

DURABLE : Spécificité des résistances du blé DUR

Aux maladies foliaires du BLÉ : cartes, marqueurs et gènes

Thierry C MARCEL^{1*}, Laura PAIRE², Faharidine MOHAMADI³, Roula SHAMSI¹, Rafika BENBERNOU¹, Ulysse GUILLOTEAU¹, Corentin PICARD¹, Karim AMMAR⁴, Delphine AUDIGEOS³, Cyrille SAINTENAC², GIE Blé Dur⁵

1 - Université Paris Saclay, INRAE, UR BIOGER, Palaiseau, France

2 - Université Clermont Auvergne, INRAE, UMR GDEC, Clermont-Ferrand, France

3 - ARVALIS Institut du Végétal, Station Expérimentale, Boigneville, France

4 - International Maize and Wheat Improvement Center (CIMMYT), Mexico, D.F., Mexico

5 - G.I.E. Blé Dur, 7 Rue du Coq Héron, Paris, France

*Coordinateurs du projet : Thierry C MARCEL, thierry.marcel@inrae.fr

INTRODUCTION

Les maladies foliaires constituent une menace majeure pour la durabilité des systèmes céréaliers, en particulier dans un contexte de réduction des intrants phytosanitaires et d'évolution rapide des populations d'agents pathogènes. Dans ce cadre, la résistance variétale représente l'un des leviers les plus efficaces et les plus durables pour contrôler les maladies. Toutefois, contrairement au blé tendre, les variétés élités de blé dur reposent sur une base génétique étroite (Haudry *et al.*, 2007) et sont largement dépourvues de gènes de résistance efficaces. Cet appauvrissement est particulièrement marqué vis-à-vis de la septoriose, causée par *Zymoseptoria tritici*. Par ailleurs, si le blé dur a longtemps été peu affecté par la rouille brune et la rouille jaune, respectivement causées par *Puccinia triticina* et *Puccinia striiformis f. sp. tritici*, l'adaptation récente des populations pathogènes a conduit à l'érosion de l'efficacité des résistances présentes dans les variétés cultivées, rendant indispensable l'identification de nouvelles sources de résistance.

Le projet DURABLE s'inscrit dans cette dynamique et capitalise sur les acquis de projets antérieurs afin de poursuivre l'identification des déterminants génétiques de la résistance du blé dur aux principales maladies foliaires. Ses objectifs sont triples : (i) cartographier les gènes de résistance impliqués dans la réponse à la septoriose et aux rouilles, (ii) identifier des marqueurs moléculaires qui permettront de faciliter l'introgression de ces résistances dans les nouvelles variétés, et (iii) comparer les pools génétiques du blé dur et du blé tendre afin d'identifier les QTL les plus pertinents pour la sélection.

L'identification des gènes de résistance repose principalement sur deux approches statistiques complémentaires permettant d'établir un lien entre variations génotypiques et phénotypiques. La première est la cartographie de loci de caractères quantitatifs (QTL), réalisée dans des populations recombinantes issues du croisement entre variétés contrastées, afin d'analyser la ségrégation des phénotypes d'intérêt. La seconde correspond aux études d'association à l'échelle du génome (GWAS), menées dans des panels d'individus a priori non apparentés. Si ces approches ont été largement exploitées chez le blé tendre, leur application au blé dur demeure plus limitée. Dans des

projets précédents (CASDAR DUROMAL et FSOV Rouille BD-T), cinq populations recombinantes issues de croisements entre variétés élités françaises résistantes et sensibles ont permis d'identifier plusieurs QTL de résistance à ces trois maladies. Le projet FSOV DURABLE a prolongé ces travaux par l'analyse de deux nouvelles populations recombinantes développées à partir des variétés italiennes résistantes Trinakria et Ceedur, enrichissant ainsi le panorama des résistances disponibles au sein du blé dur. L'intégration de ces résultats ouvre la voie à une vision globale de l'architecture génétique de la résistance chez le blé dur et permet une analyse comparative avec les résistances décrites chez le blé tendre.

Afin de comparer et d'intégrer les résultats issus des analyses de cartographie de QTL et de GWAS, nous avons développé une procédure de méta-analyse visant à obtenir une vision intégrée et exhaustive de l'architecture génétique d'un caractère à l'échelle de l'espèce. Cette approche de méta-QTL consiste à identifier des QTL consensus entre différentes populations et/ou environnements, et à en affiner les intervalles de confiance afin de faciliter l'identification des gènes sous-jacents. Nous avons appliqué cette méthode à l'étude de la résistance à la septoriose chez le blé tendre, afin d'inventorier l'ensemble des QTL associés à cette résistance et d'identifier des méta-QTL robustes, dont la position a été comparée à celle des gènes *Stb* connus. À plus long terme, l'objectif est d'étendre cette approche au blé dur et de comparer les méta-QTL impliqués dans la résistance à la septoriose entre les deux espèces, afin de mieux exploiter leur diversité génétique et d'optimiser les stratégies de sélection.

MATÉRIEL ET MÉTHODE

► Développement de populations recombinantes

Un panel de 200 variétés de blé dur françaises et italiennes a précédemment été évalué au champ en pépinières maladies et en conditions contrôlées pour sa résistance à la septoriose, causée par *Zymoseptoria tritici* (CASDAR DUROMAL, 2014-2018). De ces évaluations, plusieurs variétés avaient été remarquées pour leur résistance à cette maladie. La variété Trinakria possède une résistance intéressante à la septoriose mais aussi aux différentes rouilles du blé. La variété Ceedur était la variété la plus résistante de tout le panel à plus de 40

souches de *Z. tritici* testées en conditions contrôlées et au champ. Ces deux variétés ont été croisées avec des variétés sensibles afin de développer des populations recombinantes. Une population de 203 lignées recombinantes (RILs) en génération F₁₂ a été obtenue pour Trinakria, et une population de 295 RILs en génération F₇ pour Ceedur. Ces populations de RILs étaient disponibles au démarrage du projet et ont pu être utilisées pour étudier la génétique de la résistance à la septoriose mais aussi à la rouille brune, causée par *Puccinia triticina*.

D'autres populations de RILs ont été développées au cours du projet DURABLE mais n'ont pas été étudiées dans ce cadre. Elles ciblent des variétés françaises de blé dur, largement cultivées en France et présentant un intérêt pour leur niveau de résistance à la septoriose et/ou à la rouille brune. Les populations de RILs en génération F₆ concernent les croisements RGT Voilur/ Sculptur, Nobilis/Heraklion, Trinakria/ Sculptur et Anvergur/Heraklion. Une population F₆ a également été développée à partir du croisement entre deux lignées de blé tendre très sensibles aux maladies, Taichung 29/ Chinese Spring ; elle a pour but d'étudier la spécialisation de *Z. tritici* vis-à-vis de ses hôtes, le blé tendre (*Triticum aestivum*) et le blé dur (*T. turgidum*). Ce matériel, produit dans le cadre du projet DURABLE, sera valorisé au sein de futurs projets de recherche partenariale.

► **Génotypage des populations**

L'ensemble des RILs de ces deux populations ainsi que les variétés parentales ont été génotypées sur la plateforme Gentyane d'INRAE GDEC à Clermont-Ferrand à l'aide de la puce SNP Axiom TaBW35K (Paux *et al.*, 2022). Une graine de chaque RIL et variété parentale a été utilisée pour le génotypage. Les SNP polymorphes entre les variétés parentales et entre les RILs ont ensuite été utilisés pour construire des cartes génétiques à l'aide du logiciel Multipoint ultra-dense (MultiQTL Ltd, Université de Haïfa, Israël). Ce logiciel basé sur le « twin algorithm » permet de construire des cartes génétiques avec une haute densité de marqueurs (Ronin *et al.*, 2017). Des filtres ont été appliqués pour la sélection des marqueurs qui ne permettent pas plus de 20% de données manquantes et limitent la distorsion de ségrégation ($\chi^2 < 9,5$). Après le premier regroupement (« clustering ») des

marqueurs, les groupes de liaison appartenant à un même chromosome ont été fusionnés et les résultats issus de Multipoint ont été transformés à l'aide de la fonction de cartographie de Kosambi (Kosambi, 2016). Pour les groupes de marqueurs présentant la même position sur un chromosome donné (c'est-à-dire une ségrégation identique dans la population), un seul marqueur, appelé « marqueur squelette », a été sélectionné. Seul l'ensemble des marqueurs squelettes a ensuite été utilisé pour la cartographie des QTL.

► **Tests d'infection en conditions contrôlées et au champ**

Les deux populations ont été évaluées pour leur niveau de résistance à la septoriose au cours de tests d'infection sur jeunes plantes en conditions contrôlées (Tableau 1). Les populations Trinakria et Ceedur ont été évaluées en deux répétitions avec la souche INRA13-LG0279 (collectée sur la variété Sculptur, en Occitanie en 2013). La procédure détaillée de ces tests d'infection est disponible dans Langlands-Perry *et al.* (2022). Brièvement, pour chaque RIL et lignée parentale testée trois graines ont été semées par pot, puis les pots répartis dans des plateaux contenant 15 pots/plateau. Avant l'inoculation, les plantes ont été cultivées en chambre climatique avec une photopériode de 16h, une hygrométrie fixée à 70% et des températures de 16°C la nuit et 20°C le jour. Après l'inoculation, les plantes ont été placées dans une chambre climatique avec une photopériode de 16h, hygrométrie fixée à 90% le jour et 80% la nuit, et températures de 22°C pendant le jour et 18°C la nuit. Dans les chambres climatiques, les conditions d'éclairage ont été maintenues à 300 µmol.m².s⁻¹. Les plantes ont été inoculées 16 jours après semis sur la première vraie feuille avec une suspension contenant 10⁶ spores.mL⁻¹. Les pourcentages de surface foliaire inoculée présentant des lésions (note de nécrose) ou portant des pycnides (note de sporulation) ont été estimées visuellement à 14, 20 et 26 jours après l'inoculation (jai). Les aires sous les courbes de progression de la maladie (AUDPC) entre les trois dates d'observation ont ensuite été calculées puis normalisées par rapport à l'AUDPC maximale théorique (RAUDPC). La sporulation maximale à 26 jai (SMAX) et les RAUDPC de nécrose (RAUDPCN) et de sporulation (RAUDPCS) ont été utilisés comme traits phénotypiques pour les analyses QTL.

Essais ¹	Nombre de répétitions	pop_Trinakria ²	pop_Ceedur ²
Conditions contrôlées	2	STB [INRA13-LG0279]	STB [INRA13-LG0279]
Obregón-2022 (MX)	2	Jours à l'épiaison RB [Infection naturelle]	
Lectoure-2023 (FR)	2		STB [INRA13-0279]
Montbartier-2023 (FR)	2	Jours à l'épiaison RB [BD 12M119]	X
Lectoure-2024 (FR)	2	Jours à l'épiaison RB [BD12M119] STB [INRA13-0279]	X
Montbartier-2024 (FR)	2	Jours à l'épiaison RB [BD12M1 19]	Jours à l'épiaison RB [BD12M119]
Koudia-2025 (TN)	1	Jours à l'épiaison Hauteur des plantes STB [Infection naturelle]	Jours à l'épiaison Hauteur des plantes STB [Infection naturelle]

¹ Essais : MX (Mexique), FR (France), TN (Tunisie) ; ² Phénotypes : STB (septoriose), RB (rouille brune), entre parenthèses est indiqué le nom de la souche utilisée pour les inoculations.

Tableau 1 : Bilan des essais pour l'évaluation phénotypique des populations de RILs issues des croisements avec les variétés résistantes Trinakria et Ceedur, en conditions contrôlées et en plein champ, pour leur résistance à la septoriose (STB) et à la rouille brune (RB)

Les deux populations ont également été évaluées au cours d'essais en pépinières au champ pendant 4 années, de 2022 à 2025 (Tableau 1). En 2022, la population Trinakria a été évaluée au Mexique vis-à-vis de la rouille brune, en conditions d'inoculation naturelle. En 2023 et 2024, les deux populations Trinakria et Ceedur ont été évaluées en France, sur les sites de Lectoure (32) et/ou Montbartier (82), vis-à-vis de la rouille brune et/ou de la septoriose, en conditions d'inoculation artificielle. Pour la rouille brune, la souche BD12M119 a été utilisée pour les inoculations ; cette souche a un pathotype virulent sur les résistances [*Lr14a*; *Lr23*; *LrAltarC84*] et correspond au pathotype dominant sur le blé dur en France depuis 2011. Pour la septoriose, la même souche utilisée pour les tests en conditions contrôlées a été utilisée pour les inoculations au champ, c'est-à-dire INRA13-LG0279. En 2025, les deux populations Trinakria et Ceedur ont été évaluées en Tunisie vis-à-vis de la septoriose, en conditions d'inoculation naturelle. Chaque essai était composé de deux répétitions organisées selon un dispositif aléatoire par blocs ; sauf sur l'essai Koudia-2025 dans lequel une seule répétition a été réalisée (Tableau 1). La sévérité de la maladie a été notée pour chaque lignée en utilisant une échelle allant de 1 à 9 (de 1 résistant à 9 sensible) ou de 0 à 100 (de 0 résistant à 100 sensible), selon l'essai. Dans chaque essai entre une et trois observations ont été réalisées, et même cinq observations pour l'essai Obregón-2022. Lorsque cela était possible, les RAUDPC entre les dates d'observation ont été calculées et utilisées comme traits phénotypiques pour les analyses QTL, sinon la note de sévérité de la maladie a été utilisée. La date d'épiaison a été observée dans 5 essais pour la population Trinakria, et dans 2 essais pour la population Ceedur, et la hauteur des lignées a été mesurée pour les deux populations dans l'essai Koudia-2025. Ces observations ont également été utilisées comme traits phénotypiques pour les analyses QTL.

► Analyses QTL

La cartographie des QTL a été réalisée avec le logiciel R/qtl (Broman *et al.*, 2003). Les analyses QTL ont été réalisées indépendamment pour chaque répétition avec les traits phénotypiques observées en conditions contrôlées (septoriose) et au champ (rouille brune et septoriose), mais aussi avec la moyenne de ces répétitions. Une cartographie « Simple Interval Mapping (SIM) » a été effectuée afin de détecter les principaux QTL qui ont ensuite été implémentés comme facteurs aléatoires dans le modèle statistique utilisé pour la cartographie « Composite Interval Mapping (CIM) ». La significativité et le pourcentage de variabilité expliquée par chaque QTL ont été estimés à l'aide d'un modèle linéaire. Nous n'avons retenu que les QTL détectés au moins deux fois pour une même maladie dans une même population.

► Construction d'une carte génétique intégrée

Plusieurs études de génétique de la résistance ont été menées depuis 2014 par INRAE, ARVALIS et le G.I.E. Blé Dur. Notamment, une première étude de cartographie de QTL menée au sein du projet CASDAR DUROMAL (2014-2018) a permis d'identifier 8 QTL de résistance à la rouille brune et 9 QTL de résistance à la septoriose dans cinq populations de RILs obtenues à partir de croisements entre variétés françaises de blé dur (Tableau 2). Une seconde étude menée au sein du projet FSOV Rouille BD-T (2016-2019) a permis d'identifier dans une de ces populations 2 QTL de résistance à la rouille jaune, causée par *Puccinia striiformis f.sp. tritici*, dont un QTL a effet majeur sur le chromosome 1B (Tableau 2).

Toutes ces populations de RILs ont été génotypées à l'aide de la puce TaBW35K. La position physique des marqueurs SNP provenant de la puce TaBW35K est connue sur le génome de référence de la variété de blé tendre Chinese Spring, Refseq_v2.1 (Zhu *et al.*, 2021 ; Paux *et al.*, 2022). L'ensemble des QTL de résistance à la rouille

Maladie	QTL	AlleleR ¹	Champ ²	C.Cont ³	Chrom ⁴	Pos (cM) ⁴	LOD	%var ⁵
Rouille	qPS-NOB-1B-1*	Nobilis	10	-	1B	30,86	27,2	49
RouilleJ	qPS-NOB-1B-2	Nobilis	2	-	1B	55	3,15	8,3
RouilleB	qPT-BAB-1 B-1	Babylone	2	-	1B	29,27	7,1	28,8
RouilleB	qPT-LIB-1B-2	Liberdur	2	-	1B	44,42	4	13,1
RouilleB	qPT-CAR-2B	SY Carma	2	-	2B	143,94	2,9	6,4
RouilleB	qPT-LIB-3B	Liberdur	2	-	3B	101,24	3,2	16,5
RouilleB	qPT-NOB-4A	Nobilis	2	-	4A	70,29	2,2	6,2
RouilleB	qPT-NOB-7B	Nobilis	2	-	7B	180,07	2,5	5,4
RouilleB	qPT-CAR-7B	SY Carma	2	-	7B	194,82	11,9	14,6
RouilleB	qPT-PAS-7B*	Pastadou	5	-	7B	194,81	16,9	32,8
Septoriose	qZT-NOB-1B	Nobilis	0	2	1B	55	3,9	11,2
Septoriose	qZT-MIR-2B-1	Miradoux	0	4	2B	102,72	3,2	10
Septoriose	qZT-FAB-2B-2	Fabulis	0	5	2B	228,99	4,9	20
Septoriose	qZT-MIR-3A	Miradoux	0	16	3A	17,27	25,4	54,1
Septoriose	qZT-MIR-4B	Miradoux	1	1	4B	99,86	3,4	7,2
Septoriose	qZT-MIR-6A	Miradoux	2	0	6A	3,11	3,8	9,6
Septoriose	qZT-PAS-6A*	Pastadou	0	8	6A	7,08	18	42,5
Septoriose	qZT-PAS-6B	Pastadou	3	1	6B	66,88	7,4	19,6
Septoriose	qZT-NOB-7B	Nobilis	1	5	7B	91,98	9,9	32,7

¹ Nombre de détections du QTL avec les phénotypes au champ ; ² Nombre de détections du QTL avec les phénotypes en conditions contrôlées (seulement pour la Septoriose) ; ³ Position du marqueur le plus associé sur la carte génétique consensus ; ⁴ Pourcentage de variation phénotypique maximum expliquée par le QTL.

Tableau 2 : Caractéristiques des QTL de résistance à la Rouille Jaune, la Rouille Brune et la Septoriose identifiés dans 5 populations de blé dur étudiées dans les projets DUROMAL (2014- 2018) et FSOV Rouille BD-T (2016-2019)

jaune, à la rouille brune et à la septoriose détectés dans les études QTL des projets CASDAR DUROMAL, FSOV ROUILLE_BD-T et FSOV DURABLE ont été projetés sur le génome de référence Refseq_v2.1, ce qui a permis de comparer la position des QTL obtenus entre ces différentes études, entre les différentes populations de RILs et les différentes maladies. La carte de la position physique de tous ces QTL a été visualisée graphiquement à l'aide du logiciel MapChart V2.3 (Voorrips, 2002).

► Méta-analyse des données septoriose

Nous avons réalisé une méta-analyse des QTL de résistance à la septoriose identifiés par cartographie de QTL et par GWAS chez le blé tendre. La première étape a consisté à construire une base de données en compilant les informations relatives aux QTL de résistance identifiés dans la littérature scientifique. Vingt-quatre études de cartographie de QTL ont été retenues pour la méta-analyse, dont 19 rapportées par Saini *et al.* (2022). Pour chacune d'elles, nous avons extrait les informations relatives à chaque QTL, dont la position du marqueur le plus associé et l'intervalle de confiance génétique sur la carte originale. Par ailleurs, huit jeux de données GWAS ont été collectés dans la littérature et réanalysés à l'aide du package R GAPIT (Wang & Zhang, 2021). Les intervalles de confiance des QTL détectés par GWAS ont été définis sur la base du déséquilibre de liaison. Les marqueurs flanquants ont été alignés sur la carte physique du génome de référence Chinese Spring (Refseq_2.1). Le pourcentage de variance expliqué par les QTL issus des GWAS a été estimé à l'aide d'un modèle de régression linéaire multivarié, en tenant compte de la structure génétique des populations analysées. Les QTL issus des études de cartographie et des GWAS ont ensuite été projetés sur la carte génétique ultra-dense (148 820 SNP) de Langlands-Perry *et al.* (2022). Parmi ces marqueurs, 123 489 SNP ont pu être positionnés physiquement sur le génome de référence Chinese Spring. La carte physique (Refseq_2.1) a été utilisée comme carte de transition lorsque les marqueurs des études originales n'étaient pas directement présents sur la carte génétique finale.

Deux approches complémentaires ont été appliquées pour définir les méta-QTL : (i) une approche fondée sur le « clustering » à l'aide du programme meta-QTL de Veyrieras *et al.* (2007), et (ii) une approche probabiliste basée sur la « QTL overview statistic » (Chardon *et al.*, 2004). Les régions de méta-QTL identifiées par l'une ou l'autre des deux méthodes et se chevauchant ont été considérées comme des méta-QTL (MQTL) validés. D'autre part, un méta-QTL a été considéré comme de haute confiance (HCMQTL) lorsque : (i) son intervalle recouvrait au moins trois QTL, (ii) au moins deux de ces QTL présentaient également un chevauchement sur la carte physique, et (iii) la taille de l'intervalle du méta-QTL était inférieure à la moyenne des intervalles de confiance des QTL qu'il regroupe, à la fois sur les cartes génétique et physique.

➤ RÉSULTATS

► Construction des cartes génétiques

Parmi les 34 746 SNP présents sur la puce TaBW35K, 2 948 SNP étaient polymorphes dans la population de RILs

issue de Trinakria et 5 978 SNP dans la population issue de Ceedur. Après filtration pour les données manquantes et la distorsion de ségrégation, et après regroupement des marqueurs, 1 073 et 3 960 marqueurs ont pu être utilisés pour construire les cartes génétiques des deux populations, respectivement. La carte génétique de la population Trinakria est composée de 377 marqueurs squelettes, espacés en moyenne de 5,8 cM, pour une longueur totale de 2 120 cM (Tableau 3). La carte génétique de la population Ceedur est composée de 983 marqueurs squelettes, espacés en moyenne de 2,4 cM, pour une longueur totale de 2 371 cM (Tableau 3). Bien que la longueur totale des cartes génétiques des deux populations soit approximativement identique, le nombre plus élevé de marqueurs sur la carte génétique de Ceedur permet une résolution de cartographie des QTL plus de deux fois supérieure à celle obtenue avec Trinakria. Pour les deux populations, le nombre de marqueurs polymorphes est plus élevé sur les chromosomes du génome B que sur ceux du génome A (Tableau 3).

► Pléiotropie entre phénologie, hauteur et résistance aux maladies

Les notations de date d'épiaison et de hauteur indiquent que Trinakria et Ceedur sont plus tardives et plus hautes que les variétés sensibles utilisées pour développer les populations de RILs, SOOTY_9/RASCON_37 et WID22256 respectivement. Dans la population Trinakria, deux QTL de date d'épiaison (2A, 2B) et un QTL de hauteur (2B) ont été détectés. Ces trois QTL colocalisent avec des QTL de résistance à la rouille brune et/ou à la septoriose au champ. L'allèle conférant une plus grande précocité ou une plus faible hauteur provient de SOOTY_9/RASCON_37, tandis que l'allèle de résistance provient de Trinakria, suggérant un effet probable de pléiotropie (les plantes plus tardives ou plus hautes échappant au développement de la maladie). Ces QTL n'ont donc pas été considérés comme des QTL de résistance dans la suite des analyses. Dans la population Ceedur, cinq QTL de date d'épiaison (1B, 2B, 3A, 3B, 7A) et un QTL de hauteur (4A) ont été détectés. Cinq de ces six QTL colocalisent avec des QTL de résistance à la rouille brune et/ou à la septoriose au champ. Pour les colocalisations en 1B, 2B, 4A et 7A, l'allèle de précocité ou de plus faible hauteur provient de WID22256, tandis que l'allèle de résistance provient de Ceedur ; ces QTL ont donc été exclus des analyses de résistance. En revanche, pour la colocalisation en 3A, l'allèle de Ceedur est associé à la fois à une plus grande précocité et à la résistance à la septoriose dans les essais de Lecture-2023 et de Koudia-2025. Un effet de pléiotropie étant peu probable, ce QTL a été retenu comme QTL de résistance dans la suite des analyses.

► Identification des QTL de résistance

Trois QTL de résistance à la rouille brune ont été détectés dans les essais au champ (Tableau 4). Un premier QTL a été détecté sur le chromosome 6A dans la population Ceedur//WID22256, dans les deux répétitions de l'essai Montbartier-2024. Cette population ayant été ciblée pour le niveau de résistance de Ceedur à la septoriose, elle n'a été évaluée pour la rouille brune que dans le seul essai de Montbartier-2024. L'allèle de résistance de ce QTL est apporté par le parent WID22256 et il présente un effet majeur sur le niveau de résistance ($R^2 = 30,5\%$).

	pop_Trinakria			pop_Ceedur		
	Marqueurs	DistM1 (cM)	DistT2 (cM)	Marqueurs	DistM1 (cM)	DistT2 (cM)
Chr1A	16	7	105,6	29	5,5	154,0
Chr1B	26	5,9	147,6	109	1,4	146,2
Chr2A	13	13,1	157,7	70	2,5	172,5
Chr2B	41	5,7	228,9	128	1,5	189,6
Chr3A	12	11,9	131,33	42	4,6	187,4
Chr3B	43	5,2	217,9	86	2,3	192,2
Chr4A	35	1,8	61,7	61	2,8	167,3
Chr4B	8	21,7	151,8	32	4,4	135,9
Chr5A	36	6,5	226,6	65	3,2	205,9
Chr5B	26	6,7	167,9	67	3,1	201,9
Chr6A	38	4	146,6	54	2,7	142,4
Chr6B	38	3,9	144,3	71	1,7	117,9
Chr7A	20	7,3	138,8	78	2,6	196,6
Chr7B	25	3,9	92,9	91	0,7	160,8
TOTAL	377	5,8	2119,6	983	2,4	2370,6

¹ DistM : Distance moyenne entre marqueurs consécutifs (en cM) ; ² DistT : Distance totale du chromosome (en cM) ; cM : centiMorgans.

Tableau 3 : Nombre et distribution des marqueurs squelettes (positions uniques) sur les cartes génétiques des populations de RILs obtenues à partir des variétés résistantes Trinakria et Ceedur

Maladie	QTL	AlleleR ¹	Champ ²	C.Cont ³	Chrom ⁴	Pos (cM) ⁴	LOD	%var ⁵
RouilleB	qPT-WID-6A	WID22256	3	-	6A	139,6	25,1	30,5
RouilleB	qPT-TRI-6B	Trinakria	2	-	6B	133	4,6	9,5
RouilleB	qPT-TRI-7A	Trinakria	3	-	7A	114	3,2	6,1
Septoriose	qZT-CEE-3A-1	Ceedur	5	0	3A	6,5	4,9	5,5
Septoriose	qZT-CEE-3A-2	Ceedur	0	3	3A	23,4	6,5	19,2
Septoriose	aZT-TRI-3A	Trinakria	8	5	3A	34,1	11,6	30,3
Septoriose	qZT-TRI-4B	Trinakria	6	0	4B	0	3,8	7,1
Septoriose	qZT-CEE-6A	Ceedur	0	3	6A	41,8	10,2	28,5
Septoriose	qZT-CEE-6B	Trinakria	0	2	6B	15,6	5,2	15,1

¹ Lignée parentale contribuant l'allèle de résistance (WID22256 est le parent sensible de la population Ceedur) ; ² Nombre de détections du QTL avec les phénotypes au champ ; ³ Nombre de détections du QTL avec les phénotypes en conditions contrôlées (seulement pour la Septoriose) ; ⁴ Position du marqueur le plus associé sur la carte génétique ; ⁵ Pourcentage de variation phénotypique maximum expliquée par le QTL.

Tableau 4 : Caractéristiques des QTL de résistance à la Rouille Brune et à la Septoriose identifiés dans les 2 populations de blé dur avec Trinakria et Ceedur

Les deux autres QTL de résistance à la rouille brune ont été détectés dans la population Trinakria//SOOTY_9/RASCON_37, sur les chromosomes 6B et 7A. Les allèles de résistance de ces deux QTL sont apportés par le parent Trinakria et présentent un effet plus modéré sur le niveau de résistance.

Six QTL de résistance à la septoriose ont été détectés en conditions contrôlées sur plantules et au champ (Tableau 4). Trois QTL ont été détectés dans la population Ceedur, deux uniquement au stade plantule sur les chromosomes 3A et 6A, et un uniquement au champ sur le chromosome 3A. Les allèles de résistance de ces trois QTL sont apportés par le parent Ceedur. Les deux QTL détectés au stade plantule présentent un effet majeur sur le niveau de résistance ($R^2 = 19,2\%$ et $R^2 = 28,5\%$) ; ils colocalisent respectivement avec les gènes majeurs de résistance du blé tendre Stb6 et Stb15 (Thauvin *et al.*, 2024). Le QTL détecté au champ présente un effet plus modéré sur le niveau de résistance ($R^2 = 5,5\%$) et est localisé au niveau du télomère du chromosome 3AS ; son intervalle de confiance ne recoupe pas celui du QTL détecté sur ce même chromosome au stade plantule. Les trois autres QTL ont été détectés dans la population Trinakria et leurs allèles de résistance sont

apportés par Trinakria. L'un de ces QTL est localisé sur le chromosome 3A et colocalise avec le QTL de Ceedur détecté au stade plantule ainsi qu'avec Stb6 ; dans la population Trinakria, il a été détecté à la fois en conditions contrôlées et au champ ($R^2 = 30,3\%$). Les allèles de résistance de deux autres QTL sont également apportés par Trinakria et présentent des effets plus modérés sur le niveau de résistance : un QTL situé sur le chromosome 4B, détecté uniquement au champ dans les essais Montbartier-2023 et Lectoure-2024 ($R^2 = 7,1\%$), et un QTL détecté sur le chromosome 6B uniquement au stade plantule ($R^2 = 15,1\%$). Le QTL de résistance localisé sur le chromosome 4B colocalise avec un méta-QTL de résistance à la septoriose précédemment identifié dans le blé tendre, MQTL16 (Goudemand *et al.*, 2013 ; Thauvin *et al.*, 2024).

► Carte physique des QTL de résistance du blé dur

Au total, 28 QTL de résistance à la rouille jaune (2), à la rouille brune (11) et à la septoriose (15), identifiés dans sept populations de RILs de blé dur au sein des projets CASDAR DUROMAL, FSOV ROUILLE_BD-T et FSOV DURABLE, ont été projetés sur le génome de référence Refseq_v2.1 (Figure 1). Ces QTL sont présents sur 10 des

14 chromosomes du blé dur. Trois des QTL de résistance à la septoriose identifiés dans les populations Trinakria et Ceedur chevauchent des QTL précédemment identifiés dans d'autres populations de blé dur. Il s'agit des QTL sur les chromosomes 3A et 6A, colocalisant également avec les gènes de résistance *Stb6* et *Stb15*, et du QTL dans la région centromérique du chromosome 6B.

Trois QTL de résistance ont été sélectionnés pour en faire leur cartographie fine : *qPS-NOB-1B-1* pour la rouille jaune, *qPT-PAS-7B* pour la rouille brune, et *qZT-PAS-6A* pour la septoriose. Ces trois QTLs ont été sélectionnés sur la base de leur robustesse à travers différents environnements (notamment au champ), ainsi que sur la précision de leurs intervalles de confiance et R^2 associés (importance de l'effet des QTLs sur le phénotype). L'objectif de cette cartographie génétique de précision est d'identifier des marqueurs moléculaires diagnostiques de ces résistances, de mieux résoudre les colocalisations identifiées avec des gènes R connus, et éventuellement d'aller vers l'identification du (ou des) gène(s) impliqué dans la résistance.

► Identification de méta-QTL de résistance à la septoriose dans le blé tendre

Au total, 454 QTL de résistance à la septoriose dans le blé tendre ont été collectés à partir de 24 études de cartographie de QTL, dont 286 ont pu être projetés sur la carte génétique de référence de Langlands-Perry *et al.* (2022). L'impossibilité de projeter certains QTL s'explique principalement par l'absence de position physique connue pour les marqueurs associés. À l'issue des analyses GWAS, 263 QTL indépendants ont été identifiés, dont 259 ont pu être projetés sur la carte génétique. Après regroupement des QTL non indépendants détectés dans un même environnement, 219 QTL ont été retenus. Au total, 375 QTL ont été intégrés à la méta-analyse.

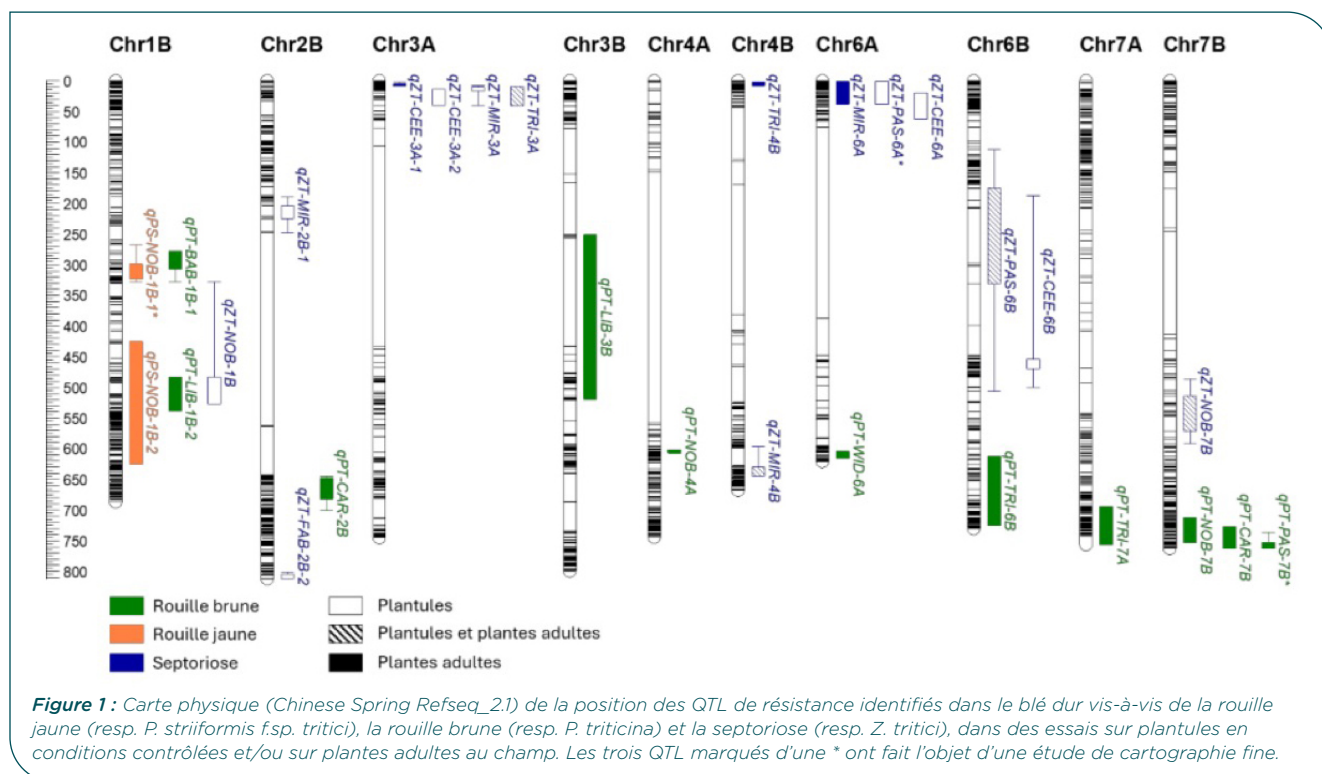
Le programme meta-QTL a identifié 138 méta-QTL,

tandis que l'approche « *QTL overview statistic* » a défini 150 méta-QTL sur la base du seuil moyen U et 103 méta-QTL selon le seuil plus strict T. Trente-cinq méta-QTL répondent aux critères de haute confiance (HCMQTL), et sont répartis sur 15 des 21 chromosomes du blé. Sur la carte génétique de référence, la taille des intervalles des HCMQTL varie de 0,02 à 12,9 cM, avec 26 intervalles inférieurs à 5 cM et une moyenne de 2,97 cM. Projetés sur la carte physique du génome de référence Chinese Spring (Refseq_2.1), les intervalles varient de 920 pb à 156 Mbp, avec une taille moyenne de 15,6 Mbp. Parmi eux, six HCMQTL présentent une taille inférieure ou égale à 1 Mbp et onze sont compris entre 1 et 5 Mbp. Sur la base de ces intervalles, les HCMQTL colocalisent avec six des gènes *Stb* précédemment décrits : *Stb6* (3A), *Stb8* (7B), *Stb13* (7B), *Stb17* (5A), *Stb19* (1D) et *Stb20q* (5D).

La robustesse des HCMQTL a été évaluée en considérant la diversité des études et des environnements représentés par les QTL sous-jacents. Deux HCMQTL recouvrent des QTL issus de deux ou trois environnements au sein d'une même étude ; dix impliquent des QTL provenant de deux à huit environnements répartis dans deux études ; enfin, 23 intervalles reposent sur des QTL issus d'au moins trois études, couvrant de trois à 19 environnements distincts.

DISCUSSION

Un effet pléiotrope entre la phénologie et la résistance aux maladies est bien documenté dans la littérature, en particulier pour la septoriose (Simon *et al.*, 2004 ; Gérard *et al.*, 2017 ; Robert *et al.*, 2018). Les génotypes plus tardifs peuvent échapper partiellement au développement de la maladie en modifiant la fenêtre d'exposition aux conditions favorables à l'infection. De même, les plantes plus hautes peuvent limiter la progression épidémique, notamment pour la septoriose,



dont la dispersion s'effectue principalement par éclaboussures de pluie d'un étage foliaire au suivant. Il est donc essentiel, en amélioration variétale, de distinguer ces effets d'échappement phénologique des véritables déterminants génétiques de la résistance.

Après exclusion des QTL de résistance colocalisant avec les QTL de phénologie, trois QTL de résistance à la rouille brune ont été retenus. Deux d'entre eux expliquent la résistance de Trinakria à cette maladie. Le premier, sur le chromosome 6BL, colocalise avec les gènes de résistance *Lr3a* et *LrCamayo*, déjà identifiés dans le blé dur (Herrera-Foessel *et al.*, 2005, 2007). Le second QTL se situe sur le chromosome 7AL ; ce QTL colocalise avec le gène de résistance *Lr20* connu dans le blé tendre (Neu *et al.*, 2002) et avec un QTL précédemment identifié par GWAS dans un panel de blé tétraploïde (Aoun *et al.*, 2016). Bien que la population Ceedur/WID22256 n'ait pas été développée spécifiquement pour la résistance à la rouille brune, un QTL majeur porté par le parent WID22256 (sensible à la septoriose) a été identifié sur le bras long du chromosome 6A. Ce QTL se situe dans la même région génomique que le gène de résistance *Lr64*, issu du pool génétique des blés tétraploïdes *T. dicoccoides* (Kolmer *et al.*, 2019), et colocalise également avec un QTL identifié dans le blé dur par Aoun *et al.* (2016).

La différence d'expression de la résistance entre le stade plantule et les essais au champ est également un phénomène bien connu pour la septoriose (Thauvin *et al.*, 2024). Dans notre étude des populations Trinakria et Ceedur, quasiment aucun recouvrement n'a été observé entre les QTL détectés au stade plantule et ceux détectés au champ pour la septoriose. Seul le QTL colocalisant avec *Stb6* sur le chromosome 3A semble conférer un effet majeur stable à différents stades de développement, au moins dans la population Trinakria. Dans la population Ceedur, la situation apparaît plus complexe : un QTL de résistance a été détecté au stade plantule sur le chromosome 3A (intervalle de confiance 21-48 Mb), tandis qu'un autre QTL a été identifié au champ (10-16 Mb). L'absence de recouvrement entre ces intervalles suggère que les résistances efficaces au stade plantule et au stade adulte sont distinctes, bien que génétiquement liées sur le chromosome 3A. Ce schéma ne semble pas observé dans la population Trinakria.

Le gène *Stb6* code une Wall-Associated Kinase (WAK) (Saintenac *et al.*, 2018). Il s'agit de l'un des gènes majeurs de résistance à la septoriose les plus fréquemment retrouvés dans les variétés de blé tendre, présent dans environ 50 % des variétés françaises (Sampaio *et al.*, 2025) et également largement représenté dans les ressources génétiques mondiales (Arraiano & Brown, 2006 ; Qutb *et al.*, 2024 ; Ali *et al.*, 2025). Toutefois, sa durabilité a été fortement compromise par l'évolution des populations de *Z. tritici*. Certaines études suggèrent que les isolats avirulents sont devenus extrêmement rares, voire absents, dans certaines régions (Stephens *et al.*,

2021). En France, environ 18 % des souches demeuraient avirulentes dans les populations analysées par Zhong *et al.* (2017). Ainsi, bien que largement contourné, le rôle potentiel de *Stb6* dans la protection du blé dur reste à clarifier. La colocalisation du QTL détecté sur le chromosome 3A correspond-elle effectivement à la présence de *Stb6* dans le génome du blé dur, et avec quelle fréquence ce gène est-il présent dans ce pool tétraploïde ? Cette question soulève plus largement celle du partage des gènes de résistance entre le pool hexaploïde de blé tendre et le pool tétraploïde de blé dur. Chez Ceedur, la colocalisation des QTL de résistance à la septoriose détectés au stade plantule avec *Stb6* et *Stb15* soulève également des interrogations. Des travaux sont actuellement en cours pour y répondre, notamment par VIGS (« virus-induced gene silencing ») de *Stb15* afin de confirmer son implication dans la résistance localisée sur le chromosome 6A, ainsi que par l'identification des gènes d'avirulence de *Z. tritici* correspondant aux résistances détectées chez Ceedur.

La nouvelle approche de méta-analyse développée au cours de ce projet et appliquée à l'ensemble des études disponibles (cartographie de QTL et GWAS) sur la résistance à la septoriose chez le blé tendre permet d'améliorer significativement notre compréhension des régions génomiques impliquées dans la résistance à cette maladie. Parmi les 375 QTL issus de 24 études distinctes, 35 méta-QTL de haute confiance ont été identifiés. Certains des méta-QTL les plus robustes colocalisent avec des gènes majeurs déjà décrits, tels que *Stb6*, *Stb13* et *Stb17*, tandis que d'autres correspondent à de nouvelles régions encore non caractérisées. Cette approche permet d'identifier les régions les plus impliquées et les plus robustes dans la résistance, de réduire considérablement la taille des intervalles de confiance et ainsi d'augmenter la précision de cartographie des QTL. Elle ouvre ainsi la voie au développement de marqueurs diagnostiques, voire à l'identification de gènes candidats responsables des résistances. Cette stratégie sera également appliquée aux études portant sur la résistance à la septoriose chez le blé dur, en intégrant à la fois les travaux présentés dans ce manuscrit et les études disponibles à ce jour dans la littérature scientifique (Kidane *et al.*, 2017 ; Ballini *et al.*, 2020 ; Ferjaoui *et al.*, 2022).

L'ensemble des résultats obtenus constitue une ressource stratégique pour la sélection du blé dur, culture pour laquelle peu d'études sur la génétique de la résistance ont été publiées à ce jour. Ils mettent en évidence un réservoir de régions de résistance présentes dans des variétés européennes de blé dur et permettront d'identifier les loci les plus robustes et les plus efficaces. Ces connaissances pourront être mobilisées pour le développement de marqueurs diagnostiques, notamment via des approches de type KASP, afin de faciliter leur introgression dans le matériel de sélection.

Références bibliographiques

- Ali A, Ölmez F, et al.** (2025). Molecular screening of septoria-resistant genes in historical Turkish bread wheat germplasm using the validated gene specific SSR markers. *Turk J Agric* 49: 89-109. doi:10.55730/1300-011X.3251
- Aoun M, Breiland M, et al.** (2016). Genome-wide association mapping of leaf rust response in a durum wheat worldwide germplasm collection. *Plant Genome* 9(3). doi: 10.3835/plantgenome2016.01.0008
- Arraiano LS, Brown JKM** (2006). Identification of isolate-specific and partial resistance to septoria tritici blotch in 238 European wheat cultivars and breeding lines. *Plant Pathol* 55(6): 726-738. doi: 10.1111/j.1365-3059.2006.01444.x
- Ballini E, Tavaud M, et al.** (2020). Genome wide association mapping for resistance to multiple fungal pathogens in a panel issued from a broad composite cross-population of tetraploid wheat *Triticum turgidum*. *Euphytica* 216(6): 92. doi: 10.1007/s10681-020-02631-9
- Broman KW, Wu H et al.** (2003). R/qtl: QTL mapping in experimental crosses. *Bioinformatics* 19: 889-890. doi:10.1093/bioinformatics/btg112
- Chardon F, Virlon B, et al.** (2004). Genetic architecture of flowering time in maize as inferred from quantitative trait loci meta-analysis and synteny conservation with the rice genome. *Genetics* 168 (4): 2169-85. doi: 10.1534/genetics.104.032375
- Ferjaoui S, Aouini L, et al.** (2022). Deciphering resistance to *Zymoseptoria tritici* in the Tunisian durum wheat landrace accession «Agili39». *BMC Genomics* 23(1): 372. doi: 10.1186/s12864-022-08560-2
- Gerard GS, Boerner A, et al.** (2017). Genome-wide association mapping of genetic factors controlling *Septoria tritici* blotch resistance and their associations with plant height and heading date in wheat. *Euphytica* 213(1): 27. doi: 10.1007/s10681-016-1820-1
- Goudemand E, Laurent V, et al.** (2013). Association mapping and meta-analysis: two complementary approaches for the detection of reliable *Septoria tritici* blotch quantitative resistance in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Mol Breed* 32(3): 563-584. doi: 10.1007/s11032-013-9890-4
- Haudry A, Cency A, et al.** (2007). Grinding up wheat: a massive loss of nucleotide diversity since domestication. *Mol Biol Evol* 24(7): 1506-1517. doi: 10.1093/molbev/msm077
- Herrera-Foessel SA, Singh RP, et al.** (2005). New genes for leaf rust resistance in CIMMYT durum wheats. *Plant Dis* 89(8): 809-814. doi: 10.1094/pd-89-0809
- Herrera-Foessel SA, Singh RP, et al.** (2007). Identification and mapping of Lr3 and a linked leaf rust resistance gene in durum wheat. *Crop Sci* 47(4): 1459-1466. doi: 10.2135/cropsci2006.10.0663
- Kidane YG, Hailemariam BN, et al.** (2017). Genome-wide association study of septoria tritici blotch resistance in Ethiopian durum wheat landraces. *Front Plant Sci* 8(1586). doi: 10.3389/fpls.2017.01586
- Kolmer JA, Bernardo A, et al.** (2019). Thatcher wheat line RL6149 carries Lr64 and a second leaf rust resistance gene on chromosome 1DS. *Theor Appl Genet* 132(10): 2809-2814. doi: 10.1007/s00122-019-03389-y
- Kosambi DD** (2016). The estimation of map distances from recombination values. In: Ramaswamy, R. (eds) D.D. Kosambi. Springer, New Delhi. Pages 125-130. doi: 10.1007/978-81-322-3676-4_16
- Langlands-Perry C, Cuenin M, et al.** (2022). Resistance of the wheat cultivar «Renan» to *Septoria* leaf blotch explained by a combination of strain specific and strain non-specific QTL mapped on an ultra-dense genetic map. *Genes* 13(1). doi: 10.3390/genes13010100
- Neu C, Stein N, et al.** (2002). Genetic mapping of the Lr20-Pm1 resistance locus reveals suppressed recombination on chromosome arm 7AL in hexaploid wheat. *Genome* 45(4): 737-744. doi: 10.1139/g02-040 %M 12175077
- Paux E, Lafarge S, et al.** (2022). Breeding for economically and environmentally sustainable wheat varieties: an integrated approach from genomics to selection. *Biology* 11(1): 149. doi:10.3390/biology11010149
- Qutb AM, Cambon F, et al.** (2024). The Egyptian wheat cultivar Gemmeiza-12 is a source of resistance against the fungus *Zymoseptoria tritici*. *BMC Plant Biol* 24(1): 248. doi: 10.1186/s12870-024-04930-y
- Robert C, Garin G, et al.** (2018). Plant architecture and foliar senescence impact the race between wheat growth and *Zymoseptoria tritici* epidemics. *Ann Bot* 121(5): 975-989. doi: 10.1093/aob/mcx192
- Ronin YI, Mester DI, et al.** (2017). Building ultra-high-density linkage maps based on efficient filtering of trustable markers. *Genetics* 206(3): 1285-1295. doi: 10.1534/genetics.116.197491
- Saini DK, Chahal A, et al.** (2022). Meta-analysis reveals consensus genomic regions associated with multiple disease resistance in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Mol Breed* 42 (3): 11. doi: 10.1007/s11032-022-01282-z
- Saintenac C, Lee W-S, et al.** (2018). Wheat receptor-kinase-like protein Stb6 controls gene-for-gene resistance to fungal pathogen *Zymoseptoria tritici*. *Nat Genet* 50(3): 368-374. doi: 10.1038/s41588-018-0051-x
- Sampaio AM, Tralamazza SM, et al.** (2025). Diversification, loss, and virulence gains of the major effector AvrStb6 during continental spread of the wheat pathogen *Zymoseptoria tritici*. *PLOS Pathog* 21(3): e1012983. doi: 10.1371/journal.ppat.1012983
- Simón MR, Worland AJ, et al.** (2004). Influence of plant height and heading date on the expression of the resistance to *Septoria tritici* blotch in near isogenic lines of wheat. *Crop Sci* 44: 2078-2085. doi: 10.2135/cropsci2004.2078
- Stephens C, Ölmez F, et al.** (2021). Remarkable recent changes in the genetic diversity of the avirulence gene AvrStb6 in global populations of the wheat pathogen *Zymoseptoria tritici*. *Mol Plant Pathol* 22(9): 1121-1133. doi: 10.1111/mpm.13101
- Thauvin J-N, Gélisse S, et al.** (2024). The genetic architecture of resistance to septoria tritici blotch in French wheat cultivars. *BMC Plant Biol* 24(1): 1212. doi: 10.1186/s12870-024-05898-5
- Veyrieras J-B, Goffinet B, et al.** (2007). MetaQTL: a package of new computational methods for the meta-analysis of QTL mapping experiments. *BMC Bioinformatics* 8(49): 1-16. doi:10.1186/1471-2105-8-49

Voorrips RE (2002). MapChart: Software for the Graphical Presentation of Linkage Maps and QTLs. *J Hered* 93(1): 77-78. doi: 10.1093/jhered/93.1.77

Zhong Z, Marcel TC, et al. (2017). A small secreted protein in *Zymoseptoria tritici* is responsible for avirulence on wheat cultivars carrying the *Stb6* resistance gene. *New Phytol* 214(2): 619-631. doi: 10.1111/nph.14434

Zhu T, Wang L, et al. (2021). Optical maps refine the bread wheat *Triticum aestivum* cv. Chinese Spring genome assembly. *Plant J* 107(1): 303-314. doi: 10.1111/tpj.15289

Wang J, Zhang Z (2021). GAPIT version 3: Boosting power and accuracy for genomic association and prediction. *Genom Proteom Bioinform* 19(4): 629-640. doi: 10.1016/j.gpb.2021.08.005