puis en Pologne (Sodkiewicz and Strzembicka, 2004), ainsi qu'en Russie

et en Belgique (Audenaert *et al.*, 2014). En effet, avec la forte progression des surfaces cultivées en triticale, le spectre et l'incidence des maladies sur cette culture a évolué (Oettler, 2005), avec une adaptation des agents pathogènes fongiques à ce nouvel hôte. Malgré des tentatives de diversification de sources de résistance aux maladies du triticale conduites à partir d'*Aegilops tauschii* (Kwiatk *et al.*, 2015), la base génétique des programmes de sélection actuels demeure très étroite (Audenaert *et al.*, 2014).

Les études du déterminisme génétique de la résistance aux principales maladies préoccupantes du triticale (oïdium, rouilles et fusariose ; Audenaert *et al.*, 2014) sont encore très peu développées. Des variétés avec un bon niveau de résistance adulte au champ à l'oïdium ont été répertoriées (Flath, 2011; Troch *et al.*, 2013), mais la base génétique de la résistance à l'oïdium chez une gamme de variétés de triticale européennes demeure étroite (Troch *et al.*, 2013). Une analyse de génétique d'association pour la résistance à la rouille jaune, motivée par l'émergence d'une nouvelle race agressive en Europe, a été conduite sur 919 lignées et variétés de triticale (Losert *et al.*, 2017). Elle a permis de mettre en évidence une résistance de type quantitatif, basée sur quelques QTL à effet moyen. Pour la rouille brune, seules deux études ont identifié une résistance basée sur des gènes spécifiques (Audenaert *et al.*, 2014), dont un (LrTM16) introduit à partir de *T. monococcum*. Le déterminisme génétique de la résistance du triticale à la rouille brune reste donc largement méconnu. La résistance des variétés de triticale actuellement inscrites en France est de très bon niveau, la majorité des variétés ayant une note Arvalis-Geves d'au moins 7. Toutefois, si la base génétique de cette résistance à la rouille brune ne repose que sur quelques gènes de résistance spécifique, l'évolution des populations de *P. triticina* pourrait rapidement détériorer le niveau de résistance de ces variétés. Il est donc nécessaire de veiller à diversifier la base génétique du matériel utilisé en France.

La qualité et la précision des résultats des études de déterminisme génétique reposent fortement sur la pertinence du phénotypage. En matière de résistance aux maladies, le phénotypage doit être conduit avec des isolats du pathogène représentatifs de la population ciblée et de sa diversité. Pour des agents pathogènes



biotrophes et hautement spécialisés comme les rouilles et l'oïdium, et pour une espèce hôte résultant d'un croisement récent entre blé et seigle, la question se pose de l'origine des isolats virulents sur triticales : populations déjà existantes sur blé et/ou seigle, ou bien émergence d'une nouvelle population spécifique au triticales ?

L'étude de la structure génétique des populations de *Blumeria graminis* a mis en évidence que les isolats d'oïdium virulents sur triticales résultaient d'événements de différenciation récents et multiples, dans le temps et dans l'espace en Europe, à partir de la population virulente sur blé (Troch *et al.*, 2012). Les isolats de *B. graminis* issus de triticales sont plus agressifs sur triticales que sur blé, et réciproquement. Pour la rouille jaune, la race à l'origine d'épidémies en Scandinavie en 2009-2010 était bien spécifique au triticales (Ali *et al.*, 2017). Par contre, il semble que la race « Warrior » d'origine exotique détectée à partir de 2011, suite au contournement de la résistance de la variété de blé du même nom, soit capable d'attaquer également le triticales (Hovmoller *et al.*, 2016). Pour la rouille brune, l'espèce présente sur triticales, *P. triticina*, est la même que sur le blé. Toutefois, la littérature sur la structure des populations de rouille brune sur triticales est rare et souvent peu précise, et ne permet pas de déterminer si les épidémies survenues sur triticales sont dues à des pathotypes spécialisés.

Les tests de résistance à la rouille brune de lignées et variétés de triticales réalisés en République Tchèque (Hanzalova and Bartos, 2011), en Inde (Bhardwaj *et al.*, 2010), et en Australie (Zhang *et al.*, 2010) ne précisent pas si les pathotypes de rouille brune utilisés provenaient d'isolats collectés sur triticales. En Afrique du Sud, la race 3SA144, porteuse de la virulence sur le gène *Lr32* issu de *A. tauschii*, a été détectée pour la première fois en 2005 sur triticales (Pretorius and Bender, 2010), et retrouvée ensuite en 2009 presque exclusivement sur triticales (Terefe *et al.*, 2014). Cette nouvelle race est apparue par mutation à partir de pathotypes blé (Visser *et al.*, 2012). Aucune information n'est donnée sur les pathotypes à l'origine des épidémies de rouille brune sur triticales survenues en Pologne dans les années 1990, mentionnées par Sodikiewicz and Strzembicka (2004). Ces mêmes auteurs ont utilisé 4 isolats de rouille brune collectés sur blé pour l'introggression dans le triticales d'un gène issu de *T. monococtum*.

En France, le suivi des populations de rouille brune de 1999 à 2016 a permis de collecter une quarantaine d'échantillons sur triticales, et d'identifier un unique phénotype de virulence et génotype SSR spécifique du triticales : ce phénotype/génotype n'a jamais été trouvé sur blé, et réciproquement aucun des phénotypes collectés sur blé n'a jamais été trouvé sur triticales. Il possède très peu de virulences (virulent uniquement sur *Lr2c*, *Lr10* et *Lr17b*) ce qui suggère qu'une sous-population spécifiquement adaptée au triticales s'est développée. Cependant, il ne peut être exclu que la population se développant sur triticales soit plus complexe : d'une part, l'échantillonnage extrêmement restreint doit être étendu pour compléter la prospection. D'autre part, les outils d'identification utilisés ne sont peut-être pas adaptés : la gamme d'hôtes différentiels utilisée étant la même que celle développée pour le blé tendre. Il est possible que des sources de résistance utilisées dans la sélection du triticales ne soient pas représentées dans cette gamme différentielle.

La base génétique de la résistance du Triticales à la rouille brune et la population pathogène de *P. triticina* à l'origine de cette maladie restent peu caractérisées, nous avons cherché, au sein du projet « TritiRB », à caractériser la base génétique de sources de résistance dans le matériel génétique utilisé en France, en combinant des approches de génotypage et de phénotypage sur l'hôte et sur l'agent pathogène.

## 2 Matériel et méthode

### ► A. Caractérisation de la population pathogène

Afin de pouvoir disposer d'une vision représentative de la population actuelle de *Puccinia triticina* se développant sur la culture du triticales en France, un échantillonnage d'isolats a été réalisé sur le réseau d'essais du GIE Triticales et sur des cultivars connus dans les régions historiques de la culture de cette espèce.

#### Multiplication et mise en collection du matériel biologique

Pour identifier une variété hôte qui n'exercerait aucun filtre sur la population présente dans les échantillons récoltés, ces derniers ont été multipliés sur la variété Bellac et sur 9 autres témoins candidats sensibles (dont Michigan Amber, Harrier, Marko et Vuka) afin de maximiser le nombre d'échantillons récupérés et de quantifier l'effet filtre entre variétés/espèces servant à la multiplication.

Les lots de spores constitués à partir des feuilles sporulantes collectées sur le terrain ont été purifiés (isolement monopustule) et conservés à -80°C. 101 des 134 isolats obtenus ont pu être exploités et multipliés de façon à produire une quantité de spores suffisante pour procéder à leur caractérisation par phénotypage (mise au point d'une gamme d'hôtes différentiels pour établir les profils de virulence et ainsi disposer d'un outil de phénotypage représentant au mieux les gènes de résistance présents dans les variétés de triticales) et par génotypage (diversité génétique évaluée à l'aide de marqueurs microsatellites).

#### Phénotypage sur une gamme d'hôtes potentiellement différentiels

Un panel diversifié de 109 lignées, représentant au mieux les gènes de résistance présents dans les variétés auxquelles la population de rouille brune est confrontée, a été utilisé pour réaliser un tri d'hôtes potentiellement différentiels (au sens sources de résistance diversifiées). Ce panel est constitué de 26 lignées de la gamme d'hôtes différentiels représentant les sources de résistances utilisées en blé tendre (gamme sur laquelle un unique pathotype majoritaire triticales, virulent sur *Lr2c*, *Lr10*, *Lr17b*, avait été distingué jusqu'alors au niveau national), 10 isolignées de la variété Thatcher porteuses de gènes *Lr* supplémentaires identifiés comme pertinents (Pretorius and Bender, 2010 ; Czajowski *et al.*, 2021b), 34 variétés représentatives des ressources génétiques utilisées en France, en Allemagne et en Pologne et 39 lignées du programme ADT « Augmentation de la Diversité génétique du Triticales » d'INRAE et du GIE TRITICALES.

## Phénotypage des isolats

En serre, ces 109 variétés et lignées ont été inoculées avec les 101 échantillons de *P. tritricina* prélevés sur triticales dans le cadre du projet. Les plantules élevées en serre et âgées de 7 jours ont été inoculées sur la première feuille par pulvérisation d'une suspension de spores dans de l'huile minérale Novac. A l'issue d'une période d'incubation de 9 jours en serre à 18°/22°C, les types d'infection ont été relevés selon l'échelle de Stakman *et al.* (1962).

## Génotypage

Jusqu'à présent, toutes les souches de *P. tritricina* étaient caractérisées à l'aide de 19 marqueurs SSR. Une étude récente a mis en évidence des nouveaux marqueurs qui permettent de mieux caractériser les populations de cet agent pathogène sur triticales (Czajowski *et al.*, 2021a). Après une première sélection réalisée en dehors du projet, 35 marqueurs ont été conservés pour la caractérisation des isolats prélevés sur triticales. Les analyses génétiques ont été conduites avec le langage de programmation R et le package "Poppr" (Kamvar *et al.*, 2014).

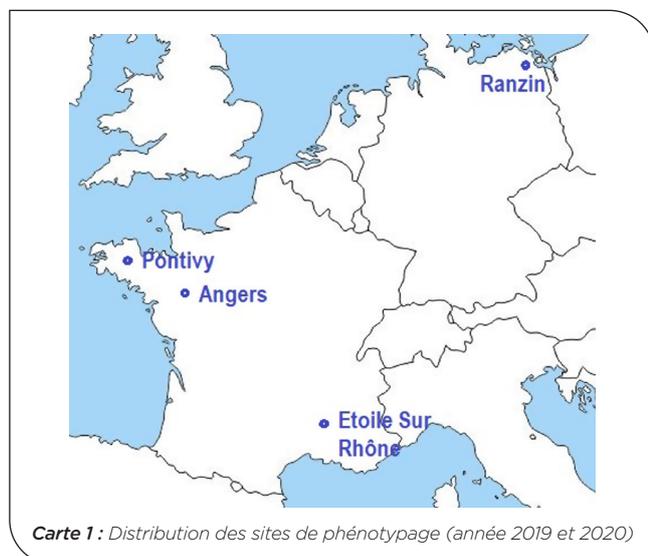
### ► B. Panel végétal et phénotypage

Un panel variétal (Tableau 1) composé de 19 variétés de niveaux de résistance/sensibilité à la rouille brune connus (CTPS, Arvalis ou source Obtenteur), ainsi que de 15 triticales primaires octoploïdes repérés pour leur résistance à la rouille brune (Tableau 2) ont été utilisés pour identifier de nouvelles sources de résistance.

Deux populations de 200 et 253 lignées recombinantes obtenues par SSD (Single Seed Descent) respectivement des croisements Vuka x Trefl et Kaulos x Vuka ont également été étudiées afin de cartographier les gènes de résistance impliqués. Vuka présente une sensibilité avérée à la rouille brune alors que Kaulos et Trefl présentent un bon niveau de résistance (Tableau 1).

## Caractérisation au champ de la résistance à la rouille brune et de l'impact de la maladie

Le phénotypage réalisé en années 2019 et 2020 a été effectué sur quatre sites, 3 sites situés en France et un en Allemagne (Carte 1).



Carte 1 : Distribution des sites de phénotypage (année 2019 et 2020)

Pour favoriser l'établissement de la rouille brune dans les essais et permettre un phénotypage plus précis, des lignes de contaminateur de la variété sensible à la rouille brune Vuka ont été implantées dans les plateformes de phénotypage.

Les dispositifs implantés sur les sites d'Angers et Pontivy ont reçu une contamination artificielle d'une souche commune de rouille brune (Pathotype 012002 - isolat BT06 M103-3) en 2019. A la suite d'une mauvaise implantation en 2020 sur le site de Pontivy, seul le site d'Angers a reçu une contamination artificielle, les autres sites étaient en contamination naturelle.

Deno	Note Rouille brune (sources CTPS/ARVALIS)
Bellac	2
Vuka	4
Bikini	6
Grenado	6
Jokari	6
Rgt Omeac	6
Kws Fido	6
Kaulos	7
Kws Aveo	7
Rgt Eleac	7
Agostino	8
Adverdo	8
Anagram	8
Brehat	8
Elisir	8
Kasyno	8
Ramdram	8
Rgt Ruminac	8
Trefl	9

Tableau 1 : Niveau de résistance à la rouille brune du panel variétal (1 = Sensible, 9 = Résistant)

Trit RB19	Nom	Généalogie
1	14BS20-3-39	028B1-2-1(Altria-cf)/Dukato
2	15BS13-2-2	Azzerti/Brasetto
3	15BS13-3-1	Azzerti/Brasetto
4	15BS13-3-2	Azzerti/Brasetto
5	16B59-1-3	Gotik/SU_ Stakkato
6	14BS29-4-1	Lyrik/Elego
7	16B525-1-5	13BB11-2-1-1(Barok-ocf)/Brasetto
8	15BS37-1-6	13BB1-2-2-4(Barok-ocf)/Dankowskie Nowe
9	15BS47-1-12	13BB8-2-1-1(Barok-ocf)/Dankowskie Nowe
10	15BS53-1-1	13BB11-2-1-3(Barok-ocf)/Dankowskie Nowe
11	15BS76-1-3	13BB4-2-1-7(Barok-ocf)/Elego
12	15BS77-1-6	13BB4-2-1-8(Barok-ocf)/Elego
13	15BS79-1-6	13BB6-2-1-5(Barok-ocf)/Elego
14	15BS81-1-12	138B8-2-1-1(Barok-ocf)/Elego
15	16BS18-1-17	13BB8-2-1-1(Barok-ocf)/SU_Allawi

Tableau 2 : Triticales primaires retenus pour leur bonne résistance à la rouille brune et leur généalogie

Le niveau de résistance des lignées de chaque population a été évalué par l'observation des symptômes caractéristiques de rouille brune sur les derniers étages foliaires, selon une échelle de notation de 1 (résistant) à 9 (sensible) correspondant à la surface sporulante.

Par manque de semences, les triticales primaires n° 1, 5 et 10 n'ont pas pu être observés à Ranzin.

## Génotypage

Les 2 populations Vuka x Trefl et Kaulos x Vuka ont été génotypées avec 960 marqueurs SNP par la plateforme Gentyane INRAE à Clermont Ferrand et les cartes génétiques réalisées dans le cadre du FSOV rouille Jaune ont été utilisées pour la recherche de QTL à l'aide du package Rqtl.

La recherche de QTL de résistance à la rouille brune a été réalisée à partir de 3 lieux (Angers, Etoile-sur-Rhône et Ranzin) et 2 années de phénotypage de la rouille brune pour les 2 populations Vuka x Trefl et Kaulos x Vuka. La contamination en année 1 à Ranzin et Etoile sur Rhône ayant été trop faible ces données ont été écartées.

## 3 Résultats

### ► A. Caractérisation de la population pathogène

#### Bilan de la campagne d'échantillonnage

Soixante-dix isolats ont été collectés entre 2018 et 2021 en diversifiant les cultivars, les années et les régions de collecte. Une trentaine d'isolats provenant de collectes précédentes (conduites entre 2001 et 2017) complète ce jeu de données (Figure 1a). Un peu plus du tiers des échantillons proviennent de lignées en cours de sélection, douze ont été collectés sur la variété Triskell, sept sur la variété Bellac et le reste est réparti sur 29 variétés cultivées avec des effectifs inférieurs à 5 (Figure 1b).

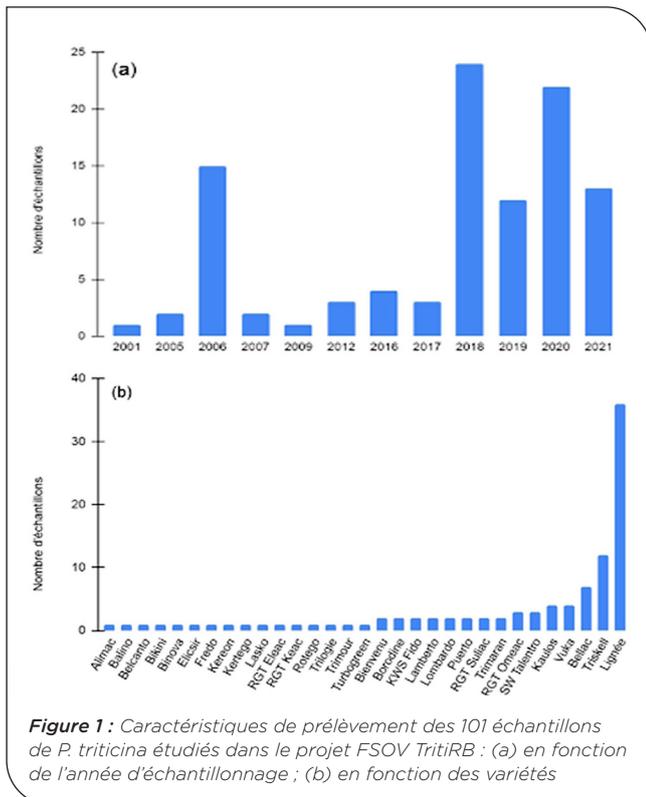


Figure 1 : Caractéristiques de prélèvement des 101 échantillons de *P. triticina* étudiés dans le projet FSOV TritiRB : (a) en fonction de l'année d'échantillonnage ; (b) en fonction des variétés

### Multiplication et mise en collection du matériel biologique

Sur l'ensemble des lignées testées pour la multiplication et la mise en collection des souches Triticale, ce sont les variétés Marko et Harrier, sensibles à plus de 95% des souches Triticale multipliées à ce jour à INRAE BIOGER,

qui semblent les plus intéressantes pour récupérer le maximum d'échantillons représentatifs de la population d'isolats virulents sur Triticale (Tableau 3).

	Lignées en cours de sélection	Variétés cultivées (France)	Variétés cultivées (Europe)	Effectif total
Collection INRAE BIOGER antérieure	0	70	0	70
2019	7	5	5	17
2020	10	22	2	34
2021	7	6	0	13
Total en collection	24	103	7	134

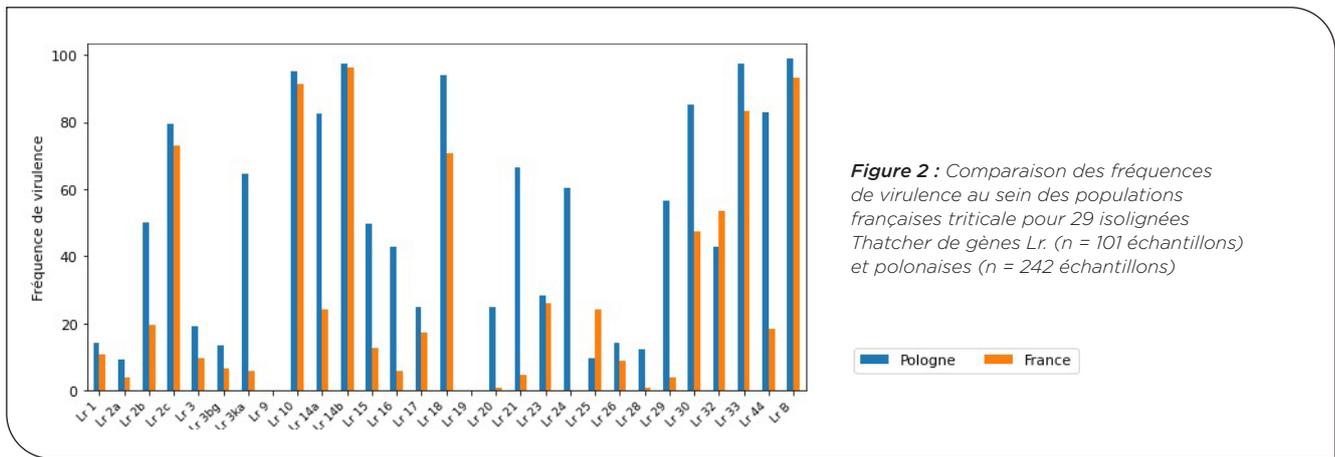
Tableau 3 : Isolats considérés pour la caractérisation de la population de *P. triticina* sur la culture du triticale

### ► B. Phénotypage des populations pathogènes

#### Mise au point de la gamme d'hôtes différentiels spécifique Triticale

L'ensemble des échantillons de *P. triticina* du projet a été caractérisé sur 94 hôtes différentiels des 109 initiaux (instabilité de certaines lignées). En conservant uniquement la gamme différentielle utilisée en blé tendre, la moitié des isolats appartiennent à l'un des trois pathotypes qui étaient déjà connus sur triticale (0120020, 0120060, 0120420) tandis que 11% des isolats ont des pathotypes connus de type blé tendre. Ces échantillons proviennent principalement de lignées en sélection ou de variétés assez sensibles comme SW Talenro. Le reste des isolats possède des pathotypes nouveaux avec des effectifs faibles (3 ou 4 isolats) à très faibles (1 ou 2 isolats). Cette dernière catégorie contient 19 isolats qui ont principalement été isolés à partir de lignées en sélection ou de variétés plutôt résistantes (notes Arvalis  $\geq 7$ ) telles que Elisir ou Kereon.

Sur l'ensemble des 94 différentiels, trois isolats présentent exactement le même profil de virulence (Tr18M117, Tr06M102 et Tr06M103), ainsi que deux autres qui possèdent un autre profil (Tr01M005 et Tr05M308). Le reste des échantillons détient une combinaison de virulence unique sur ces différentiels. Peu de caractérisations des virulences des populations de *P. triticina* provenant du triticale sont publiées ; toutefois une étude récente (Czajowski *et al.*, 2021b) s'intéresse aux virulences de 242 souches polonaises sur 33 lignées isogéniques *Thatcher*. La comparaison des résultats obtenus ici avec ceux issus de cette publication pour les 29 lignées isogéniques *Thatcher* communes (Figure 2) a mis en évidence des similitudes de comportement pour plusieurs lignées comme celles portant *Lr9* et *Lr19* qui ne sont jamais contournées, celles portant *Lr1*, *Lr2a* et *Lr26* qui sont faiblement contournées, ou celles portant *Lr10*, *Lr14b* et *LrB* qui sont fortement contournées en France comme en Pologne. Pour certaines lignées, les fréquences de virulence sont très différentes entre la France et la Pologne, comme pour *Lr3ka*, *Lr21*, *Lr29* et *Lr44*. Le coefficient de corrélation entre ces deux études est de 0,74 ce qui démontre que les populations françaises et polonaises de rouille brune présentes sur triticale sont relativement semblables.



**Figure 2 :** Comparaison des fréquences de virulence au sein des populations françaises triticales pour 29 isolignées Thatcher de gènes Lr. (n = 101 échantillons) et polonaises (n = 242 échantillons)

### Proposition d'une gamme d'hôtes différentiels spécifique triticale

L'échelle de Stakman a été adaptée aux populations françaises de *P. triticina* afin de pouvoir caractériser les interactions entre cet agent pathogène et son hôte (Stakman *et al.*, 1962). Ce système de notations implique une multitude de types d'infection qui sont notés différemment tels que “;” qui correspond à des chloroses d'hypersensibilité ou “3+”, une interaction de type sensible (grandes urédies sans chlorose). Afin de faciliter les analyses, ces types d'infections ont été regroupés en cinq catégories qui se différencient par le niveau de sporulation observé (Figure 3).

Au regard de ces 5 catégories d'infection, on observe une grande diversité au sein de l'ensemble des différentiels (Figure 4). Certains différentiels très résistants (comme *Lr9*, *Lr19*, *Lr20* et *Lr24*) ou très sensibles (comme *Lr10*, *Lr14b*, Morocco ou Harrier) ne font pas de bons candidats pour l'établissement d'une gamme différentielle. Certains différentiels sont représentés par les cinq catégories d'infections en proportions relativement similaires, tels que *Lr23*, *Lr25*, Agostino et RGT Belemac. Pour assurer un minimum de discrimination, l'un des premiers critères de sélection pour le choix des différentiels de la gamme a donc été un pourcentage de souches sensibles compris entre 10 et 90% ; 49 candidats ont été sélectionnés sur ce critère.

Type d'infection	Pourcentage total	Type d'infection	Pourcentage total
O;	3,7	;12-	1,1
;-	2,9	;12	8,3
;-	32	;12C	2,3
;	16,0	;12+	0,1
;N	1,3	12C	0,0
;1-	0,2	2	0,0
;1	3,8	2C	0,1
1C	0,1	X--	0,7
;1N	0,1	Y--	0,0
		X-	1,4
		X-C	0,1

Groupes Résistant (“R”) Pas ou très peu de sporulation

Type d'infection	Pourcentage total
X	16,2
Y	0,1
Z	0,0
XC	2,7

Groupes Intermédiaire (“I”) Réponse moyenne

Type d'infection	Pourcentage total
X++3+	3,1
33+	4,2
3+	18,0

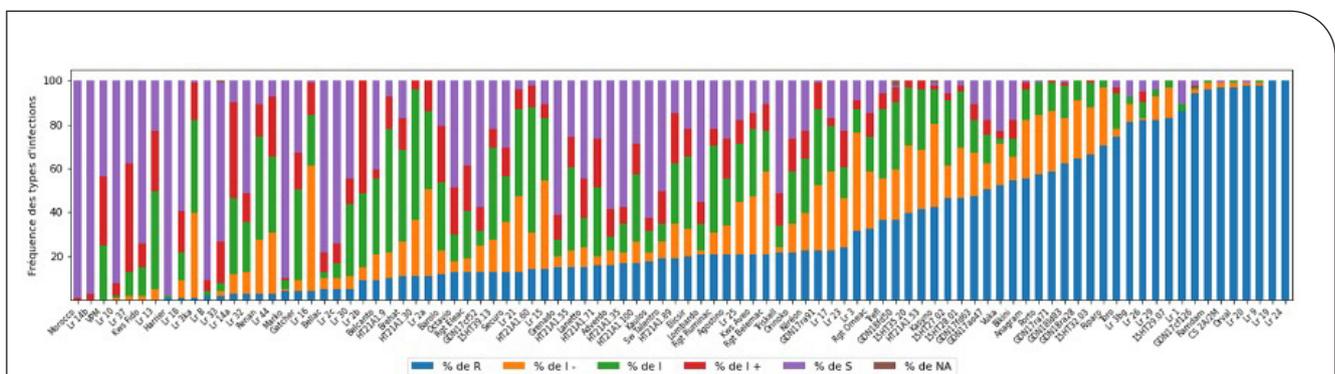
Groupes Sensible (“S”) Interactions totalement sensibles

Groupes Intermédiaire faible (“I-”) Réponse de type faible

Type d'infection	Pourcentage total
X+	2,8
X+C	0,4
X++	2,1
X++C	0,2
X++3	2,5
X++3C	0,2
23	0,6
23C	0,4
3	0,8
3C	0,3

Groupes Intermédiaire forte (“I+”) Réponse de type forte

**Figure 3 :** Catégorisation des types d'infection pour classer les souches en cinq groupes. Les proportions des types d'infection correspondent aux caractérisations obtenues pour les 101 souches sur les 94 différentiels



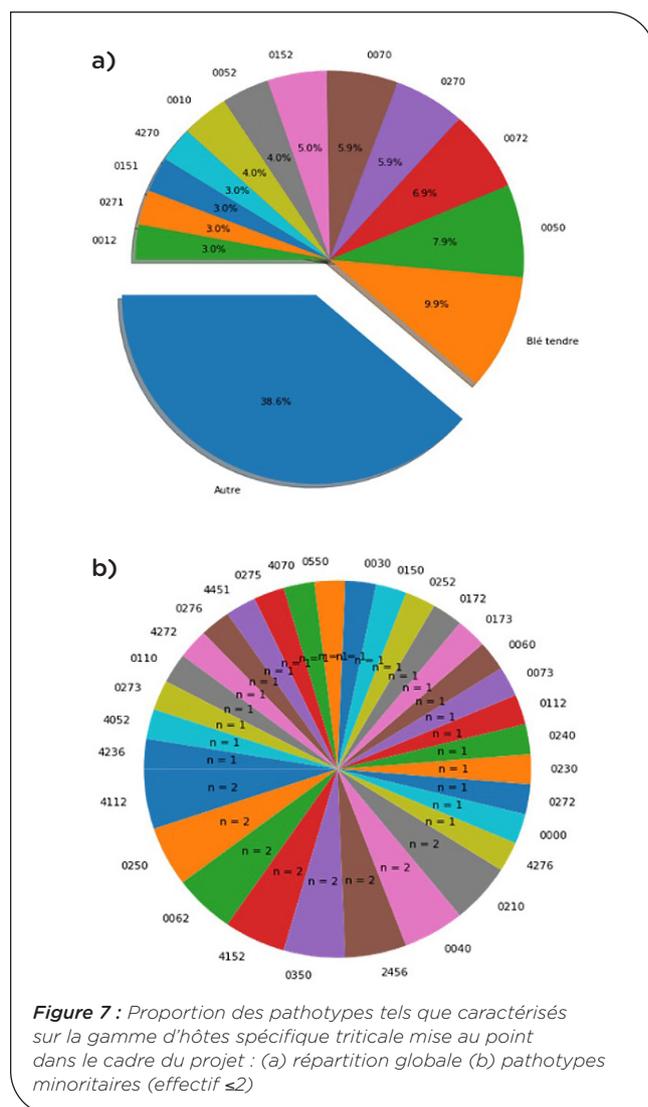
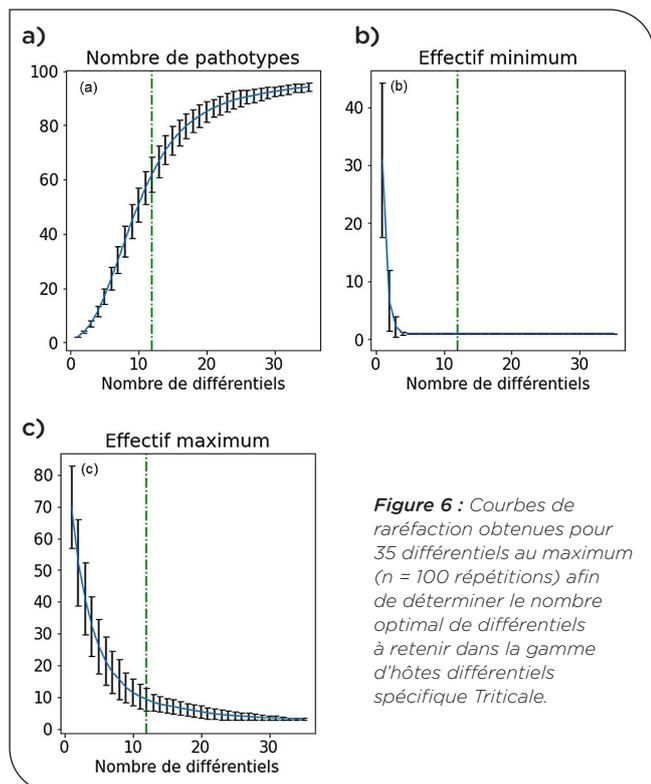
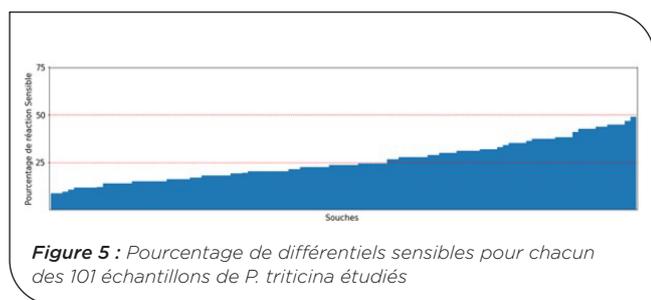
**Figure 4 :** Fréquence des différents types d'infections obtenus lors de la caractérisation des 101 échantillons de *P. triticina* sur les 94 différentiels

L'existence de réponses contrastées au niveau de nombreux différentiels, pourrait témoigner d'une grande diversité au sein de notre population d'isolats. Ceci a été confirmé via l'observation du pourcentage de différentiels sensibles (Figure 5). Certaines souches sont capables de contourner environ 40% des différentiels tandis que d'autres moins de 10%. Il y a également un contraste au sein des pathotypes déterminés avec la gamme blé tendre. Par exemple, pour les isolats qui possèdent le pathotype 0120060 (14 individus), le pourcentage de différentiels contournés varie entre 12 et 45%. De même, le pourcentage pour ceux de pathotype 0120020 (32 individus) varie entre 9 et 43%. Ceci témoigne de la nécessité d'établir une gamme différentielle spécifique pour les populations de triticale.

Afin de déterminer le nombre d'hôtes différentiels à retenir pour la gamme différentielle spécifique Triticale, une analyse de raréfaction a été réalisée (Figure 6). A partir des 49 différentiels candidats, 35 différentiels ont été sélectionnés de façon aléatoire afin de calculer trois paramètres 100 fois : le nombre de combinaisons de virulences différentes ainsi que l'effectif minimal et maximal pour ces combinaisons. On observe que, dès 5 différentiels, il y a au minimum une souche qui possède une combinaison de virulence unique (effectif minimal = 1 ; Figure 6b). On constate également un

nombre important de profils de virulence différents, et donc des pathotypes différents, avec peu de différentiels. Par exemple, seulement 8 différentiels suffisent pour différencier environ 40 pathotypes (Figure 6a) et le pathotype majoritaire aura un effectif d'environ 15 individus (Figure 6c). Afin de déterminer le maximum de diversité au sein de notre population triticale, le nombre de différentiels a été fixé à 12 (le milieu de la phase de croissance de prise en compte de la diversité) en retenant sept lignées isogéniques Thatcher (*Lr1*, *Lr3*, *Lr23*, *Lr17*, *Lr37*, *Lr44* et *LrB*) et cinq variétés de triticale (Belcanto, RGT Belemac, RGT Eleac, Trefl, KWS Fido). *Lr15*, présentant exactement le même profil de virulence que *Lr1* sur l'ensemble des souches testées, n'a pas été sélectionné pour cette gamme d'hôtes différentiels.

Cette gamme permet d'identifier 50 pathotypes différents sur les 101 souches testées, avec des effectifs allant de un à huit isolats (Figure 7a et 7b), et de conserver une bonne différenciation des isolats ayant un pathotype de type blé tendre. Cependant, il ne semble pas y avoir de pathotype majoritaire pour les pathotypes de type triticale (Figure 7a). Tout comme avec la gamme spécifique blé tendre, il y a plusieurs pathotypes (39) avec des effectifs inférieurs ou égaux à 2 (Figure 7b).



### ► C. Génotypage des populations pathogènes

Au total, quarante MLG (multilocus genotypes) différents ont été déterminés dont seulement quatre possèdent des effectifs supérieurs à 3 individus (Figure 8). Ceci témoigne d'une très grande diversité au sein de la population de *P. triticina* prélevée sur triticales, ce qui est en parfaite adéquation avec les résultats obtenus à partir des données de phénotypage.

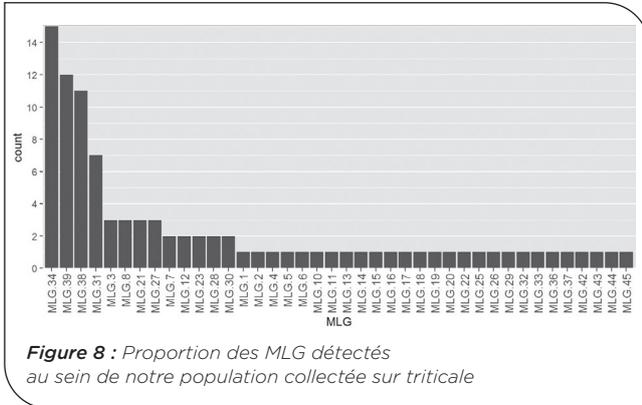


Figure 8 : Proportion des MLG détectés au sein de notre population collectée sur triticales

Afin de visualiser les relations entre les individus, nous avons décidé de représenter le Minimum spanning network (MSN) en utilisant, d'une part, les pathotypes déterminés à l'aide de la gamme blé tendre (Figure 9a) et, d'autre part, les pathotypes déterminés à partir de la gamme triticales (Figure 9b). Cette méthode permet de visualiser la distance de Bruvo entre les différents groupes génétiques. Pour les deux représentations, seuls les pathotypes ayant un effectif supérieur ou égal à 5 ont été représentés. Les pathotypes restants ont été classés dans la catégorie "Autre". Pour les deux représentations, les pathotypes de type blé tendre sont discriminés du reste des échantillons. Les pathotypes déterminés avec la gamme d'hôtes différentiels triticales établie lors du projet sont mieux regroupés. Ceci témoigne de la meilleure adaptation de notre gamme pour caractériser les isolats de *P. triticina* issus de variétés triticales. Pour le cas des pathotypes déterminés à l'aide de la gamme d'hôtes différentiels utilisée pour caractériser les isolats issus de variétés blé tendre, les effectifs sont plus importants (entre 12 et 32), ce qui peut rendre le regroupement de ces isolats plus compliqué. Dans les deux cas, on observe trois groupes de faibles effectifs (dont un comprenant des isolats ayant des pathotypes de type blé tendre) et un groupe qui représente environ 80% de notre population collectée sur triticales (Figure 9).

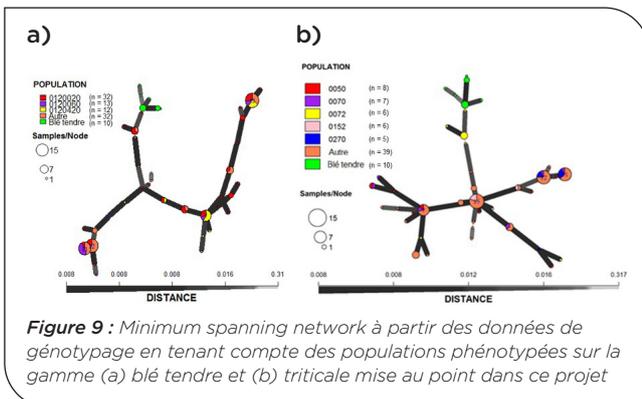


Figure 9 : Minimum spanning network à partir des données de génotypage en tenant compte des populations phénotypées sur la gamme (a) blé tendre et (b) triticales mise au point dans ce projet

Dans le but de confirmer les deux groupes de faibles effectifs de pathotypes triticales, une Analyse en Composantes Principales (ACP) suivie d'une Classification Hiérarchique sur Composantes Principales (HCPC) a été réalisée (Figure 10a) à partir des tailles d'allèles des différents marqueurs sur l'ensemble des souches pour l'ensemble des données. Deux isolats ayant des pathotypes uniques de type blé tendre (Tr21\_M006 et Tr18\_M361) sont isolés des autres isolats. Afin de mieux visualiser les résultats de cette analyse pour les isolats de pathotypes de type triticales, celle-ci a été de nouveau réalisée en excluant les isolats ayant un pathotype de type blé tendre (Figure 10b). On retrouve ainsi les trois groupes triticales déjà identifiés dans le MSN (identité des isolats au sein de ces groupes) : l'un avec 80% des échantillons (cluster 2), et les deux autres de faibles effectifs (clusters 1 et 3).

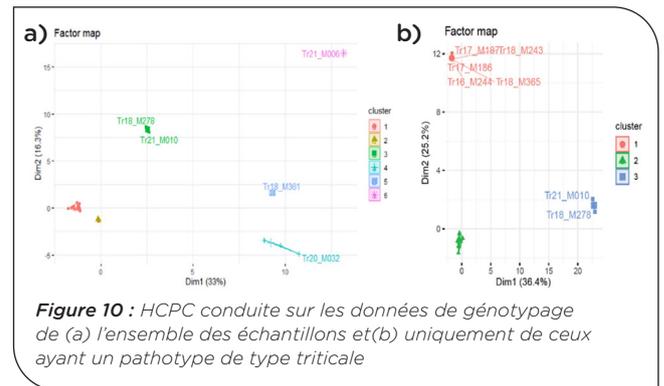


Figure 10 : HCPC conduite sur les données de génotypage de (a) l'ensemble des échantillons et (b) uniquement de ceux ayant un pathotype de type triticales

La détermination de l'informativité des marqueurs génétiques pris en compte dans les analyses de populations a été évaluée avec le logiciel Cervus (Kalinowski *et al.*, 2007) pour calculer le Polymorphism Information Content (PIC), le nombre d'allèles par marqueurs et l'hétérozygotie attendue/observée. Sur les 35 marqueurs microsatellites (SSR) utilisés, 9 marqueurs sont très informatifs dont 6 sont des nouveaux marqueurs testés dans le cadre de ce projet et seulement 2 sont sur le même chromosome (WLR2-25 et WLR5-5 sur le chromosome 07A) (Figure 11).

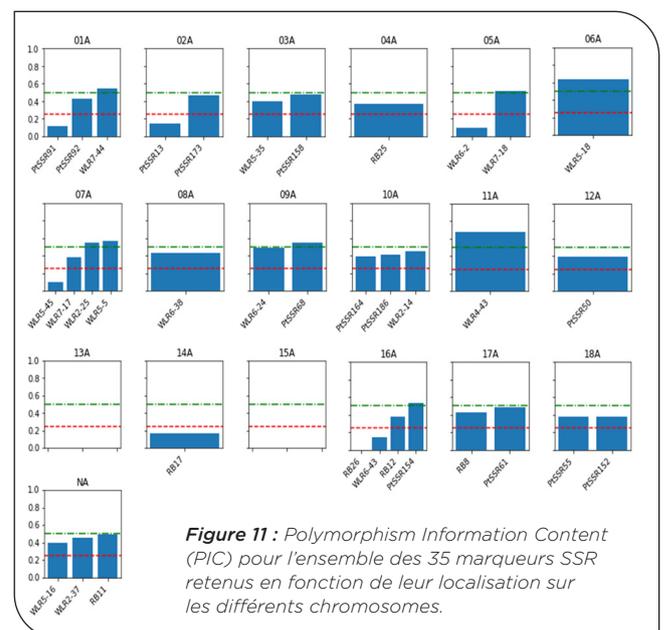


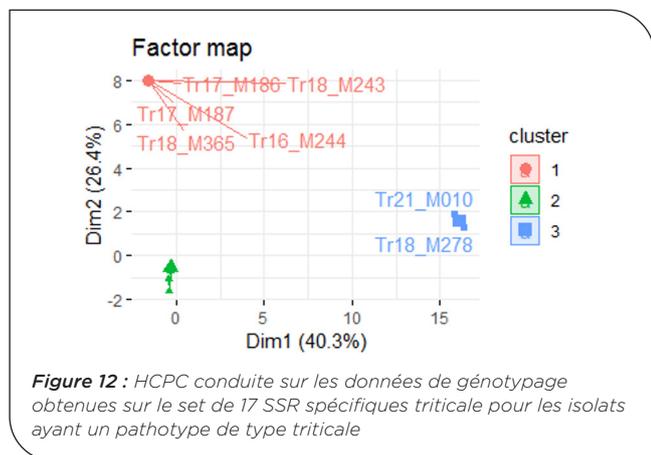
Figure 11 : Polymorphism Information Content (PIC) pour l'ensemble des 35 marqueurs SSR retenus en fonction de leur localisation sur les différents chromosomes.

La prise en compte des marqueurs moyennement informatifs (19 marqueurs SSR avec un PIC > 0,25) permettrait d'avoir au minimum un marqueur sur chacun des 18 chromosomes (la localisation n'ayant pas pu être réalisée pour les marqueurs RB11, WLR5-16 et WLR2-37) pour 80% des chromosomes de *P. triticina* (à l'exception des chromosomes 13A et 15A sans marqueur identifié et du chromosome 14A pour lequel le marqueur existant n'est pas informatif ; Figure 11). Un nouveau set de marqueurs SSR a ainsi été proposé pour caractériser les populations de *P. triticina* collectées sur triticales en se basant sur plusieurs critères :

1. Une valeur de PIC supérieure à 0,25 (marqueur moyennement informatif) et idéalement supérieure à 0,5 (marqueur très informatif, Botstein *et al.*, 1980)
2. Un seul marqueur par chromosome pour avoir une bonne couverture génotypique
3. S'il y a plusieurs marqueurs avec un PIC supérieur à 0,5 sur le même chromosome (cas de WLR2-25 et WLR5-5 sur le chromosome 7A), le marqueur ayant la meilleure correspondance avec les groupes génétiques définis précédemment a été conservé.

Ce set contient donc : WLR7-44, PtSSR173, PtSSR158, RB25, WLR7-18, WLR5-18, WLR2-25, WLR6-38, PtSSR68, WLR2-14, WLR4-43, PtSSR50, PtSSR154, PtSSR61, PtSSR152 qui sont localisés sur 15 des 18 chromosomes de *P. triticina*. WLR5-16 et RB11 dont les localisations ne sont pas connues complètent ce set (Figure 11).

Une nouvelle ACP suivie d'une HCPC a ensuite été réalisée avec ce nouveau set de marqueurs pour les seuls isolats avec un pathotype de type triticales. Les trois mêmes groupes sont retrouvés avec ce nouveau set, il n'y a donc pas de perte d'information majeure malgré la diminution du nombre de marqueurs considérés dans le set de SSR spécifique triticales (Figure 12).

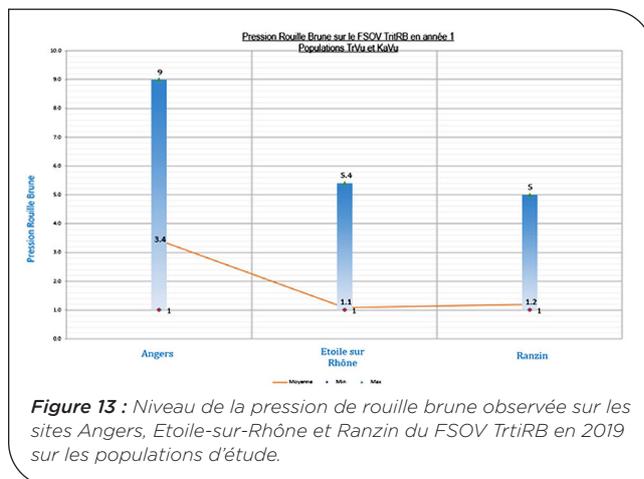


#### ► D. Caractérisation au champ de la diversité des sources de résistance à la rouille brune dans les variétés cultivées en France, et de l'impact de la maladie

En 2019, sur les quatre sites disponibles pour le phénotypage seuls les sites d'Angers, d'Etoile sur Rhône et Ranzin (Allemagne) ont été notés. Le dispositif implanté sur le site de Pontivy n'a pas pu être phénotypé en rouille brune à cause d'une présence trop importante de rouille jaune, qui en s'installant plus

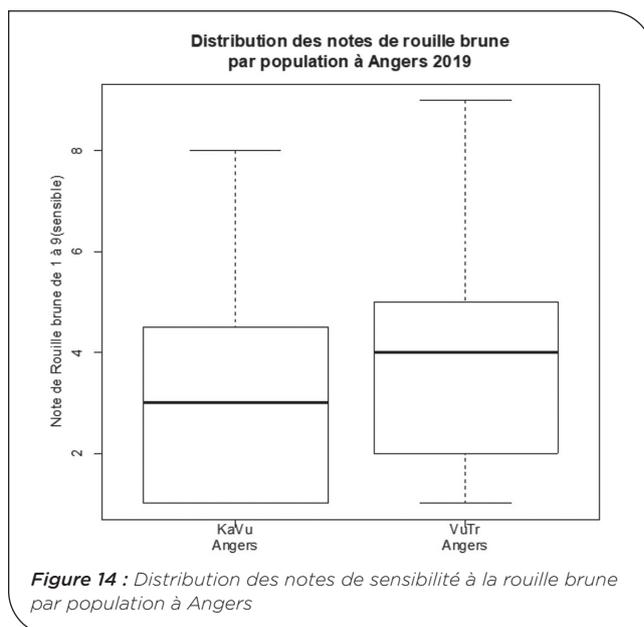
précocement est venue contrarier l'implantation de la rouille brune malgré la contamination artificielle réalisée sur ce dispositif.

La figure 13 présente les pressions de rouille brune observées sur les populations biparentales TrVu et KaVu sur les sites d'Angers, d'Etoile-sur-Rhône et Ranzin.



La pression en rouille brune a été relativement faible sur les sites d'Etoile-Sur-Rhône et Ranzin sur les deux populations. Seul le site d'Angers qui a reçu une contamination artificielle, présente un niveau d'attaque de rouille brune plus importante mais qui reste néanmoins assez modérée. Les causes possibles à ces faibles pressions peuvent être une faible présence de la rouille brune sur site, de mauvaises conditions de développement et/ou la compétition avec la rouille jaune qui s'est développée plus précocement.

Le niveau assez modéré de la pression rouille brune a permis d'observer une gamme de sensibilité au sein des individus des deux populations d'étude TrVu et KaVu, l'écart entre les individus les plus sensibles et les plus résistants reste relativement faible (3 points d'écart). A Angers, la population VuTr semble un peu plus sensible que la population KaVu (pour les quartiles, la médiane et le niveau maximum atteint) (Figure 14).



En 2020, sur les quatre sites de phénotypage, seul le site d'Etoile sur Rhône a montré une pression de rouille brune intéressante pour un phénotypage (Figure 15). Une mauvaise implantation due aux conditions climatiques de l'année n'a pas permis d'exploiter le site de Pontivy et la plateforme sur le site d'Angers a été « polluée » par la présence de rouille jaune précoce et de tâches physiologiques importantes. Quant au site situé en Allemagne, aucune pression de rouille brune n'a été observée.

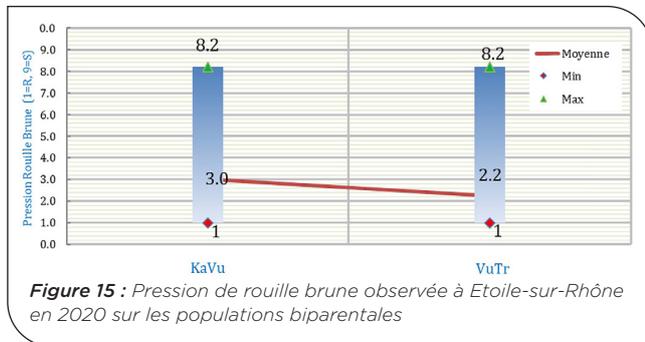


Figure 15 : Pression de rouille brune observée à Etoile-sur-Rhône en 2020 sur les populations biparentales

### Phénotypage du panel variétal

La figure 16 présente la comparaison de la sensibilité à la rouille brune observée sur le panel variétal entre les années 2019 (à Angers) et 2020 (à Etoile-sur-Rhône). En 2020, 4 variétés n'ont pu être notées. La comparaison a été réalisée sur les quinze variétés du panel présentes les deux années.

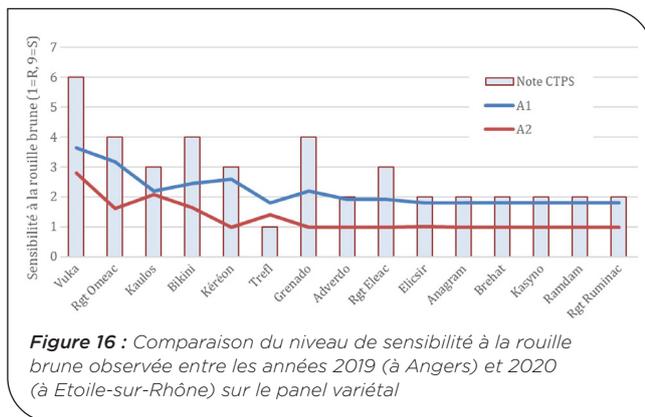


Figure 16 : Comparaison du niveau de sensibilité à la rouille brune observée entre les années 2019 (à Angers) et 2020 (à Etoile-sur-Rhône) sur le panel variétal

De même que pour les populations biparentales, en 2019, sur les quatre sites de phénotypage, seul le site d'Angers a présenté des niveaux de symptômes de rouille brune exploitables et en 2020 seul le site d'Etoile sur Rhône a apporté un niveau d'attaque de la rouille brune satisfaisant.

Malgré le peu de données communes aux deux années du projet et une pression relativement faible en 2019 et moyenne en 2020, nous observons les profils variétaux attendus vis-à-vis de leur sensibilité à la rouille brune respectives. La variété Bellac la plus sensible du panel n'a pas pu être notée en 2020 mais montrait bien un des profils les plus sensibles de 2019. La variété Vuka (cotation CTPS à 4) et RGT Omeac (cotation CTPS à 6) sont les variétés notées les plus sensibles sur ces deux années. De même, les variétés au profil résistant comme Anagram, Brehat, Kasyno, Ramdam montrent bien leur résistance vis-à-vis de la rouille brune ces deux années. La corrélation entre les deux années est assez élevée (0,774) et confirme que les phénotypages réalisés sur le panel, bien qu'en conditions de faible pression rouille jaune, sont cohérents.

### Phénotypage des triticales primaires

Aucun symptôme n'a été vu sur les triticales primaires octoploïdes en 2019 et 2020. Toutes les notes sont égales à 1 quel que soit le lieu, y compris à Angers en 2019 ou sur Etoile sur Rhône en 2020 où la pression était correcte. Cela confirme la bonne résistance de ces triticales destinés à être utilisés en géniteurs (les n° 1, 2, 6, 10 et 13 ont d'ailleurs déjà été utilisés). Néanmoins une nouvelle année d'observations serait nécessaire. Ces résistances peuvent provenir du parent blé résistant (cas de Azzerti par exemple) et/ou du seigle (cas de SU Stakkato et Dukato notamment) (Tableau 2).

### E. Déterminisme génétique de la résistance à la rouille brune de deux parents résistants

#### Phénotypage des populations d'étude

Les notations de sensibilité à la rouille brune en 2019 (année 1) sur ces populations n'ont pas apporté une grande diversité, les notes s'étalant uniquement dans une échelle de 2 à 4, tandis que sur l'année 2020 (année 2), les notes allaient de 1 à 7.

#### Population Vuka x Trefl (VuTr)

Il y a une diversité de la sensibilité à la rouille brune entre les lignées composantes la population VuTr (figure 17). La corrélation entre la sensibilité à la rouille brune de 2019 et 2020 est correcte (0,68). Les lignées peu à moyennement sensibles sont restées dans les mêmes valeurs de sensibilité (figure 17).

#### Population Kaulos x Vuka (KaVu)

La corrélation entre les deux années sur la sensibilité à la rouille brune est assez moyenne (0,44) reflétant une plus grande disparité de la sensibilité à la rouille brune entre les années 2019 et 2020 (figure 18) notamment sur les lignées sensibles.

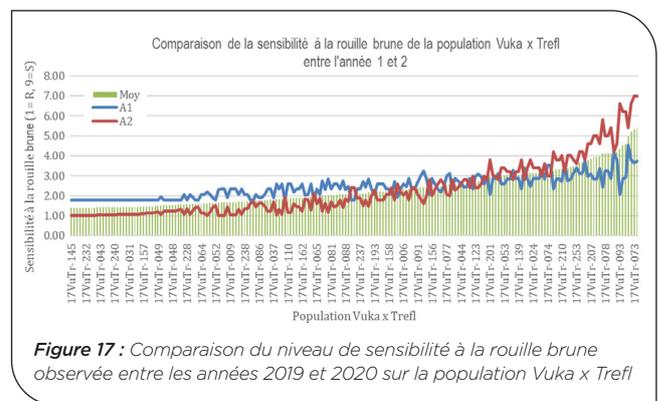


Figure 17 : Comparaison du niveau de sensibilité à la rouille brune observée entre les années 2019 et 2020 sur la population Vuka x Trefl

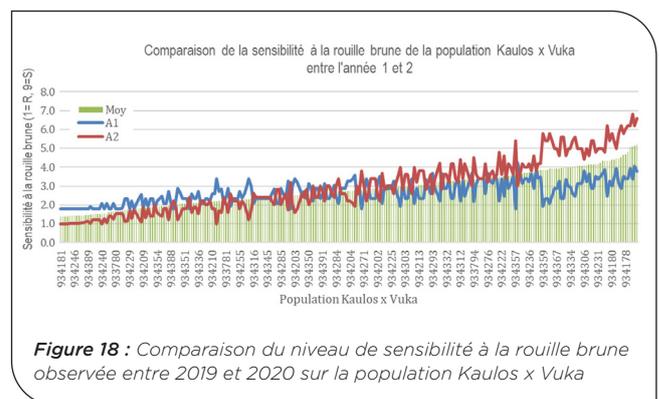


Figure 18 : Comparaison du niveau de sensibilité à la rouille brune observée entre 2019 et 2020 sur la population Kaulos x Vuka

## ► F. Analyse QTL de résistance à la rouille brune

Plusieurs QTL ont été détectés (Tableau 4). Pour la population KaVu, des QTL de résistance ont été mis en évidence pour l'année 2020 à Etoile sur Rhône sur les chromosomes 4R, 5R et 6A. Ils expliquent entre 6,52 et 7,29%.

Sur la population VuTr, 2 QTL majeurs apportés par Trefl (à Angers, 43,3% en 2019 et 13,5% en 2020 et à Etoile sur Rhône en 2020, 30% d'explication) ont été mis en évidence sur le chromosome 4R. Un QTL à faible part d'explication (5,3%) a également été mis en évidence sur le chromosome 4B. Les 2 QTL majeurs de la populations VuTr, bien que ciblant 2 lieux et 2 années différentes, n'en forment probablement qu'un seul.

Les QTL d'épiaison identifiés dans le cadre de la recherche de QTL pour la résistance à la Rouille Jaune (FSOV Rouille Jaune) ne correspondant à aucun des QTL identifiés pour la résistance à la Rouille Brune, aucun effet de l'épiaison sur la résistance à la rouille brune n'a été mis en évidence.

## 4 Conclusion

Les deux premières années du projet ont été caractérisées par une faible attaque de la rouille brune sur une majorité des sites. En effet, seuls les sites d'Angers en année 1 et d'Etoile-sur-Rhône en année 2 (sous contamination artificielle) ont permis des notations satisfaisantes. Ceci souligne la difficulté à phénotyper pour la rouille brune, qui a été soit peu présente ou peu développée, soit fortement concurrencée par de la rouille jaune plus précoce. De plus, la contamination artificielle ne garantit en rien un meilleur phénotypage de la rouille brune du fait de la concurrence toujours possible de la rouille jaune.

Une pression plus importante en 2020 a toutefois permis de déceler plus facilement les lignées les plus sensibles à la rouille brune.

L'ensemble des échantillons de *P. triticina* collectés sur triticales présente une très forte diversité phénotypique. Des isolats ayant des pathotypes de type blé tendre ont été détectés mais ils se différencient fortement des autres isolats, ce qui témoigne de la présence d'une sous-population spécifique au triticales.

De nombreux nouveaux pathotypes ont été détectés avec de nouvelles virulences, comme sur *Lr3*, ce qui témoigne d'une diversification des populations de *P. triticina* au cours de ces dernières années avec une sélection de pathotypes spécialisés au triticales.

Le projet TritiRB a permis la mise au point d'une gamme d'hôtes différentiels spécifique aux isolats collectés

sur triticales et d'identifier une diversité de nouveaux pathotypes non détectés jusqu'alors. En effet, des isolats triticales présentant le même pathotype avec la gamme blé tendre ont des profils de virulence très différents sur la gamme triticales. Une forte diversité génotypique a également été observée avec un total de quarante MLG différents que nous avons pu regrouper en : un groupe principal contenant la majorité des isolats, puis deux autres de faibles effectifs. Afin de diminuer le nombre de marqueurs microsatellites nécessaire pour la caractérisation génétique, un nouveau lot informatif de 17 marqueurs a été proposé. Un lien entre génotype et pathotype a pu être mis en évidence notamment pour l'un des deux groupes génétiques 'triticales' de faibles effectifs. C'est le cas notamment des souches virulentes sur Thatcher-Lr3, Thatcher-Lr44 ou Trefl (<10%) : les deux seules souches capables de contourner les résistances de ces trois différentiels constituent par exemple un seul même groupe génétique.

Concernant le déterminisme génétique de la résistance à la rouille brune, un QTL majeur de résistance a été mis en évidence sur le chromosome 4R dans la population biparentale VuTr. Ce QTL explique à lui seul plus de 40% de la variance phénotypique totale avec l'allèle favorable provenant du parent Trefl. La zone délimitant le QTL mesure entre 2,4 et 3,5 cM selon l'environnement dans lequel il a été mis en évidence. Afin de faciliter l'utilisation de ce QTL de résistance, une cartographie fine de la région en saturant l'intervalle avec de nouveaux marqueurs moléculaires pourrait être réalisée ainsi que la production de recombinants supplémentaires pour réduire la taille de ce QTL. L'objectif final serait de pouvoir développer des marqueurs moléculaires pour suivre ce QTL dans des projets de sélection assistée par marqueurs et ainsi faciliter et accélérer la sélection.

Les résultats obtenus permettent de mettre à disposition sur cette espèce les outils suivants :

- Guide des symptômes (types d'infection) de rouille brune sur triticales permettant d'affiner le phénotypage.
- Mise à disposition d'un protocole de production, conservation et application des inoculas de *Puccinia triticina*.
- Détermination de la spécificité d'hôtes de *Puccinia triticina* pour une meilleure gestion des systèmes de culture.
- Meilleure connaissance du comportement des variétés de triticales actuelles face à cette maladie ayant notamment permis l'établissement d'une nouvelle gamme d'hôtes différentiels spécifique triticales.
- Détection de QTL de résistance adulte permettant la création de génotypes résistants par les sélectionneurs
- Ressources génétiques nouvelles.

pop	année/lieu	pic	chrom	pos	Intervalle de confiance	LOD	%	effet RB
A= Vuka B=Kaulos								
KV	Année 2 Etoile sur Rhone	Sd17446	4R	125	123.5-128.6	3.69	6.52%	BB=-0.75
KV	Année 2 Etoile sur Rhone	Sd29675	5R	141.2	81.3-161.5	3.82	7.29%	bb=-0.82
KV	Année 2 Etoile sur Rhone	Sd5884	GAb	9.4	0-15	3.98	7.16%	AA=-0.82
A= Vuka B=Trefl								
VuTr	Année 1 Angers	Sd25974	4Rb	9.4	6.6-10	17.87	43.30%	BB=-2.51
VuTr	Année 2 Etoile sur Rhone	Sd6876	4Rb	12.5	10.3-12.8	11.09	30%	BB=-0.56
VuTr	Année 2 Angers	Sd6876	4Rb	12.5	10.3-12.8	4.52	13.54%	BB=-1.27
VuTr	Année 2 Angers	Sd13355	4B	0	0-6.79	2.11	5.34%	AA=-1.07

Tableau 4 : QTL de résistance à la rouille brune identifiés sur les populations biparentales KaVu et VuTr

## Références bibliographiques

- Ali S, Rodriguez-Algaba J, Thach T, Sorensen CK, Hansen JG, Lassen P, Nazari K, Hodson DP, Justesen AF, Hovmoller M** (2017). Yellow rust epidemics worldwide were caused by pathogen races from divergent genetic lineages. *Front. Plant Sci.* 8, 1057.
- Audenaert K, Troch V, Landschoot S, Haesaert G** (2014). Biotic stresses in the anthropogenic hybrid triticale (*xTriticosecale* Wittmack): current knowledge and breeding challenges. *Eur. J. Plant Pathol.* 140, 615-630.
- Bhardwaj SC, Prashar M, Jain SK, Kumar S, Sharma YP** (2010). Physiologic specialization of *Puccinia triticina* on wheat (*Triticum* species) in India. *Indian J. Agric. Sci.* 80, 805-811.
- Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RW** (1980). Construction of a Genetic Linkage Map in Man Using Restriction Fragment Length Polymorphisms. *Am J Hum Genet.* 32, 314-331.
- Czajowski G, Kosman E, Słowacki P, Park RF, Czembor P** (2021a). Assessing new SSR markers for utility and informativeness in genetic studies of brown rust fungi on wheat, triticale, and rye. *Plant Pathology*, 70(5), 1110-1122.
- Czajowski G, Kosman E, Słowacki P, Park RF, Czembor P** (2021b). Pathogenic and genetic diversity of *Puccinia triticina* from triticale in Poland between 2012 and 2015. *Plant Pathology*, 70(9), 2148-2164.
- Flath K** (2011). Interaction between powdery mildew (*Blumeria graminis*) and triticale (*xTriticosecale*) in Germany as a model for pathosystem analysis. *Phytopathology* 101.
- Hanzalova A, Bartos P** (2011). Resistance of Triticale to wheat leaf rust (*Puccinia triticina*). *Czech J. Genet. Plant Breed.* 47, 10-16.
- Hovmoller M, Walter S, Bayles RA, Hubbard A, Flath K, Sommerfeld N, Leconte M, Czembor P, Rodriguez-Algaba J, Thach T, Hansen JG, Lassen P, Justesen AF, Ali S, de Vallavieille-Pope C** (2016). Replacement of the European wheat yellow rust population by new races from the centre of diversity in the near-Himalayan region. *Plant Pathol.* 65, 402-411.
- Kalinowski ST, Taper ML, Marshall TC** (2007). Revising how the computer program *CERVUS* accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Molecular Ecology*, 16, 1099-1106.
- Kamvar ZN, Tabima JF, Grünwald NJ** (2014). Poppr: an R package for genetic analysis of populations with clonal, partially clonal, and/or sexual reproduction. *PeerJ* 2:e281; DOI 10.7717/peerj.281
- Kwiatkiewicz, Majka M, Wiśniewska H, Apolinarska B, Belter J** (2015). Effective transfer of chromosomes carrying leaf rust resistance genes from *Aegilops tauschii* Coss. into hexaploid triticale (*xTriticosecale* Witt.) using *Ae. tauschii* × *Secale cereale* amphiploid forms. *J. Appl. Genet.* 56, 163-168.
- Losert D, Maurer HP, Leiser WL, Würschum T** (2017). Defeating the Warrior: genetic architecture of triticale resistance against a novel aggressive yellow rust race. *Theor. Appl. Genet.* 130, 685-696.
- Oettler G** (2005). The fortune of a botanical curiosity – Triticale: past, present and future. *J. Agric. Sci.* 143, 329.
- Pretorius ZA, Bender CM** (2010). First report of virulence for the wheat leaf rust (*Puccinia triticina*) resistance gene *Lr32* in South Africa. *Plant Dis.* 94, 381-381.
- Sodkiewicz W, Strzembicka A** (2004). Application of *Triticum monococcum* for the improvement of triticale resistance to leaf rust (*Puccinia triticina*). *Plant Breed.* 123, 39-42.
- Stakman EC, Stewart DM., Loegering WQ** (1962). Identification of physiologic races of *Puccinia graminis* var. *tritici*. *U.S. Agric Res Serv E617*, 1-53.
- Terefe TG, Visser B, Herselman L, Prins R, Negussie T, Kolmer JA, Pretorius ZA** (2014). Diversity in *Puccinia triticina* detected on wheat from 2008 to 2010 and the impact of new races on South African wheat germplasm. *Eur. J. Plant Pathol.* 139, 95-105.
- Troch V, Audenaert K, Bekaert B, Höfte M, Haesaert G** (2012). Phylogeography and virulence structure of the powdery mildew population on its 'new' host triticale. *BMC Evol. Biol.* 12, 76.
- Troch V, Audenaert K, Vanheule A, Bekaert B, Höfte M, Haesaert G** (2013). Evaluation of Resistance to Powdery Mildew in Triticale Seedlings and Adult Plants. *Plant Dis.* 97, 410-417.
- Visser B, Herselman L, Bender CM, Pretorius ZA** (2012). Microsatellite analysis of selected *Puccinia triticina* races in South Africa. *Australas. Plant Pathol.* 41, 165-171.
- Wilson J** (1989). Inheritance of the Leaf Rust Resistance of Four Triticale Cultivars. *Phytopathology* 79, 731.
- Wilson J, Shaner G** (1984). Genetics of leaf rust resistance in triticale. *Phytopathology* 74, 875.
- Wilson J, Shaner G** (1987). Slow leaf-rusting resistance in triticale. *Phytopathology* 77, 458-462.
- Zhang J, Wellings CR, McIntosh RA, Park RF** (2010). Seedling resistances to rust diseases in international triticale germplasm. *Crop Pasture Sci.* 61, 1036-1048.

# TritiRB : Caractérisation de sources de résistance durables à la rouille brune chez le Triticale

Anne-Lise BOIXEL<sup>1</sup>, Valérie LAURENT<sup>2</sup>, Annaïg BOUGUENNEC<sup>3</sup>, Ellen GOUEMAND DUGUE<sup>2</sup>, Christophe JEUDI<sup>2\*</sup>, Éric DELALEAU<sup>4</sup>, Frédéric FANTIN<sup>5</sup>, Anthony ROULLIER<sup>6</sup>, Philippe Du CHEYRON<sup>7</sup>, Ghislain DELESTRE<sup>1</sup>, Corentin PICARD<sup>1</sup>, Henriette GOYEAU<sup>1</sup>

1 - Université Paris-Saclay, INRAE, UR BIOGER, 91123 Palaiseau  
 2 - SAS Florimond Desprez Veuve et Fils, BP 41, 59242 Cappelle en Pévèle  
 3 - UCA, INRAE, GDEC, 63000, Clermont-Ferrand, FRANCE  
 4 - Lemaire-Deffontaines, 180 rue du Rossignol, 59310 Auchy les Orchies

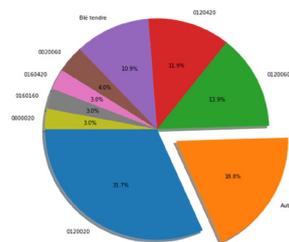
5 - Agri-Obtentions URD78, Ferme de Gauvilliers, 78660 Orsonville  
 6 - RAGT 2n, rue Emile Singla, site de Bourran, 12000 Rodez  
 7 - Arvalis-Institut du Végétal, 3 rue Joseph et Marie Hackin, 75016 Paris  
 \*Coordinateur : GIE Triticale

## Contexte et objectifs

Le triticale est sujet à des épidémies de rouille brune, qui peuvent impacter fortement le rendement (de 30 à 40% sur variété sensible en 2016) en particulier dans l'Ouest de la France. Il est donc indispensable de veiller à introduire dans le fonds génétique des sources de résistance, de préférence quantitatives et diversifiées, pour assurer leur durabilité. Pour une gestion de l'efficacité et de la durabilité des résistances génétiques du Triticale vis-à-vis de la rouille brune, nous avons procédé à la caractérisation : (i) des populations de l'agent pathogène (*P. triticina*) à l'origine des épidémies de rouille brune sur cette espèce, (ii) de la résistance du matériel génétique proposé par le GIE Triticale, (iii) du déterminisme génétique de la résistance à la rouille brune en réalisant le phénotypage de lignées descendantes de croisements avec une variété sensible.

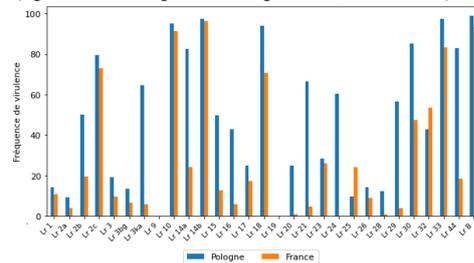
## Gamme d'hôtes différentiels spécifique triticale

Mise au point d'une gamme de 12 hôtes différentiels permettant de mieux discriminer les phénotypes de virulence vis-à-vis des gènes *Lr* et des sources de résistance utilisées dans la sélection du triticale : 8 pathotypes majoritaires et 3 groupes phénotypiques



Proportion des pathotypes tels que caractérisés sur la gamme d'hôtes spécifiques triticale mise au point dans le cadre du projet

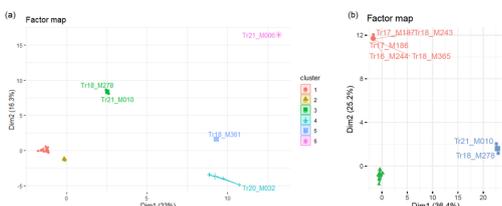
Des populations françaises et polonaises de *P. triticina* sur triticale qui présentent 74% de similitude sur leurs fréquences de virulence (e.g. contournement généralisé des gènes *Lr10*, *Lr14b* et *LrB*)



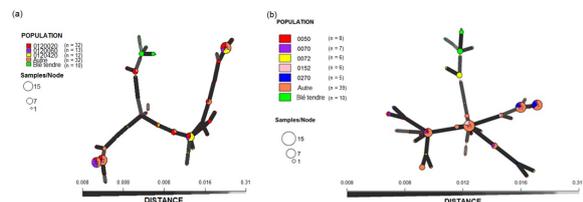
Comparaison des fréquences de virulence au sein des populations françaises (n = 101 échantillons) et polonaises (n = 242 échantillons) collectées sur triticale pour 29 isolignées Thatcher pour les gènes *Lr*

## Caractérisation des populations de *P. triticina* prélevées sur triticale

Quatre groupes génotypiques : un de type blé tendre et trois autres spécifiques triticale dont un majoritaire regroupant 80% des isolats



HCPC (Hierarchical Clustering on Principal Components) conduite sur les données de génotypage en tenant compte de (a) l'ensemble des échantillons puis (b) uniquement avec ceux ayant un pathotype de type triticale



Minimum spanning network sur les données de génotypage en tenant compte des populations phénotypées sur (a) la gamme blé tendre et (b) la gamme triticale mise au point dans ce projet

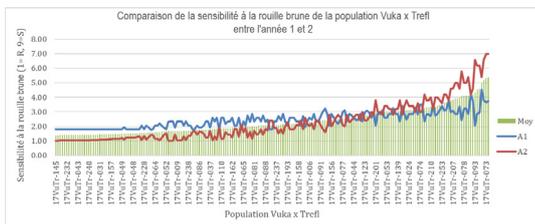
## Recherche de sources de résistance Phénotypage

Ségrégation de résistance quantitative au champ :

- 2 populations de triticale (obtenues par Single Seed Descent (SSD)) : **Vuka x Trefl** et **Kaulos x Vuka**
- 200 et 253 descendants en contamination naturelle et artificielle sur **4 lieux** et **2 années** de phénotypage.



Localisation des sites de phénotypage



Comparaison du niveau de sensibilité à la rouille brune observée entre les années 2019 et 2020 sur la population Vuka x Trefl.

## Génotypage

Détections de QTL majeurs :

- 1) Un QTL majeur de résistance a été mis en évidence dans la population biparentale **Vuka x Trefl**. Le QTL localisé sur le **chromosome 4R** explique à lui seul plus de **40%** de la variance phénotypique totale avec l'allèle favorable provenant du parent **Trefl**.
- 2) Un QTL à faible effet (5.34% d'explication) a également été mis en évidence sur le chromosome 4B de la population Vuka x Trefl.
- 3) Pour la population Kaulos x Vuka, des QTL de résistance ont été mis en évidence pour l'année 2 à Etoile sur Rhône sur les chromosomes 4R, 5R et 6A. Ils expliquent entre 6.52 et 7.29%.

## Conclusion-Discussion

Des lignées résistantes de triticale et de triticale primaire ont été repérées malgré la difficulté de phénotyper la rouille brune au champ pendant le projet. Des outils de phénotypage (gamme de 12 hôtes différentiels) et de génotypage (jeu de 17 marqueurs SSR) des populations de *P. triticina* spécifiques triticale ont été développés. Ces outils ont permis une caractérisation fine des profils de virulence (8 pathotypes majoritaires et 3 groupes phénotypiques) et de la diversité génétique des populations (40 Multi-Locus Genotypes).

Un QTL majeur de résistance a été mis en évidence dans la population biparentale Vuka x Trefl sur le chromosome 4R. Le QTL explique à lui seul plus de 40% de la variance phénotypique totale avec l'allèle favorable provenant du parent Trefl. A ce stade, la zone délimitant le QTL mesure entre 2,4 et 3,5 cM selon l'environnement dans lequel il avait été mis en évidence. Afin de faciliter l'utilisation de ce QTL de résistance, une cartographie fine de la région sera réalisée (projet FSOV RUSTRIT 2023-2027).

