

# 9<sup>ème</sup> RENCONTRE SCIENTIFIQUE DU FSOV

Mardi 24 mars 2026

Synthèse  
des programmes  
de recherche 2020



FsoV 





## Le FSOV : un soutien essentiel à l'innovation variétale en agriculture

Le Fonds de Soutien à l'Obtention Variétale (FSOV) finance des projets de recherche collaboratifs innovants pour des semences de céréales à paille.

### Un socle pour des variétés plus résilientes

Le FSOV cherche à répondre à des enjeux agronomiques, écologiques et économiques (résistance aux maladies, réduction des besoins en traitements phytosanitaires, optimisation de la résistance à la sécheresse...).

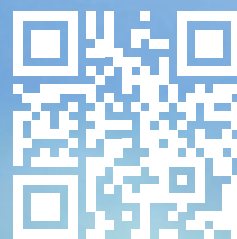
### Une volonté de partage des connaissances

La filière semences de céréales à paille a à cœur de partager ces résultats auprès du plus grand nombre. Chaque appel à projets fait l'objet d'un colloque où sont présentés les résultats finaux des projets, suivis de temps d'échanges. Un site dédié ([www.fsov.org](http://www.fsov.org)) a été mis en place.

### Des appels à projets encadrés

Des cotisations volontaires étendues, collectées/récupérées auprès des collecteurs, permettent d'abonder le FSOV. Des instances dédiées choisissent des axes de recherche privilégiés, qui font l'objet d'un appel à projets. Après sélection des projets par ces instances, les projets, d'une durée comprise entre 3 et 5 ans, sont initiés.

Visitez  
le site du FSOV



## Fonds de Soutien à l'Obtention Végétale



Le colloque qui nous réunit aujourd'hui s'inscrit dans un moment charnière pour l'agriculture et pour l'ensemble de notre système alimentaire. Face aux bouleversements climatiques, aux tensions sur les marchés, aux attentes sociétales et aux contraintes économiques qui pèsent sur les exploitations, une conviction s'impose : notre capacité à innover conditionne notre souveraineté alimentaire de demain.

C'est précisément la raison d'être du Fonds de soutien à l'obtention végétale (FSOV). Depuis sa création en 2001, il accompagne celles et ceux qui conçoivent, expérimentent et diffusent de nouvelles variétés, plus performantes, plus résilientes et mieux adaptées aux réalités du terrain. Par la sélection végétale, nous agissons à la source des systèmes de production. Nous donnons aux agriculteurs des leviers concrets pour faire face aux aléas climatiques, à la pression des bioagresseurs, à la raréfaction des ressources et aux exigences croissantes en matière de qualité, de durabilité et de traçabilité.

Ce sont pratiquement 120 programmes de recherche qui ont été soutenus par le FSOV depuis 25 ans. Mais au-delà des chiffres et des dispositifs, le fonds incarne une ambition collective : sécuriser notre capacité à produire sur le long terme, sur nos territoires, avec des solutions pensées pour nos filières. Chaque projet soutenu contribue à renforcer l'autonomie de notre agriculture, à préserver la diversité génétique des cultures et à maintenir un haut niveau d'excellence scientifique et technique.

Les innovations issues de l'obtention végétale ne sont pas des promesses abstraites : ce sont des réponses opérationnelles aux préoccupations de terrain. Variétés plus tolérantes aux stress biotiques et abiotiques, mieux adaptées aux itinéraires techniques, compatibles avec des pratiques plus durables, ou encore répondant aux attentes des marchés : autant de solutions qui améliorent la compétitivité des exploitations tout en accompagnant les transitions en cours. Ce recueil est un témoignage de cette contribution du FSOV, avec présenté ici l'aboutissement des travaux réalisés dans le cadre de l'appel à projets du FSOV 2020, soit 13 programmes de recherches particulièrement diversifiés. J'espère que cette lecture, saura vous convaincre de l'impact de ces travaux pour le développement à court terme de nouveaux outils technologiques, moléculaires ou méthodologiques performants et innovants.

Le colloque d'aujourd'hui est l'occasion de partager ces avancées, de croiser les regards des chercheurs, des obtenteurs et des acteurs de la filière semences de céréales à paille, et de préparer ensemble les prochaines étapes. Dans cette dynamique, un nouvel appel à projets sera lancé à l'automne 2026 afin d'accompagner le progrès variétal pour les agriculteurs, l'aventure va donc se poursuivre encore un peu...

**Thomas Bourgeois**

Président du Comité d'engagement du FSOV



**semae**

Toutes les semences pour demain

**Section Semences de Céréales à paille & Protéagineux**

44 rue du Louvre - 75001 Paris

Tél. : 01 42 33 85 05 - E-mail : [fsov@semae.fr](mailto:fsov@semae.fr)

[www.fsov.org](http://www.fsov.org)

# SOMMAIRE

<b>FSOV 2020 R DURABLE</b> : Spécificité des résistances du blé dur aux maladies foliaires du Blé : cartes, marqueurs et gènes .....	2
<b>FSOV 2020 D TritiRJ</b> : Identification et exploitation de sources de résistance à la rouille jaune chez le triticale .....	11
<b>FSOV 2020 H CICABO</b> : Etude de la résistance génétique au virus des pieds chétifs chez l'orge et le blé tendre d'hiver .....	20
<b>FSOV 2020 S REGARD</b> : Recherche d'analogues climatiques pour sélectionner demain .....	27
<b>FSOV 2020 F MYCOBLE</b> : Variabilité génétique du blé tendre pour les réponses aux champignons mycorhiziens à arbuscules .....	39
<b>FSOV 2020 P MESSAGE</b> : Modélisation et Evaluation des composantes de la Résistance au Gel des céréales .....	47
<b>FSOV 2020 A WDV</b> : Résistance/tolérance contre la maladie des pieds chétifs sur le blé et l'orge .....	57
<b>FSOV 2020 N HELMO</b> : Identification des pathogènes fongiques, du risque maladie et des facteurs génétiques de résistance pour une gestion intégrée et durable de l'helminthosporiose de l'orge .....	70
<b>FSOV 2020 I PREDICROPT</b> : Estimation de la capacité de prédiction génomique de la valeur d'un croisement .....	96
<b>FSOV 2020 J PGEN BW</b> : Déterminants génétiques de l'efficacité d'utilisation du phosphore chez le blé tendre .....	103
<b>FSOV 2020 K DUROSTRESS</b> : Stratégie d'adaptation du blé dur aux stress hydriques et thermiques .....	114
<b>FSOV 2020 O PHEDRE</b> : Phénotypage de la Durée du Remplissage du grain .....	129
<b>FSOV 2020 Q Blé Adventices III</b> : Amélioration de la compétitivité des variétés de blé tendre vis-à-vis des adventices en agriculture biologique .....	139

# DURABLE : Spécificité des résistances du blé DUR Aux maladies foliaires du BLÉ : cartes, marqueurs et gènes

Thierry C MARCEL<sup>1\*</sup>, Laura PAIRE<sup>2</sup>, Faharidine MOHAMADI<sup>3</sup>, Roula SHAMSI<sup>1</sup>, Rafika BENBERNOU<sup>1</sup>, Ulysse GUILLOTEAU<sup>1</sup>, Corentin PICARD<sup>1</sup>, Karim AMMAR<sup>4</sup>, Delphine AUDIGEOS<sup>3</sup>, Cyrille SAINTENAC<sup>2</sup>, GIE Blé Dur<sup>5</sup>

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

\*Coordinateur du projet : Thierry C MARCEL, [thierry.marcel@inrae.fr](mailto: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 élites 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'introgession 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 élites 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 F<sub>12</sub> a été obtenue pour Trinakria, et une population de 295 RILs en génération F<sub>7</sub> 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 F<sub>6</sub> 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.

### ► Géotypage des populations

L'ensemble des RILs de ces deux populations ainsi que les variétés parentales ont été géotypées 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 géotypage. 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  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ . Les plantes ont été inoculées 16 jours après semis sur la première vraie feuille avec une suspension contenant 10<sup>6</sup> spores.mL<sup>-1</sup>. 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 <sup>1</sup>	Nombre de répétitions	pop_Trinakria <sup>2</sup>	pop_Ceedur <sup>2</sup>
Conditions contrôlées	2	STB [INRA13-LG0279]	STB [INRA13-LG0279]
Obregón-2022 (MX)	2	Jours à l'épiaison RB [Infection naturelle]	
Lecture-2023 (FR)	2		STB [INRA13-0279]
Montbartier-2023 (FR)	2	Jours à l'épiaison RB [BD 12M119]	X
Lecture-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]

<sup>1</sup> Essais : MX (Mexique), FR (France), TN (Tunisie) ; <sup>2</sup> 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 <sup>1</sup>	Champ <sup>2</sup>	C.Cont <sup>3</sup>	Chrom <sup>4</sup>	Pos (cM) <sup>4</sup>	LOD	%var <sup>5</sup>
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	qZ1-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

<sup>1</sup> Nombre de détections du QTL avec les phénotypes au champ ; <sup>2</sup> Nombre de détections du QTL avec les phénotypes en conditions contrôlées (seulement pour la Septoriose) ; <sup>3</sup> Position du marqueur le plus associé sur la carte génétique consensus ; <sup>4</sup> 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 Lectoure-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
<b>TOTAL</b>	<b>377</b>	<b>5,8</b>	<b>2119,6</b>	<b>983</b>	<b>2,4</b>	<b>2370,6</b>

<sup>1</sup> DistM : Distance moyenne entre marqueurs consécutifs (en cM) ; <sup>2</sup> 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 <sup>1</sup>	Champ <sup>2</sup>	C.Cont <sup>3</sup>	Chrom <sup>4</sup>	Pos (cM) <sup>4</sup>	LOD	%var <sup>5</sup>
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

<sup>1</sup> Lignée parentale contribuant l'allèle de résistance (WID22256 est le parent sensible de la population Ceedur) ; <sup>2</sup> Nombre de détections du QTL avec les phénotypes au champ ; <sup>3</sup> Nombre de détections du QTL avec les phénotypes en conditions contrôlées (seulement pour la Septoriose) ; <sup>4</sup> Position du marqueur le plus associé sur la carte génétique ; <sup>5</sup> 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 Lecture-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 QTL 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.

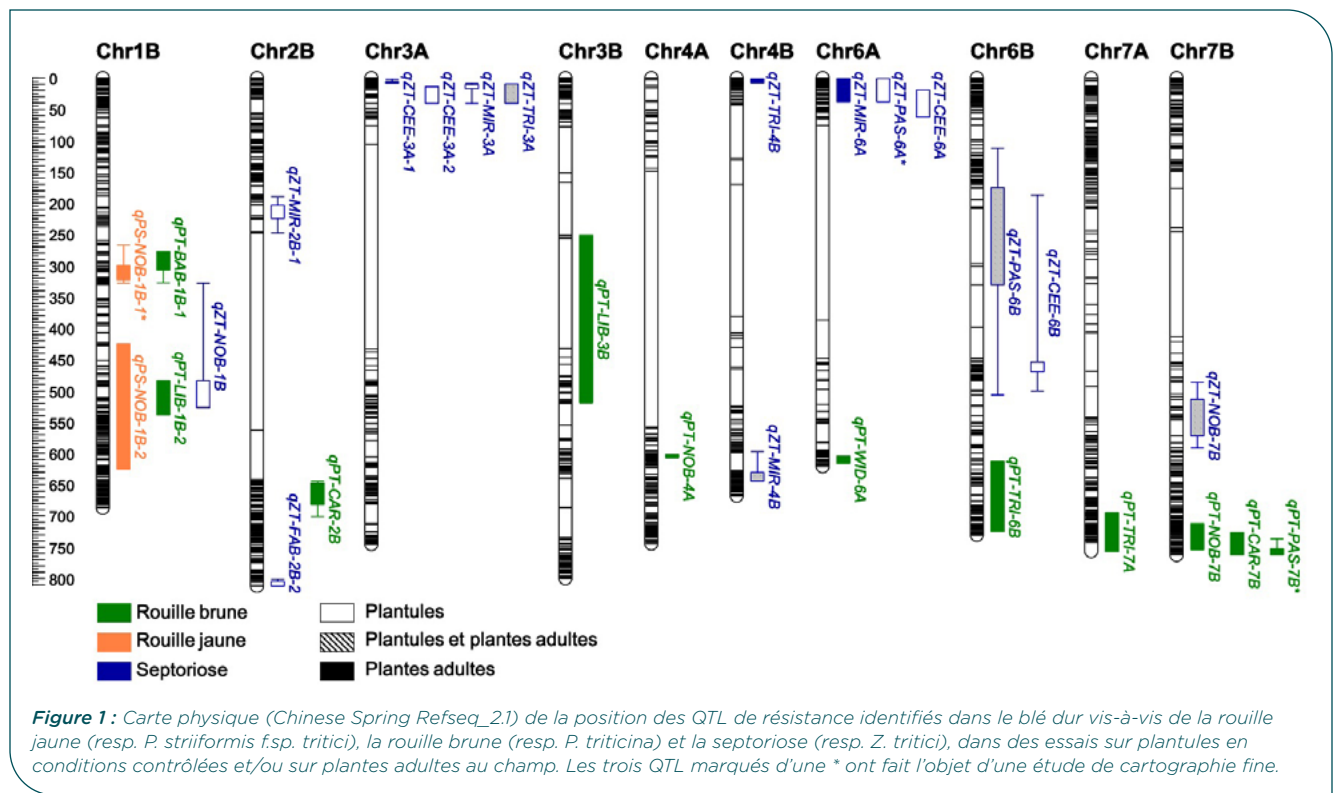
Le programme meta-QTL a identifié 138 méta-QTL,

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 élaboussures 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/mpp.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

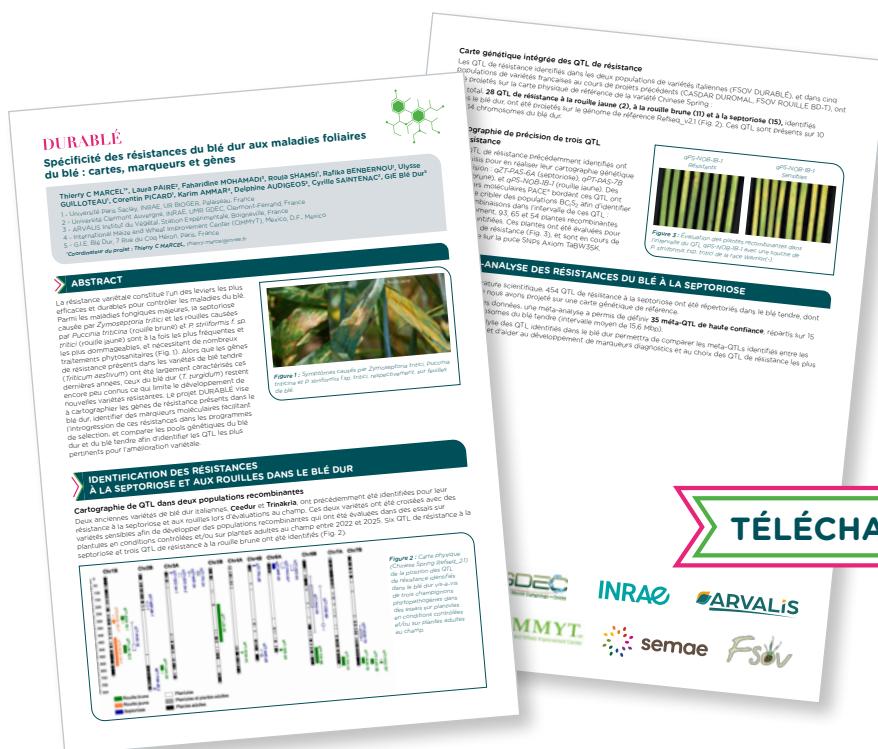
Voorrips RE (2002). MapChart: Software for the Graphical Presentation of Linkage Maps and QTLs. *J Hered* 93(1): 77-78. doi: 10.1093/jhered/93.1.77

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

## ANNEXES



**TÉLÉCHARGER LE POSTER**



# TritiRJ : Identification et exploitation de sources de résistance à la rouille jaune chez le triticale

Valérie LAURENT<sup>1</sup>, Annaig BOUGUENEC<sup>2</sup>, Pierre SOURDILLE<sup>2</sup>, Frédéric CHOULET<sup>2</sup>, Éric DELALEAU<sup>3</sup>, Frédéric FANTIN<sup>4</sup>, Anthony ROULLIER<sup>5</sup>, Philippe du CHEYRON<sup>6</sup>, Faharidine MOHAMADI<sup>6</sup>, Pierre PIN<sup>7</sup>, Pauline ROBERT<sup>7</sup>, Pascal GIRAUDEAU<sup>7</sup>, Karim AMMAR<sup>8</sup>, Christophe JEUDI<sup>1\*</sup>

1 - Florimond Desprez Veuve et Fils, BP 41, 59242 Cappelle en Pévèle

2 - INRAE, UCA, UMR1095 GDEC, 63000, 5 chemin de Beaulieu Clermont-Ferrand, FRANCE

3 - Lemaire-Defontaine, 180 rue du Rossignol, 59310 Auchy les Orchies

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

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

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

7 - SECOBRA, Le Bois Henry, 78580 Maule

8 - CIMMYT INT., carretera Mexico-Veracruz KM45 El Batan, 56237, Texcoco MEXIQUE

\*Coordinateur du projet : GIE Triticale

## INTRODUCTION

La France est le 3<sup>ème</sup> producteur Européen de triticale, après la Pologne et l'Allemagne, avec une production annuelle autour de 1.5 millions de tonnes. Après une augmentation quasi-constante depuis 30 ans et un pic à 416 000 ha en 2012, les surfaces de triticale en France se situent actuellement à environ 250 000 ha en 2025 (source Agreste, 2026), 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 : l'obtention régulière des premiers triticales stables et fertiles remonte à la fin des années 1930 avec l'apparition de la colchicine et les programmes de sélection n'ont débuté que 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 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.

Néanmoins, dès les années 1990, la sensibilité du triticale aux rouilles a été rapportée en Allemagne, en Russie et en Belgique (Audenaert *et al.*, 2014), puis en Pologne (Sodkiewicz and Strzembicka, 2004). En effet, avec la forte progression des surfaces cultivées en triticale, l'incidence des maladies sur cette culture a évolué (Oettler, 2005), avec une adaptation des agents pathogènes fongiques à ce nouvel hôte. A titre d'exemple, la rouille jaune, causée par le champignon biotrophe *Puccinia striiformis*, est l'une des maladies les plus répandues et dévastatrices des céréales

(Hovmøller *et al.*, 2011). Une attaque sévère des feuilles supérieures et des glumes pénalise particulièrement les récoltes, et se traduit par une réduction du poids de mille grains et des pertes de rendement pouvant atteindre 40 à 80 %. Cette maladie explosive est difficile à enrayer si les traitements fongicides ne sont pas appliqués dès le démarrage de l'épidémie. Une forte épidémie nécessite l'application d'au moins deux traitements fongicides, ce qui est incompatible avec une stratégie de protection intégrée des cultures, économe en intrants, répondant aux exigences du projet Agroécologie adopté par le ministère (Loi d'avenir pour l'agriculture, l'alimentation et la forêt, 2014).

La rouille jaune est commune dans les régions au climat frais et humide (Hau et de Vallavieille-Pope, 2006). Depuis 2011-2012, la souche d'origine exotique Warrior, virulente sur triticale, s'est propagée en Europe et a provoqué des attaques de rouille jaune majeures qui ont participées à la baisse de surfaces de triticale en France. De plus, une race (triticale agressive) spécifique du triticale a causé de graves dégâts en Scandinavie en 2009-2010 (Ali *et al.*, 2017) et a été isolée à faible fréquence sur notre territoire. La race Triticale2015 a ensuite été détectée en Europe en 2015 (Hovmøller *et al.*, 2018).

Les études du déterminisme génétique de la résistance aux principales maladies préoccupantes du triticale (oïdium, rouilles et fusariose ; Audenaert *et al.*, 2014) sont encore peu développées. Une analyse de génétique d'association pour la résistance à la rouille jaune 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. Chez le blé tendre, il existe une soixantaine de gènes de résistance à la rouille jaune et des gènes de résistance du seigle peuvent être également efficace chez le triticale, le seigle étant le donneur du génome R du triticale. Si le seigle a fourni le gène de résistance à la rouille jaune, aujourd'hui contourné, *Yr9*, localisé sur le chromosome 1RS, il peut être source d'autres résistances (Yang *et al.*, 2014). Ainsi le gène *Yr83*, situé sur le chromosome 6RL, a été identifié à partir de la lignée de triticale T-701 (Li *et al.*, 2020). Si la base génétique de ces résistances à la rouille jaune ne repose que sur ces quelques

gènes de résistance, l'évolution des populations de *P. striiformis* pourrait facilement détériorer le niveau de résistance de ces variétés. Il est donc nécessaire de continuer à diversifier la base génétique du matériel utilisé en France.

De façon intéressante, le projet FSOV 2016F de recherche de résistances durables chez le triticale a mis en évidence un QTL majeur à effet fort et pléiotropique de la résistance à la rouille jaune sur le chromosome 6R sur 4 populations issues des triticales résistants Vuka et Maximal. Ce méta QTL explique jusqu'à 52,7% de la résistance des feuilles et 57% de la résistance de l'épi.

L'objectif du présent projet était de progresser vers une localisation plus précise du gène de résistance porté par la variété Vuka afin de faciliter ultérieurement son utilisation dans des schémas de sélection et de compléter la recherche de résistances disponibles à partir d'un panel varié de génotypes franco-mexicains évalués en France et au Mexique.

## MATÉRIEL ET MÉTHODE

### ► Matériel végétal et phénotypage

Deux mille descendants G<sub>0</sub> ont été obtenus à partir de l'individu F<sub>5</sub> KV934177 (issu de la population Kaulos x Vuka), hétérozygote au niveau du QTL6R. Une population de 2500 individus G<sub>1</sub> a été développée à partir des 31 individus G<sub>0</sub> hétérozygotes aux SNP les plus distaux et 320 familles G<sub>2</sub> des individus les plus hétérozygotes sélectionnées pour génotypage et phénotypage.

Le phénotypage des 320 familles G<sub>2</sub> a été réalisé en 2023 en contaminations naturelles en 2 lieux en France (Cappelle dans le Nord et Druelle en Aveyron dans le Sud) en pépinière, avec 2 répétitions de 2 lignes de 30 grains pour chaque famille G<sub>2</sub>.

Un panel de 241 génotypes divers a été défini pour la génétique d'association (Genome Wide Association Studies). Il s'agit de triticales sensibles et résistants des obtenteurs du GIE, de lignées du programme ADT (INRAE-GIE) et du CIMMYT (y compris les parents des populations du projet précédent). Quelques seigles utilisés en croisements ainsi que quelques triticales qui étaient résistants et qui sont devenus sensibles complètent le panel.

Le phénotypage a été réalisé en champ durant deux ans (2021 et 2022) en inoculation contrôlée en France et au Mexique.

En France, le phénotypage a été réalisé sur 8 essais répartis du Nord au Sud (Tableau 1). Les essais ont été inoculés par une contamination artificielle par plantules contaminées avec la race de rouille jaune virulente sur triticale Warrior 1 (W1) ou Triticale2015 (Tri2015) ou bien laissés en contamination naturelle. Les symptômes de rouille jaune ont été notés sur feuilles à 2 ou 3 dates selon une échelle de notation de 1 (résistant) à 9 (sensible) correspondant à la surface sporulante.

Au Mexique, pour les adapter aux conditions printemps mexicaines, les triticales français ont été vernalisés 4 semaines et les seigles 6 semaines. Le panel complet a ensuite été évalué 2 années consécutives en champ à la station de Toluca sous inoculation artificielle avec un inoculum purifié de la race la plus virulente sur triticale au Mexique (BICENTENARIO (2016)). Les spores ont été suspendues dans une huile minérale SOLTROL® immédiatement avant inoculation, et la suspension appliquée avec un vaporisateur manuel sur chaque parcelle de l'essai ainsi que sur les bordures de variétés Bicentenario (sensible) et Pollmer (très sensible depuis 2001) entourant l'essai. Six inoculations ont été réalisées au stade mi-tallage, à raison d'une inoculation par jour pendant 3 jours successifs, et répétition la semaine d'après. Les notations du pourcentage d'infection sur les dernières feuilles ou de l'infection maximale sur toutes les feuilles, dans le cas des génotypes européens très tardifs qui n'ont pas épié, ont été réalisées à 3 dates. Les dates d'épiaison ont été notées.

L'aire en dessous de la courbe de progression de la maladie (AUDPC) a été calculée pour être utilisée dans la GWAS.

Une analyse de la résistance au stade juvénile a été réalisée en serre avec la même race mexicaine Bicentenario. Les symptômes ont été évalués selon l'échelle de notation de l'Infection Type (Roelfs *et al.*, 1984) puis une transformation numérique a permis d'obtenir des notes variant de 0 à 6.

### ► Développement des marqueurs aux QTL (Quantitative Trait Loci)

Afin de préciser la localisation des 3 QTL de résistance, un jeu de 288 SNP (Single Nucleotide Polymorphism), couvrant au mieux les régions concernées, a été développé. Pour ce faire, la localisation du QTL6R de triticale sur la carte dense Lo7xLo225 du chromosome 6R de seigle (Bauer *et al.*, 2017) a permis l'identification des marqueurs AXIOM de seigle correspondant à l'intervalle génétique du QTL6R allant de 31 cM à

Obtenteur	Site	Zone	Année	Race de <i>Pst</i>
Florimond Desprez	Cappelle en Pévèle	Nord	2021	Warrior1
Lemaire Deffontaines	Auchy Lez Orchies	Nord	2021	Warrior1
Secobra	Maule	Nord	2021	Triticale2015
RAGT	Druelle	Sud	2021	Triticale2015
AgriObtentions	Clermont Ferrand	Centre	2021	Triticale2015
Arvalis	Ile de France	Centre	2022	Triticale2015
Arvalis	Erquy - Bretagne	Centre	2022	naturelle
INRAE	Clermont Ferrand	Centre	2022	naturelle
CIMMYT	Toluca	Mexique	2021	Bicentenario
CIMMYT	Toluca	Mexique	2022	Bicentenario

Tableau 1 : Liste des lieux d'essai de résistance à la rouille jaune en France et au Mexique.

174 cM sur le chromosome 6R. En ordonnant ces 16 000 marqueurs SNP du chromosome 6R de seigle sur la référence blé, 2833 SNP dont la séquence contexte correspond clairement à des zones des chromosomes 6D, 3D et 7D (résultats identiques sur les sous-génomes A et B) ont été identifiés. L'intervalle génomique obtenu sur la séquence de référence du blé représente 515 Mb ce qui correspond à 3 segments chromosomiques de 421 Mb, 50 Mb et 44 Mb localisés respectivement sur les chromosomes 6D, 3D 7D (Figure 1).

31.74 cM / chr6D : 68 Mb  
 109.50 cM / chr6D : 489 Mb  
 109.50 cM / chr3D : 566 Mb  
 148.46 cM / chr3D : 616 Mb  
 149.27 cM / chr7D : 597 Mb  
 174.49 cM / chr7D : 641 Mb

**Figure 1 :** Bornes physique et génétique des différentes séquences du génome D de blé sur la carte dense du chromosome 6R de la population Lo7xLo225.

Cette colinéarité des chromosomes de seigles avec ceux des autres céréales est également documentée sur l'orge (Bauer *et al.*, 2017).

A partir de 1145 SNP 6R-spécifiques, dont la position en cM correspondait à la position chromosomique prédite en Mb, 3 jeux de 96 SNP, définis dans un premier temps pour leur distribution homogène le long de la séquence du chromosome 6R puis ciblant plus spécifiquement l'extrémité du chromosome 6R, ont été triés sur un panel de 6 triticales représentant les parents sensibles et résistants des populations cartographiées dans le projet précédent (Trefl, Vuka, Kaulos, RT10013, SW Talentro, Maximal) ainsi que sur 2 lignées de l'INRAE-GIE (13HT18-13, 16DS11-6-1) et sur une accession de seigle (Dankowskie Nowe) et une de blé (Chinese Spring) comme contrôle.

#### ► Génotypage et GWAS

Le génotypage du panel GWAS, a été réalisé avec la puce Illumina de TraitGenetics. Cette puce comprend 23 000 SNP blé tendre des génomes A, B et D provenant de puces publiques (Illumina et Axiom) plus 5 000 SNP de la puce « 35K breeders » et 4 170 SNP du génome R de seigle provenant pour moitié de la puce 5K de seigle (Haseneyer *et al.*, 2011) et pour l'autre de marqueurs de gènes de seigle de la puce 600K Axiom rye (Bauer *et al.*, 2017). La puce utilisée contient également 239 marqueurs de gènes de caractères d'intérêt de blé dont une soixantaine de marqueurs de résistance à la rouille jaune et les gènes *Yr5*, *Yr10*, *Yr15* et *YrSP*.

L'analyse d'association a été réalisée avec le package R GAPITv3 (Wang and Zhang, 2021) à partir des marqueurs avec une MAF (Minor Allele Frequency) supérieure à 5% et moins de 10% de données manquantes. Une Analyse en Coordonnées Principales (PCoA), réalisée pour tenir compte de la structure de la collection, et une matrice d'apparentement ont été prises en compte pour l'analyse d'association. Quatre modèles d'association

ont été calculés : MLMM, SUPER, FarmCPU et BLINK et seules les associations significatives sur au moins 2 modèles ont été conservées.

L'analyse des marqueurs SNP spécifiques des QTL a été conduite selon la technologie KASP (Kompetitive Allele-Specific PCR (Polymerase Chain Reaction)) soit de façon individuelle sur Light Cycler 480, soit en combinaison sur puce Fluidigm.

#### ► Cartographie fine

Les 2000 descendants  $G_0$  de l'individu  $F_5$  KV934177, hétérozygote au niveau du QTL6R, ont été génotypés à l'aide de 5 marqueurs du QTL6R ciblant les QTL des populations SW Talentro x Maximal (TaMa) et Kaulos x Vuka (KV) (SNP68 au pic du QTL6D, SNP132 et SNP163 au pic du QTL3D et SNP90 et SNP181 au pic du QTL7D). Les marqueurs ont été choisis en fonction de la qualité du génotypage et de la position estimée la plus probable des pics des QTL. La population de 2500 individus  $G_1$  a été développée à partir des 31 individus  $G_0$  hétérozygotes aux SNP les plus distaux et 320 familles  $G_2$  des individus les plus hétérozygotes ont été génotypées.

Les 25 SNP polymorphes les plus distaux du QTL6R (position sur Lo7 : 864 726 604 à 875 379 766 bp) ont été génotypés pour réduire l'intervalle du QTL. La zone concernée couvre les 7 pics de QTL de la population Kaulos x Vuka et 2 pics de QTL de la population SW Talentro x Maximal. Des marqueurs plus proximaux (SNP33 à SNP87) ont également été testés afin de déterminer s'ils pouvaient apporter plus de discrimination.

#### ► Croisements entre individus résistants

Les 8 individus possédant le QTL6R ainsi que ceux possédant les Marker Trait Association (MTA) des chromosomes 5A, 5B et 5R révélés lors de l'étude présente et qui ont de plus une bonne résistance à la rouille jaune qu'elle soit d'origine française ou mexicaine, ont été utilisés en croisement afin de cumuler les sources de résistance européennes et mexicaines à l'ensemble des races testées au sein de ce projet.

## ► RÉSULTATS ET DISCUSSION

#### ► Phénotypage / génotypage des individus recombinants

Le premier cycle de génotypage des descendants  $G_0$  de l'individu  $F_5$  KV934177 n'ayant pas permis de réduire l'intervalle du QTL, la cartographie fine a été poursuivie sur la génération suivante à partir de 388 individus hétérozygotes  $G_0$ . Le génotypage d'une dizaine de plantes pour chacun des 181 génotypes recombinants hétérozygote  $G_1$  (fixés en dehors du QTL) a généré une population d'environ 2500 individus  $G_2$  pour la réalisation de la cartographie fine avec la même démarche soit un génotypage avec 3 à 5 marqueurs (1 au pic et 1 ou 2 de chaque côté) de l'ensemble de la population puis génotypage plus dense des recombinants de la zone. Comme les 320 individus génotypés sont également phénotypés, la corrélation avec le phénotype Résistant /Sensible est directe.

La pression de rouille jaune sur les dispositifs de phénotypage des familles G<sub>2</sub> a été correcte sur les 2 sites avec des notes des témoins inclus dans le panel de contrôle cohérentes avec les cotations CTPS (Figure 2).

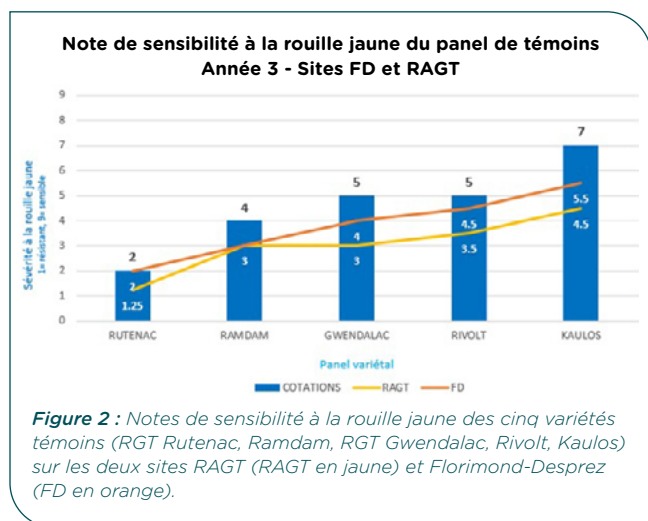


Figure 2 : Notes de sensibilité à la rouille jaune des cinq variétés témoins (RGT Rutenac, Ramdam, RGT Gwendalac, Rivolt, Kaulos) sur les deux sites RAGT (RAGT en jaune) et Florimond-Desprez (FD en orange).

Les notes de sensibilité à la rouille jaune sur feuilles s'étalent sur une échelle allant de 1 (Résistant) à 8 (Sensible) sur le site Florimond-Desprez (Nord) et de 1 à 5 sur le site RAGT (Sud). Le phénotypage à la sensibilité à la rouille jaune sur feuille peut être considéré de bonne qualité avec une très bonne corrélation de 0.905 entre sites. La distribution des notes de rouille jaune sur feuille sur les familles G<sub>2</sub> a permis d'identifier une majorité de familles résistantes avec des notes de 1 à 3.

### ► Cartographie fine du QTL6R

Le génotypage des 320 individus G<sub>2</sub> a été réalisé avec 25 marqueurs situés entre les positions 864.7 Mb et 875.3 Mb sur le chromosome 6R du seigle Lo7 (Tableau 2).

Les marqueurs retenus (SNP248 à SNP294) couvrent l'ensemble du QTL (de 166.09 cM à 171.67 cM sur la carte consensus) plus une borne externe (SNP296), la réduction de taille obtenue est de 8.79 cM et le QTL couvre encore 9.33 Mb selon la position chez le seigle Lo7.

Il n'a pas été possible d'identifier un marqueur ou un haplotype lié à la résistance parmi les marqueurs génotypés. Globalement, les individus recombinants sont très majoritairement de type Vuka sur cette partie du chromosome 6R. Les 3 marqueurs non concomitants, SNP273, SNP277 et SNP282, sont toutefois plus discriminants que les autres (Figure 3). Ils couvrent une zone restreinte de 0.79 cM (inférieure à 2.21 Mb). Il y a quelques individus de génotype Kaulos et aussi quelques recombinants mais assez peu. Les individus de type Kaulos ou recombinants ont globalement une moins bonne résistance que ceux de type Vuka mais il n'y a pas de correspondance claire identifiée entre la résistance/ sensibilité et un marqueur ou un haplotype. Il persiste des individus sensibles, de type allélique Vuka à tous les marqueurs. Le génotypage de la zone proximale n'a pas apporté de résolution supplémentaire.

Le gène de résistance à la rouille jaune Yr83, mis en évidence sur le chromosome 6R (Li *et al.*, 2020 ; Li

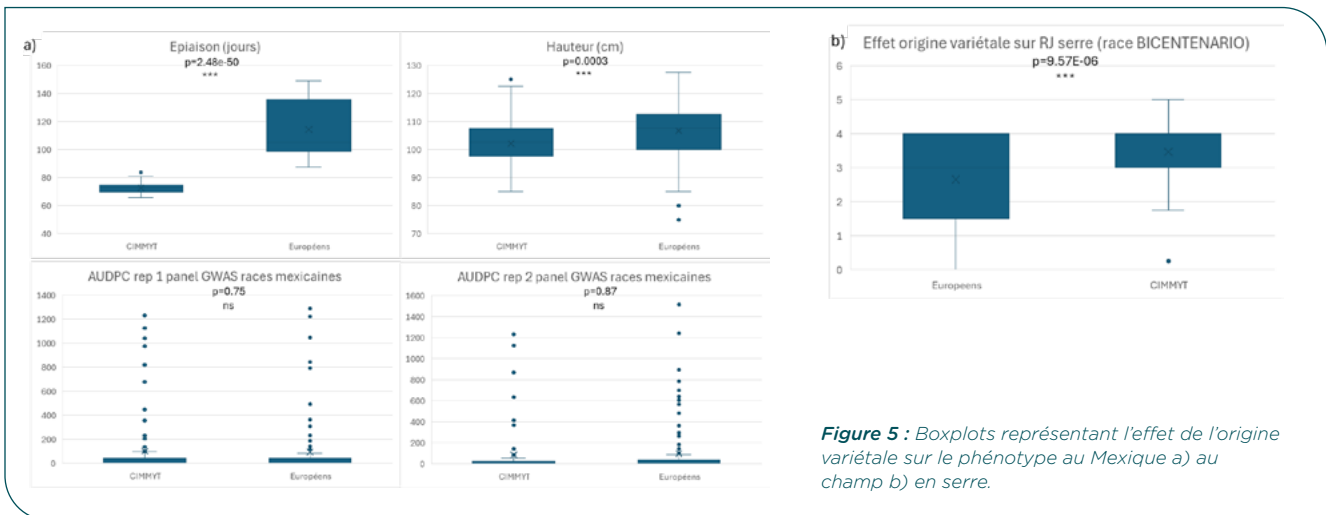
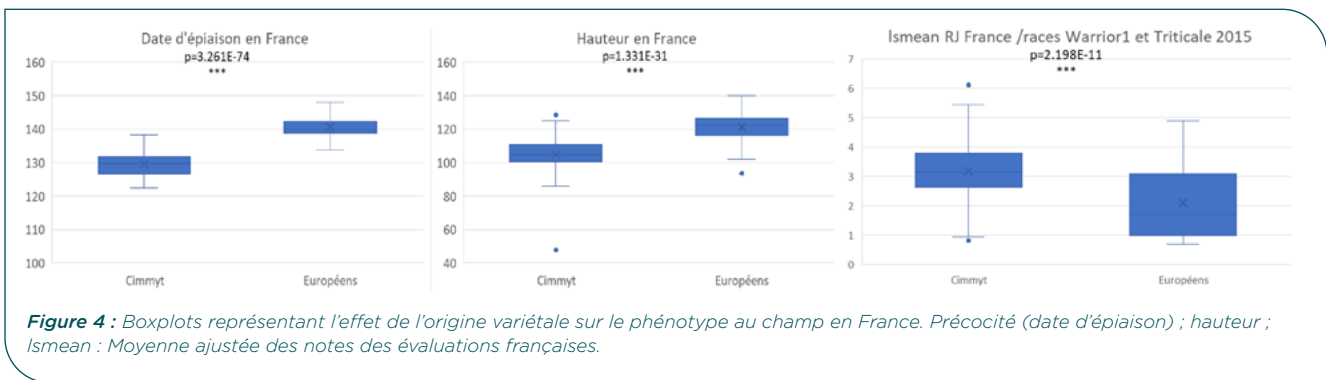
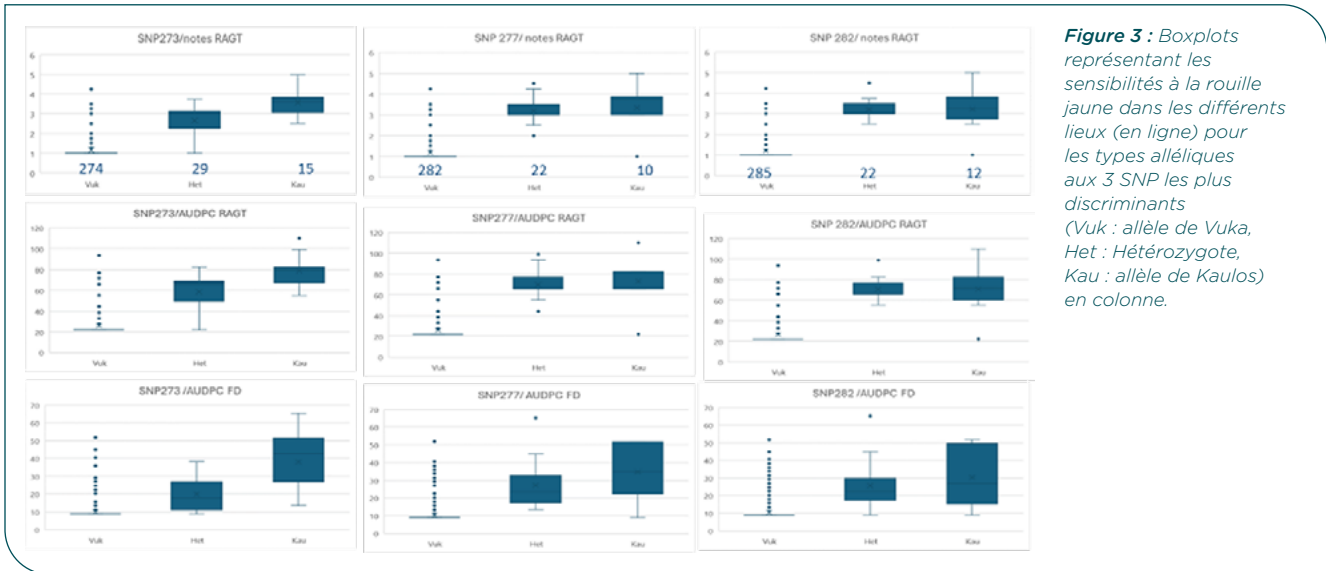
SNP_ID	position cM	chrlo7	position Lo7		
SNP33	52.02	Chr6R	470 070 900		
SNP68	91.48	Chr6R	679 616 866		
SNP70	103.88	Chr6R	697 182 834		
SNP72	109.5	Chr6R	712 996 176		
SNP75	117.04	Chr6R	737 517 931		
SNP78	127.76	Chr6R	754 432 240		
			806 Mb		
SNP87	153.27	Chr6R	819 674 428		
SNP248	166.09	Chr6R	864 726 604		
SNP242	166.09	Chr6R	864 731 143		
SNP252	166.09	Chr6R	864 058 335		
SNP257	166.09	Chr6R	864 071 190		
SNP256	166.09	Chr6R	865 155 730		
pics KV et TaMa	166.09	Chr6R	865 173 293		
SNP258	167.31	Chr6R	867 771 520		
SNP260	167.31	Chr6R	867 902 818		
SNP261	168.10	Chr6R	868 228 185		
SNP262	168.50	Chr6R	868 821 200		
SNP267	168.90	Chr6R	869 190 070		
SNP266	168.90	Chr6R	869 519 349		
SNP268	168.90	Chr6R	870 368 182		
pic KV et TaMA	169.70	Chr6R	871 747 182		
SNP273	170.09	chrUn			
SNP275	170.09	chrUn			
SNP276	170.09	chrUn			
SNP90	170.48	chrUn			
SNP277	170.48	chrUn			
SNP278	170.48	chrUn			
SNP279	170.48	chrUn			
SNP280	170.48	chrUn			
SNP281	170.88	Chr6R	872 978 703		
SNP282	170.88	chrUn			
pic KV	171.27				
SNP292	171.67	Chr6R	873 965 702		
SNP294	171.67	Chr6R	874 059 103		
SNP296	174.49	Chr6R	875 379 766		
			881Mb		

Tableau 2 : Localisation des marqueurs définis pour réduire la taille du QTL. Les pics des QTL6R sont identifiés en vert et la position approximative du gène Yr83 indiquée en bleu. Les marqueurs les plus discriminants sont indiqués en jaune.

*et al.*, 2022), se situe dans la même zone télomérique du chromosome 6RL, que le QTL6R de la population Kaulos x Vuka (162-171 cM). La position du gène Yr83 de résistance à la rouille jaune de seigle a été cartographié entre 806 et 881 Mb sur le seigle Lo7 (Li *et al.*, 2022). Les marqueurs retenus (SNP248 à SNP294) sont donc dans la zone du gène Yr83 laissant suggérer que le QTL6R de triticales correspond au gène Yr83 de seigle. Si tel est le cas, la zone serait alors réduite à un intervalle d'environ 2 Mb ce qui est une avancée significative aussi bien en termes de clonage du gène que d'exploitation en sélection à l'aide de marqueurs.

### ► Phénotypage panel franco-mexicain

En France, les individus de type printemps du CIMMYT se révèlent plus sensibles aux races européennes que les génotypes européens que cela soit pour la première note ou la deuxième. Comme attendu, ils sont plus précoces mais aussi plus courts (Figure 4).



Au Mexique, les différences de précocité et de hauteur des génotypes mexicains par rapport aux types hivernaux européens sont conservées. Les 2 répétitions ne sont pas corrélées et il n'y a pas d'effet significatif de l'origine sur la résistance à la race mexicaine Bicentenario (2016) au champ (Figure 5a). Cependant en serre (Figure 5b), avec la race Bicentenario l'effet de l'origine des génotypes est significatif comme au champ en France avec les races Warrior1 et Triticale2015.

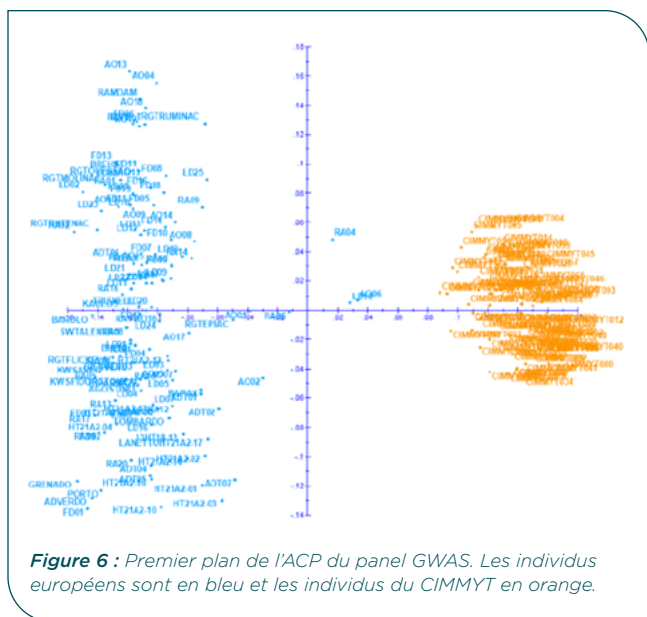
La synthèse des données de phénotypage français et mexicain a permis d'identifier 20 génotypes résistants aux races Warrior1, Triticale2015 et Bicentenario. Dix

sont des seigles et le reste des triticales dont une grande partie des triticales issues de triticales primaires provenant du programme INRAE-GIE « Augmentation de la Diversité du Triticale (ADT) ». Il s'agit des triticales ADT03, ADT04, ADT05, ADT06, ADT07, AO06, FD06, FD08, LD01, LD02, Kitesurf, LD11, LD16, LD18, LD23, Lumaco, RA06, Triskell, Cimmyt067 et Cimmyt100.

► **GWAS panel franco-mexicain**

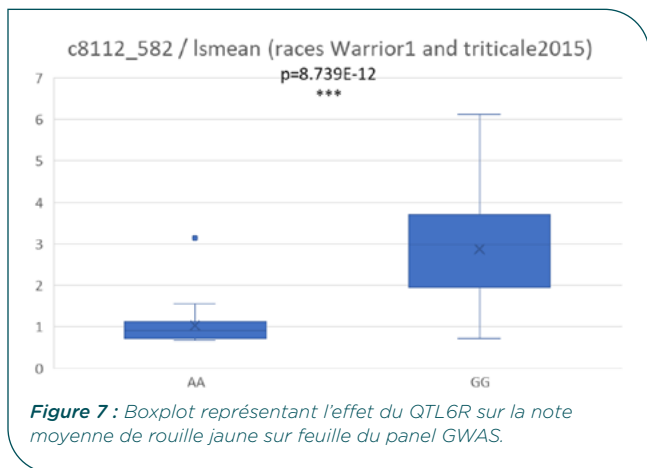
La recherche de structure avec l'ensemble des marqueurs a mis en évidence une forte structuration des génotypes européens et du CIMMYT le long de

l'axe 1 de la PCoA (22.36% d'explication) (Figure 6) ainsi qu'une spécificité des seigles (données non présentées).



En se focalisant sur les seuls marqueurs du génome R, la même structuration est obtenue avec toutefois une moindre spécificité des seigles. Les seigles ont donc été éliminés de l'analyse GWAS.

Sur l'ensemble des données françaises de phénotypage 2021 et 2022, une association majeure sur le chromosome 6R avec le marqueur c8112\_582 explique 30% de la note BLUP (Figure 7).



Cette même association est identifiée à partir des données mexicaines en serre, elle explique alors jusqu'à 48.44% de la résistance au stade juvénile.

Le marqueur c8112\_582 est positionné physiquement sur le chromosome 7R du seigle Lo7 et sur le chromosome 6R de la carte génétique du triticales du précédent projet. Il correspond au QTL6R, la différence de localisation sur seigle et triticales pouvant être expliquée par la structure du chromosome 6R en mosaïque des chromosomes des groupes 6, 3, et 7 des céréales (Bauer *et al.*, 2017 ; Rabanus-Wallace *et al.*, 2021).

A partir des données mexicaines de phénotypage au champ une association majeure est mise en évidence sur le chromosome 6A à partir des données AUDPC 2021 de la répétition 1 du Mexique qui explique 42% du caractère. Elle n'est toutefois pas retrouvée ni sur la répétition 2 de 2021 ni en 2022. En 2022, 3 autres associations ont été mises évidence sur les chromosomes 5A, 5B et 5R (Tableau 3). Deux des associations sur les chromosomes 5A et 5R expliquent respectivement 20 et 23% de la résistance aux races mexicaines en 2022. Aucune corrélation n'a été mise en évidence avec les 14 MTA d'épiaison et de floraison obtenus.

Une association mineure avec la note de rouille jaune en France, à 795 Mb sur le chromosome 5R avait également été identifiée à proximité de celle dérivée de la note du Mexique, à 753 Mb. Elle mettait en évidence la résistance à la rouille jaune dans 2 lieux, Erquy et Cappelle, 2 années différentes. Des associations avec la résistance à la rouille jaune ont également été identifiées dans des régions similaires sur le chromosome de blé 5B entre 550.377 et 670.829 Mb (Shahinnia *et al.*, 2022) et sur le chromosome 5R de triticales à 786.130 Mb (Zustovi *et al.*, 2025)

La distinction de ces 4 associations des chromosomes du groupe 5 a été confirmée par mesure du déséquilibre de liaison ( $r^2$ ), les valeurs étant toutes inférieures à 0.37. L'homéologie possible entre ces 4 associations des chromosomes du groupe 5 a été interrogée par BLASTN des marqueurs sur les génomes de référence de blé tendre (refseq2 IWGSC) et de seigle (Lo7 ref2) (Tableau 4).

Les valeurs d'identité entre l'association du chromosome 5R et les associations des chromosomes 5A, 5B et 5D sont élevées (respectivement 96.7%, 915% et 90%), et permettent de supposer qu'il existe une homéologie des locus orthologues de résistance sur les chromosomes 5 au niveau d'une zone conservée chez les céréales. Une telle homéologie des gènes de résistance aux rouilles a été mise en évidence au niveau des chromosomes du groupe 1 de blé entre le gène *Yr10* de résistance à

Evaluation	Caractère	SNP	Position physique ref IWGSCet Lo7	Pos	modèle le plus explicatif	P.value	effet	PVE(%)
Mexique	AUDPC22r2	AX-109880762	5A	548 609 515	MLMM	2.96E-07	102.05	20.26
	Blink				7.48E-08	87.73	11.94	
	AUDPC22r2	RFL_Contig1265_515	5B	602 139 038	MLMM	2.06E-06	101.04	9.55
	AUDPC22r1				FarmCPU	1.19E-06	70.10	0.00
	AUDPC22r2				MLMM	9.79E-09	-205.65	23.72
AUDPC22rep1	FarmCPU	5.77E-06	-105.99	17.16				
France	RJF21FD	AX-99883159	5R	795 678 384	MLMM	6.59E-08	-0.91	8.84
	RJF22Erquy				FarmCPU	5.36E-08	-0.71	6.31
	lsmean				mlmm	1.63E-06	-0.60	0.00

Tableau 3 : Association entre marqueurs des chromosomes du groupe 5 et la résistance à la rouille jaune.

	Refseq IWGSV 2V ou lo7 V2		position sur les chromosomes homéologues					
					score	Evalue	Identity	Gaps
AX-109880762	5A	549 295 659						
RFL_Contig1265_515	5B	605 958 959	5A	611 576 060	96.86 (106)	1.02*10-17	88/115 (76.5%)	14/115 (12.2%)
c2815_2082	5R	753 513 451	5A	617 062 876	151.87 (167)	6.73*10-34	115/141 (81.6%)	23/141 (16.3%)
AX-99883159	5R	795 678 384	5A	647 717 272	102.28 (112)	1.39*10-19	58/60 (96.7%)	0/60 (0%)
RFL_Contig1265_515	5B	605 958 959						
c2815_2082	5R	753 513 451	5B	611 689 420	134.74 (148)	5.17*10-29	112/143 (78.3%)	25/143 (17.5%)
AX-99883159	5R	795 678 384	5B	654 059 047	104.08 (114)	3.98*10-20	65/71 (91.5%)	0/71 (0%)
RFL_Contig1265_515	5B	605 958 959	5D	491 674 784	83.34 (91)	2.24*10-13	55/62 (88.7%)	0/62 (0%)
c2815_2082	5R	753 513 451	5D	495 569 795	138.34 (152)	4.25*10-30	112/141 (79.4%)	23/141 (16.3%)
AX-99883159	5R	795 678 384	5D	522 683 378	84.24 (92)	3.73*10-14	54/60 (90%)	0/60 (0%)
AX-99883159	5R	795 678 384						
RFL_Contig1265_515	5B	605 958 959	5R	737 794 257	92.36 (101)	4.33*10-16	92/121 (76%)	22/121 (18.2%)

Tableau 4 : Position relative des MTA des chromosomes du groupe 5 sur les chromosomes homéologues.

la rouille jaune sur le chromosome 1BS et le gène Lr21 de résistance à la rouille brune sur le chromosome 1DS (Spielmeyer and Lagudah, 2003). En position distale du chromosome 5AL de l'accèsion de blé tendre PI 610750 du CIMMYT, le gène de résistance à la rouille jaune *Yr34/Yr48* est situé entre les positions 694 et 708 Mb (Chen *et al.*, 2021), proche du MTA 5A du triticales (549 Mb), ce qui peut apporter son appui à l'hypothèse d'une zone conservée, ancestrale, de résistance à l'extrémité des chromosomes du groupe 5 des céréales.

Le QTL6R mis en évidence à partir de l'évaluation française du panel apparaît dans l'analyse GWAS du phénotypage mexicain en serre laissant supposer une action du QTL6R non spécifique des races européennes de rouille jaune Warrior1, et Triticales2015. Pourtant l'association n'apparaît pas dans l'analyse faite à partir des données de champ au Mexique avec la race mexicaine Bicentenario ce qui suggère un effet fort de l'environnement sur ce caractère.

#### ► Croisements entre individus résistants

La plupart de individus possédant le QTL6R sont résistants à toutes les races testées de rouille jaune qu'elles soient françaises ou mexicaine (Tableau 5). A l'inverse, les génotypes possédant les QTL 5A, 5B et 5R présentent une résistance spécifique de la race Bicentenario sauf pour 4 génotypes.

Les accessions les plus résistantes ont été croisées entre elles. Lumaco, Triskell, Kitesurf, ADT06 et ADT07, porteurs

du QTL6R, ont été croisées avec les individus CIMMYT 14, 21, 61 et 67, porteurs des QTL 5A, 5B et 5R, afin de tenter de cumuler au sein de futurs descendants, toutes les sources de résistance européennes ou mexicaines à l'ensemble des races testées au sein de ce projet pour tenter d'augmenter la durabilité des résistances utilisées en sélection.

## CONCLUSION

La cartographie fine a permis d'affiner la position du QTL6R dérivé de la population Kaulos x Vuka entre 864 et 873 Mb de la refseq Lo7 soit au même niveau que le gène *Yr83* dont la position a été précisée entre 806 et 881 Mb (Li *et al.* 2022). Il est donc raisonnable d'estimer que le QTL6R correspond au gène *Yr83*. Ce gène est intéressant pour améliorer la résistance des variétés de triticales françaises ou mexicaines à la rouille jaune. La localisation plus précise du QTL à l'échelle de 2 Mb permet d'envisager le clonage de ce gène ou a minima le développement de marqueurs quasiment diagnostics.

L'analyse du panel de GWAS a permis de valider l'effet du gène *Yr83* et a également mis en évidence une autre source de résistance sur les chromosomes du groupe 5, A, B et R.

En augmentant le nombre de sources de résistance potentiellement utilisables pour l'amélioration variétale, le projet FSOV Triti RJ permet simultanément de diminuer la pression évolutive sur les races de rouille jaune et de limiter l'apparition de contournements des résistances.

### Individus porteurs du QTL6R

Deno	races mexicaines			races européennes					
	AUDPC1C(wsp)	AUDPC21C(wsp)	Rages21AO	RIF21AO	RIF21SEC	RIF21RD	RIF21Remy	RIF21Villiers	
ADT06	27	0	1	1	1	1	0	0	
ADT07	0	0	1	1	1	1.25	0.7	0.0	
AD15	205	290	1	1.5	1.25	1.25	0.3	0.4	
AD17	150	165	1.5	1.5	1	1	0	0	
Cimmy1011	0	0	4	3.25	2	1.25	0.5	0	
Cimmy1020	47	47	5	4	5.25	3	3.8	1.8	
Cimmy1089	27	55	2	2.5	1	1.25	0.3	0.1	
Kitesurf	11	0	2	1.75	1	1	0.7	0	
LD11	34	0	1.5	1.5	1	1	0.8	0	
LD12	510	630	1	1	1	1	0	0	
LD15	30	0	1.5	2.25	1	1.5	0	0.1	
LD16	11	0	1	1	1	1.25	0	0	
LD17	75	118	3	2.25	1.5	2	0.7	0.6	
LD18	11	14	1.5	1	1	1	0	0	
LD23	0	0	1	1	1.25	1	0.2	2.9	
LD24	330	430	1	1.25	1	1	0	0	
LD25	0	4	2	2.25	1	1	0	0.6	
Lumaco	14	0	1	1	1	1	0	0	
RA07	58	125	1.5	1.5	1	1	0	0	
RA07	205	430	1	1	1	1.25	0	0	
RA22	0	0	3.5	2.5	1.25	1.5	2.8	0.3	
Triskell	58	14	1	1	1.75	1	0.7	0.1	

Tableau 5 : Notes de résistance à la rouille jaune des individus porteurs des QTL. Les individus résistants aux races de *P. striiformis* françaises et mexicaines sont surlignés en jaune.

### Individus avec les QTL 5R 5B A

	races mexicaines			races européennes					
	AUDPCMex22	AUDPCMex22	22Eiquy	22Villiers	22FD	21AO	21SEC		
Gimmy1014	0	0	0.5	0	2	2	2		
Gimmy1019	85	21	8	2.25	4.75	5	7.75		
Gimmy1021	0	0	1.5	3	1	2.75	1		
Gimmy1025	0	0	9	2.75	3	4.75	7.25		
Gimmy1026	0	0	5.5	1	2	3.75	3.75		
Gimmy1040	0	0	9	0.2	4	4	4.5		
Gimmy1044	0	0	8	1.5	5	6	7.75		
Gimmy1045	0	0	7	1	5.25	6.5	8.25		
Gimmy1047	0	0	7	0	5.5	4.25	5.25		
Gimmy1048	0	0	7	0	2.75	5	3.25		
Gimmy1051	0	0	1	0	1	1.75	1		
Gimmy1057	0	0	0.5	0.2	1	1.5	1		
Gimmy1073	678	41	7	2.5	3.5	4.5	4.5		
Gimmy1076	93	28	7.5	0.75	3.25	4.25	3.5		
Gimmy1087	0	0	7	1.5	2.75	4.5	5.75		

## Références bibliographiques

- Ali S, Rodriguez-Algaba J, Thach T, Sorensen CK, Hansen JG, Lassen P, Nazari K, Hodson DP, Justesen AF et Hovmøller 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 et Haesaert G** (2014) Biotic stresses in the anthropogenic hybrid triticales ( $\times$ Triticosecale Wittmack): current knowledge and breeding challenges. *Eur. J. Plant Pathol.* 140: 615–630.
- Bauer E, Schmutzer T, Barilar I, Mascher M, Gundlach H, Martis MM, Twardziok SO, Hackauf B, Gordillo A, Wilde P, Schmidt M, Korzun V, Mayer KFX, Schmid K, Schön CC et Scholz U** (2017) Towards a whole-genome sequence for rye (*Secale cereale* L.). *The Plant Journal* 89: 853–869
- Chen S, Hegarty J, Shen T, Hua L, Li H, Luo J, Li H, Bai S, Zhang C et Dubcovsky J** (2021) Stripe rust resistance gene *Yr34* (synonym *Yr48*) is located within a distal translocation of *Triticum monococcum* chromosome 5AmL into common wheat. *Theor Appl Genet.* 134: 2197–2211
- Haseneyer G, Schmutzer T, Seidel M, Zhou R, Mascher M, Schön C-C, Taudien S, Scholz U, Stein N, Mayer KF et Bauer E** (2011) From RNA-seq to large-scale genotyping - genomics resources for rye (*Secale cereale* L.). *BMC Plant Biology* 2011 11:131
- Hau B et de Vallavieille-Pope C** (2006) Wind-dispersed diseases. In: *The Epidemiology of Plant Diseases*. p. 387–416, Eds BM:Cooke, D Gareth Jones and B Kaye, Second Edition, Springer, Dordrecht, The Netherlands
- Hovmøller MS, Sørensen CK, Walter S, Justesen AF** (2011) Diversity of *Puccinia striiformis* on cereals and grasses. *Annual Review of Phytopathology* 49: 197–217.
- Hovmøller MS, 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 et 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.
- Hovmøller MS, Rodriguez-Algaba J, Thach T, Justesen AF and Hansen JG** (2018) Report for *Puccinia striiformis* race analyses and molecular genotyping 2017. Global Rust Reference Center (GRRRC), Aarhus University, Flakkebjerg, DK- 4200 Slagelse, Denmark.
- Li J, Dundas I, Dong C, Singh D, Zhang L, Dillon S, Whan A, Bansal U, Ayliffe M** (2020) Identification and characterization of a new stripe rust resistance gene *Yr83* on rye chromosome 6R in wheat. *Theor Appl Genet* 133: 1095–1107
- Li G, Li J, Zhang Y, Ma Q, Yang E, Zhang P, Dundas I, Yang Z** (2022) Molecular and cytogenetic dissection of stripe rust resistance gene *Yr83* from rye 6R and generation of resistant germplasm in wheat breeding. *Frontiers in Plant Science* 13: 1035784
- Losert D, Maurer HP, Leiser WL et Würschum T** (2017) Defeating the Warrior: genetic architecture of triticales resistance against a novel aggressive yellow rust race. *Theor. Appl. Genet.* 130: 685–696
- Oettler G** (2005) The fortune of a botanical curiosity - Triticales: past, present and future. *J. Agric. Sci.* 143, 329.
- Rabanus-Wallace MT, Hackauf B, Mascher M, Lux T, Wicker T, Gundlach H, Baez M, Houben A, Mayer KFX et al.** (2021) Chromosome-scale genome assembly provides insights into rye biology, evolution and agronomic potential. *Nat Genet* 53: 564–573
- Roelfs AP** (1984) Race specificity and methods of study. In: WR Bushnell, AP Roelfs (eds) *The cereal rusts vol. I. Origins, specificity, structure, and physiology*. Academic Press, Orlando, pp 132–164
- Shahinnia F, Geyer M, Schürmann F, Rudolphi S, Holzapfel J, Kempf H, Stadlmeier M, Löschenberger F, et al.** (2022). «Genome-wide association study and genomic prediction of resistance to stripe rust in current Central and Northern European winter wheat germplasm.» *Theor. Appl. Genet.* 135: 3583–3595
- Sodkiewicz W et Strzembicka A** (2004) Application of *Triticum monococcum* for the improvement of triticales resistance to leaf rust (*Puccinia triticina*). *Plant Breed.* 123: 39–42
- Spielmeier W et Lagudah E** (2003) Homoeologous set of NBS-LRR genes located at leaf and stripe rust resistance loci on short arms of chromosome 1 of wheat. *Funct Integr Genomics* 3: 86–90
- Wang J et Zhang Z** (2021) GAPIT Version 3: Boosting power and accuracy for genomic association and prediction. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics* 19: 629–640
- Yang MY, Ren TH, Yan BJ, Li Z et Ren ZL** (2014) Diversity resistance to *Puccinia striiformis* f. sp. Tritici in rye chromosome arm 1RS expressed in wheat. *Genet. Mol. Res.* 13: 8783–8793
- Zustovi R, Schurack S, Valarik M, Gris Rueda J, Miroslavljević M, Župunski V, Buerstmayr H et al.** (2025) «Genetic and phenotypic diversity of European triticales: GWAS of yellow rust resistance and agronomic traits.» *Plant Breed.* doi.org/10.1111/pbr.70030

### TRITI RJ

#### Identification et exploitation de sources de résistance à la rouille jaune chez le Triticale

**Valérie LAURENT, Amaïa BOUGUENNEC, Pierre SOURDILLE, Frédéric CHOULEY, Eric DELALEAU, Frédéric FARTIN, Pascal GRUADEAU, Karim AMMAR, Christophe JEUDY, Frédéric ROBERT, Pascal GRUADEAU, Christophe JEUDY**

1. INRAE UCA, UMRI0525, 33000 St-Jean-Montagny, France
2. INRAE UCA, UMRI0525, 33000 St-Jean-Montagny, France
3. L'Institut National de la Recherche Agronomique, UR1209, 33000 St-Jean-Montagny, France
4. Agronomes et Vétérinaires Indépendants, 78500 Châteaufort, France
5. Institut National de la Recherche Agronomique, UR1209, 33000 St-Jean-Montagny, France
6. Arvalis - Institut du Végétal, 3 rue Joseph et Marie Hackin, 75005 Paris
7. ARVALIS - Institut du Végétal, 3 rue Joseph et Marie Hackin, 75005 Paris
8. CIMMYT INT, Carretera Mexico-Villahermosa km45 El Balón, 29231, Tuxtla, MEXIQUE

**Coordonnées du projet :** OIE Tritica

---

#### OBJECTIFS

Dans le projet FSOV RJ 2016, un mètre QTL, porteur de résistance à la rouille jaune de triticale a été mis en évidence sur le chromosome 6A de la population biparentale. Ce QTL, expliquant à lui seul plus de 52% de la variance phénotypique totale avec l'effet favorable provenant du parent Vuuk. Ce projet FSOV tritica vise à affiner la localisation du QTL, de façon à pouvoir l'utiliser plus facilement en sélection. En parallèle, une recherche de nouvelles sources de résistance a été entreprise à partir d'un panel de triticales franco-mexicaines élevées en France et, au Mexique. Une recherche de QTLs a été menée afin de définir des marqueurs des résistances.

---

#### CARTOGRAPHIE FINE DU QTL 6R DE RÉSISTANCE À LA ROUILLE JAUNE DE LA POPULATION KAULOS X VUKA

A. Trois jeux de 96 marqueurs génomiques du chromosome 6A de 500 kb ont été testés par les 480 individus sur un panel de 8 triticales (Trit. Vuuk, Kaulos, RT0705 SW Taperin, Neuma, 19H13, KEST30-1, 19H13, KEST30-1) dans l'essai de sélection (Chêneville-Normandie) à l'aide de marqueurs polymorphes sur Kaulos x Vuuk ont été obtenus dont 17 au QTL de résistance à la rouille.

B. Génotypage de 2000 individus du panel de 480 individus F5 x 96/54177 hétérozygotes au QTL à l'aide de marqueurs de 5 marqueurs de la population SW Taperin x Neuma (SPH6, Taperin, SHe, R33, S19) et SPH22, SHe, R33, S19) et SPH22, SHe, R33, S19) de la population (Kaulos x Vuuk) (SPH22, SHe, R33, S19).

C. Génération d'une nouvelle population (2500 individus G6) à partir de l'intervalle du QTL. Les individus hétérozygotes au SNP d'origine et génotypage de 250 individus G6 à l'aide de 25 marqueurs couvrant la partie distale du chromosome 6A.

Les individus recombinants sont très majoritairement de type Vuuk, toutefois 3 marqueurs (origines en jaune) semblent plus discriminants pour suivre le QTL : SNP218, SNP271, SNP272.

La colocalisation avec le gène de résistance YR3 laisse supposer que le QTL 6R correspond à ce gène.

#### NOUVELLES SOURCES DE RÉSISTANCE À LA ROUILLE JAUNE CHEZ LE TRITICALE FRANCO-MEXICAIN

Les populations de triticales franco-mexicaines ont été génotypées au champ dans 6 lieux en France. En France les inoculations ont été réalisées avec les races de Pst Warrior 1 et Warrior 2 avec la race Blaustrans. Les 2 sources de résistances françaises pour la QTL 6R et mexicaine pour les MTA 5A, 5B et 5R ont été dynamisées par croisement et les descendants répartis entre les partenaires du projet.

Les populations de triticales franco-mexicaines ont été génotypées au champ dans 6 lieux en France. En France les inoculations ont été réalisées avec les races de Pst Warrior 1 et Warrior 2 avec la race Blaustrans. Les 2 sources de résistances françaises pour la QTL 6R et mexicaine pour les MTA 5A, 5B et 5R ont été dynamisées par croisement et les descendants répartis entre les partenaires du projet.

Les populations de triticales franco-mexicaines ont été génotypées au champ dans 6 lieux en France. En France les inoculations ont été réalisées avec les races de Pst Warrior 1 et Warrior 2 avec la race Blaustrans. Les 2 sources de résistances françaises pour la QTL 6R et mexicaine pour les MTA 5A, 5B et 5R ont été dynamisées par croisement et les descendants répartis entre les partenaires du projet.

#### CONCLUSION

De nouvelles sources de résistance à la rouille jaune pour le triticale ont été identifiées sur les chromosomes 5A, 5B et 5R. Le QTL 6R, qui semble correspondre au gène de résistance YR3, résiste aux races européennes de Puccinia striiformis f. sp. tritici (Pst) aux stades adulte et jeune. Des SNP de suivi ont été identifiés. Les 2 sources de résistances françaises pour la QTL 6R et mexicaine pour les MTA 5A, 5B et 5R ont été dynamisées par croisement et les descendants répartis entre les partenaires du projet.

Les populations de triticales franco-mexicaines ont été génotypées au champ dans 6 lieux en France. En France les inoculations ont été réalisées avec les races de Pst Warrior 1 et Warrior 2 avec la race Blaustrans. Les 2 sources de résistances françaises pour la QTL 6R et mexicaine pour les MTA 5A, 5B et 5R ont été dynamisées par croisement et les descendants répartis entre les partenaires du projet.

Les populations de triticales franco-mexicaines ont été génotypées au champ dans 6 lieux en France. En France les inoculations ont été réalisées avec les races de Pst Warrior 1 et Warrior 2 avec la race Blaustrans. Les 2 sources de résistances françaises pour la QTL 6R et mexicaine pour les MTA 5A, 5B et 5R ont été dynamisées par croisement et les descendants répartis entre les partenaires du projet.

TÉLÉCHARGER LE POSTER



# CICABO : Étude de la résistance génétique au virus des pieds chétifs chez l'orge et le blé tendre d'hiver

Britta RUCKWIED<sup>1</sup>, Anne RICHTER<sup>1</sup>, Martin SCHWEERS<sup>1</sup>, Torsten WILL<sup>1</sup>, Delphine TAILLIEU<sup>2</sup>, Ellen GOUEMAND-DEGUE<sup>2</sup>, Elise COCCIANTELLI<sup>3</sup>, Constance LAVERGNE<sup>3</sup>, Rachel GODDARD<sup>3</sup>, Gabriel BEUDIN<sup>4</sup>, Auberi AVALLE<sup>5</sup>, Guillaume ROULLET<sup>5</sup>, Yann MANES<sup>6\*</sup>, Chami BERGER<sup>6</sup>, Alexis OGER<sup>6\*</sup>

1 - Julius Kuhn Institute

2 - Florimond Desprez

3 - Limagrain

4 - RAGT

5 - Unisigma

6 - Syngenta France S.A.

\*Coordinateurs du projet : Yann Manès puis alexis.oger@syngenta.com

## INTRODUCTION

Le virus des pieds chétifs (Wheat dwarf virus, WDV), membre du genre Mastrevirus de la famille des Geminiviridae, est un des virus les plus préoccupants pour la production de céréales en Europe (Kundu *et al.*, 2009). Ce virus à ADN simple brin circulaire, transmis de manière persistante par la cicadelle *Psammotettix alienus*, provoque des dommages considérables sur le blé (*Triticum aestivum* L.), avec des pertes de rendement documentées pouvant atteindre 80% dans les cas d'infections automnales précoces (Lindblad & Waern, 2002; Manurung *et al.*, 2004).

L'épidémiologie du WDV est étroitement liée à la biologie de son vecteur et aux conditions environnementales. Des études récentes ont démontré que l'augmentation des températures moyennes, associée aux changements climatiques, favorise la survie hivernale des cicadelles et prolonge leur période d'activité, contribuant ainsi à l'expansion géographique du virus (Rotenberg *et al.*, 2016; Kundu & Gadiou, 2020). La caractérisation moléculaire des isolats européens de WDV a révélé une grande diversité génétique, avec plusieurs variants distincts adaptés au blé et à l'orge (Schubert *et al.*, 2014; Kvarnheden *et al.*, 2016).

Les stratégies de contrôle actuelles reposent principalement sur des approches prophylactiques, incluant l'adaptation des dates de semis et l'élimination des plantes réservoirs (Vacke & Cibulka, 2000). Cependant, l'efficacité limitée de ces mesures et les restrictions croissantes sur l'utilisation des insecticides (Bass *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2021), notamment les néonicotinoïdes en Europe, ont mis en évidence la nécessité de développer des solutions alternatives durables (Bass *et al.*, 2015).

La résistance génétique apparaît comme une stratégie prometteuse, bien que les mécanismes sous-jacents restent mal compris. Des études antérieures ont identifié des sources de résistance partielle chez certaines accessions d'orge (*Hordeum vulgare*) et leurs apparentés sauvages (Nygren *et al.*, 2015). Chez le blé, aucun gène majeur de résistance n'a été caractérisé à ce jour (Benkovics *et al.*, 2010).

Notre étude vise à identifier des génotypes résistants au WDV dans un panel génétiquement diversifié de 300 accessions de blé tendre en combinant phénotypage dans différentes conditions environnementales et génotypage haute densité, et en analysant les données

dans une étude de génétique d'association. Cette recherche s'inscrit dans une démarche d'identification de nouveaux déterminants génétiques de la résistance, essentiels pour le développement de variétés résistantes.

## MATÉRIEL ET MÉTHODE

### ► Evaluation de la résistance

#### Matériel Végétal et Conditions de Culture

Le panel WDVWP a été constitué à partir de quatre sources : (i) le panel de diversité WP3 Breedwheat (INRAE, 450 accessions de blé tendre d'hiver représentatives de la diversité génétique mondiale, avec accent sur l'Europe de l'Est où des sources de tolérance au WDV ont été préalablement identifiées) ; (ii) des lignées d'introgression d'espèces apparentées (Université de Nottingham) ; (iii) des dérivés de blés synthétiques (NIAB) ; et (iv) des témoins élites (Fisht partiellement résistant, Chevignon sensible, RGT Wolverine). La composition a évolué de 185 accessions (2021) à 247 (2022), puis 83 (2023-2024) selon la disponibilité en semences et les performances observées après élimination des génotypes sensibles tout en maintenant une diversité génétique suffisante.

#### Dispositifs expérimentaux

Au champ, l'étude a été menée sur quatre sites d'évaluation, dont trois en France, sélectionnés via le réseau «Vigie Virose» et un en République Tchèque. Les essais ont été conduits en conditions naturelles d'infestation selon un dispositif en blocs aléatoires complets avec trois répétitions, utilisant des micro-parcelles de 1,5 m<sup>2</sup> composées de cinq rangs.

En conditions contrôlées, le phénotypage initial a porté sur 243 génotypes, avec 2-3 répétitions par accession sous serre. Les témoins Regiment (sensible) et Fisht (partiellement résistant) ont été utilisés. Suite aux premiers résultats, un panel de 90 génotypes a été sélectionné pour des essais sous abri (gauze tent) (8m x 30 m x 30m) de 2021 à 2023, avec trois répétitions et dix plantes par génotype, utilisant Hybnos comme témoin sensible.

#### Surveillance et Échantillonnage

La surveillance des vecteurs a été effectuée au champ à l'aide de pièges chromatiques installés de



manière hebdomadaire en automne. L'étude de ces plaques a permis la quantification des populations de *Psammotettix spp.* Des analyses ELISA ont permis de détecter la présence de WDV. Des prélèvements végétaux ont été réalisés en sortie d'hiver sur douze plantes par micro-parcelle, suivis d'analyses complémentaires au printemps sur les génotypes sélectionnés.

### Méthodes d'Évaluation

Les évaluations des infections au WDV ont été réalisées à l'aide d'une notation visuelle des symptômes sur une échelle de 1 à 9 au champ et en environnement contrôlé (WDV\_score) (1 : absence de symptômes, 9 : plantes mortes. L'échelle est inversée pour la notation au JKI). En environnement contrôlé, l'évaluation a également inclus une quantification de la charge virale relative par DAS-ELISA (WDV\_titer (ELISA 405 nm)), et le taux d'infection (WDV\_infrate) (nombre de plantes positives au WDV divisé par le nombre total de plantes testées), et des mesures de performances relatives en comparant les plantes infectées aux plantes non infectées pour le rendement en grains, le nombre d'épis par plante, le poids de mille grains et la hauteur des plantes.

### Analyses Statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel R 4.3.3, utilisant des modèles linéaires mixtes pour tenir compte des effets génotypiques fixes et des effets environnementaux aléatoires ainsi que des tests paramétriques et non paramétriques.

### Analyse Génomique

L'analyse GWAS a été conduite sur deux panels (243G et 90G) en utilisant les puces iSelect 25K et 26K. Les données ont été filtrées selon des critères stricts (MAF>5%, données manquantes<10%, hétérozygotie<12,5%). Les modèles CMLM et farmCPU ont été appliqués, avec une correction de Bonferroni pour déterminer les associations significatives. Cette approche complète a permis d'identifier les déterminants génétiques des accessions résistantes et des génotypes potentiellement tolérants au WDV.

### ► Interaction *Rhopalosiphum padi*-WDV-blé

#### Comportement trophique

Pour le dispositif de graphe de pénétration électrique (EPG) utilisé pour l'observation du comportement alimentaire des hémiptères, les cicadelles sont connectées au préamplificateur par un fil d'or collé sur la face dorsale de l'abdomen. Une seconde électrode (électrode végétale) est placée dans le substrat de la plante mise à disposition de l'insecte. Les insectes sont déposés sur les plantes après une période de jeûne d'environ 1 h. Dès qu'ils percent la plante avec leurs stylets, le circuit électrique se ferme et un signal de tension est enregistré par le système. Les variations de résistance, induites par le comportement alimentaire mais aussi par l'environnement du stylet, entraînent des variations de tension électrique qui peuvent être détectées et enregistrées. Les profils de variation de tension peuvent être attribués à différentes phases du comportement alimentaire. Pour *P. alienus*, les formes d'ondes observées ont été annotées selon Toth et al. (2015 ; doi: 10.1111/eea.12290), les profils d'ondes

ont été transformés en profils de type puceron et les paramètres EPG ont ensuite été analysés à l'aide du classeur EPG-Excel version 1.0 de Garzo et al. (2024 ; <https://doi.org/10.1093/jisesa/ieae063>). La durée totale d'enregistrement a été fixée à 8 heures (480 minutes) et chaque répétition représente un insecte individuel sur une plante individuelle. Le nombre total de répétitions par génotype de plante varie entre 13 et 16.

### Test de choix - *P. alienus*

Douze génotypes sélectionnés sur la base des résultats du phénotypage en conditions contrôlées sont testés en parallèle avec trois arènes de choix par répétition où, dans chaque arène de choix, des feuilles individuelles de quatre génotypes en parallèle ont été proposées à *P. alienus*. Des feuilles sont placées à égale distance dans l'arène respective et la répartition de *P. alienus* est observée à 0,5, 1, 4 et 24 heures. Trois répétitions indépendantes sont réalisées.

### Test de choix - *R. padi*

Pour le test de choix avec *R. padi*, *Hordeum vulgare* est utilisé, car davantage de données sont disponibles sur cette espèce, notamment concernant l'analyse des composés volatils et l'interaction virus-vecteur-plante. Des plantes de *H. vulgare* cv Rubina sensibles au BYDV et au WDV sont infectées puis incubées dans une chambre climatique pendant six semaines. Dans ces expériences à choix double (BYDV vs non-infecté et WDV vs non-infecté), le contrôle non-infecté sert de référence. Les feuilles de deux plantes de chaque traitement sont placées alternativement à intervalles égaux dans une arène et la distribution de *R. padi* (biotype R07) est observée à 0,5, 1, 2, 4 et 24 heures. Pour chaque combinaison, 12 réplifications sont réalisées et 20 adultes sont utilisés par réplification. Les moyennes des plantes des différents traitements sont calculées pour l'analyse.

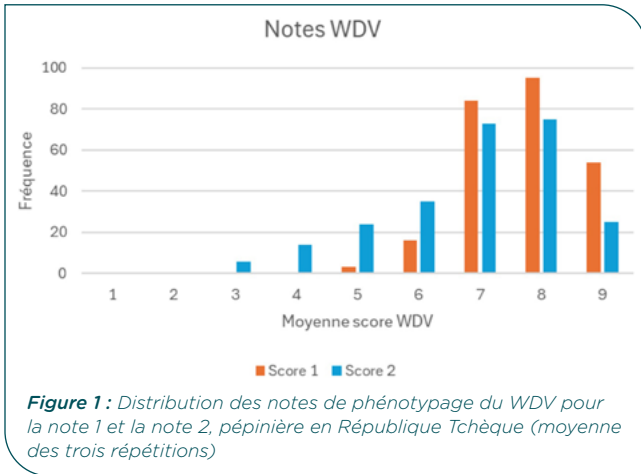
### Analyse des phytohormones - Plantes infectées par le WDV et le BYDV

L'analyse des phytohormones est réalisée en collaboration avec le Dr Michael Reichelt (Département de biochimie, Institut Max Planck d'écologie chimique, Iéna, Allemagne) et la Professeure Alexandra Furch (Département de physiologie végétale, Matthias-Schleiden-Institut de génétique, bioinformatique et botanique moléculaire, Faculté des sciences biologiques, Université Friedrich Schiller de Iéna, Iéna, Allemagne) tel que décrit par Paulmann et al. (2018).

## ► RÉSULTATS

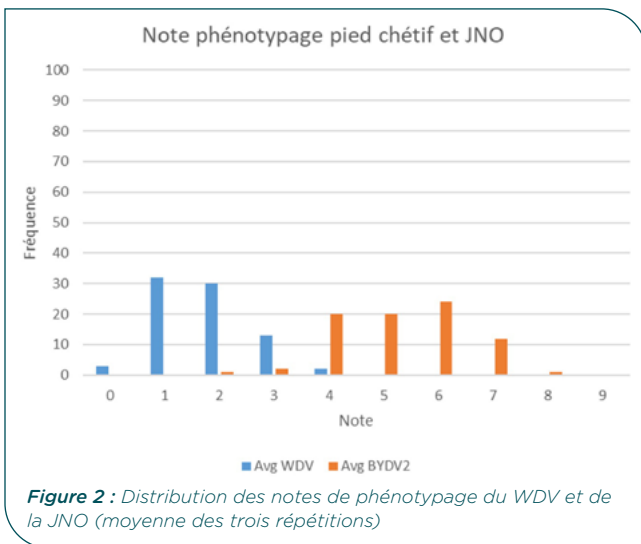
### ► Contexte et Suivi Épidémiologique (2021-2024)

Les résultats de cette étude pluriannuelle menée de 2021 à 2024 ont permis d'identifier des accessions résistantes au virus des pieds chétifs du blé (WDV). La première année d'expérimentation n'a pas fourni de données exploitables en raison d'une pression virale insuffisante. En revanche, l'année 2022 s'est révélée particulièrement informative grâce au site en République Tchèque, où une forte infestation a été observée avec 101 plantes infectées par le WDV, dont 43 présentant un niveau de charge virale élevé. Les notations sont illustrées dans la Figure 1.



La pression virale s'est avérée plus variable au cours des années suivantes, avec une présence fluctuante des cicadelles et une compétition croissante avec le virus de la jaunisse nanisante de l'orge (BYDV).

Cette situation est particulièrement visible en 2024, où les plantes du site Limagrain ont montré une note moyenne de 3,9 pour le WDV contre 1,4 pour le BYDV (Figure 2), illustrant la prédominance progressive de ce dernier.

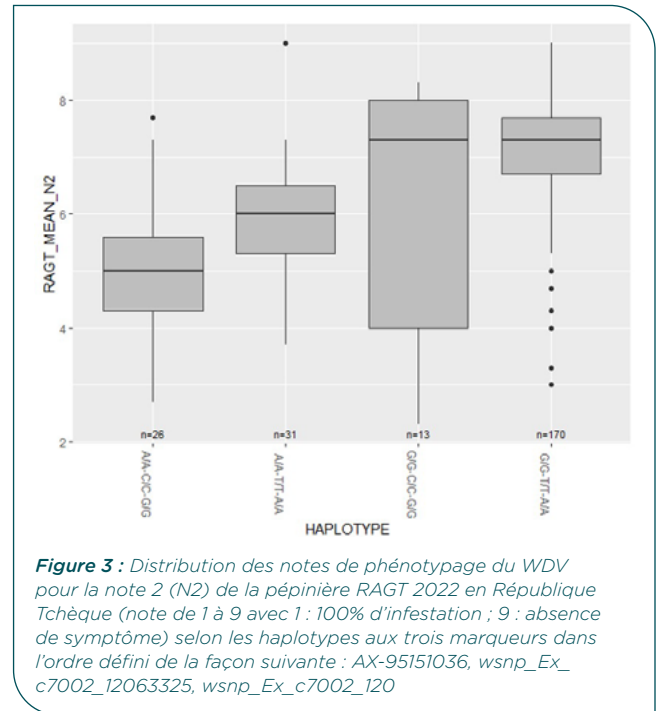


Les résultats obtenus en conditions contrôlées et au champ ont permis de réduire le nombre d'accèsions testées lors des années 3 et 4, en éliminant les génotypes sensibles tout en préservant une diversité génétique suffisante. Le phénotypage a ainsi permis de caractériser un panel de 82 génotypes, établissant une classification avec 25 génotypes résistants, 16 moyennement résistants, 27 moyennement sensibles et 14 sensibles. Cette caractérisation a servi de base pour les analyses génétiques ultérieures.

### GWAS sur les essais en champs

L'étude d'association pangénomique (GWAS) a révélé un QTL majeur sur le chromosome 6A, défini par trois marqueurs significatifs dans une région comprise entre 599 et 602 Mbp (Figure 3). Le marqueur principal AX-95151036 explique 20% de la variation phénotypique observée. L'analyse des haplotypes a démontré que la combinaison favorable G/T/A est associée à une note moyenne de résistance de 7, tandis que l'haplotype

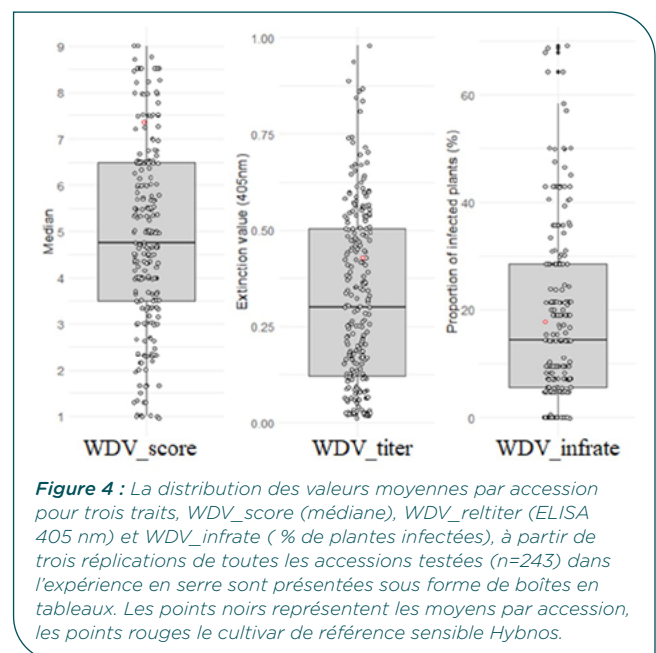
défavorable A/C/G correspond à une note moyenne de 5. La validation génétique a été renforcée par la présence de l'haplotype favorable chez la variété Fisht, connue pour sa résistance au WDV.



Des QTL mineurs complémentaires ont été identifiés sur les chromosomes 1B et 3A pour la résistance au WDV, ainsi que sur les chromosomes 7A et 7B pour la résistance au BYDV.

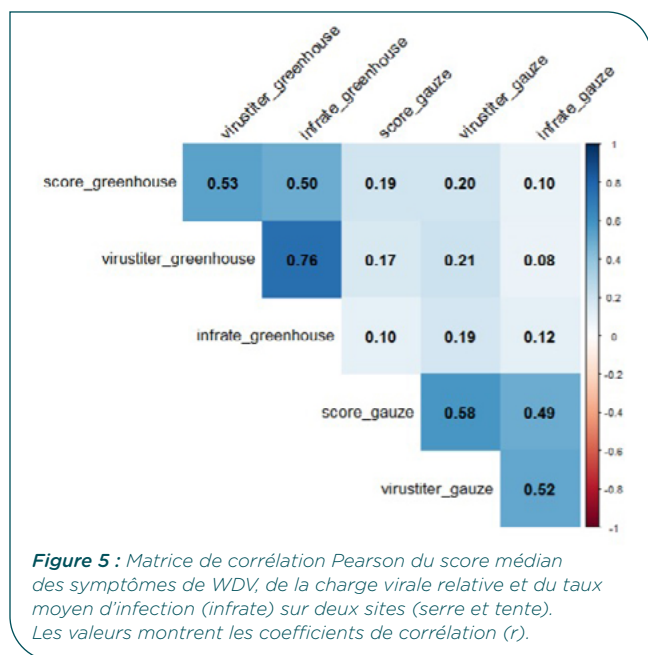
### Évaluation en Conditions Contrôlées et Validation sous Abris (Gauze Tent)

Les expérimentations en serre ont révélé une large gamme de réponses au WDV parmi les accèsions testées, avec des taux d'infection variant de 0 à 69%, des scores de sévérité des symptômes de 1 à 9, et des titres viraux (ELISA) entre 0,013 et 0,980 (Figure 4).



Cette variabilité a permis une première classification des accessions en groupes de sensibilité différente.

Les essais sous abris ont confirmé les tendances observées en serre, montrant une forte corrélation positive ( $r = 0,50-0,76$ ) entre le score d'infection, la charge virale relative et le taux d'infection (Figure 5).



Les différences entre répétitions ont été attribuées à la variabilité de l'efficacité de transmission du WDV, potentiellement influencée par des co-infections avec des phytoplasmes chez les cicadelles vectrices.

Trois nouvelles accessions hautement résistantes ont été identifiées : DBW020, DBW118 et DBW154, démontrant une résistance stable à travers les répétitions. L'étude a également mis en évidence 11 génotypes présentant une infection au WDV mais avec des symptômes modérés (score < 4), ainsi que 24 génotypes supplémentaires montrant un taux d'infection > 5% tout en maintenant des symptômes relativement modérés.

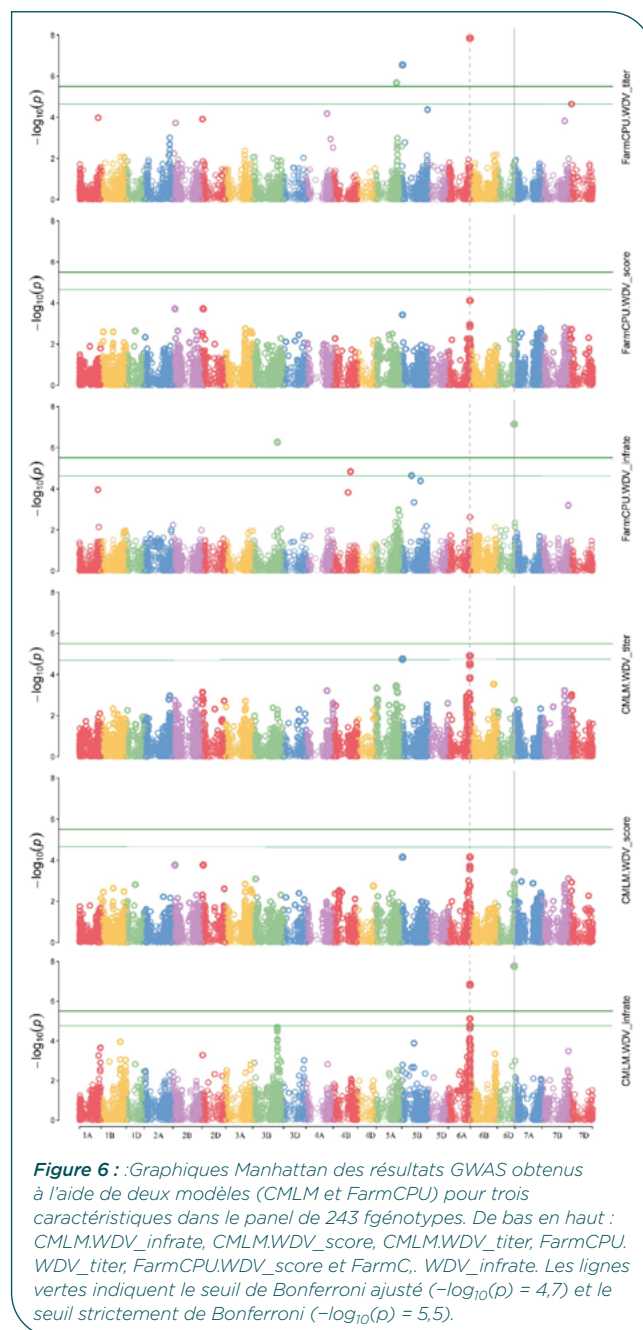
### Analyse Génétique et QTLs

L'étude d'association pangénomique a identifié 16 associations marqueur-trait significatives pour WDV\_titer et WDV\_infrate, réparties sur les chromosomes 1B, 3B, 4B, 4D, 5A, 5B, 6A et 6D. Le QTL majeur sur le chromosome 6A a été confirmé, et de nouveaux QTLs ont été découverts sur les chromosomes 4D et 6D. Les marqueurs RAC875\_c16281\_167 et AX-94649878 se sont révélés particulièrement significatifs.

L'annotation des QTL identifiés par les analyses GWAS a mis en évidence la présence de différents gènes de résistance :

- Des gènes NBS-LRR sur les chromosomes 1B, 4D, 5B et 6A
- Des kinases sérine/thréonine et récepteurs WAKs sur les chromosomes 6A et 6D
- Un gène défensin sur le chromosome 4D
- Un gène GDSL-lipase sur le chromosome 5A impliqué dans la résistance aux insectes suceurs

Ces découvertes constituent une base pour le développement de variétés résistantes au WDV.



Afin d'identifier les cibles de résistance (WDV ou son vecteur *P. alienus*), des tests de choix et de comportements sont réalisés sur les accessions résistantes identifiées.

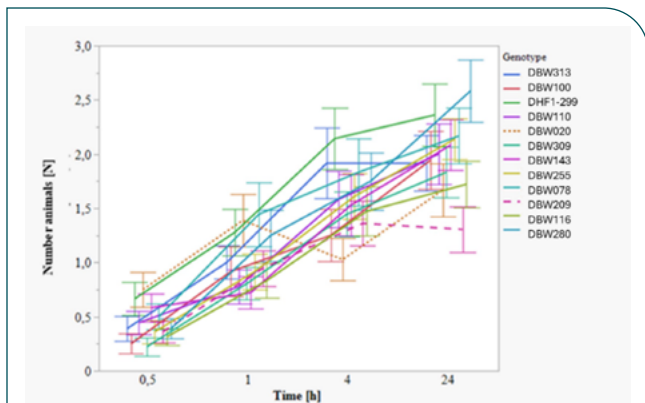
### Comportement de *P. alienus* et Mécanismes de Résistance

Les tests de choix ont révélé une période d'observation optimale entre 4 et 8 heures, avec un effet significatif du génotype sur la colonisation par les insectes à 4 et 24 heures (Figure 7).

La dynamique de colonisation montre une augmentation progressive du nombre d'insectes, passant de 0,44 à 1,98 sur 24 heures. Les génotypes DBW020 et DBW143 se distinguent par une colonisation plus précoce et un nombre d'insectes significativement inférieur aux standards sensibles.

L'analyse EPG a révélé des différences significatives entre génotypes. Le génotype sensible au WDV DBW280 présente la durée la plus courte pour s\_NP (70,2 min) et

la durée la plus longue pour s<sub>Pr</sub> (410 min). Les cicadelles sur DBW020 montrent une augmentation significative du temps nécessaire pour atteindre les éléments de sève ( $t > 1E$ ), conduisant à un faible nombre de contacts SE et au total une courte durée cumulée d'ingestion, indiquée par le paramètre EPG s<sub>E2</sub> (11,7 min), suggérant une localisation des réponses de résistance dans le mésophylle empêchant l'accès au phloème.

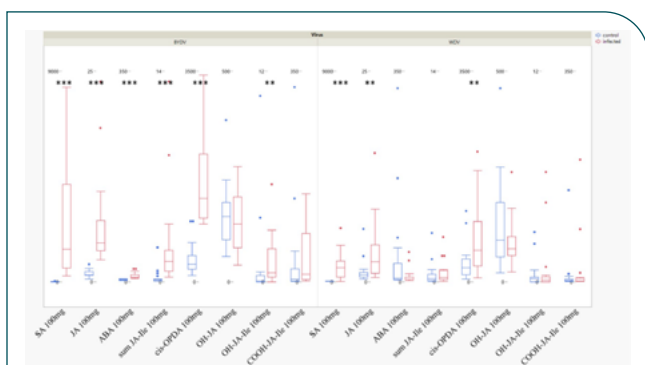


**Figure 7 :** Le nombre d'animaux est résumé pour les essais et les répétitions pour les points temporels et géotypes respectifs. L'erreur standard est donnée.

Lors de l'étude de l'effet du BYDV et du WDV, bien que les deux virus présentent des symptômes visuels comparables, des expériences de choix binaire ont montré une préférence significative des pucerons pour les plantes infectées par le BYDV par rapport aux plantes saines. Lorsque des plantes infectées par le WDV et des plantes saines ont été proposées, les pucerons ont préféré les plantes saines après une période de 4 heures, cette préférence persistant jusqu'à 24 heures. Les données suggèrent des modifications localisées dans le phloème au niveau des éléments de sève.

### Réponses Hormonales aux Infections virales

L'infection par BYDV augmente significativement les concentrations de SA, JA, et ABA (Figure 8).



**Figure 8 :** Concentrations de phytohormones après une infection par BYDV (à gauche) et WDV (à droite) dans le cultivar de *H. vulgare* Rubina. Les niveaux d'acide salicylique (SA), d'acide jasmonique (JA) et d'autres AJ, ainsi que d'acide absique (ABA) sont augmentés chez les plantes infectées par BYDV, tandis que les niveaux d'acide salicylique (SA), d'AC et uniquement de cis-OPDA ont été augmentés à la suite de l'infection par WDV. Une adaptation dynamique de l'axe y a été utilisée pour permettre d'afficher les différentes phytohormones et composés dans un seul graphique. Les différences significatives entre les plantes témoins (sham) et infectées sont indiquées par des astérisques.

L'infection WDV induit des augmentations similaires mais moins prononcées de SA, JA et cis-OPDA, sans effet notable sur l'ABA. Ces différences pourraient expliquer les variations dans les réponses comportementales des pucerons.

## DISCUSSION

Cette étude pluriannuelle (2021-2024) a permis des avancées significatives dans la compréhension des mécanismes de résistance au WDV. L'identification de trois accessions hautement résistantes (DBW020, DBW118 et DBW154) et la caractérisation de leurs profils de résistance constituent une avancée majeure. La variation phénotypique observée, allant de l'immunité complète à la sensibilité extrême, suggère l'existence de mécanismes de résistance multiples et complémentaires.

Les analyses EPG ont révélé que la résistance au WDV implique non seulement des mécanismes antiviraux directs mais aussi des barrières physiques à l'alimentation des vecteurs. Le cas particulier de DBW020, où les cicadelles montrent une difficulté significative à atteindre le phloème, illustre l'importance des mécanismes de résistance précoce au niveau du mésophylle. Cette découverte ouvre de nouvelles perspectives pour le développement de variétés combinant résistance au virus et au vecteur.

Les profils hormonaux contrastés entre les infections WDV et BYDV suggèrent des voies de signalisation distinctes. L'absence d'augmentation d'ABA dans l'infection par le WDV, contrairement au BYDV, pourrait expliquer les différences de comportement des vecteurs et l'efficacité variable des défenses végétales. Cette observation souligne l'importance de considérer les interactions moléculaires complexes dans le développement de stratégies de résistance.

L'identification de QTLs majeurs et mineurs, notamment sur le chromosome 6A, fournit des outils concrets pour la sélection assistée par marqueurs. La validation de ces QTLs à travers différents fonds génétiques et environnements renforce leur pertinence pour les programmes de sélection.

L'analyse des populations biparentales obtenues par les croisements entre accessions résistantes identifiées et accessions sensibles, aurait pu permettre de valider les régions génomiques identifiées par GWAS. L'haplotype favorable du chromosome 6A est présent chez les parents résistants DBW020 et DBW110 mais absent chez les parents sensibles DBW280 et DBW313, créant ainsi les conditions théoriques idéales pour valider ce QTL par analyse de ségrégation dans la descendance. La population issue du croisement avec DBW255, parent ne portant pas cet haplotype, offre quant à elle l'opportunité d'identifier des régions génomiques alternatives contribuant à la résistance. Cependant, l'analyse de ces populations n'a pas pu être menée à son terme en raison de contraintes opérationnelles.

Ce projet a également mis en évidence les défis considérables associés au phénotypage de la résistance au WDV, tant en conditions naturelles qu'en conditions contrôlées. La faible prévalence et l'irrégularité spatiotemporelle des populations de

cicadelles virulifères au champ, combinées à la co-infection fréquente avec le BYDV, limitent l'efficacité du phénotypage en conditions naturelles. En conditions contrôlées, la contamination de l'élevage de cicadelles par le phytoplasme, introduit dans les populations d'insectes capturés au champ, a constitué un obstacle majeur, soulignant la nécessité de développer des protocoles d'élevage plus robustes.

Cette étude constitue malgré tout une avancée significative dans la compréhension des mécanismes de résistance au WDV, apportant des solutions concrètes pour les programmes de sélection variétale. L'identification et la caractérisation de QTLs majeurs fournissent des outils moléculaires exploitables pour l'amélioration de la résistance variétale.

L'approfondissement de la caractérisation fonctionnelle des gènes candidats, notamment via des approches d'édition génomique CRISPR-Cas9, permettrait de valider leur rôle dans la résistance et potentiellement d'identifier de nouvelles cibles pour l'amélioration variétale. L'étude des mécanismes moléculaires

sous-jacents à la résistance pourrait également révéler des voies métaboliques exploitables pour le développement de solutions innovantes de protection des cultures.

À long terme, l'étendue de la protection conférée par la résistance vectorielle identifiée contre l'infection par les phytoplasmes, également transmis par *P. alienus*, fera l'objet d'investigations approfondies. Les phytoplasmes, en particulier, semblent constituer une menace croissante pour les cultures, comme en témoignent en Allemagne la betterave sucrière, la pomme de terre et d'autres espèces cultivées. En outre, une différenciation génétique et une délimitation des résistances au WDV et à *P. alienus* seront réalisées, afin qu'elles puissent être exploitées individuellement ou en combinaison dans de nouvelles variétés à l'avenir. Il est impératif d'étudier les effets potentiels du changement climatique sur l'efficacité et la durabilité des résistances identifiées. Le développement de modèles de prédiction intégrant des données génomiques et environnementales permettrait d'anticiper l'évolution de la pression parasitaire et d'adapter en conséquence les stratégies de sélection.

## Références bibliographiques

**MoleculaBackus, E. A., Cervantes, F. A., & Godfrey, L.** (2019). EPG waveform library for *Graphocephala atropunctata* (Hemiptera: Cicadellidae): Effect of prior diet on feeding behavior and protein digestion. *Annals of the Entomological Society of America*, 112(5), 491-507.

**Bari, R., & Jones, J. D.** (2009). Role of plant hormones in plant defence responses. *Plant molecular biology*, 69(4), 473-488.

**Bass, C., Denholm, I., Williamson, M. S., & Nauen, R.** (2015). The global status of insect resistance to neonicotinoid insecticides. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 121, 78-87.

**Benkovics, A. H., Vida, G., Nelson, D., Veisz, O., Bedford, I., Silhavy, D., & Boulton, M. I.** (2010). Partial resistance to Wheat dwarf virus in winter wheat cultivars. *Plant Pathology*, 59(6), 1144-1151.

**Bernardo, R.** (2008). Molecular markers and selection for complex traits in plants: Learning from the last 20 years. *Crop Science*, 48(5), 1649-1664.

**Dodds, P. N., & Rathjen, J. P.** (2010). Plant immunity: towards an integrated view of plant-pathogen interactions. *Nature Reviews Genetics*, 11(8), 539-548.

**Jones, J. D., & Dangl, J. L.** (2006). The plant immune system. *Nature*, 444(7117), 323-329.

**Kundu, J. K., & Gadiou, S.** (2020). Epidemiology of wheat dwarf virus in Central Europe. *Plant Disease*, 104(4), 642-652.

**Kundu, J. K., Gadiou, S., & Cervena, G.** (2009). Discrimination and genetic diversity of Wheat dwarf virus in the Czech Republic. *Virus Genes*, 38(3), 468-474.

**Kvarnheden, A., Lindblad, M., & Lindsten, K.** (2016). Genetic diversity of wheat dwarf virus. *Archives of Virology*, 161(5), 1229-1233.

**Li, X., Zhang, Y., & Wang, D.** (2021). Identification of QTLs for virus resistance in wheat using genome-wide association studies. *Theoretical and Applied Genetics*, 134(5), 1677-1693.

**Lindblad, M., & Waern, P.** (2002). Correlation of wheat dwarf incidence to winter wheat cultivation practices. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 92(2-3), 115-122.

**Liu, X., Huang, M., Fan, B., Buckler, E. S., & Zhang, Z.** (2016). Iterative usage of fixed and random effect models for powerful and efficient genome-wide association studies. *PLoS genetics*, 12(2), e1005767.

**Manurung, B., Witsack, W., Mehner, S., Grüntzig, M., & Fuchs, E.** (2005). Studies on biology and population dynamics of the leafhopper *Psammotettix alienus* Dahlb. (Homoptera: Auchenorrhyncha) as vector of wheat dwarf virus (WDV) in Saxony-Anhalt, Germany. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 112(5), 497-507.

**Mundt, C. C.** (2014). Durable resistance: A key to sustainable management of pathogens and pests. *Infection, Genetics and Evolution*, 27, 446-455.

**Nygren, J., Shad, N., Kvarnheden, A., & Westerbergh, A.** (2015). Variation in susceptibility to wheat dwarf virus among wild and domesticated wheat. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 62(8), 1061-1067.

**Pieterse, C. M., Van der Does, D., Zamioudis, C., Leon-Reyes, A., & Van Wees, S. C.** (2012). Hormonal modulation of plant immunity. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 28, 489-521.

**Rotenberg, D., Jacobson, A. L., Schneweis, D. J., & Whitfield, A. E.** (2016). Thrips transmission of tospoviruses. *Current Opinion in Virology*, 15, 80-89.

**Schubert, J., Habekuß, A., Kazmaier, K., & Jeske, H.** (2014). Surveying cereal-infecting geminiviruses in Germany—Diagnostics and direct sequencing using rolling circle amplification. *Virus Research*, 189, 176-186.

**Thresh, J. M., & Cooper, J. I. (2005).** Virus diseases of plants and their control. Encyclopedia of Life Support Systems, 2, 489-521.

**Tjallingii, W. F. (1978).** Electronic recording of penetration behaviour by aphids. Entomologia Experimentalis et Applicata, 24(3), 721-730.

**Vacke, J., & Cibulka, R. (2000).** Response of selected winter wheat varieties to wheat dwarf virus infection at an early growth stage. Czech Journal of Genetics and Plant Breeding, 36(1), 1-4.

**Walker, G. P. (2000).** A beginner's guide to electronic monitoring of homopteran probing behavior. In Principles and applications of electronic monitoring and other techniques in the study of homopteran feeding behavior (pp. 14-40). Thomas Say Publications in Entomology.

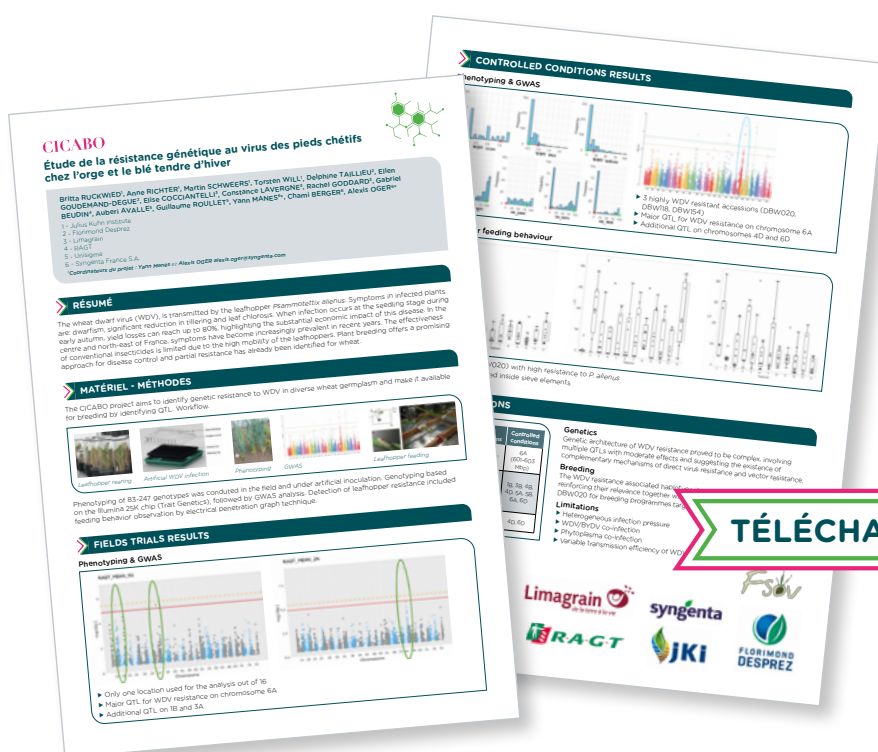
**Wang, X., Liu, Y., Chen, L., Zhao, D., Wang, X., & Zhang, Z. (2019).** Wheat resistome in response to wheat dwarf virus infection. Molecular Plant-Microbe Interactions, 32(11), 1599-1613.

**Xu, Y., & Crouch, J. H. (2008).** Marker-assisted selection in plant breeding: from publications to practice. Crop Science, 48(2), 391-407.

**Yu, J., Pressoir, G., Briggs, W. H., Vroh Bi, I., Yamasaki, M., Doebley, J. F., & Buckler, E. S. (2006).** A unified mixed-model method for association mapping that accounts for multiple levels of relatedness. Nature Genetics, 38(2), 203-208.

**Zhang, L., Zhang, F., Zhang, S., & Wu, Y. (2021).** Global analysis of insecticide resistance-associated genes in field populations of the wheat aphid Sitobion avenae. Pest Management Science, 77(2), 1026-1037.

## ANNEXES



# REGARD : RechErche d'analOGues climAtiques pour sélectionneR Demain

Jean-Charles DESWARTE<sup>1</sup>, Olivier DEUDON<sup>2</sup>, Marie LAUNAY<sup>3</sup>, Renan LE ROUX<sup>3</sup>, Marie-Odile BANCAL<sup>4</sup>, Meije GAWINOWSKI<sup>4</sup>, Nathalie DE NOBLET<sup>5</sup>, Burak BULUT<sup>5</sup>, Karine CHENU<sup>6</sup>, Alan SEVERINI<sup>6</sup>, Gaetan TOUZY<sup>7</sup>, Henri BLANDINIÈRE<sup>7</sup>

1 - ARVALIS - Station de Villiers-le-Bâcle - ZA des Gravieres, Route de Châteaufort, 91190 Villiers-le-Bâcle

2 - ARVALIS - Station de Recherche et d'Expérimentation de Boigneville, 91720 Boigneville

3 - INRAE Unité Agroclim - 228 route de l'Aérodrome, 84914 Avignon

4 - INRAE UMR EcoSys - 22 place de l'Agronomie, 91120 Palaiseau

5 - LSCE Institut Pierre-Simon Laplace - Orme des Merisiers, Bat. 714, 91190 Saint-Aubin

6 - QAAFI University of Queensland - Leslie Research Facility, 13 Holberton Street, Toowoomba, QLD 4350, AUSTRALIA

7 - RAGT 2n - 1 route de Moyrazes, 12510 Druelle Balsac

\*Coordinateur du projet : Jean-Charles DESWARTE, jc.deswarte@arvalis.fr

## INTRODUCTION

Il est désormais globalement reconnu que le climat de la planète évolue rapidement depuis près d'un siècle à cause d'un effet de serre accru causé par les activités humaines et qu'il continuera d'évoluer tant que le contenu en gaz à effet de serre de l'atmosphère ne sera pas stabilisé (IPCC, 2019).

Sur le passé récent, de nombreuses études se sont intéressées à cette évolution climatique, et à son impact sur la production agricole (Supit *et al.*, 2010; Lobell *et al.*, 2011; Moore and Lobell, 2015; Mbow *et al.*, 2019). Si la contribution exacte du réchauffement climatique à la stagnation de rendements agricoles dans de nombreuses régions du globe est mal cernée (Lin and Huybers, 2012), le lien de causalité est fréquemment admis, et démontré notamment à l'aide de modèles, qui permettent de séparer les effets du climat de ceux des pratiques agricoles (Olesen and Bindu, 2002; Brisson *et al.*, 2010; Oury *et al.*, 2012). L'amélioration variétale permet notamment de contrecarrer en partie les effets délétères du changement climatique sur les rendements des cultures (Oury *et al.*, 2012).

Pour que le progrès génétique puisse proposer des solutions pertinentes vis-à-vis du changement climatique, il est nécessaire de donner de la visibilité à ses acteurs sur les conditions climatiques pour lesquelles ils doivent sélectionner. Certains travaux académiques réalisent des projections climatiques et suggèrent des pistes d'adaptation ou des profils d'idéotypes (Parent *et al.*, 2018; Hammer *et al.*, 2020). Différentes méthodes existent pour permettre de mieux décrire les conditions de cultures futures, et afin guider les axes de sélection. **Le projet REGARD visait donc à aborder 3 méthodes distinctes, contribuer à leur amélioration, et évaluer leur potentielle utilisation par les entreprises de sélection.**

### ► Les analogues climatiques : se transporter dans le climat de demain

La méthode des analogues climatiques consiste à rechercher un climat qui existe *aujourd'hui dans un lieu donné* pour illustrer le climat qu'il fera *ultérieurement à un autre endroit*. Dans le cas des cultures, un analogue climatique est l'équivalent d'une niche climatique d'une zone de production et vise à regrouper les sites non

plus selon leur géographie mais selon la similarité des conditions climatiques que connaît la culture considérée (Agarwal and Sinha, 2019). Utilisés dès les années 90, les modèles écologiques de niche ont permis de prédire ou analyser les déplacements de cultures ou de leurs contraintes à large échelle. Si cette approche globale fournit des enveloppes climatiques potentielles pour les cultures dans le futur, leur transférabilité reste interrogée pour comprendre les évolutions locales en particulier quand on s'éloigne des environnements de leur calibration (Bos *et al.*, 2015; Qiao *et al.*, 2019). La recherche d'analogues climatiques à des échelles spatio-temporelles plus fines que l'année et le monde, à savoir tout ou partie du cycle de culture et la zone géographique voire le pays ou les régions semble ouvrir des pistes d'intérêt pour mieux cerner les déplacements de cultures et leurs facteurs limitants (Wu *et al.*, 2019) sous réserve d'avoir accès aux données nécessaires. Ainsi l'usage de modèles phénologiques, pour cibler les périodes sensibles aux stress climatiques majeurs (Caubel *et al.*, 2018), pour intégrer puis regrouper les analogues éco-climatiques et leurs impacts permettrait d'élaborer des adaptations dans le futur proche.

### ► Les variables écoclimatiques : cerner les stress climatiques probables

Pour mieux appréhender les effets du climat futur sur le déroulement du cycle cultural d'une espèce, des indicateurs écoclimatiques ont été développés (Caubel *et al.*, 2015) ; à la différence d'indicateurs climatiques voire agroclimatiques, ces indicateurs écoclimatiques sont calculés sur une phase phénologique, ce qui permet d'intégrer l'évolution naturelle de la phénologie causée par la hausse des températures. Ils permettent de caractériser les effets du climat sur les conditions de cultures et les processus écophysologiques d'une espèce donnée, selon les stades phénologiques sensibles à cet effet. De précédents travaux ont déjà permis de décrire de façon plus circonscrite les impacts de l'évolution climatique sur les cultures (Brisson *et al.*, 2010; Gouache *et al.*, 2012; Caubel *et al.*, 2018). Les indicateurs écoclimatiques présentent l'intérêt double de pouvoir être calculés sans émettre de nombreuses hypothèses a priori (comme c'est le cas pour les modèles de culture qui requièrent des paramètres détaillés de sol et d'itinéraire technique), et de pouvoir quantifier la fréquence d'aléas climatiques peu fréquents et dont l'impact sur la production est mal cerné.

## ► Les modèles de culture : simuler la culture dans sa globalité

Les modèles « sol-culture » sont des modèles basés sur les processus qui simulent la croissance des cultures, la dynamique de l'eau et de l'azote dans le sol en réponse à la variabilité environnementale et aux pratiques agricoles. Ces modèles sont utilisés à des fins diverses, telles que la prévision des rendements (Chenu *et al.*, 2017), le soutien à la sélection des cultures (Chenu *et al.*, 2017; Cooper *et al.*, 2021) et l'évaluation/prédiction des impacts du changement climatique (Lobell and Asseng, 2017). L'incertitude dans les simulations des modèles de cultures est principalement due à la structure du modèle (c'est-à-dire les formalismes choisis pour les différents processus) et aux valeurs des paramètres (Wallach and Thorburn, 2017; Chapagain *et al.*, 2022).

L'élévation de la teneur atmosphérique en CO<sub>2</sub> (e[CO<sub>2</sub>]<sub>atm</sub>) est une source majeure de modification de la photosynthèse et donc du potentiel de croissance des cultures (Ainsworth and Long, 2005, 2021; Long *et al.*, 2006). Cependant, l'exploration expérimentale des impacts de l'e[CO<sub>2</sub>]<sub>atm</sub> reste délicate car elle requiert l'usage de dispositifs spécifiques qui limitent la production de données d'observation abondantes et la possibilité d'explorer l'interaction entre ce facteur et d'autres variables climatiques ou culturales. Aussi, la réponse à l'e[CO<sub>2</sub>]<sub>atm</sub> reste encore mal cernée (Toreti *et al.*, 2020), ce qui se traduit par des divergences de réponse entre modèles de culture (Durand *et al.*, 2018)

Le projet FSOV REGARD a ainsi exploré différentes méthodes permettant de mieux appréhender l'évolution des risques climatiques et les conséquences physiologiques pour la culture du blé tendre, telle qu'une entreprise de sélection peut avoir besoin de se les approprier pour anticiper le travail d'amélioration variétale (les publications issues de ce projet sont indiquées entre parenthèses) :

- L'approche des analogues climatiques a été initiée pour repérer des avant-postes potentiels de sélection en Europe en cartographiant les translations de niches climatiques (Bulut *et al.*, 2025).
- Les indicateurs climatiques ont été utilisés à l'échelle française pour quantifier l'intensification et la simultanéité de stress hydriques et thermiques (Le Roux *et al.*, 2024).
- Les modèles de culture STICS et APSIM ont été étudiés et mis en œuvre sur des jeux de données multistress impliquant les teneurs en [CO<sub>2</sub>] atmosphérique majorées (Gawinowski *et al.*, 2025a, 2025c, 2025b; Severini *et al.*, 2025, in prep.).
- La mise en œuvre partielle sur un réseau expérimental de sélection (simulation de stades, envirotypage à l'aide d'indicateurs phénoclimatiques, projection dans le futur à l'aide de données DRIAS) a été testée.

## ► MATÉRIEL ET MÉTHODE

### ► Calculs d'analogues climatiques

L'identification d'analogues climatiques requiert d'évaluer la similarité entre les conditions climatiques d'une localisation donnée à un moment spécifié avec

celles d'une autre localisation à une autre période. Pour réaliser cela, des projections climatiques ont été mobilisées, issues du projet ISIMIP d'intercomparaison de modèles climatiques : 5 modèles climatiques (CMIP6) ont été recoupés avec 3 scénarios d'émissions (SSP1-2.6, SSP3-7.0, SSP5-8.5), générant 15 jeux de données différents représentant l'ensemble des terres émergées hors Antarctique, à l'échelle d'un point de grille de 0.5° (env. 50\*50km au niveau de la France). Les projections sont élaborées pour 4 périodes de 30 ans consécutives (1981-2010 : référence historique ; 2011-2040 : futur proche ; 2041-2070 : futur intermédiaire ; 2071-2100 : futur lointain). 4 variables climatiques (T<sub>min</sub>, T<sub>max</sub>, T<sub>moy</sub>, P) sont calculées pour chaque saison (T<sub>min</sub> et T<sub>max</sub> : extrêmes saisonniers ; T<sub>moy</sub> et P : moyennes journalières saisonnières), générant aussi un ensemble de 1920 (4 variables \* 4 saisons \* 30 ans \* 4 périodes) données décrivant le climat et son évolution par site et par jeu de modélisation climatique.

Les calculs de similarité ou « distance » ont été réalisés selon 3 méthodes distinctes : distance euclidienne (DE), distance de Mahalanobis (DM) et distance de Wasserstein (DW). Ces trois méthodes se distinguent sur l'utilisation de valeurs moyennes (DE, DM) ou de l'ensemble des valeurs (DW) ; de plus, DW intègre la corrélation entre variables.

Un premier niveau d'analyse a été d'explorer les analogues climatiques de Paris (passé récent) dans le futur. Un second niveau d'analyse a été d'identifier pour l'Europe quelles étaient les translations (directions, distances) entre situations de références et analogues climatiques futurs.

### ► Indicateurs phénoclimatiques

Les données climatiques utilisées proviennent du portail DRIAS (<https://www.drias-climat.fr/>) ; 3 modèles de circulation globale et régionalisation ont été utilisés : CNRM-Aladin63, CNRM-Racmo, and EC-Earth Racmo (ils sont les seuls à inclure les données de rayonnement nécessaires au calcul de certains indicateurs). 3 périodes temporelles ont été sélectionnées : le passé proche (référence : 1991-2020), les futurs proche (2041-2070) et lointain (2071-2100) ; les scénarii d'émission RCP 4.5 et 8.5 ont été retenus. L'échelle géographique retenue est le territoire métropolitain, y compris les zones non-productrices de blé ; la résolution est la maille SAFRAN de 8km de coté.

Les stades phénologiques sont calculés à l'aide d'un modèle basé sur du temps thermique modifié (intégration de facteurs de vernalisation et de durée du jour) ; il s'agit du stade Levée (Z10), Epi 1cm (Z30), Dernière feuille étalée (Z39), floraison (Z65) et maturité du grain (Z89). Un idéotype de variété précoce (type Talent) est simulé, avec une date homogène de semis (15 octobre). L'évaluation du modèle est réalisée sur la base des données observées Epiphyt.

Un ensemble de 22 indicateurs phénoclimatiques sont calculés au total : ils concernent les manques et excès d'eau, les températures trop froides ou trop élevées (seuil ajusté par phénophase), les effets de faibles rayonnements ponctuels, les conditions de vernalisation. Les manques et excès d'eau sont estimés à partir de paramètres climatiques uniquement (P-ETP cumulés au cours de la phénophase). Pour chaque

indicateur, une fonction d'impact normalisé est estimée ; celle-ci permet de convertir une occurrence d'accident en un facteur de stress (1 : non stressé ; 0 : stress maximal). Lorsque le facteur de stress chute en dessous de 0.7 pour une phase donnée au cours d'une année, l'année est classée à risque pour l'indicateur considéré ; la fréquence d'apparition d'un risque donné peut donc être estimée. Les indicateurs sont par ailleurs regroupés par catégorie de risque : froid, chaud, excès et manque d'eau ; pour chacune d'entre elles, la fréquence d'apparition (seuil < 0.7) est calculée.

Sur la base des valeurs d'indicateurs phénoclimatiques calculées pour la période de référence (1991-2020), une clusterisation est réalisée. L'évolution des risques climatiques pour chacun de ces clusters est ensuite étudiée pour le futur proche et le futur lointain, par rapport à la référence historique.

### ► Consolidation et évaluation des modèles STICS et APSIM dans un contexte de changement climatique

La mise en œuvre de modèles de cultures dans un contexte de changement climatique requiert un ensemble de paramétrages et de validations préalables, étapes qui ont été menées de manière parallèle : synthèse bibliographique des effets observés de  $e[CO_2]_{atm}$  en interaction avec des stress hydriques et thermiques, exploration des formalismes des modèles vis-à-vis de l'élévation de la teneur en  $CO_2$ , et comparaison avec des jeux de données FACE (Free-Air  $CO_2$  enrichment).

### Analyse bibliographique des interactions entre $e[CO_2]_{atm}$ , élévation de température et stress hydrique : synthèse expérimentale

66 publications scientifiques portant des expérimentations sur le blé et impliquant une modulation de  $[CO_2]_{atm}$  et hautes températures et/ou stress hydrique ont été analysées ; elles regroupaient des expérimentations en pots ou en pleine terre, en chambres de culture, en chambres ouvertes (OTC) ou en dispositifs d'enrichissement en plein champ (FACE). Les variables étudiées ont été regroupées en 2 catégories :

- Les variables associées à la productivité des plantes (rendement, biomasse, photosynthèse par unité de surface)
- Les variables associées à l'eau (conductance stomatique, transpiration, efficacité d'utilisation de l'eau)

La réponse des variables d'intérêt a été analysée graphiquement en représentant leur réponse en fonction des variations d'environnement ( $e[CO_2]_{atm}$ , intensité de déficit hydrique, accroissement de température).

### Intercomparaison des effets de $[CO_2]_{atm}$ dans différents modèles de culture

En collaboration avec une initiative AgMip, une enquête auprès des modélisateurs a permis de recenser les formalismes de prise en compte des effets du  $CO_2$  dans 21 modèles de culture. L'analyse a donc porté sur l'identification des processus modélisés impactés par la modification de  $[CO_2]_{atm}$  (photosynthèse et conductance dans le cas de formalismes inspirés de Farquhar (Farquhar *et al.*, 1980), ou directement sur la

RUE et la transpiration pour les modèles inspirés de Monteith (Monteith, 1972)), et sur la gamme de validité supposée des modèles.

### Évaluation de modèles de cultures pour des scénarii futurs : aptitude des modèles STICS et APSIM à prévoir les rendements sous les effets combinés du $CO_2$ , des températures et du stress hydrique

Les modèles de culture STICS et APSIM ont été confrontés à des jeux de données expérimentaux en plein champ explorant la réponse du blé tendre à une élévation de  $[CO_2]_{atm}$  (dispositifs FACE) combinée à un stress hydrique et/ou un stress thermique chaud :

- Maricopa (USA), 92-93 et 93-94 (Kimball *et al.*, 1995)
- Braunschweig (All), 13-14 et 14-15 (Manderscheid *et al.*, 2020)
- Horsham (Aus.) (Fitzgerald *et al.*, 2016), 07, 08 et 09.

Les modèles ont été préalablement calibrés sur les traitements témoins, avant d'être utilisés pour simuler les conditions de  $e[CO_2]_{atm}$  et les stress thermiques et/ou hydriques sur des critères de phénologie, d'indice foliaire, de biomasse et de rendement.

### ► Application de modèles et d'indicateurs écoclimatiques à une entreprise de sélection : envirotypage d'un réseau d'essais

Cette tâche visait à permettre à une entreprise de sélection de s'approprier les concepts de modèles de culture, d'indicateurs écoclimatiques et de projections climatiques afin d'envirotyper un réseau d'essai actuel et d'évaluer sa pertinence au regard des perspectives climatiques futures. Pour cela, les données du réseau d'essais du programme de sélection Blé Tendre -zone France- de RAGT2n pour la période 2018 à 2024 ont été mobilisées (Figure 1). Les données Plantes observées (rendement, épiaison) complétées de données météorologiques journalières spatialisées (MeteoBlue) ont été collectées, constituant un jeu de données comprenant 716 sites et 1191 scénarii cultureux (un scénario consistant en une combinaison unique d'année, de site et de date de semis).

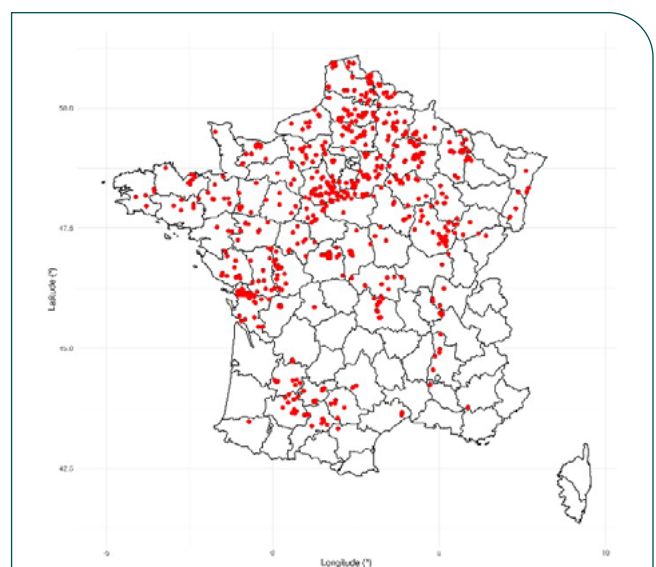


Figure 1 : Cartographie des sites d'essais du réseau RAGT2n retenus pour le travail d'envirotypage et de projection climatique.

## RÉSULTATS

### ► Analogues climatiques

Un modèle phénologique adapté de Weir (Weir *et al.*, 1984) a été mis en œuvre et optimisé sur la base des données observées (2018-2024) pour permettre les estimations des stades non observés et les simulations de phénologie dans le futur. Une liste de variables écoclimatiques représentatives d'aléas et de stress climatiques (Le Roux *et al.*, 2024) a été calculée pour l'ensemble de ces situations pour identifier les variables les mieux corrélées au rendement. Les projections climatiques DRIAS (période de référence : période 2018-2024 selon les scénarii RCP 4.5 et 8.5, et données futures : période 2031-2045, scénarii RCP 4.5 et 8.5) ont été mobilisées pour les 716 sites expérimentaux. Les variables écoclimatiques calculées sur le jeu de données réelles ont été calculées dans le futur, afin d'évaluer l'évolution des risques climatiques ; au préalable, une correction des biais a été réalisée en comparant les variables écoclimatiques sur le passé réel (données MétéoBlue, 2018-2024) et sur le passé simulé (données DRIAS, 2018-2024). Pour chacune des deux comparaisons et chaque covariable, une fonction de correction par cartographie des quantiles est ajustée à partir des paires de valeurs obtenues pour chaque environnement pour les données météorologiques historiques et simulées. Ces deux ensembles de modèles de cartographies des quantiles ont ensuite été utilisés pour corriger les ensembles de covariables calculées d'après les simulations réalisées en utilisant les jeux de données DRIAS RCP4.5 et DRIAS RCP8.5 de 2031 à 2045. Les cartographies de correction des quantiles ont été obtenues en utilisant le package R qmap (v. 1.0.6.), en utilisant la fonction fitQmap (méthode PTF).

Par rapport à la situation initiale (climat de Paris pendant la période de référence 1981-2010), la quasi-totalité des analogues climatiques aux échéances de 2011-2040 et 2041-2070 se situent en Europe (Espagne, Italie, Grèce) voire en France (Figure 2). Il y a convergence des simulations pour tous les scénarii d'émission au cours du futur proche (2011-2040) et dans l'hypothèse à moyen terme (2041-2070) d'émissions très restreintes : le Sud-Ouest de la France (vallée de la Garonne) représente dès maintenant le climat moyen prévu à Paris par les différentes projections climatiques.

A l'inverse, avec l'hypothèse d'émissions plus élevées et à échéance du futur intermédiaire, les analogues climatiques représentatifs de Paris sont en péninsule ibérique, en Italie, voire en Grèce ou dans le Nord de l'Afrique ; cependant, si les modèles s'accordent globalement à les positionner dans ces régions au Sud-Ouest et Sud-Est de la France, il y a divergence sur les localités représentatives du climat de Paris demain.

L'exploration des analogues a été étendue à l'échelle européenne (Figure 3). Par rapport à la situation initiale (passé récent 1981-2010), il y a un éloignement croissant au cours du temps qui témoigne de la dérive climatique. Cet éloignement n'est cependant pas homogène à échéance de 2071-2100 : il s'avère plus élevé à l'intérieur des terres, en Europe Centrale et de l'Est ; proportionnellement la façade atlantique est moins bouleversée.

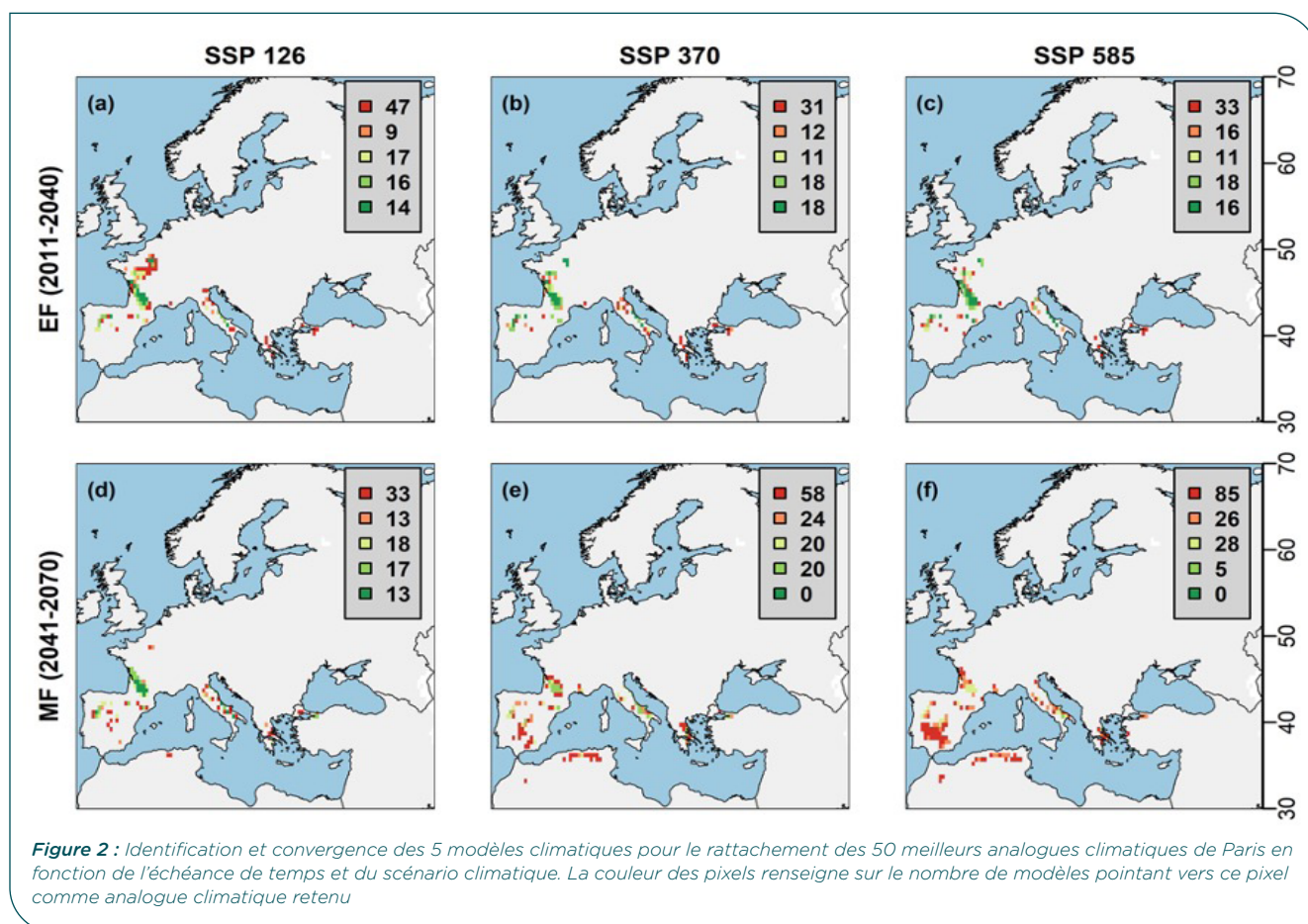
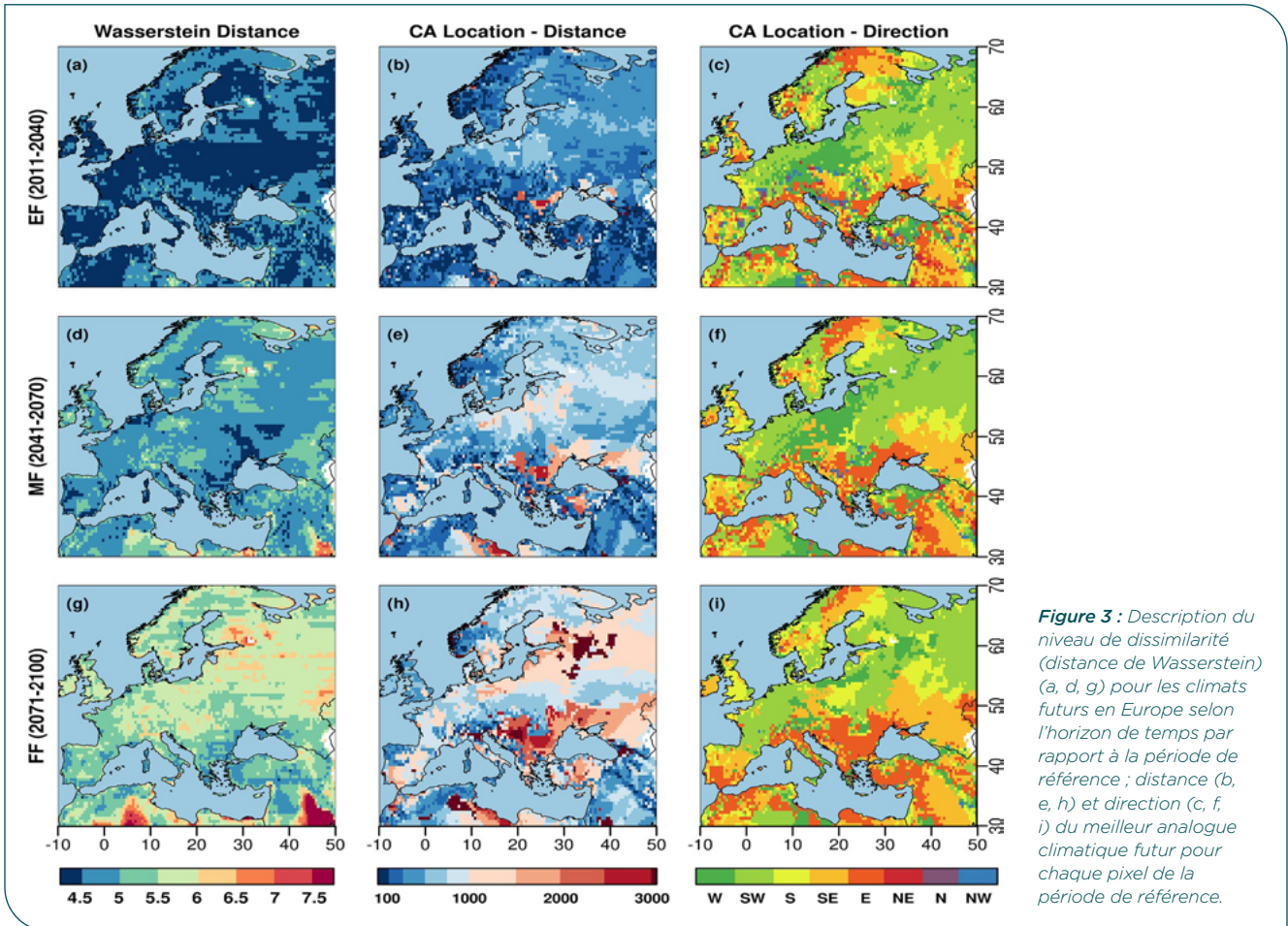


Figure 2 : Identification et convergence des 5 modèles climatiques pour le rattachement des 50 meilleurs analogues climatiques de Paris en fonction de l'échéance de temps et du scénario climatique. La couleur des pixels renseigne sur le nombre de modèles pointant vers ce pixel comme analogue climatique retenu



La dérive climatique ne se traduit pas systématiquement par une translation du sud vers le nord : les analogues climatiques d'une grande moitié Est de la France sont orientés vers le Sud-Ouest, alors qu'ils sont orientés vers l'Est pour le pourtour méditerranéen. Certaines zones de production d'Allemagne et de Pologne voient au contraire leurs analogues être orientés vers l'Ouest, se rapprochant ainsi des conditions climatiques du Bénélux.

### ► Évolution des risques à travers le calcul d'indicateurs écoclimatiques

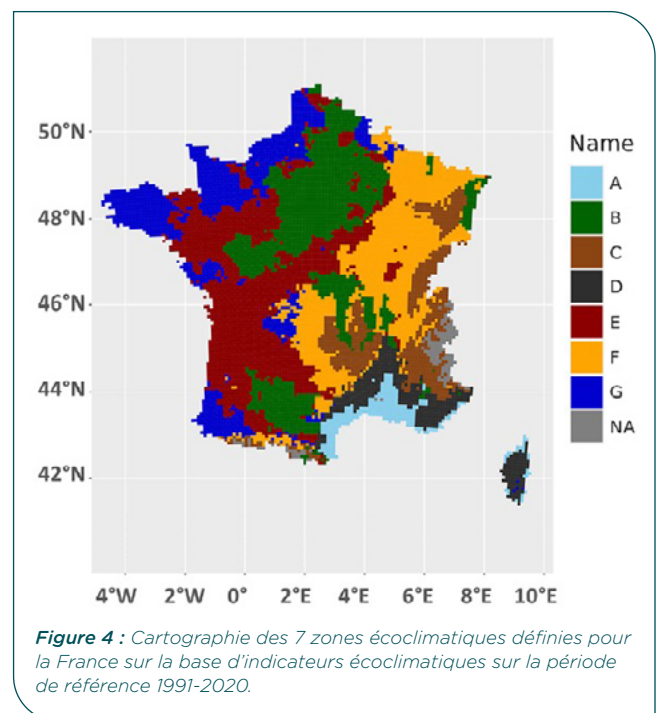
Les simulations du modèle phénologique ont été comparées aux observations de la base Epiphyt (2012-2021) : les RMSE pour les stades Z30, Z39 et Z65 sont respectivement de 13,1, 8,1 et 7,6 jours.

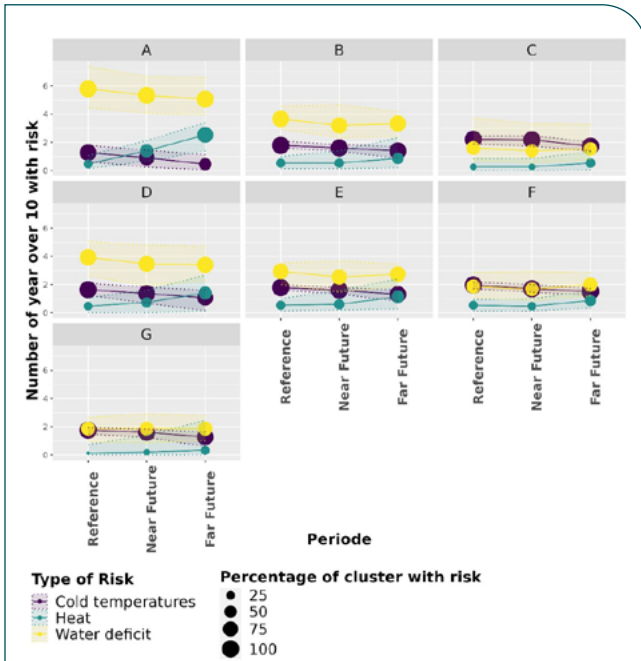
Sur la base du passé récent, 7 zones écoclimatiques ont été définies (Figure 4) ; elles se caractérisent par une combinaison de fréquences de stress spécifiques.

Projetées dans le futur, toutes présentent une précocification des stades ; on peut néanmoins noter que cette précocification est plus importante pour les zones historiquement tardives (façade Est notamment) alors qu'elle évolue peu pour le pourtour méditerranéen.

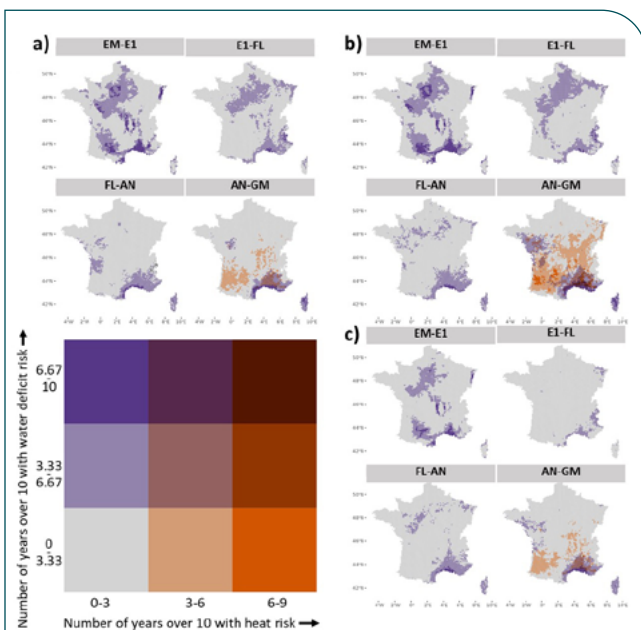
Selon le scénario RCP 4.5, les fréquences de risques évoluent de manière similaire entre zones, avec toutefois des niveaux d'origine très différents (Figure 5) : le risque de froid diminue, alors que le risque de stress thermique chaud augmente. Les

tendances pour le stress hydrique sont plutôt stables ou à la baisse entre le passé récent et le futur proche, pour légèrement augmenter sur le futur lointain. Ce résultat peut être la combinaison de phases phénologiques plus courtes, et d'une prise en compte trop simple du bilan hydrique.





**Figure 5 :** Évolution de la fréquence (sur 10 ans) de la fréquence de risques climatiques pour les 7 zones écoclimatiques identifiées, selon le scénario RCP4.5.



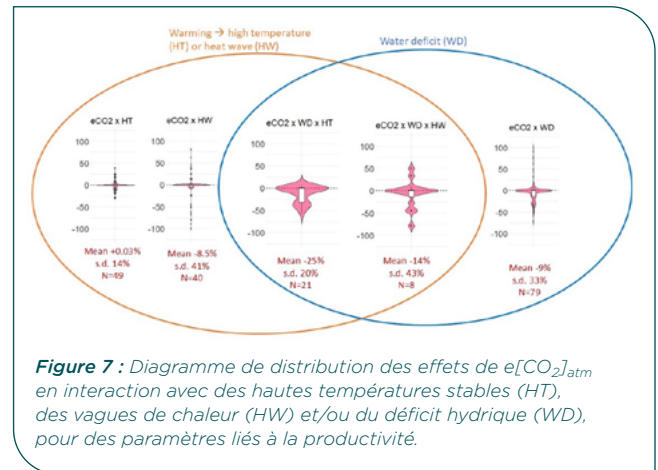
**Figure 6 :** Cartographie de la fréquence des risques hydriques et thermiques au cours du cycle pour un scénario d'émission RCP 4.5. a) : période de référence 1991-2020 ; b) : futur proche 2041-2070 ; c) : futur lointain 2071-2100. EM-E1 : phase Emergence-Epi 1cm ; E1-FL : Epi 1cm-Dernière feuille ; FL-AN : Dernière feuille-Anthèse ; AN-GM : Anthèse-Maturité

La cartographie des catégories de risques climatiques en fonction des phénophases (Figure 6) présente une relative stabilité des stress hydriques pendant les phases végétatives (semis à floraison). Par contre, le stress thermique se développe sur les deux tiers sud de la France en phase de remplissage à l'échéance du futur proche. Il tend cependant à se réduire dans le futur lointain, sans doute en lien avec la forte précocification des stades. Il est à noter que les résultats sont sensiblement différents avec un scénario RCP 8.5.

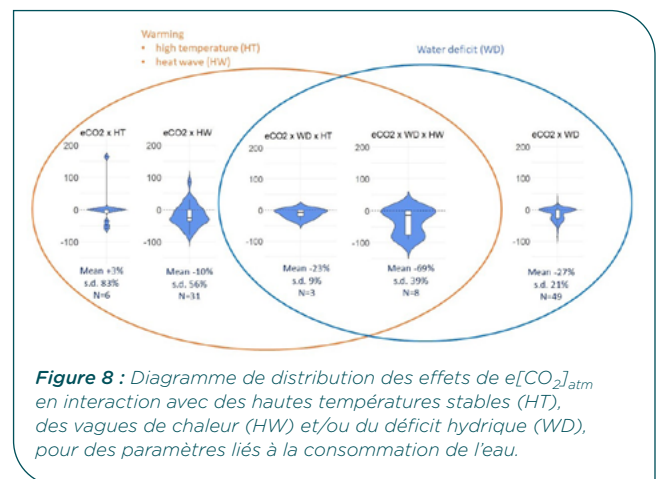
## ► Consolidation et évaluation des modèles STICS et APSIM dans un contexte de changement climatique

### Analyse bibliographique des interactions entre $e[CO_2]_{atm}$ , élévation de température et stress hydrique

Des expérimentations quantifiant les effets des interactions entre  $e[CO_2]_{atm}$  et hautes températures et/ou stress hydrique ont été analysées pour des traits liés à la productivité (Figure 7) et la consommation en eau (Figure 8). Les hautes températures correspondant à une augmentation moyenne des températures sur l'ensemble de la croissance ont été distinguées des vagues de chaleur correspondant à des événements extrêmes donc plus ponctuels et plus intenses. Des indices de plasticité relatifs ont été calculés pour rendre compte des compensations et interactions entre ces différents facteurs climatiques. Les résultats montrent une diminution de la productivité et de la consommation en eau des cultures de blé dans les conditions climatiques futures stressantes expérimentées, indiquant que l'effet fertilisant du  $CO_2$  sur la photosynthèse ne compense donc pas les effets adverses des hautes température, vagues de chaleurs et déficits hydriques (Figure 7). De même, l'effet négatif du  $CO_2$  et du déficit hydrique sur la transpiration est plus fort que l'effet antagoniste des hautes températures (Figure 8).



**Figure 7 :** Diagramme de distribution des effets de  $e[CO_2]_{atm}$  en interaction avec des hautes températures stables (HT), des vagues de chaleur (HW) et/ou du déficit hydrique (WD), pour des paramètres liés à la productivité.



**Figure 8 :** Diagramme de distribution des effets de  $e[CO_2]_{atm}$  en interaction avec des hautes températures stables (HT), des vagues de chaleur (HW) et/ou du déficit hydrique (WD), pour des paramètres liés à la consommation de l'eau.

Toutefois, ces niveaux de compensation sont très variables en raison d'une diversité de conditions expérimentales (dispositifs, niveaux de stress, concentrations de  $CO_2$ , géotypes, variables mesurées) et du peu d'expérimentations réalisées

pour certaines combinaisons de facteurs. Comme attendu, l'effet délétère d'un stress sur la productivité augmente avec son intensité, même si l'utilisation de variétés plus ou moins tolérantes introduit de la variabilité dans cette réponse. De même, le timing des stress est important, indiquant que les vagues de chaleur pré-floraison sont les plus délétères sur la productivité (avec de possibles effets confondants de la tolérance des variétés utilisées). Ces données ont également montré que l'interaction entre  $e[CO_2]_{atm}$  et déficit hydrique sur la productivité est variable ; en effet, l'hypothèse selon laquelle l'effet fertilisant de l'augmentation du  $CO_2$  est plus important en conditions sèches qu'en conditions humides n'est vérifiée que dans 54% des cas recensés. Par ailleurs, même lorsque l'effet du  $CO_2$  est plus fort en conditions sèches, cela ne permet pas systématiquement de compenser les effets délétères du déficit hydrique sur la productivité.

### Intercomparaison des effets de $[CO_2]_{atm}$ dans différents modèles de culture

En fonction des formalismes utilisés par les modèles, les variables physiologiques influencées par  $e[CO_2]_{atm}$  sont distinctes (Figure 9). Les modèles basés sur Farquhar divergent dans leur prise en compte du  $CO_2$  sur l'assimilation, mais reposent sur un faible échantillon de modèles. A contrario, les modèles basés sur la RUE ont des réponses similaires jusqu'à 700 ppm ; au-delà de cette concentration, les réponses divergent néanmoins avec des réponses tantôt saturantes tantôt linéaires. Il est toutefois important de noter qu'une grande majorité de modélisateurs a estimé que la gamme de validité de leurs modèles était de 300-750 ppm. L'effet négatif du  $CO_2$  est relativement plus sévère sur la conductance que sur la transpiration, assertion reposant néanmoins sur un faible échantillon de modèles pour la conductance. La variabilité de réponse de la transpiration augmente avec le  $CO_2$ , mais moins que celle de la RUE.

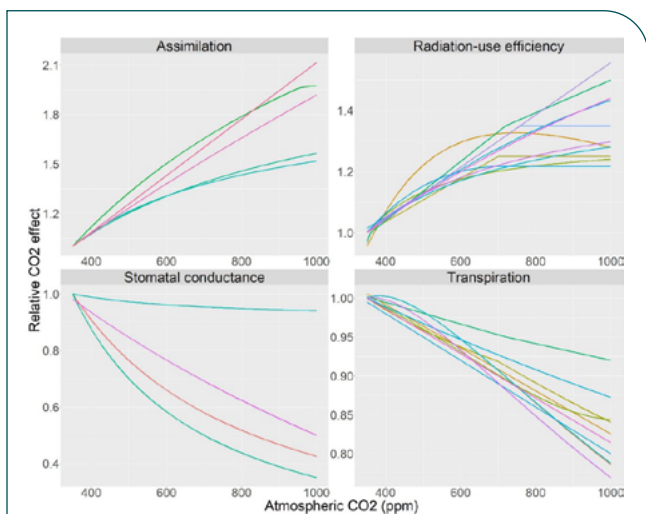


Figure 9 : Évolution de l'effet relatif de  $[CO_2]_{atm}$  (par rapport à la concentration de référence de 350 ppm) en fonction de la concentration atmosphérique de  $CO_2$  (ppm) pour différentes variables impactées : assimilation, efficacité biologique (RUE), conductance stomatique et transpiration. Les différentes couleurs correspondent aux différents modèles anonymisés.

### Évaluation de modèles de cultures pour des scénarii futurs : aptitude des modèles STICS et APSIM à prévoir les rendements sous les effets combinés de $[CO_2]_{atm}$ , des températures et du stress hydrique

Après calibration préalable des modèles sur les modalités témoins (irrigué, sans addition de  $CO_2$  ni de stress thermique), les modèles ont été testés sur les modalités à une ou deux modifications environnementales.

Les effets observés sur la phénologie sont assez modérés (de -1 à -7%) à Maricopa, et nuls à Braunschweig. Cependant, les modèles peinent à capter systématiquement ces évolutions, que ce soit à floraison ou à maturité. Les impacts mesurés sur la biomasse sont proportionnellement plus importants : de +30% (Horscham, avec  $e[CO_2]_{atm}$ ) à -60% (Horscham, en cas de semis tardif), et les prévisions des modèles sont cohérentes à Maricopa et Braunschweig, à la différence d'Horscham où les simulations peuvent être totalement divergentes avec les observations (modalité irriguée notamment) et sous-estimer les effets. Sur ce site en particulier, on peut constater une faible réponse effective de la biomasse à l'irrigation et à  $e[CO_2]_{atm}$ . Le constat est assez similaire pour le rendement.

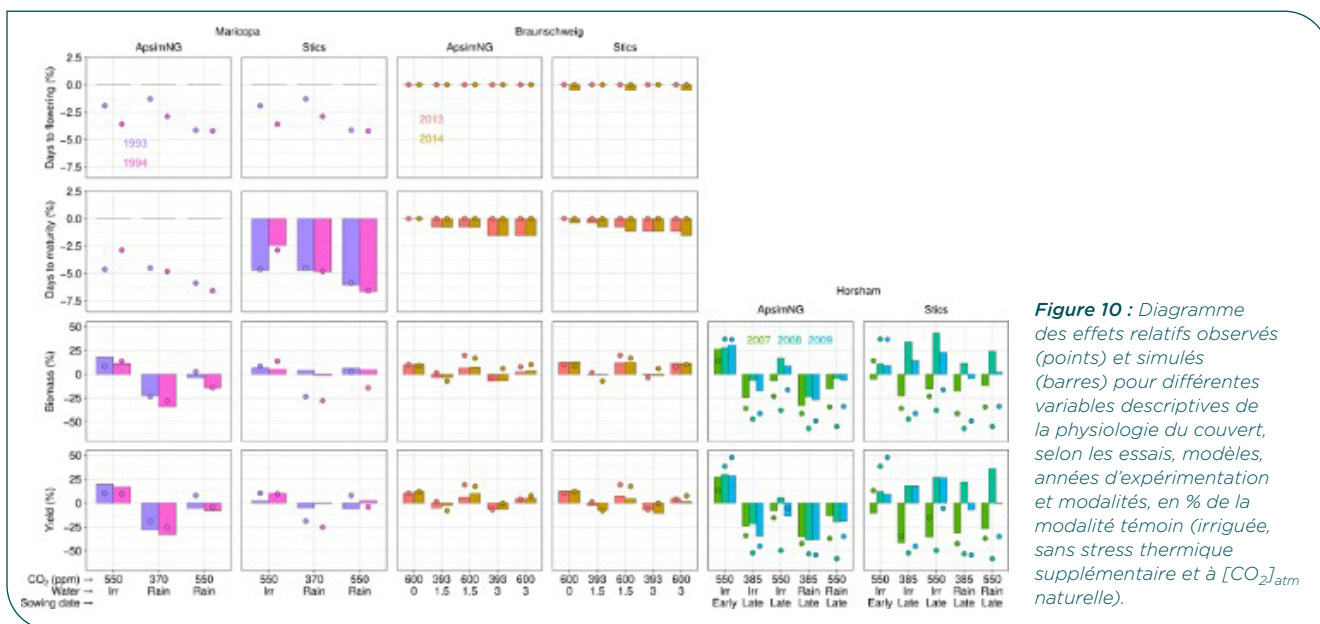


Figure 10 : Diagramme des effets relatifs observés (points) et simulés (barres) pour différentes variables descriptives de la physiologie du couvert, selon les essais, modèles, années d'expérimentation et modalités, en % de la modalité témoin (irriguée, sans stress thermique supplémentaire et à  $[CO_2]_{atm}$  naturelle).

Il est cependant important de noter que les conditions environnementales effectivement rencontrées lors des expérimentations ne sont pas forcément conformes aux stress escomptés : Braunschweig a présenté des températures dépassant rarement 30°C malgré la mise en œuvre de chauffage, et Maricopa a à l'inverse subi des pics de chaleur à 40°C. A Horsham, l'effet dominant semble être la date de semis, alors que les effets de  $e[CO_2]_{atm}$  et d'irrigation sont limités. Les modèles semblent donc capter partiellement les effets de  $e[CO_2]_{atm}$  en interaction avec d'autres stress, sous réserve que ces autres conditions environnementales soient elles-mêmes bien caractérisées et retranscrites.

### ► Application de modèles et d'indicateurs écoclimatiques à une entreprise de sélection : envirotypage d'un réseau d'essais

La première étape de la caractérisation des environnements des sites d'essais visait à obtenir un paramétrage global de la phénologie des génétiques utilisées sur les sites d'essais RAGT2n, afin de pouvoir obtenir des covariables les plus précises possibles. L'optimisation des paramètres de durée intrinsèque et de photopériode de base de l'intervalle Levée-Transition florale a bien permis de limiter les solutions multiples pour trouver un paramétrage représentant l'ensemble de la génétique RAGT testée sur les lieux d'essais. Le NRMSE moyen sur l'ensemble des calibrations était de 0.097, pour un RMSE de  $88.15 \pm 6.44$  °Cd sur l'accumulation de temps thermique entre le semis et l'anthèse (Figure 11).

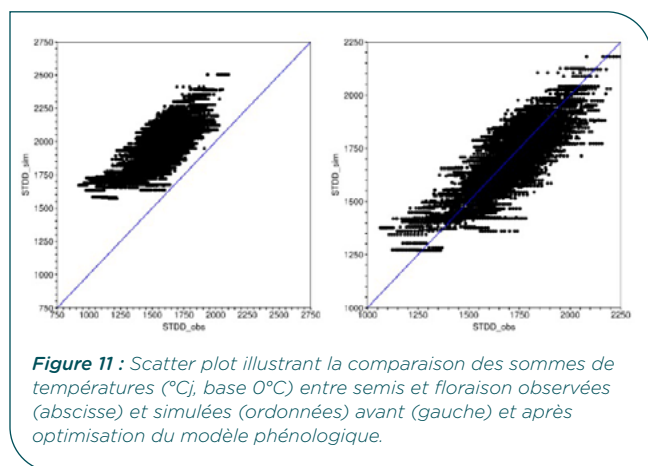


Figure 11 : Scatter plot illustrant la comparaison des sommes de températures (°Cj, base 0°C) entre semis et floraison observées (abscisse) et simulées (ordonnées) avant (gauche) et après optimisation du modèle phénologique.

Les covariables les plus importantes dans l'établissement du modèle explicatif du rendement sont essentiellement liées à trois catégories de facteurs limitant : la vernalisation, la disponibilité hydrique et dans une moindre mesure le stress froid (Figure 12). La covariable ayant le plus d'importance correspond au nombre de jours entre l'émergence et le stade épi 1 cm où la température moyenne journalière est comprise entre 0 et 13 °C, et est une covariable quantifiant des conditions vernalisantes. Les covariables liées à la disponibilité hydrique ayant une importance relative dans l'établissement du rendement sont essentiellement liées à la disponibilité hydrique avec (i) l'accumulation de différentiel entre précipitations et évapotranspiration entre l'émergence et le stade épi 1 cm et (ii) entre le stade épi 1 cm et le stade dernière feuille étalée, puis (iii) la somme de précipitation entre les dix jours préalables au semis et l'émergence. Enfin, seule une covariable caractérisant un stress froid a présenté un

gain supérieur à 5% lors de l'établissement du modèle : le nombre de jours où la température moyenne journalière est inférieure à 5 °C lors de la période vernalisante. Dans une moindre mesure, le manque d'ensoleillement autour de la méiose (non précisément simulée) semble également être lié au rendement.

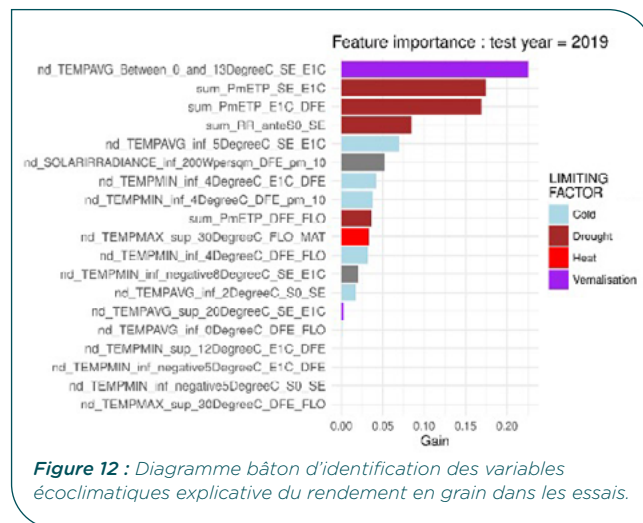


Figure 12 : Diagramme bâton d'identification des variables écoclimatiques explicative du rendement en grain dans les essais.

L'étape de correction de variables pour la projection climatique n'identifie pas de biais majeur et généralisé sur les températures, à la différence avec le paramètre P-ETP, pour lequel les données DRIAS sont plus élevées.

En calculant les variables écoclimatiques sur la période future (2031-2045), on constate que les valeurs obtenues en moyenne sur l'ensemble des sites de simulation divergent très peu des situations déjà expérimentées entre 2018 et 2024.

## DISCUSSION

Le changement climatique bouleverse profondément la physiologie des cultures, en modifiant la phénologie et la fréquence et l'intensité des aléas climatiques. L'élévation de la concentration atmosphérique de CO<sub>2</sub> en est pour partie la cause, mais elle interagit par ailleurs sur la physiologie des plantes en stimulant la photosynthèse et en limitant la conductance stomatique. Ainsi, à l'échelle d'une culture, les effets du changement climatiques sont multiples ; ils peuvent se superposer de façon tantôt antagoniste, tantôt synergique. De plus, les projections climatiques sont entachées de multiples sources d'erreurs qui complexifient la visualisation globale des conséquences du changement climatique, et donc des adaptations nécessaires.

### ► Intérêts et limites des analogues climatiques pour anticiper la sélection variétale

Les analogues climatiques se veulent avant tout une méthode de visualisation globale des translations climatiques et par la suite écologiques probables sous l'effet du changement climatique. Ils permettent une prise de conscience aisée et très concrète des évolutions probables du climat et donc plus globalement du milieu. Pour cela, ils ont été utilisés pour la sensibilisation des populations aux évolutions nécessaires ou possibles, et aux opportunités (Mihailescu and Bruno Soares, 2020; Chaudhary et al., 2023).

L'étude présentée ici et publiée (Bulut *et al.*, 2025) a notamment cherché à développer des méthodes statistiques qui prennent mieux en compte l'interdépendance des variables climatiques (distance de Wasserstein). En ne se focalisant que sur des paramètres climatiques très généraux (températures, précipitations), à l'échelle de saisons calendaires, elle ne produit des résultats qu'à usage limité pour identifier d'abord les conséquences sur les cultures, et ensuite les éventuels avant-postes de sélection pertinents pour anticiper la dérive climatique. Il serait cependant possible de prolonger la démarche en travaillant sur des périodes ajustée à la phénologie (recalculée au préalable) ou en appliquant des indicateurs de faisabilité de culture à la suite de l'identification a priori d'analogues, enrichissant dès lors la pertinence de la comparaison et identifiant les points de divergence/convergence entre la cible actuelle et l'analogue futur (Allaman *et al.*, 2026).

### ► Des indicateurs écoclimatiques pour identifier aisément des risques d'accident

Les indicateurs écoclimatiques, parce qu'ils s'appuient sur la phénologie (effective ou simulée) et intègrent *de facto* l'esquive naturelle observée sur les cultures face à l'élévation de températures sont des outils relativement aisés à utiliser en agronomie et en sélection variétale depuis l'accès élargi aux données météorologiques, et au développement progressif de l'envirotypage requis pour mieux comprendre les interactions Genotype x Environnement. Ils répondent également au raisonnement intuitif des sélectionneurs de définir des idéotypes en fonction des accidents climatiques fréquents dans une zone de marché donnée. Le choix des indicateurs à étudier peut d'ailleurs faire l'objectif d'une analyse statistique *a posteriori* des principaux facteurs impactant le rendement, sous réserve d'explorer suffisamment de scénarii climatiques, pédologiques et culturaux, pour ne garder que les variables qui influencent fortement la culture (Nóia Júnior *et al.*, 2023). L'analyse réalisée dans le projet REGARD (Le Roux *et al.*, 2024) met en exergue la précocification des stades induite par la hausse des températures, la réduction progressive des risques de froid et au contraire la hausse des stress thermiques chauds, de même que la co-occurrence de stress thermiques et hydriques en fin de cycle. Cependant, l'utilisation d'un indicateur purement climatique de stress hydrique (P-ETP) efface l'importance primordiale des caractéristiques du sol et lisse sur des phases phéno-climatiques longues les alternances de manque et d'excès d'eau. L'intégration d'une normalisation des indicateurs permet une relative pondération des aléas climatiques pour tendre vers des niveaux d'impact réels ; cependant, ils se heurtent à la complexité d'intégrer la succession des aléas et la capacité de compensation des cultures. Ainsi, l'effet d'une sécheresse temporaire au semis ne peut être comparé à celle apparaissant pendant la montaison. De plus, les indicateurs écoclimatiques comptabilisent le plus souvent le franchissement de seuils (cas des variables de température ou de rayonnement), rendant les sorties très dépendantes de la justesse, en valeur absolue, des simulations climatiques ; le plus souvent, le biais potentiellement présent dans ces dernières est contourné en présentant les projections par rapport à une période de référence simulée, sans pour autant

résoudre totalement les effets de seuil. Enfin, les indicateurs écoclimatiques n'intègrent pas, par nature, l'élévation de  $[CO_2]_{atm}$ , qui apparaît cependant comme un déterminant majeur de la photosynthèse et de la conductance stomatique ; les effets du changement climatiques captés par l'évolution des indicateurs retenus peuvent donc être sur- ou sous-estimés selon l'effet de l'e $[CO_2]_{atm}$  sur la physiologie des cultures.

### ► Des modèles de culture pour décrire la réponse globale du blé au changement climatique

En intégrant simultanément l'ensemble des caractéristiques attendues du changement climatique (élévation tendancielle des températures, de l'évapotranspiration et de  $[CO_2]_{atm}$ , modification des cumuls et de la saisonnalité des pluies, voire du rayonnement), les modèles sont des outils adaptés pour identifier les adaptations nécessaires vis-à-vis du changement climatique. Cependant, pour permettre des simulations fiables, il est nécessaire d'avoir étayé ces modèles sur des formalismes et des jeux de données robustes. Les travaux menés dans la tâche de modélisation du projet REGARD se sont intéressés 1) aux évidences expérimentales, 2) aux réponses des modèles à l'e $[CO_2]_{atm}$  en interaction avec les autres stress climatiques pressentis.

Les résultats expérimentaux mettent en premier lieu en évidence la variabilité des réponses à ces variations environnementales sur des processus basaux, avec au global une tendance globale à la baisse de production. Ceci indique notamment que l'effet fertilisant de l'e $[CO_2]_{atm}$  ne compense pas totalement les effets des conditions stressantes futures (hautes températures, vagues de chaleur ou stress hydrique).

L'effet de l'e $[CO_2]_{atm}$  est diversement traduit dans les modèles : à travers des formalismes d'une part, et des intensités de réponse d'autre part, avec parfois des domaines de validité vis-à-vis de la gamme de  $[CO_2]_{atm}$  trop limitants. La mise en œuvre sur de (rares) données FACE disponibles a démontré cependant que la retranscription fiable des effets de stress hydriques et/ou thermiques s'avère tout aussi cruciale que la simulation performante des effets du  $CO_2$ .

### ► Application de modèles et d'indicateurs écoclimatiques à une entreprise de sélection : retour d'expérience

L'exercice de mise en application de certaines sorties du projet par une entreprise de sélection permet d'analyser la transférabilité de certains travaux académiques vers des usages professionnels et routiniers. L'utilisation de variables écoclimatiques s'intègre très bien dans des démarches d'envirotypage de plus en plus déployées sur les réseaux : les données météorologiques sont désormais aisément accessibles ainsi que quelques repères phénologiques principaux. Cependant, la composante Sol est plus délicate à renseigner et à valoriser ; en l'absence d'une prise en compte d'un bilan hydrique, les aléas d'excès ou de manque d'eau deviennent très difficiles voire impossibles à capter à l'échelle d'un réseau, ce qui explique sans doute pourquoi les paramètres hydriques ne ressortent pas comme déterminants principaux du rendement dans les essais. Il est également important de prendre du recul sur la signification des variables écoclimatiques retenues, et

leur possible intercorrélation avec d'autres indicateurs. En particulier, le nombre de jours vernalisants pendant la phase hivernale ne se relie sans doute pas à l'impact phénologique en tant que tel, mais plutôt à une durée globale du cycle et à un gradient géographique au sein du réseau. Enfin, l'appropriation de projections climatiques requiert une formation préalable, en lien avec la quantité de données à traiter, avec les spécificités des modèles climatiques mis à disposition (biais intrinsèques, variables simulées, validité géographique, etc).

## PUBLICATIONS LIÉES AU PROJET

Bulut, B., Vrac, M., and De Noblet-Ducoudré, N. (2025). What Will the European Climate Look Like in the Future? A Climate Analog Analysis Accounting for Dependencies Between Variables. *Earths Future* 13, e2024EF004972. doi: 10.1029/2024EF004972

Gawinowski, M., Aubry, M., Buis, S., Garcia, C., Deswarte, J.-C., Bancal, M.-O., *et al.* (2025a). Selecting crop variables and parameters for the calibration of a new cultivar in a crop model: A case study of winter wheat for STICS. *Eur. J. Agron.* 168, 127677. doi: 10.1016/j.eja.2025.127677

Gawinowski, M., Aubry, M., Buis, S., Garcia, C., Deswarte, J.-C., Bancal, M.-O., *et al.* (2025b). Varietal parameterization of eleven modern French wheat cultivars in the STICS crop model. doi: 10.57745/FDPIX

Gawinowski, M., Chenu, K., Deswarte, J.-C., Launay, M., and Bancal, M.-O. (2025c). Plant plasticity in the face of climate change – CO<sub>2</sub> offsetting effects to warming and water deficit in wheat. A review. *Environ. Exp. Bot.* 232, 106113. doi: 10.1016/j.envexpbot.2025.106113

Le Roux, R., Furusho-Percot, C., Deswarte, J.-C., Bancal, M.-O., Chenu, K., De Noblet-Ducoudré, N., *et al.* (2024). Mapping the race between crop phenology and climate risks for wheat in France under climate change. *Sci. Rep.* 14, 8184. doi: 10.1038/s41598-024-58826-w

Severini, A., Gawinowski, M., Bancal, M. O., Launay, M., Deswarte, J.-C., and Chenu, K. (in prep.). Evaluating crop models for future climate scenarios: wheat yield predictions using STICS and APSIM under combined CO<sub>2</sub>, temperature and water stress conditions.

Severini, A., Gawinowski, M., Launay, M., Bancal, M. O., Deswarte, J.-C., and Chenu, K. (2025). Assessing crop model adequacy for future climates., (La Serena, Chile).

## Références bibliographiques

Agarwal, N., and Sinha, A. (2019). Future Climate Analogues of Current Wheat Production Zones in India. *Curr. Sci.* 116, 264. doi: 10.18520/cs/v116/i2/264-271

Ainsworth, E. A., and Long, S. P. (2005). What have we learned from 15 years of free-air CO<sub>2</sub> enrichment (FACE)? A meta-analytic review of the responses of photosynthesis, canopy properties and plant production to rising CO<sub>2</sub>. *New Phytol.* 165, 351–372. doi: 10.1111/j.1469-8137.2004.01224.x

Ainsworth, E. A., and Long, S. P. (2021). 30 years of free-air carbon dioxide enrichment (FACE): What have we learned about future crop productivity and its potential for adaptation? *Glob. Change Biol.* 27, 27–49. doi: 10.1111/gcb.15375

Allaman, H., Goyette, S., Dubuis, P.-H., and Kasparian, J. (2026). Future viability of European vineyards using bioclimatic climate analogues. *Agric. For. Meteorol.* 378, 110978. doi: 10.1016/j.agrformet.2025.110978

Bos, S. P. M., Pagella, T., Kindt, R., Russell, A. J. M., and Luedeling, E. (2015). Climate analogs for agricultural impact projection and adaptation—a reliability test. *Front. Environ. Sci.* 3. doi: 10.3389/fenvs.2015.00065

Brisson, N., Gate, P., Gouache, D., Charmet, G., Oury, F.-X., and Huard, F. (2010). Why are wheat yields stagnating in Europe? A comprehensive data analysis for France. *Field Crops Res.* 119, 201–212. doi: 10.1016/j.fcr.2010.07.012

Bulut, B., Vrac, M., and De Noblet-Ducoudré, N. (2025). What Will the European Climate Look Like in the Future? A Climate Analog Analysis Accounting for Dependencies Between Variables. *Earths Future* 13, e2024EF004972. doi: 10.1029/2024EF004972

Caubel, J., García De Cortázar-Atauri, I., Launay, M., De Noblet-Ducoudré, N., Huard, F., Bertuzzi, P., *et al.* (2015). Broadening the scope for ecoclimatic indicators to assess crop climate suitability according to ecophysiological, technical and quality criteria. *Agric. For. Meteorol.* 207, 94–106. doi: 10.1016/j.agrformet.2015.02.005

Caubel, J., García De Cortázar-Atauri, I., Vivant, A. C., Launay, M., and De Noblet-Ducoudré, N. (2018). Assessing future meteorological stresses for grain maize in France. *Agric. Syst.* 159, 237–247. doi: 10.1016/j.agry.2017.02.010

Chapagain, R., Remenyi, T. A., Harris, R. M. B., Mohammed, C. L., Huth, N., Wallach, D., *et al.* (2022). Decomposing crop model uncertainty: A systematic review. *Field Crops Res.* 279, 108448. doi: 10.1016/j.fcr.2022.108448

Chaudhary, S., Rajagopalan, K., Kruger, C. E., Brady, M. P., Fraise, C. W., Gustafson, D. I., *et al.* (2023). Climate analogs can catalyze cross-regional dialog for US specialty crop adaptation. *Sci. Rep.* 13, 9317. doi: 10.1038/s41598-023-35887-x

Chenu, K., Porter, J. R., Martre, P., Basso, B., Chapman, S. C., Ewert, F., *et al.* (2017). Contribution of Crop Models to Adaptation in Wheat. *Trends Plant Sci.* 22, 472–490. doi: 10.1016/j.tplants.2017.02.003

Cooper, M., Powell, O., Voss-Fels, K. P., Messina, C. D., Gho, C., Podlich, D. W., *et al.* (2021). Modelling selection response in plant-breeding programs using crop models as mechanistic gene-to-phenotype (CGM-G2P) multi-trait link functions. *Silico Plants* 3, diaa016. doi: 10.1093/insilicoplants/diaa016

Durand, J.-L., Delusca, K., Boote, K., Lizaso, J., Manderscheid, R., Weigel, H. J., *et al.* (2018). How accurately do maize crop models simulate the interactions of atmospheric CO<sub>2</sub> concentration levels with limited water supply on water use and yield? *Eur. J. Agron.* 100, 67–75. doi: 10.1016/j.eja.2017.01.002

Farquhar, G. D., Von Caemmerer, S., and Berry, J. A. (1980). A biochemical model of photosynthetic CO<sub>2</sub> assimilation in leaves of C3 species. *Planta* 149, 78–90. doi: 10.1007/BF00386231

Fitzgerald, G. J., Tausz, M., O'Leary, G., Mollah, M. R., Tausz-Posch, S., Seneweera, S., *et al.* (2016). Elevated atmospheric [CO<sub>2</sub>] can dramatically increase wheat yields in semi-arid environments and buffer against heat waves. *Glob. Change Biol.* 22, 2269–2284. doi: 10.1111/gcb.13263

- Gawinowski, M., Aubry, M., Buis, S., Garcia, C., Deswarte, J.-C., Bancal, M.-O., et al.** (2025a). Selecting crop variables and parameters for the calibration of a new cultivar in a crop model: A case study of winter wheat for STICS. *Eur. J. Agron.* 168, 127677. doi: 10.1016/j.eja.2025.127677
- Gawinowski, M., Aubry, M., Buis, S., Garcia, C., Deswarte, J.-C., Bancal, M.-O., et al.** (2025b). Varietal parameterization of eleven modern French wheat cultivars in the STICS crop model. doi: 10.57745/FDPIXY
- Gawinowski, M., Chenu, K., Deswarte, J.-C., Launay, M., and Bancal, M.-O.** (2025c). Plant plasticity in the face of climate change – CO<sub>2</sub> offsetting effects to warming and water deficit in wheat. A review. *Environ. Exp. Bot.* 232, 106113. doi: 10.1016/j.envexpbot.2025.106113
- Gouache, D., Le Bris, X., Bogard, M., Deudon, O., Pagé, C., and Gate, P.** (2012). Evaluating agronomic adaptation options to increasing heat stress under climate change during wheat grain filling in France. *Eur. J. Agron.* 39, 62–70. doi: 10.1016/j.eja.2012.01.009
- Hammer, Graeme L., McLean, G., Van Oosterom, E., Chapman, S., Zheng, B., Wu, A., et al.** (2020). Designing crops for adaptation to the drought and high-temperature risks anticipated in future climates. *Crop Sci.* 60, 605–621. doi: 10.1002/csc2.20110
- IPCC** (2019). “Climate Change and Land An IPCC Special Report on climate change, desertification, land degradation, sustainable land management, food security, and greenhouse gas fluxes in terrestrial ecosystems.”
- Kimball, B. A., Pinter, P. J., Garcia, R. L., LaMORTE, R. L., Wall, G. W., Hunsaker, D. J., et al.** (1995). Productivity and water use of wheat under free-air CO<sub>2</sub> enrichment. *Glob. Change Biol.* 1, 429–442. doi: 10.1111/j.1365-2486.1995.tb00041.x
- Le Roux, R., Furusho-Percot, C., Deswarte, J.-C., Bancal, M.-O., Chenu, K., De Noblet-Ducoudré, N., et al.** (2024). Mapping the race between crop phenology and climate risks for wheat in France under climate change. *Sci. Rep.* 14, 8184. doi: 10.1038/s41598-024-58826-w
- Lin, M., and Huybers, P.** (2012). Reckoning wheat yield trends. *Environ. Res. Lett.* 7, 024016. doi: 10.1088/1748-9326/7/2/024016
- Lobell, D. B., and Asseng, S.** (2017). Comparing estimates of climate change impacts from process-based and statistical crop models. *Environ. Res. Lett.* 12, 015001. doi: 10.1088/1748-9326/aa518a
- Lobell, D. B., Schlenker, W., and Costa-Roberts, J.** (2011). Climate Trends and Global Crop Production Since 1980. *Science* 333, 616–620. doi: 10.1126/science.1204531
- Long, S. P., Ainsworth, E. A., Leakey, A. D. B., Nösberger, J., and Ort, D. R.** (2006). Food for Thought: Lower-Than-Expected Crop Yield Stimulation with Rising CO<sub>2</sub> Concentrations. *Science* 312, 1918–1921. doi: 10.1126/science.1114722
- Manderscheid, R., Dier, M., Erbs, M., Luig, A., Oldenburg, E., Sickora, J., et al.** (2020). Experimental data from the Braunschweig FACE studies on wheat growth responses to elevated CO<sub>2</sub> in combination with nitrogen supply or infrared warming during grain filling. *Open Data J. Agric. Res.* 6, 28–33. doi: 10.18174/odjar.v6i0.16397
- Mbow, C., Rosenzweig, C., Barioni, L. G., Benton, T. G., Herrero, M., Krishnapillai, M., et al.** (2019). “Food Security,” in *Climate Change and Land: an IPCC special report on climate change, desertification, land degradation, sustainable land management, food security, and greenhouse gas fluxes in terrestrial ecosystems*, eds. P. R. Shukla, J. Skea, E. Calvo Buendia, V. Masson-Delmotte, H. O. Pörtner, D. C. Roberts, et al.
- Mihailescu, E., and Bruno Soares, M.** (2020). The Influence of Climate on Agricultural Decisions for Three European Crops: A Systematic Review. *Front. Sustain. Food Syst.* 4, 64. doi: 10.3389/fsufs.2020.00064
- Monteith, J. L.** (1972). Solar Radiation and Productivity in Tropical Ecosystems. *J. Appl. Ecol.* 9, 747. doi: 10.2307/2401901
- Moore, F. C., and Lobell, D. B.** (2015). The fingerprint of climate trends on European crop yields. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 112, 2670–2675. doi: 10.1073/pnas.1409606112
- Nóia Júnior, R. D. S., Deswarte, J., Cohan, J., Martre, P., Van Der Velde, M., Lecerf, R., et al.** (2023). The extreme 2016 wheat yield failure in France. *Glob. Change Biol.* 29, 3130–3146. doi: 10.1111/gcb.16662
- Olesen, J. E., and Bindi, M.** (2002). Consequences of climate change for European agricultural productivity, land use and policy. *Eur. J. Agron.* 16, 239–262. doi: 10.1016/S1161-0301(02)00004-7
- Oury, F.-X., Godin, C., Mailliard, A., Chassin, A., Gardet, O., Giraud, A., et al.** (2012). A study of genetic progress due to selection reveals a negative effect of climate change on bread wheat yield in France. *Eur. J. Agron.* 40, 28–38. doi: 10.1016/j.eja.2012.02.007
- Parent, B., Leclere, M., Lacube, S., Semenov, M. A., Welcker, C., Martre, P., et al.** (2018). Maize yields over Europe may increase in spite of climate change, with an appropriate use of the genetic variability of flowering time. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 115, 10642–10647. doi: 10.1073/pnas.1720716115
- Qiao, H., Feng, X., Escobar, L. E., Peterson, A. T., Soberón, J., Zhu, G., et al.** (2019). An evaluation of transferability of ecological niche models. *Ecography* 42, 521–534. doi: 10.1111/ecog.03986
- Severini, A., Gawinowski, M., Bancal, M. O., Launay, M., Deswarte, J.-C., and Chenu, K.** (in prep.). Evaluating crop models for future climate scenarios: wheat yield predictions using STICS and APSIM under combined CO<sub>2</sub>, temperature and water stress conditions.
- Severini, A., Gawinowski, M., Launay, M., Bancal, M. O., Deswarte, J.-C., and Chenu, K.** (2025). Assessing crop model adequacy for future climates., in *InterDrought VIII*, (La Serena, Chile).
- Supit, I., van Diepen, C. A., de Wit, A. J. W., Kabat, P., Baruth, B., and Ludwig, F.** (2010). Recent changes in the climatic yield potential of various crops in Europe. *Agric. Syst.* 103, 683–694. doi: 10.1016/j.agsy.2010.08.009
- Toreti, A., Deryng, D., Tubiello, F. N., Müller, C., Kimball, B. A., Moser, G., et al.** (2020). Narrowing uncertainties in the effects of elevated CO<sub>2</sub> on crops. *Nat. Food* 1, 775–782. doi: 10.1038/s43016-020-00195-4
- Wallach, D., and Thorburn, P. J.** (2017). Estimating uncertainty in crop model predictions: Current situation and future prospects. *Eur. J. Agron.* 88, A1–A7. doi: 10.1016/j.eja.2017.06.001
- Weir, A. H., Bragg, P. L., Porter, J. R., and Rayner, J. H.** (1984). A winter wheat crop simulation model without water or nutrient limitations. *J. Agric. Sci.* 102, 371–382. doi: 10.1017/S0021859600042702
- Wu, Y., Gong, Z., Bebbber, D. P., Miao, J., Zhao, Z., Jiang, Y., et al.** (2019). Phenological matching drives wheat pest range shift under climate change. doi: 10.1101/614743



# MYCOBLE : Variabilité génétique du blé tendre pour les réponses aux champignons mycorhiziens à arbuscules

Audrey L'HERITIER<sup>1</sup>, Laurena MEDIONI<sup>1</sup>, Virginie GASCIOLLI<sup>1</sup>, Fabrice DEVOILLES<sup>1</sup>, Nemo PEETERS<sup>1</sup>, Richard BLANC<sup>2</sup>, Florence CAMBON<sup>2</sup>, Cyrille SAINTENAC<sup>2</sup>, Camille WABINSKI-DAUCHY<sup>3</sup>, Romain DELEMME<sup>4</sup>, Richard SUMMERS<sup>5</sup>, Philippe DUFOUR<sup>5</sup>, Benoit LEFEBVRE<sup>\*</sup>

1 - Univ Toulouse, CNRS, INRAE, LIPME, Castanet-Tolosan, FRANCE

2 - UCA, INRAE, GDEC, Clermont-Ferrand, FRANCE

3 - Florimond-Desprez Veuve & Fils SAS, Cappelle-en-Pévèle, FRANCE

4 - Lemaire-Deffontaines, Auchy les Orchies, FRANCE

5 - RAGT 2n, Louville-la-Chenard, FRANCE

\**Coordinateur du projet* : Benoit LEFEBVRE, benoit.lefebvre@inrae.fr

## INTRODUCTION

La transition vers des systèmes agricoles plus durables implique une réduction significative de l'utilisation des intrants chimiques, en particulier des fertilisants azotés et phosphatés. Ces intrants représentent une part substantielle des coûts de production des céréales et leur utilisation excessive engendre des impacts environnementaux, incluant la pollution des sols et des eaux et l'émission de gaz à effet de serre. Par ailleurs, la disponibilité mondiale de certaines ressources nécessaires à leur production soulève des préoccupations quant à la sécurité alimentaire à long terme.

Dans ce contexte, l'exploitation des interactions naturelles entre les plantes et les microorganismes du sol constitue un levier prometteur pour améliorer l'efficacité de l'utilisation des nutriments et la résilience des cultures. Parmi ces interactions, la symbiose mycorhizienne arbusculaire occupe une place centrale dans le fonctionnement des écosystèmes terrestres. Les champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA) colonisent les racines de la majorité des plantes et établissent une association mutualiste caractérisée par un échange bidirectionnel de ressources : la plante fournit des composés carbonés issus de la photosynthèse, tandis que les champignons facilitent l'acquisition de nutriments minéraux, notamment le phosphore et l'azote.

Les CMA développent un réseau mycélien extraradical étendu, permettant l'exploration de larges volumes de sol et la mobilisation de nutriments inaccessibles au système racinaire. Les échanges entre les partenaires s'effectuent au niveau de structures spécialisées, les arbuscules, formées dans les cellules corticales racinaires. Outre leur rôle dans la nutrition minérale, les CMA influencent la physiologie végétale, notamment l'allocation des ressources, la croissance et les mécanismes de défense (Smith & Read, 2008; Cameron *et al.*, 2013). En effet, la colonisation mycorhizienne peut induire différentes réponses chez les plantes hôtes, y compris le blé, dont une stimulation de la croissance et une modulation de l'architecture de la plante, en favorisant la production de grains par rapport à la biomasse végétative (Pellegrino *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2019), et une résistance systémique contre divers agents pathogènes (Mustafa *et al.*, 2016; Fiorilli *et al.*, 2018).

Toutefois, l'efficacité de cette symbiose est fortement dépendante du contexte environnemental et génétique.

Le niveau de colonisation racinaire et la stimulation de croissance induite par la mycorhize varient selon le génotype de la plante hôte, y compris chez le blé (Hetrick & Wilson, 1992; Xavier & Germida, 1998; Lehnert *et al.*, 2018) et la disponibilité des nutriments du sol (Nouri *et al.*, 2014; Verzeaux *et al.*, 2016). Des concentrations élevées en azote et phosphore dans le sol inhibent généralement l'établissement de la symbiose.

Malgré l'intérêt agronomique de la symbiose mycorhizienne, les connaissances relatives à la variabilité génétique intra-spécifique de la réponse du blé à cette interaction demeurent limitées. En particulier, les déterminants génétiques de la colonisation, de l'efficacité des échanges nutritifs et de l'induction des défenses restent mal caractérisés.

Le projet MYCOBLE visait à évaluer un panel de variétés de blé tendre d'hiver pour leur capacité de colonisation par les CMA en fonction de la disponibilité en nutriments du sol, ainsi que leur réponse en termes de croissance et leur résistance aux pathogènes, en présence de CMA.

## MATÉRIEL ET MÉTHODE

### ► Matériel végétal

Un panel de cinquante variétés de blé tendre d'hiver a été constitué afin de couvrir la diversité historique et génétique. Ce panel comprend les variétés modernes les plus cultivées en France entre 2010 et 2020, des variétés emblématiques cultivées en France depuis les années 70 et des variétés anciennes enregistrées avant les années 1960 représentant la diversité génétique mondiale du blé tendre. Les variétés testées sont listées dans le tableau 1.

### ► Matériel fongique et inoculation

Le champignon mycorhizien à arbuscules *Rhizophagus irregularis* a été utilisé comme espèce modèle. L'inoculation a été réalisée avec un inoculum commercial soit lors du repiquage des plantules germées par application directe de spores (Agronutrition, France), soit au semis par ajout de propagules sous forme de granulés, mélangés avec les graines (INOQ, Allemagne, 30 kg/ha). La condition non inoculée a consisté à ne pas ajouter de spores au repiquage ou à ajouter un inoculum autoclavé au semis. La souche IPO09415 de *Zymoseptoria tritici* a été utilisée pour les mesures de stimulation de résistance à la septoriose en conditions contrôlées.

Variétés	Colonisation <i>R. irregularis</i> toutes structures, % longueur du système racinaire (2 mM N / 0,5 mM P)	% d'inhibition de colonisation par <i>R. irregularis</i> (4 mM N / 1mM P)
CHEVIGNON	3	-133
PALEDOR	40	18
AREZZO	16	46
ABSALON	50	54
NUMERIC	7	60
TOGANO	23	60
STRAMPELLI	43	61
MONTECRISTO	32	68
CELLULE	35	69
THESEE	20	71
AMIFORT	26	73
GENY	50	75
SY MATTIS	30	75
TYSTOFTE SMAAHVEDE II	23	75
CENTURION	19	76
ALIXAN	40	78
BERGAMO	42	78
D130-63	42	78
SAN MARTIN	3	79
BAROOTA-WONDER	60	80
CAPHORN	8	80
CONCURRENT	61	81
RUBISKO	38	81
CAPITOLE-VILMORIN	83	82
IZALCO	22	82
ALTIGO	52	83
COMPLICE	42	83
BORDEAUX 113	45	84
MANITOBA	31	84
ROMANIA	33	84
CHINESE SPRING	38	87
ARCACHON	30	88
NOEL-LEGLAND	69	89
STANLEY	12	89
TALENT	47	90
KOTTE	21	91
TOUZELLE	41	91
CESARIO	23	92
CHEYENNE	34	92
RENAN (série 1)	17	91
RENAN (série 2)	18	92
SARY-BUGDA	24	92
BIR BOUNI	17	94
FRUCTIDOR	22	94
SACRAMENTO	43	94
HENDRIX	32	95
BANATKA	44	96
CADENZA	34	96
TURKEY	23	98
APACHE	25	99
ENERGO	25	100

**Tableau 1 :** Colonisation mycorhizienne du panel de variétés sous différents niveaux de fertilisation. Colonne de gauche: Colonisation par *R. irregularis* exprimée en pourcentage de la longueur du système racinaire possédant des structures intraradiculaires de *R. irregularis* (arbuscules, vésicules ou hyphes) chez les plantes arrosées avec la solution contenant 2 mM de N et 0,5 mM de P. Colonne de droite Pourcentage d'inhibition de la colonisation des plantes arrosées avec la solution contenant 4 mM de N et 1 mM de P par rapport à celles arrosées avec la solution contenant 2 mM de N et 0,5 mM de P. Les plantes ont été cultivées en chambre de culture pendant 6 semaines. n=12 plantes / variété / condition. L'expérience a été réalisée en deux séries avec la variété Renan commune aux deux séries.

### ► Conditions de culture en conditions contrôlées

Les plantes ont été cultivées dans des substrats inertes (Attapulгите, Oil-dri, Etats-Unis ou Zéolite, Symbiom, République tchèque) mélangés avec du sable 0.7-1.3 mm 1:1 (v/v) permettant un contrôle précis de la disponibilité en nutriments. Une solution nutritive avec la même base (Trinquier *et al.*, 2026) mais contenant différentes concentrations en  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  et en  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  a été utilisée pour toutes les expériences.

Pour les mesures d'inhibition de la colonisation par le niveau de fertilisation et de stimulation de la résistance à la septoriose, les blés ont été cultivés en chambre de culture à 21/18 °C, 16h jour/8 h nuit.

Pour les mesures de stimulation de croissance par la mycorhize, un système expérimental comprenant un compartiment séparé par une membrane de nylon d'une porosité de 40µm perméable au mycélium mais pas aux racines, a été utilisé afin de garantir l'acquisition de nutriments via le champignon dans les expériences en pot. 200 mg d'azote avec ratio  $\text{NH}_4:\text{NO}_3$ , 3:1 (m/m) et 100 mg de phosphore ont été placés dans ce compartiment et les plantes arrosées avec la solution nutritive (Trinquier *et al.*, 2026) sous-optimale en N et P. De plus, un apport en eau a été réalisé de manière à maintenir 80% de la capacité de rétention en eau du substrat. Les plantes ont été cultivées dans un premier temps en chambre de culture (2 semaines à 21°C, 5 semaines à 6°C, puis 1 semaine à 18°C) dans des pots de 250 ml puis transférées dans des pots de 3 l (1/pot) ou 10 l (5/pot) contenant le compartiment uniquement accessible aux CMA. Le champignon *R. irregularis* a été inoculé ou pas dans les pots de 250 ml au repiquage des plantules de blé, germées sur boîte de pétri. Les pots de 3 l ont été placés dans la serre automatisée TPMP (<https://phenotoul.hub.inrae.fr>) et les pots de 10 l sur la plateforme extérieure automatisée Heliaphen (<https://phenotoul.hub.inrae.fr>) et les plantes cultivées jusqu'à maturité.

### ► Quantification de la colonisation mycorhizienne

La colonisation racinaire a été évaluée par observation microscopique après coloration des racines à l'encre comme décrit dans (Trinquier *et al.*, 2026). La proportion de longueur racinaire contenant des structures fongiques intraradiculaires a été estimée par les méthodes *gridline intersection* (Giovannetti *et al.*, 1980) ou *magnified intersections* (McGonigle *et al.*, 1990). En complément, des approches moléculaires basées sur la quantification par qRT-PCR d'un gène marqueur de la colonisation et de transporteurs de phosphate, d'ammonium et de nitrate impliqués dans la nutrition mycorhizienne ont été utilisées (Trinquier *et al.*, 2026).

### ► Évaluation de la résistance à *Zymoseptoria tritici*

La résistance à la septoriose a été évaluée après inoculation par le pathogène fongique responsable de la maladie, *Z. tritici*, 5 semaines après l'inoculation par *R. irregularis*. La sévérité de l'infection a été estimée par quantification des surfaces foliaires sporulantes entre 18 et 21 jours après l'inoculation.

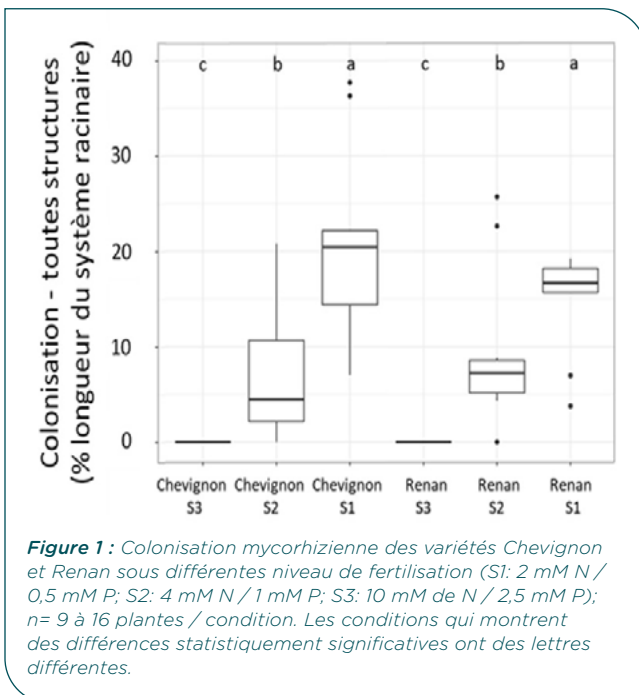
## ► Essais en conditions de champ

Des essais multi-sites ont été mis en place afin d'évaluer l'effet combiné de l'inoculation mycorhizienne et de la fertilisation azotée sur la colonisation racinaire, le rendement en grains et la teneur en protéines, et le fonctionnement de la mycorhize. Deux niveaux de fertilisation ont été comparés : la fertilisation optimale propre à chaque site, réalisée en 3 apports, et une fertilisation réduite (moins 80 kg d'azote / ha), réalisée en sautant le deuxième apport et en réduisant le 3<sup>ème</sup> apport si besoin.

## ► RÉSULTATS

### ► Variabilité génétique du blé tendre pour la colonisation mycorhizienne et l'effet de la disponibilité en azote et en phosphore sur cette colonisation

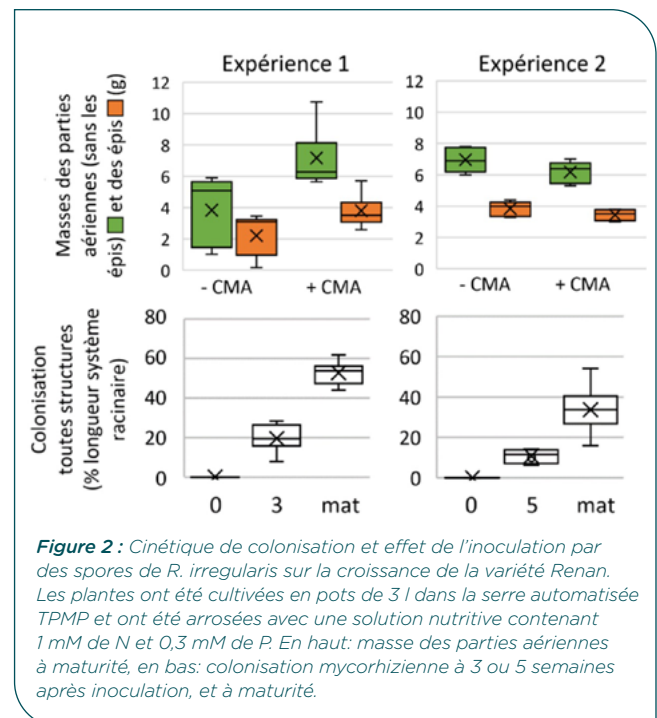
Des expériences dose-réponse ont permis de définir des conditions non inhibitrices, partiellement inhibitrices et inhibitrices de la colonisation précoce (6 semaines après inoculation) par le champignon mycorhizien *R. irregularis* 6 sur deux variétés (Chevignon et Renan). Des concentrations élevées en azote et phosphore (10 mM de N et 2,5 mM de P) inhibent complètement la colonisation racinaire par *R. irregularis* (Figure 1). Au contraire, des conditions de limitation nutritionnelle favorisent l'établissement de la symbiose. Des concentrations intermédiaires permettant une inhibition partielle ont été utilisées pour le criblage d'un panel de 50 variétés. Ce dernier a révélé une variabilité importante entre variétés de blé tendre d'hiver pour le niveau de colonisation et d'inhibition de la colonisation par la fertilisation lors de la phase précoce de la symbiose. Certains génotypes maintiennent un niveau élevé de colonisation malgré des conditions nutritionnelles favorables, suggérant des différences dans la régulation de l'interaction symbiotique entre variétés.



**Figure 1 :** Colonisation mycorhizienne des variétés Chevignon et Renan sous différents niveaux de fertilisation (S1: 2 mM N / 0,5 mM P; S2: 4 mM N / 1 mM P; S3: 10 mM de N / 2,5 mM P); n = 9 à 16 plantes / condition. Les conditions qui montrent des différences statistiquement significatives ont des lettres différentes.

### ► Effet de la cinétique de colonisation par le champignon mycorhizien *R. irregularis* sur la réponse de croissance mycorhizienne en conditions contrôlées

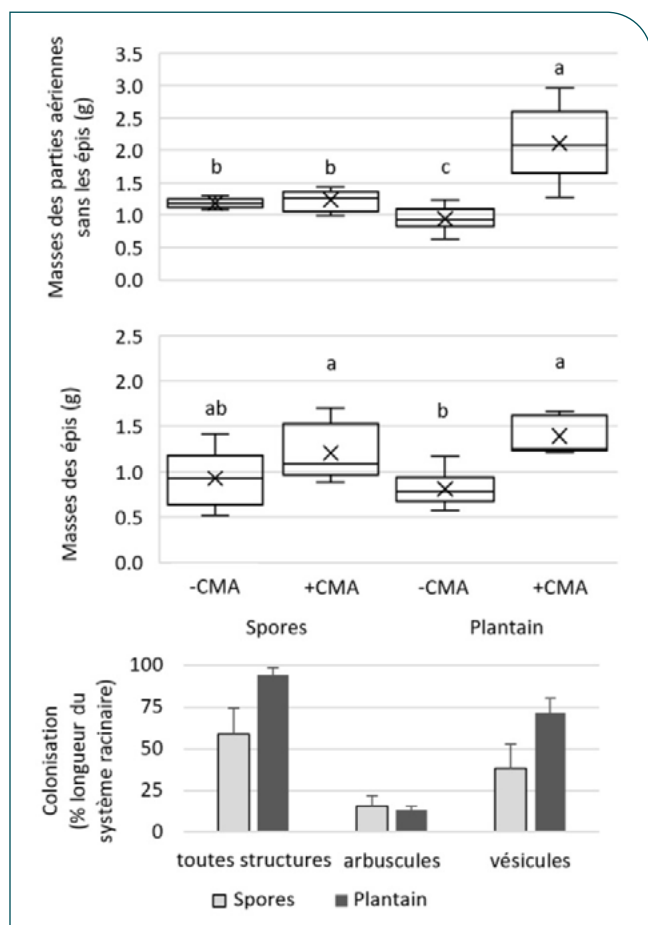
Pour mesurer la réponse de croissance du blé tendre en présence de *R. irregularis*, un système expérimental préalablement mis au point sur la poacée modèle *Brachypodium distachyon* (Maviane-Macia *et al.*, 2019) a été adapté pour le blé. Ce système implique une nutrition de la plante par une solution nutritive sous-optimale en N et P, et un compartiment uniquement accessible au CMA contenant du N et P. L'inoculation par *R. irregularis* a été réalisée sur les plantules germées avant la phase de vernalisation. Une réponse de croissance a pu être observée sur la variété Renan lors de la mise au point du système expérimental, mais pas lors des expériences suivantes (Figure 2). L'absence de réponse corrèle avec un délai observé dans la colonisation par *R. irregularis* (Figure 2), potentiellement due à des variations environnementales et/ou de qualité de l'inoculum.



**Figure 2 :** Cinétique de colonisation et effet de l'inoculation par des spores de *R. irregularis* sur la croissance de la variété Renan. Les plantes ont été cultivées en pots de 3 l dans la serre automatisée TPMP et ont été arrosées avec une solution nutritive contenant 1 mM de N et 0,3 mM de P. En haut: masse des parties aériennes à maturité, en bas: colonisation mycorhizienne à 3 ou 5 semaines après inoculation, et à maturité.

Afin de pallier au problème de colonisation aléatoire/tardive du blé, un protocole alternatif a été développé. Une plante de plantain a été inoculée avec des spores de *R. irregularis* et cultivée 8 semaines en parallèle de la vernalisation des blés non inoculés. La partie aérienne du plantain a ensuite été coupée et les plantules de blé vernalisées ont été transplantées dans les pots contenant le réseau mycélien connecté aux racines de plantain. Pour comparaison, des plantules de blé ont été inoculées par des spores comme décrit précédemment. Une réponse de croissance supérieure a été observée sur les plantes inoculées par *R. irregularis* cultivé sur le plantain par rapport à celles inoculées directement par les spores de *R. irregularis* (Figure 3). Les racines des plantes transférées dans les pots ayant contenu du plantain montrent aussi un taux de colonisation supérieur à maturité. La plus grande abondance de vésicules (structures de stockage intra-racinaire des

CMA qui apparaissent dans les stades tardifs de la colonisation) témoigne par ailleurs d'une colonisation plus précoce des blés inoculés par *R. irregularis* cultivé sur le plantain (Figure 3).



**Figure 3 :** Colonisation et effet de l'inoculation par *R. irregularis* cultivé sur du plantain sur la croissance de la variété Complice. Les plantes ont été cultivées en pots de 10 l sur la plateforme extérieure automatisée Heliaphen. n=6 pots de 5 plantes / condition. Les conditions qui montrent des différences statistiquement significatives ont des lettres différentes.

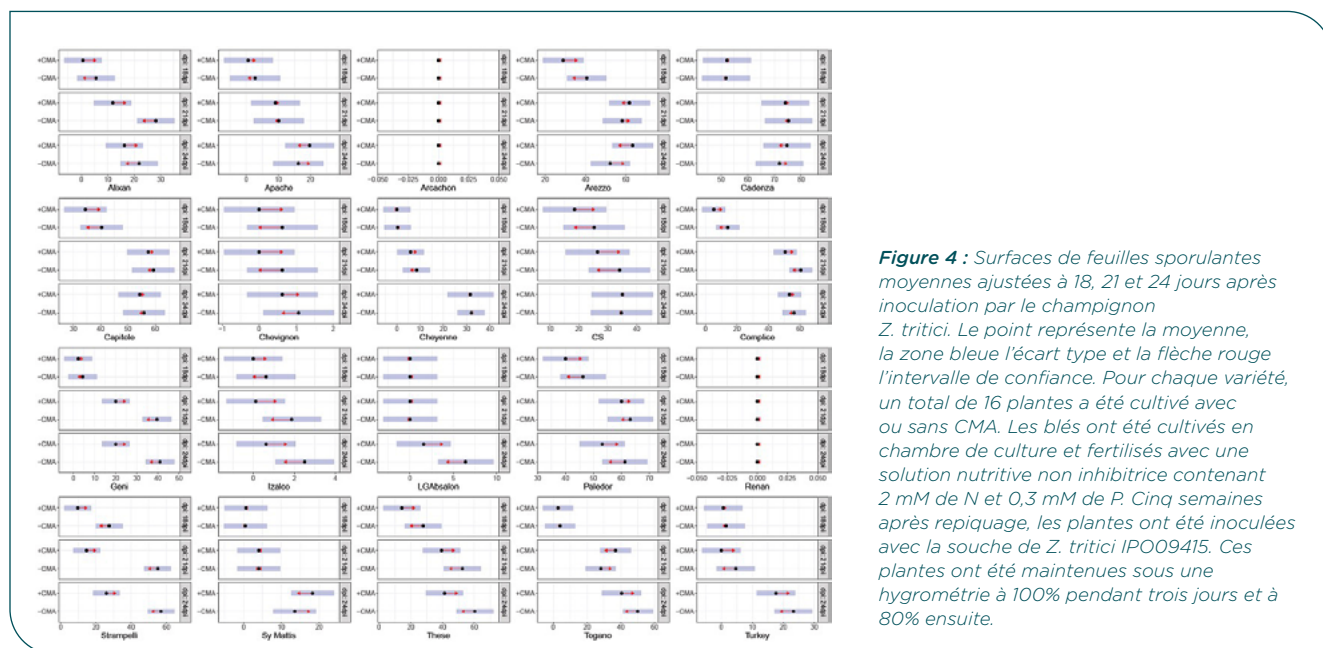
Le criblage d'un sous-panel de 20 variétés montrant des réponses contrastées quant à la colonisation et l'inhibition de la colonisation par le niveau intermédiaire de fertilisation, a été réalisé plusieurs fois en utilisant les deux systèmes expérimentaux mais les résultats ont montré une forte variabilité expérimentale entre expérimentations et n'ont pas permis de conclure sur des différences entre les variétés pour la réponse de croissance à l'inoculation par *R. irregularis* dans les conditions utilisées, montrant que des améliorations du système expérimental sont nécessaires.

► **Variabilité génétique du blé tendre pour la stimulation de la résistance à la septoriose en présence du champignon mycorhizien *R. irregularis***

En parallèle, afin d'étudier l'impact de la colonisation du blé par *R. irregularis* sur la résistance à la septoriose, le sous-panel de 20 variétés a été inoculé ou non par *R. irregularis*, puis inoculé par *Z. tritici*. Certaines variétés ont présenté une réduction significative de la sévérité de la maladie en condition mycorhizée (Figure 4). Deux génotypes montrent une augmentation de résistance significative: Strampeli et Geny. Un troisième génotype montre une stimulation de résistance transitoire (à 21 jours). Les variétés montrent des niveaux de colonisation par le CMA variables en fin d'expérience (8 semaines après inoculation (Figure 5) mais le phénotype de résistance ne corrèle pas avec le niveau de colonisation mycorhizienne.

► **Pas d'effet de l'inoculation du blé par le champignon mycorhizien *R. irregularis* sur les performances agronomiques**

Un essai multi-sites (Figure 6) a été réalisé avec un sous-panel de 10 variétés en présence ou non d'une inoculation mycorhizienne et deux niveaux de fertilisation azotée sur la campagne 2024-2025. La qualité de l'inoculum et sa désactivation par autoclavage ont été vérifiées en conditions contrôlées (Figure 7). Une variabilité importante du niveau de colonisation par les CMA a été observée entre sites indépendamment de l'inoculation, à la fois en observant les racines par microscopie et



**Figure 4 :** Surfaces de feuilles sporulantes moyennes ajustées à 18, 21 et 24 jours après inoculation par le champignon *Z. tritici*. Le point représente la moyenne, la zone bleue l'écart type et la flèche rouge l'intervalle de confiance. Pour chaque variété, un total de 16 plantes a été cultivé avec ou sans CMA. Les blés ont été cultivés en chambre de culture et fertilisés avec une solution nutritive non inhibitrice contenant 2 mM de N et 0,3 mM de P. Cinq semaines après repiquage, les plantes ont été inoculées avec la souche de *Z. tritici* IPO09415. Ces plantes ont été maintenues sous une hygrométrie à 100% pendant trois jours et à 80% ensuite.

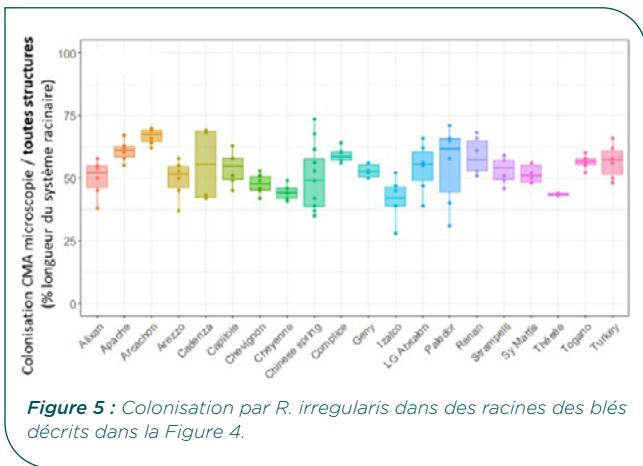


Figure 5 : Colonisation par *R. irregularis* dans des racines des blés décrits dans la Figure 4.

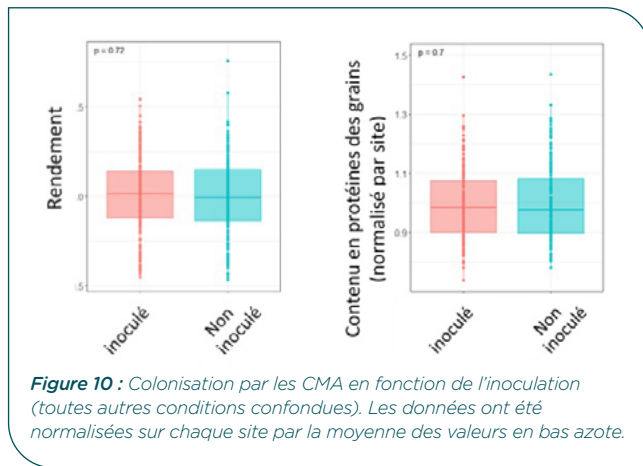


Figure 10 : Colonisation par les CMA en fonction de l'inoculation (toutes autres conditions confondues). Les données ont été normalisées sur chaque site par la moyenne des valeurs en bas azote.



Figure 6 : Localisation de l'implantation de l'essai et dates de prélèvements des racines. Du sud au nord à Auzville-Tolosane le 28 avril, à Clermont-Ferrand le 6 mai, à Louville-la-Chenard le 12 mai, à Auchy-lez-Orchies le 13 mai et à Caffiers le 14 mai.

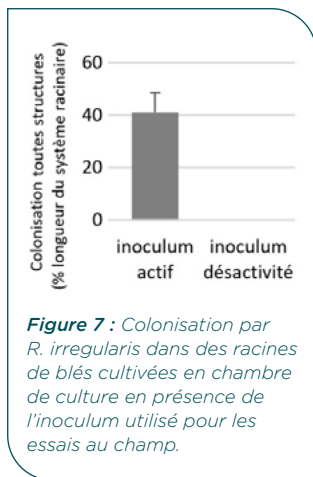


Figure 7 : Colonisation par *R. irregularis* dans des racines de blés cultivées en chambre de culture en présence de l'inoculum utilisé pour les essais au champ.

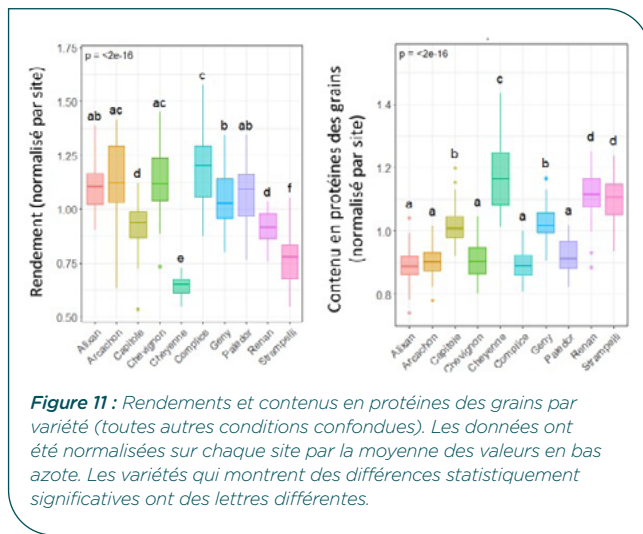


Figure 11 : Rendements et contenus en protéines des grains par variété (toutes autres conditions confondues). Les données ont été normalisées sur chaque site par la moyenne des valeurs en bas azote. Les variétés qui montrent des différences statistiquement significatives ont des lettres différentes.

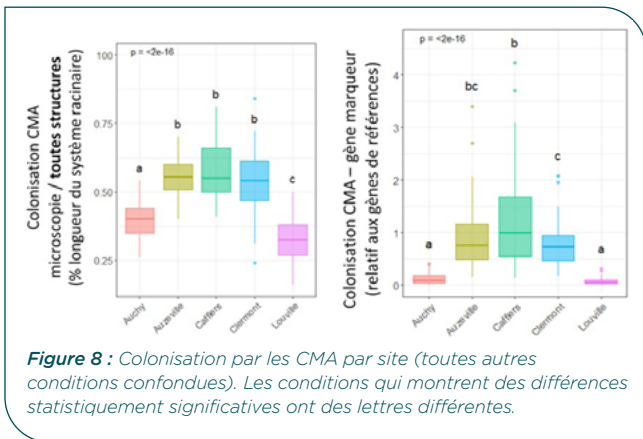


Figure 8 : Colonisation par les CMA par site (toutes autres conditions confondues). Les conditions qui montrent des différences statistiquement significatives ont des lettres différentes.

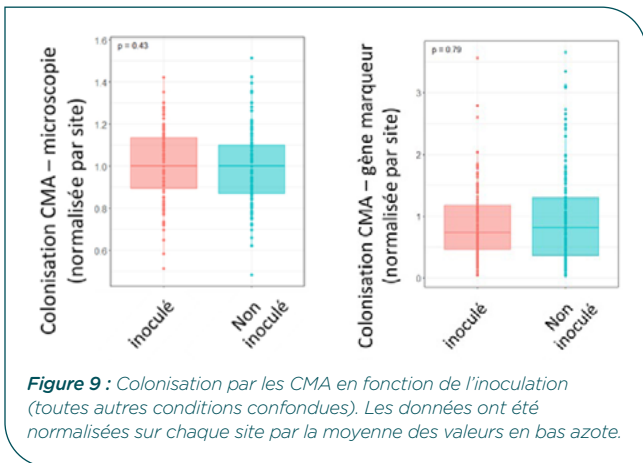


Figure 9 : Colonisation par les CMA en fonction de l'inoculation (toutes autres conditions confondues). Les données ont été normalisées sur chaque site par la moyenne des valeurs en bas azote.

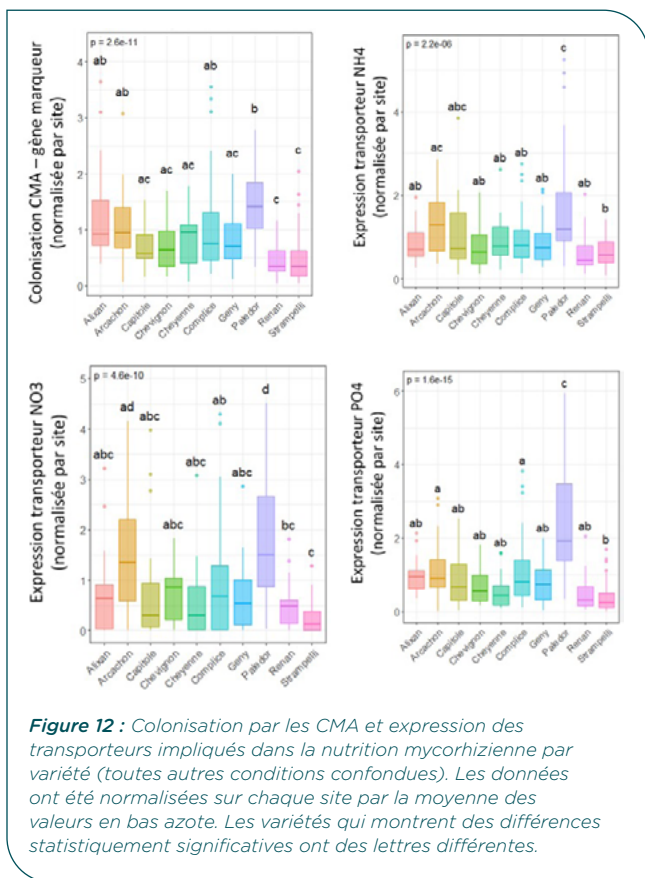
en mesurant l'expression d'un gène marqueur de la colonisation (Figure 8). Les différences de colonisation observées apparaissent plus fortes en utilisant le marqueur moléculaire spécifique de la colonisation mycorhizienne. L'analyse moléculaire en théorie est plus quantitative car elle intègre la densité des structures mycorhiziennes, et pas seulement leur présence comme mesurée par microscopie. Par ailleurs, il est possible que l'analyse en microscopie surestime la colonisation à cause de la difficulté à distinguer les arbuscules formés par les CMA et des structures ressemblantes produites par des champignons endophytiques comme les *Mucoromycotina* fine root endophytes.

Sur l'ensemble des sites, le niveau de fertilisation azotée plus élevé a entraîné une augmentation significative du rendement et de la teneur en protéines du grain de 15% et 7% respectivement, en moyenne sur l'ensemble des variétés. En revanche, la différence de niveau de fertilisation azotée n'a pas eu d'effet sur la colonisation mycorhizienne, quel que soit le site (non montré).

Aucun effet du niveau de l'inoculation par *R. irregularis* n'a été observé sur la colonisation mycorhizienne (Figure 9) et sur les performances agronomiques (Figure 10).

Les deux variétés anciennes (Cheyenne et Strampelli) montrent des rendements faibles et des taux de protéines élevés (Figure 11). Les variétés ont aussi répondu différemment à l'azote, avec en particulier une réponse plus faible chez les variétés anciennes (non montré). Les analyses en microscopie et par analyse d'expression du

gène marqueur de la colonisation par les CMA montrent une plus forte colonisation chez Paledor, confirmée par une plus forte expression des transporteurs impliqués dans la nutrition mycorhizienne (Figure 12).



**Figure 12 :** Colonisation par les CMA et expression des transporteurs impliqués dans la nutrition mycorhizienne par variété (toutes autres conditions confondues). Les données ont été normalisées sur chaque site par la moyenne des valeurs en bas azote. Les variétés qui montrent des différences statistiquement significatives ont des lettres différentes.

### ► Variabilité génétique du blé tendre pour la régulation de la nutrition mycorhizienne en réponse à la fertilisation azotée

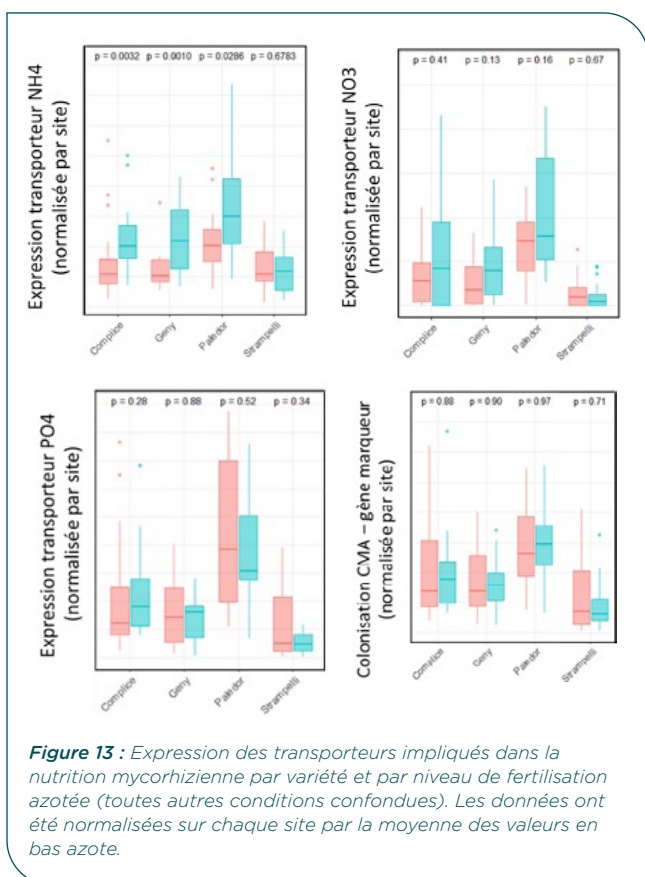
L'effet de la fertilisation azotée sur la nutrition mycorhizienne a été étudié sur 4 variétés. Pour cela, l'expression de transporteurs spécifiquement exprimés dans la membrane periarbusculaire et impliqués dans l'acquisition des nutriments sécrétés par les CMA dans la racine (Chen *et al.*, 2018; Trinquier *et al.*, 2026) a été mesurée par RT-qPCR. La nutrition azotée médiée par la mycorhize, mais pas la nutrition phosphatée médiée par la mycorhize, est plus élevée lorsque la fertilisation azotée est plus faible, sans que le niveau de colonisation soit affecté (Figure 13). Seul le transfert d'ammonium est impacté et pas celui du nitrate. Cela peut s'expliquer par le fait que le transport d'azote dans le mycélium se fait principalement sous forme d'acides aminés, qui sont ensuite dégradés en ammonium pour être transférés aux plantes au niveau des arbuscules. D'autre part, des variations ont été observées entre les variétés. La variété ancienne Strampelli ne montre aucune réponse, ce qui corrèle avec son absence de réponse à l'azote en ce qui concerne le rendement et la teneur en protéines (non montré).

## DISCUSSION

L'inoculation avec une souche de CMA de l'espèce *Rhizophagus irregularis* n'a montré aucun effet sur le niveau global de colonisation mycorhizienne du blé tendre d'hiver, ni sur ses performances agronomiques, quel que soit le niveau colonisation initial. Plusieurs hypothèses peuvent être envisagées: i/ l'inoculation au semis, avant l'hiver, ne permet pas l'implantation de l'inoculum et n'accroît pas le niveau global de colonisation; ii/ La souche utilisée n'est pas adaptée au blé tendre d'hiver, iii/ dans les sites où le niveau de colonisation est élevé, l'inoculum n'est pas compétitif avec les CMA endogènes et dans les sites où le niveau de colonisation est faible, les conditions du sol limitent la colonisation, malgré l'ajout d'inoculum. Bien que l'utilisation d'un inoculum composé d'autres isolats de la même espèce ou d'un mélange d'espèces de CMA pourrait être envisagée comme alternative, ces résultats suggèrent que l'inoculation n'est pas le levier le plus prometteur pour améliorer l'efficacité de la nutrition mycorhizienne chez le blé tendre d'hiver. D'autres leviers, comme le travail du sol ou la couverture du sol, pourraient permettre d'améliorer le potentiel des CMA endogènes.

Au-delà de l'absence d'effet de l'inoculation, les résultats obtenus montrent la complexité de l'étude de la mycorhize chez le blé tendre d'hiver et mettent en évidence l'importance des interactions entre facteurs génétiques et environnementaux dans la régulation de la colonisation et de son fonctionnement.

Tout d'abord, la forte régulation de la colonisation mycorhizienne en fonction du statut nutritionnel chez le blé, comme chez d'autres espèces, confirme l'hypothèse d'une régulation contrôlée par la balance coûts-bénéfices pour la plante hôte. Lorsque les nutriments sont abondants, l'investissement nécessaire au maintien du champignon peut excéder les bénéfices nutritionnels, conduisant à une inhibition de l'interaction. La variabilité génétique du blé tendre pour cette régulation pourrait



**Figure 13 :** Expression des transporteurs impliqués dans la nutrition mycorhizienne par variété et par niveau de fertilisation azotée (toutes autres conditions confondues). Les données ont été normalisées sur chaque site par la moyenne des valeurs en bas azote.

s'expliquer par des différences dans les coûts et/ou les bénéfices de la mycorhize entre les variétés ou par des différences dans la capacité à percevoir la balance coûts - bénéfices ou à contrôler la colonisation mycorhizienne entre les variétés. Des variations du taux de colonisation mycorhizienne ont aussi été observées entre variétés à des temps précoces (Tableau 1), plus tardifs (Figure 5) et au champ (Figure 12).

Au cours des essais au champ, une forte variabilité du niveau de colonisation du blé tendre d'hiver par des CMA a été mesurée entre les sites expérimentaux, et cela indépendamment du niveau de fertilisation, suggérant qu'au-delà du statut nutritionnel, d'autres paramètres affectent fortement le niveau de colonisation. L'hypothèse d'un faible réservoir en CMA endogènes est peu probable car l'ajout d'un inoculum n'a pas changé le taux de colonisation observé. Pour aller plus loin, il faudrait tester en conditions contrôlées le potentiel mycorhizogène des différents sols et déterminer si des paramètres du sol affectent la colonisation mycorhizienne du blé.

L'étude de la réponse de croissance mycorhizienne du blé tendre d'hiver en conditions contrôlées par des approches d'inoculation de plantes cultivées en pots s'est révélée complexe et peu reproductible en fonction des expériences. L'utilisation de volumes restreints de substrats inertes et d'une nutrition minérale limite l'intérêt de la mycorhize pour récupérer des nutriments au-delà du volume de sol/substrat exploré par le système racinaire. L'utilisation d'un système double compartiment pour créer une zone non accessible aux racines et d'un hôte intermédiaire (le plantain) pour tamponner des variabilités de qualité de l'inoculum montre un potentiel pour ces études, mais d'autres optimisations sont nécessaires pour obtenir un système expérimental robuste. Cela inclut l'utilisation d'autres substrats ou du sol stérilisé et réinoculé

avec des microorganismes autres que les CMA, une fertilisation minérale insoluble ou organique, des phases de stress abiotique comme du stress hydrique... Alternativement, le développement de lignées de blé incapables de mycorhizer, comme développées pour le maïs (Ramírez-Flores *et al.*, 2020), et l'introgession des allèles conduisant à ce phénotype représentent une opportunité pour mesurer la réponse mycorhizienne au champ.

Les résultats concernant la stimulation de résistance aux pathogènes par la mycorhize sont particulièrement prometteurs. La stimulation de la résistance à la septoriose, indépendamment du niveau de colonisation, suggère l'existence de mécanismes moléculaires spécifiques impliquant la modulation des voies de défense de la plante. Cette stimulation de résistance a été observée chez trois variétés, dont Alixan, et concorde avec des travaux publiés récemment (Allario *et al.*, 2025) dans lesquels la stimulation de résistance à la septoriose chez Alixan a été montrée en utilisant une autre espèce de champignon mycorhizien, *Funneliformis mosseae*, et une autre souche de *Z. tritici*.

En conclusion, la variabilité génétique du blé tendre pour la régulation de la colonisation mycorhizienne, la régulation des échanges nutritifs et la stimulation de la résistance à la septoriose suggère l'existence de déterminants génétiques contrôlant l'interaction avec les CMA et représente une opportunité pour la sélection de variétés adaptées aux systèmes agricoles à faibles intrants. Les variétés Paledor et Strampelli, des variétés moderne et ancienne respectivement, apparaissent particulièrement intéressantes pour continuer ces études car elles montrent des réponses contrastées sur l'ensemble de ces traits. L'étude d'une descendance issue d'un croisement entre ces variétés permettrait de déterminer l'architecture génétique qui contrôle chacun de ces traits.

## Références bibliographiques

- Cameron D, Neal A, van Wees S, Ton J.** (2013) Mycorrhiza-induced resistance: more than the sum of its parts? Trends Plant. Sci. 18: 539-545.
- Chen A, Gu M, Wang S, Chen J, Xu G.** (2018). Transport properties and regulatory roles of nitrogen in arbuscular mycorrhizal symbiosis. Semin. Cell. Dev. Biol. 74: 80-88.
- Allario T, Krzyzaniak Y. et al.** (2025). Defense responses related to mycorrhizal-induced resistance in wheat against *Zymoseptoria tritici*. Biological Control 203: 105729.
- Fiorilli V, Vannini C. et al.** (2018). Omics approaches revealed how arbuscular mycorrhizal symbiosis enhances yield and resistance to leaf pathogen in wheat. Sci. Rep. 8: 9625.
- Giovannett, M, Mosse, B.** (1980). An Evaluation of Techniques for Measuring Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Infection in Roots. New Phytol. 84: 489-500.
- Hetrick BAD, Wilson GWT.** (1992). Mycorrhizal dependence of modern wheat cultivars and ancestors: A synthesis. Can. J. Bot. 70: 2032-2040.
- Lehnert H, Serfling A, Friedt W, Ordon F.** (2018). Genome-Wide Association Studies Reveal Genomic Regions Associated With the Response of Wheat. Front. Plant. Sci. 9: 1728.
- Maviane-Macia F, Ribeyre C, et al.** (2019). Experimental system and image analysis software for high throughput phenotyping of mycorrhizal growth response in *Brachypodium distachyon*. BioRxiv, doi.org/10.1101/779330.
- McGonigle TP, Miller MH, et al.** (1990). A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. New Phytol. 115 : 495-501.
- Mustafa G, Randoux B, et al.** (2016). Phosphorus supply, arbuscular mycorrhizal fungal species, and plant genotype impact on the protective efficacy of mycorrhizal inoculation against wheat powdery mildew. Mycorrhiza 26: 685-697.
- Nouri E, Breuillin-Sessoms F, Feller U, Reinhardt D.** (2014). Phosphorus and nitrogen regulate arbuscular mycorrhizal symbiosis in *Petunia hybrida*. PLoS One 9: e90841.
- Pellegrino E, Opik M, Bonari E, Ercoli L.** (2015). Responses of wheat to arbuscular mycorrhizal fungi: A meta-analysis of field studies from 1975 to 2013. Soil. Biol. Biochem. 84: 210-217.
- Ramírez-Flores MR, Perez-Limon S, et al.** (2020) The genetic architecture of host response reveals the importance of arbuscular mycorrhizae to maize cultivation. Elife 9: e61701.
- Smith S, Read D.** (2008). Mycorrhizal Symbiosis, 3rd Edition. Academic Press (Etats-unis), 787p.
- Trinquier M, Lecloux E, et al.** (2026). Interactive effects of soil phosphorus and nitrogen availability on mycorrhiza-mediated nutrition in wheat. Plant Soil: in press.
- Verzeaux J, Roger D, et al.** (2016). In Winter Wheat, No-Till Increases Mycorrhizal Colonization thus Reducing the Need for Nitrogen Fertilization. Agronomy 6.
- Xavier LJC, Germida JJ.** (1998). Response of spring wheat cultivars to *Glomus clarum* NT4 in a P-deficient soil containing arbuscular mycorrhizal fungi. Can. J. Soil. Sci. 78: 481-484.
- Zhang S, Lehmann A, Zheng W, You Z, Rillig MC.** (2019). Arbuscular mycorrhizal fungi increase grain yields: a meta-analysis. New. Phytol. 222: 543-555.

## ANNEXES

**MYCOBLE**  
Variabilité génétique du blé tendre pour les réponses aux champignons mycorhiziens à arbuscules

**VARIABILITÉ GÉNÉTIQUE DU BLÉ TENDRE POUR LA COLONISATION MYCORHIZIENNE ET L'EFFET DE LA DISPONIBILITÉ EN N ET P**

**EFFET DE LA CINÉTIQUE DE COLONISATION PAR LE CHAMPIGNON MYCORHIZIEN R. IRREGULARIS SUR LA RÉPONSE DE CROISSANCE MYCORHIZIENNE**

**LA RÉGULATION DE LA FERTILISATION AZOTÉE**

**TÉLÉCHARGER LE POSTER**

# MESSAGE : Modélisation et Evaluation des composantes de la réSiStance Au GEI des céréales

Jean-Charles DESWARTE<sup>1\*</sup>, Elyse CHAMPIGNEULLE<sup>2</sup>, Valérie DUFAYET<sup>3</sup>, Guillaume BARRAL-BARON<sup>4</sup>, Gemma MOLERO<sup>4</sup>, Gabriel BEUDIN<sup>5</sup>

1 - ARVALIS - Station de Villiers-le-Bâcle - ZA des Graviers, Route de Châteaufort, 91190 VILLIERS-LE-BACLE

2 - ARVALIS - Station de Châlons-en-Champagne - Complexe agricole du Mont Bernard, 51035 CHALONS-EN-CHAMPAGNE

3 - INRAE Unité expérimentale du Domaine d'Epoisses - Domaine expérimental d'Epoisses, 21110 BRETENIERE

4 - KWS-MOMONT - 7 Rue de Martinval, 59246 MONS-EN-PEVELE

5 - RAGT 2n - 1 route d'Epincy, 28150 LOUVILLE-LA-CHENARD

\**Coordinateur du projet* : Jean-Charles DESWARTE, [jc.deswarte@arvalis.fr](mailto:jc.deswarte@arvalis.fr)

## INTRODUCTION

Les céréales à paille sont sensibles aux froids importants tout au long de leur cycle, avec des variations notables en fonction du stade et des conditions d'apparition du froid. En France, les gelées hivernales intenses et/ou brutales sont celles susceptibles d'être les plus pénalisantes à l'échelle de la culture, tel qu'en 2003 et 2012.

La résistance des céréales au froid n'est pas entièrement constitutive, elle s'acquiert chez les céréales dont le génotype le permet, au gré des expositions à des températures progressivement froides (entre 0 et 10°C (Fowler *et al.*, 1999)) qui jouent le rôle de stimulus (Jan *et al.*, 2009).

### ► Effets physiologiques du froid sur les plantes et adaptations

Lorsque la température devient négative, de la glace se forme dans l'espace intercellulaire (Pearce, 2001). La formation de glace induit une diminution du potentiel osmotique en dehors des cellules, entraînant un transfert d'eau. Les températures négatives créent ainsi une déshydratation cellulaire (Jan *et al.*, 2009). La résistance au froid passe ainsi notamment par l'accumulation de protéines impliquées dans la synthèse des sucres solubles. Les variétés de blé résistantes au gel présentent un faible contenu hydrique et des concentrations importantes en proline et sucres solubles. A ce jour, la résistance au stress osmotique est la cause de résistance au froid la plus développée (Bao *et al.*, 2022).

La rupture de la membrane plasmique est également citée comme une cause importante des dommages causés par le froid sur les plantes (Dowgert and Steponkus, 1984; Jan *et al.*, 2009; Chen *et al.*, 2014). En effet, les faibles températures impactent la fluidité membranaire.

### ► La résistance au froid : un caractère quantitatif qui évolue

La résistance au froid est permise par la co-expression de gènes de fonction et de régulation (Chen *et al.*, 2014). Des centaines de gènes ont été identifiés comme impliqués dans la résistance au gel pour certaines espèces sans pouvoir toutefois toujours comprendre leur rôle spécifique. On trouve à la fois des gènes codant des protéines de structure protégeant directement la plante du stress thermique et des gènes de régulation codant des facteurs de transcription, des enzymes et des kinases en lien avec la synthèse d'hormones (Winfield *et al.*, 2010). Les gènes de résistance au froid regroupés sous l'acronyme COR

(Cold regulated) ont été identifiés dans plusieurs espèces. Cependant, les protéines codées par ces gènes sont différentes d'une espèce à l'autre, bien que leur expression confère toujours une résistance au froid (Chen *et al.*, 2014).

Des gènes bien connus impliqués dans la vernalisation semblent aussi avoir un effet sur la résistance au froid. Le gène *vrn1*, ou d'autres gènes proches de celui-ci sur le chromosome 5A notamment, seraient impliqués dans les processus de la résistance au froid (Fowler *et al.*, 1999). La tolérance au froid peut donc être envisagée comme un facteur quantitatif (Fowler *et al.*, 1999). La résistance au gel d'une variété ne peut se résumer simplement à son génotype : l'historique des stimuli reçus par la plante conditionne son niveau de résistance.

### ► Evolution et modélisation de la résistance au froid au cours du cycle

Les évolutions de température engendrent des modifications de niveau de résistance au froid :

- L'*acclimatation* ou *endurcissement* est un phénomène long et progressif accentuant les mécanismes de résistance au froid. Il peut durer quelques jours à quelques semaines, avec des températures froides mais positives, de 0 à environ 10°C (Vaitkeviciūtė *et al.*, 2022). Il existe une relation inverse entre la vitesse d'acclimatation et la température (Lecomte *et al.*, 2003). Lorsque l'acclimatation est complète, le froid négatif auquel la plante peut résister atteint un minimum appelé « *résistance seuil* », dépendant du stade de développement et du génotype. Pour les variétés de blé tendre cultivées en France, la résistance seuil s'étend de -12°C pour les variétés les moins résistantes à -32°C pour les variétés les plus résistantes. Le nombre de jours nécessaires à l'acclimatation complète est lui aussi génotype dépendant (Lecomte *et al.*, 2003)
- Le *désendurcissement* est une diminution partielle ou complète de la capacité à résister au froid, induite par des températures plus douces (>10°C) (Winfield *et al.*, 2010). Gusta and Fowler (Gusta and Fowler, 1976) suggèrent une désacclimatation complète après 5 jours à 20°C. Même en maintenant les conditions propices à l'acclimatation, la capacité de plantes à résister au froid diminue progressivement après un certain temps (Gusta & Fowler, 1976). Cette désacclimatation progressive de céréales témoigne de l'incapacité à maintenir la suractivation des gènes d'expression de la tolérance au froid (Mahfoozi, 2001).

- Le *réendurcissement* ou *réacclimatation* est possible si des épisodes de froid se présentent à nouveau (Vaitkeviciūtė *et al.*, 2022). Néanmoins, Gusta et Fowler (1976) ont montré que la résistance au froid acquise par réacclimatation est inférieure à celle acquise initialement lors de la première acclimatation. Par ailleurs, la réacclimatation ne semble possible seulement si le processus de vernalisation n'est pas achevé (Trischuk *et al.*, 2014). En effet la transition florale est reconnue comme une étape charnière à partir de laquelle l'activation des gènes de tolérance au froid est nettement diminuée (Mahfoozi *et al.*, 2001).

La mise au point de modèles mécanistes sur la résistance au gel permet de faire la synthèse des connaissances sur ce sujet (Lecomte *et al.*, 2003; Fowler *et al.*, 2014) et de mieux comprendre le comportement des cultures au champs. En 2003, Lecomte et al mettent au point un modèle qui vise à déterminer la résistance de la culture jour après jour, en fonction de la température moyenne du jour, de l'état journalier d'acclimatation et du stade de développement. Les principales limites de ce modèle sont la non-prise en compte des alternances de gel-dégel qui diminuent progressivement les capacités d'endurcissement des plantes et de l'approche de l'initiation florale qui réduit la résistance maximale pouvant être atteinte (Lecomte *et al.*, 2003).

L'utilisation des modèles rend possible la simulation de nombreux scénarii climatiques différents pour une grande diversité d'idéotypes adaptés aux conditions de différentes régions, notamment dans un contexte de changement climatique (Fowler *et al.*, 2014).

### ► Evaluation de la résistance au froid pour l'inscription

Lors de l'inscription d'une nouvelle variété de blé tendre, sa résistance au gel est évaluée (notée de 1 : très sensible à 9 : très résistant). Elle est notamment testée pendant 2 années en conditions semi-contrôlées, sur le site de Chaux-des-Près (39). Ce site a été choisi car sa situation géographique et topologique permet des hivers froids, avec des températures minimales annuelles souvent inférieures à -20°C. En général, la dynamique d'évolution des températures au cours de l'hiver permet que les plantes soient acclimatées au moment où une vague de froid intense se déclare et les températures, alors assez négatives, assurent de pouvoir tester la résistance des différentes variétés. Des toits mobiles y sont installés, permettant une couverture provisoire des essais en cas de chute de neige.

L'utilisation parallèle du modèle dynamique de Lecomte et al (2003) permet de qualifier le scénario de froid, et notamment le niveau d'endurcissement théorique. Les écarts de comportement des variétés au modèle peuvent ainsi renseigner sur des particularités de vitesse d'endurcissement ou de résistance maximale.

### ► Conséquences du changement climatique sur la résistance variétale

Le changement climatique actuel implique une hausse tendancielle des températures, y compris hivernales. Plusieurs études menées sur différents indicateurs climatiques (températures, taux de CO<sub>2</sub>, etc) mettent en avant un effet "rupture" de l'impact du changement climatique sur l'évolution de ces indicateurs, en Europe

notamment, grâce à différentes méthodes statistiques (Brulebois *et al.*, 2015; Reid *et al.*, 2016; Castel *et al.*, 2017).

Le facteur climatique impactant le plus le développement de la résistance au gel est la température. Son évolution devrait donc modifier les dynamiques d'endurcissement-déendurcissement et ainsi impacter les risques de dégâts de gel par défaut d'endurcissement (Vaitkeviciūtė *et al.*, 2022). De plus, l'augmentation des températures favorise un développement phénologique plus rapide des céréales d'hiver et donc une transition florale plus précoce. Or la résistance au gel est diminuée une fois ce stade passé. Des dégâts de gel tardif, en fin d'hiver, pourraient donc devenir plus fréquents dans le futur (Lamichhane, 2021). La campagne agricole 2011-2012 a été particulièrement marquée par ce phénomène : après un automne et début d'hiver plutôt doux, une vague de gel soudaine est survenue, générant des dégâts importants.

Selon une étude menée sur pois (Castel et al en 2017), le réchauffement climatique a un effet plus complexe qu'il n'y paraît sur la dynamique de gel. L'intensité en température des gelées devrait diminuer mais la fréquence d'événements de gel devrait s'accroître faute d'endurcissement suffisant (Castel *et al.*, 2017). Ce maintien du risque de gel malgré le réchauffement climatique est qualifié d'effet « paradoxe » du réchauffement climatique (Castel *et al.*, 2017).

## ► MATÉRIEL ET MÉTHODE

Le projet MESSAGE a combiné plusieurs approches : le recours à un réseau d'essais au champ, le développement de tests en conditions contrôlées et l'amélioration et l'utilisation de modèles.

### ► Matériel végétal

27 variétés de blé tendre d'hiver (*Triticum aestivum*) ont été utilisées : 20 variétés commerciales modernes (anonymisées, de niveau de résistance connu) et de 9 témoins utilisées à Chaux-des-Près (par ordre croissant de résistance au froid, chacun représentatif d'une note sur l'échelle de résistance CTPS): Rex (1), Magali (2.5), Champlain (3), Cappelle (4.5), Capitole (6), Moisson (7), Korelli (7.5), Comtal (9) et Cheyenne (9+). Pour les essais en conditions contrôlées, Cheyenne n'a pas été incluse.

### ► Réseau d'essais au champ ou en conditions semi-contrôlées

Les 29 variétés ont été exposées à des conditions hivernales contrastées dans 8 sites distincts (fig 1) :

Conditions	Site	20-21	21-22	22-23
Champ	Varsovie (PL)	X	X	X
Champ	Zosin (PL)	X	X	
Champ	Radawiec (PL)	X	X	
Champ	Cicibor (PL)			X
Champ	Champaign (USA)			X
Champ	St Hilaire en W (F)	X	X	X
Bacs exté.	Hohenheim (All)	X	X	X
Altitude, couv. mob.	Chaux-des-Près (F)	X	X	X

Figure 1 : tableau récapitulatif des dispositifs utilisés pour l'évaluation multisite en conditions de plein champ ou semi-contrôlées.

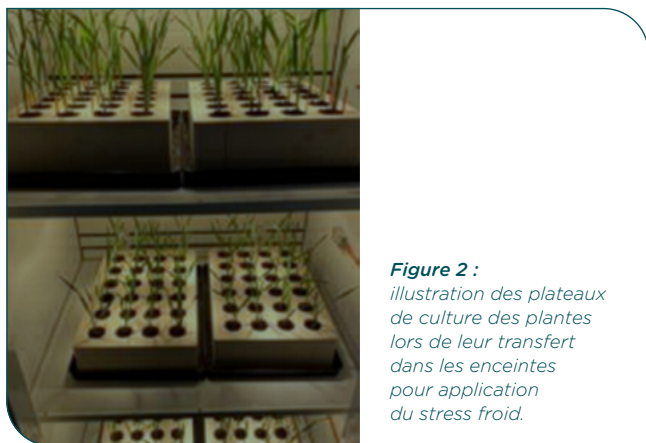
Les conditions de conduite des essais étaient standard (dates de semis, conduite). Les notations de dégâts de gel consistaient en une intensité de nécroses foliaires, et étaient réalisées entre 2 et 4 fois au cours de l'hiver. Les données climatiques disponibles pour caractériser le scénario climatique étaient soit issues de capteurs situés sur le site, soit de stations météorologiques proches. Seuls les essais présentant des dégâts de gel sur les témoins variétaux de résistance de niveau 7 ou plus ont été retenus. Un premier modèle à l'échelle de l'essai est établi pour estimer une moyenne ajustée des dégâts par variété. Un second modèle linéaire mixte est ensuite mis en œuvre en prenant en compte un effet variétal fixe et un effet essai aléatoire.

### ► Essais en conditions contrôlées

Deux ensembles d'enceintes climatiques ont été mobilisées sur le site de Boigneville (91) :

- une enceinte Strader (température réglable de +5 à +30°C, humidité relative entre 80 et 95%), utilisée pour la croissance préalable au stress, et la reprise de végétation
- deux enceintes Aria (température réglable de -30°C à +20°C) utilisées pour imposer un stress froid

Des plateaux en polystyrène extrudé perforés ont été utilisés pour cultiver des plantes individuelles : chaque plateau (env. 30x45 cm) contient 24 puits remplis de terreau (env. 100cm<sup>3</sup>) dans lequel pousse une plante. Chaque enceinte Aria pouvant recevoir 6 plateaux, 144 plantes sont testées simultanément (fig 2). Pour corriger l'hétérogénéité interne à chaque chambre Aria, un dispositif en alpha-plan avec répétition des variétés témoins a été appliqué.



**Figure 2 :**  
illustration des plateaux de culture des plantes lors de leur transfert dans les enceintes pour application du stress froid.

Après 21 jours de croissance (10-15°C) post-semis en enceinte Strader, les plateaux sont transférés dans les enceintes Aria pour une période d'acclimatation au froid (21 jours à 2-4°C), avant l'application du stress froid pendant 2 jours (descente progressive de la température jusqu'à -17°C), puis 7 jours de sortie de stress (2-4°C) et une phase de reprise de végétation (14j à 10-15°C). Les notations de dégâts, visuelles, sont réalisées à 1, 2 et 3 semaines après l'application du stress.

Chaque expérimentation (144 plantes) a été répétée 8 fois ; ainsi, chaque génotype a été observé entre 36 et 43 fois pour les variétés commerciales et 47 à 48 fois pour les témoins. Les résultats ont été analysés à l'aide d'un modèle mixte intégrant la spatialisation

dans les enceintes climatiques, l'essai et le génotype ; la comparaison entre génotypes a été réalisée à l'aide des packages emmeans et multcomp sous R.

### ► Amélioration du modèle dynamique de résistance au froid (d'après Lecomte et al, 2003)

Différents jeux de données ont été combinés pour permettre de tester et d'améliorer le modèle dynamique de Lecomte et al (2003) :

- l'historique des observations sur les variétés témoins sur le site de Chaux-des-Prés (2004 à 2018)
- des données d'essais au champ issus d'Arvalis, lors d'hivers froids avec des dégâts observés (1997 à 2012)
- les données d'essais au champ collectées pendant le projet MESSAGE
- des observations dédiées réalisées à Chaux-des-Prés sur des modalités dédiées : variation de la date de semis et ombrage

Pour chaque situation, les données climatiques journalières (Tmin et Tmax, Rayonnement) et les notations de dégâts foliaires ont été rassemblées.

Les modifications du modèle portaient sur 2 aspects, traités simultanément :

- la prise en compte du rayonnement
- l'intégration de la transition florale

Les améliorations ont été évaluées par validation croisée, en calculant la sensibilité, la spécificité et le taux de bonnes prédictions du modèle enrichi par rapport au modèle initial.

### ► Evolution temporelle des dégâts de froid sur les blés français

Les données climatologiques de 1955 à 2022 ont été mobilisées sur 11 stations météorologiques Météo France d'un grand quart Nord-Est de la France. Plutôt que d'analyser des données climatiques brutes, le choix a été fait d'avoir recours au modèle de Lecomte et al (2003) pour évaluer l'existence et l'intensité des dégâts. Les hypothèses de date de semis ont été établies pour chaque station sur la base des dates de semis moyennes déclarées dans les enquêtes réalisées par le Service Central d'Etude et d'Enquêtes Statistiques (SCEES) du Ministère de l'Agriculture de 2006 et 2011, et étendues à l'ensemble de la période de simulation.

Une première étape a consisté en l'analyse temporelle, et l'identification d'une discontinuité dans la chronologie des dégâts d'après la méthode décrite par Rodionov (2004), en travaillant sur 12 combinaisons de niveau de résistance x durée d'endurcissement. La seconde a été de simuler, pour chaque période historique, 27 idéotypes différents (9 niveaux de Rseuil x 3 durées d'endurcissement) pour chaque station afin d'identifier l'impact respectif des paramètres de résistance au froid pour limiter les dégâts.

## ► RÉSULTATS

### ► Screening variétal multisite

Les essais réalisés au champ ont été globalement faiblement affectés voire complètement épargnés par les dégâts de gel, en particulier pour ceux réalisés en Pologne et en Lorraine, rendant la distinction variétale impossible. Par conséquent, sur les 12 essais menés au

champ, 5 d'entre eux sont totalement inutilisables pour la discrimination variétale.

Les essais en conditions semi-contrôlées, menés à Chau-des-Prés et Hohenheim présentent des dégâts de gel importants permettant la notation des variétés sur leur capacité à résister au gel à partir de leurs symptômes.

A l'échelle du réseau, l'effet essai explique 73% de la variance des notations, contre 17% pour l'effet variétal et 9% pour l'interaction Essai : Variétés. L'effet variétal est par conséquent faiblement significatif ( $p$  value = 0.1). Les notations sur ce réseau permettent donc difficilement d'obtenir des groupes de résistance au gel significativement différents (fig 3). Ainsi le réseau d'essais mis en œuvre au cours des 3 années du projet MESSAGE est davantage représentatif de la variabilité de dégâts de gel entre les lieux d'essais, que de la capacité des différentes variétés à résister au gel.

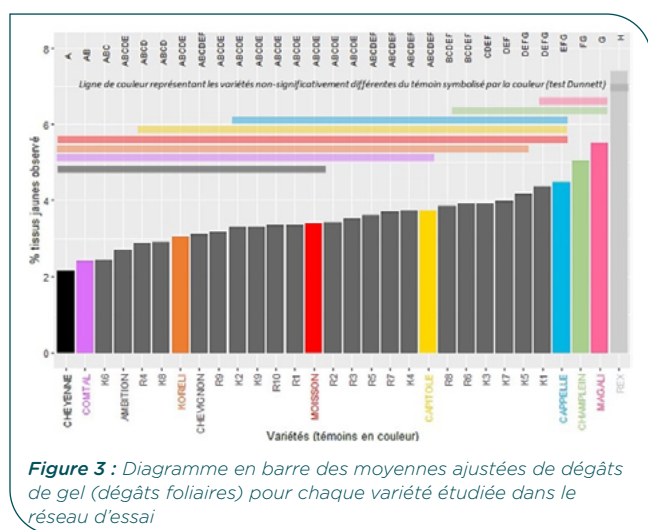


Figure 3 : Diagramme en barre des moyennes ajustées de dégâts de gel (dégâts foliaires) pour chaque variété étudiée dans le réseau d'essai

La matrice d'interaction ci-dessous (fig 4) précise l'effet de l'interaction Essai x Variété pour chaque modalité d'essai (Lieu x année) et pour chaque variété. Comtal, témoin très résistant au gel, est ainsi classé plus résistant dans certains essais (disques creux : Chau-des-Prés, Champaign) et moins résistant pour d'autres (disques noirs pleins : Varsovie et Hohenheim 2022). L'instabilité variétale de la résistance au gel mise en évidence par ce réseau d'essai s'explique par la diversité des scénarii de gel que représentent les différents essais du réseau.

La modélisation du développement de la résistance au gel grâce au modèle permet d'interpréter les différences entre ces deux groupes d'essais en termes de scénarii de gel. Le groupe d'essai Chau-des-Prés 2023 et Champaign est climatiquement caractérisé par un pic de froid précoce dès le début de la période hivernale sans mise en place progressive des températures négatives. En effet, le nombre de jours avec une température permettant l'acclimatation ( $0 < T_{moy} < 10^{\circ}C$ ) est trop faible pour permettre un développement suffisant de la résistance au gel. Le regroupement des essais de Varsovie et de Hohenheim 2021 se caractérise quant à lui par des températures négatives moins faibles que pour l'autre groupe. Les gels sont globalement moins intenses et, lorsqu'ils se produisent, la température moyenne des jours précédents a permis l'acclimatation au froid ce qui limite donc les dégâts.

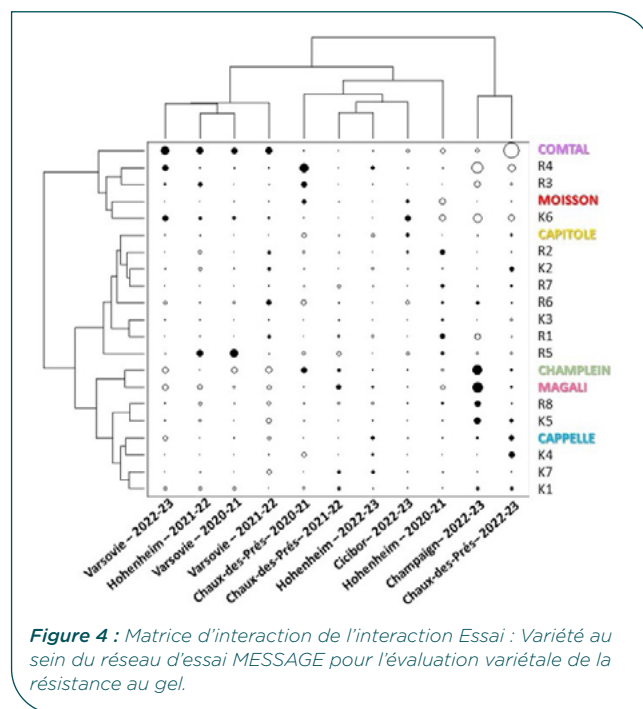


Figure 4 : Matrice d'interaction de l'interaction Essai : Variété au sein du réseau d'essai MESSAGE pour l'évaluation variétale de la résistance au gel.

Finalement, les scénarii climatiques contrastés entre ces deux regroupements d'essais mettent en évidence d'une part des situations d'essais propices au classement variétal sur la résistance au gel et d'autre part des situations où des gels peu intenses ne permettent pas d'obtenir une hétérogénéité de dégâts de gels suffisantes pour permettre une discrimination variétale corrélée avec le classement variétal officiel.

► Validation d'un protocole en conditions contrôlées

Les 8 essais réalisés en conditions contrôlées avaient pour but de valider l'aptitude de ces tests à discriminer les 27 variétés sur leur capacité à résister au gel. Seuls les résultats des notations 14 jours après le stress de gel sont présentés car ce sont les plus discriminants et ceux pour lesquelles la variance est principalement expliquée par l'effet variétal plutôt que par l'effet essai (fig 5).

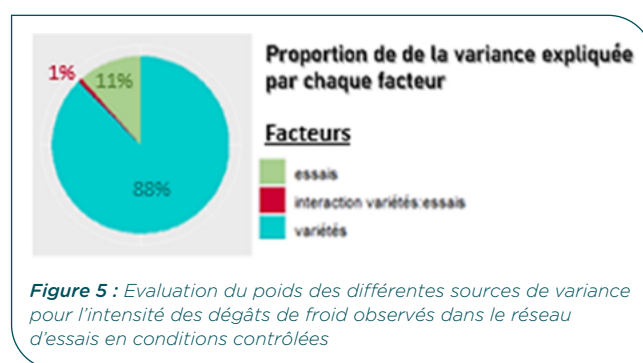


Figure 5 : Evaluation du poids des différentes sources de variance pour l'intensité des dégâts de froid observés dans le réseau d'essais en conditions contrôlées

Sur la figure 6, les variétés sont classées à partir de la moyenne ajustée de dégâts foliaires tous essais confondus. La variabilité des nécroses attestée par les écart-types conduit à une faible capacité de discrimination des variétés entre elles (tests de Tukey). La comparaison des variétés aux huit témoins, par un test de Dunnett, ne permet pas de déterminer des groupes de variétés significativement distincts les uns des autres. En effet, les séries de variétés significativement

différentes de chaque témoin se superposent. Pour autant, 4 groupes de résistance semblent se distinguer :

- un groupe très sensible avec le témoin Rex seul,
- un groupe plutôt sensible correspondant aux témoins Champlein, Magali et Capitole et les variétés commerciales qui n'en sont pas significativement distinctes d'après le test Dunnett,
- un groupe plutôt résistant avec les témoins Korelli, Comtal et Moisson et d'autres variétés commerciales
- un groupe avec la variété K6, très résistante, seule

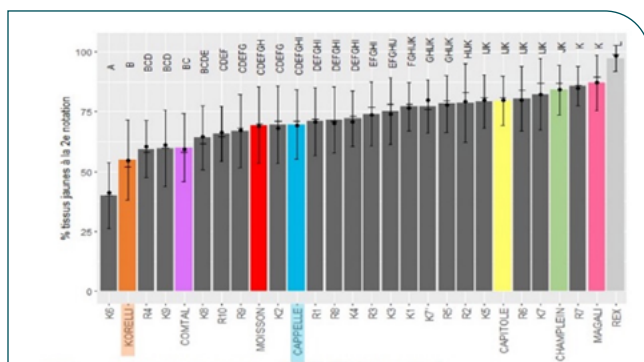


Figure 6 : diagramme de représentation du classement variétal en fonction des niveaux de nécroses observés au terme des essais en conditions contrôlées. Les lettres permettent d'identifier les variétés statistiquement différentes d'après le test de Tukey.

On observe que les dégâts foliaires observés ne sont pas exactement cohérents avec la note de résistance au froid attribuée par le CTPS à chaque variété (fig 7) : Cappelle et Capitole d'une part, et Korreli et Comtal d'autres part présentent des classements différents selon les 2 méthodes.

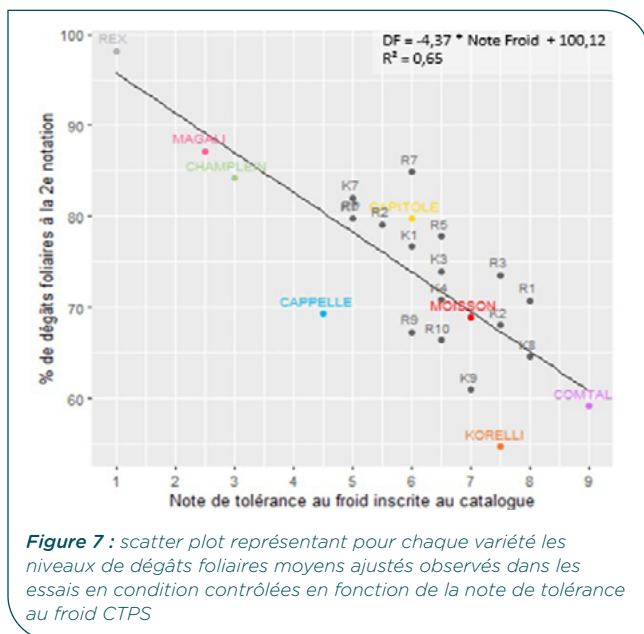


Figure 7 : scatter plot représentant pour chaque variété les niveaux de dégâts foliaires moyens ajustés observés dans les essais en condition contrôlées en fonction de la note de tolérance au froid CTPS

Le protocole tel qu'il a été mis en place ici présente donc une capacité assez limitée à discriminer des variétés : un test de Dunnett appliqué aux données indique, pour le jeu de données accumulé avec 8 essais, une plus petite différence significative de 9% de dégâts foliaires soit environ 2 points de note de froid. Il est possible d'estimer a posteriori le nombre d'essais qui auraient été nécessaires, selon la méthodologie développée ici, pour permettre une

discrimination plus nette entre variétés (fig 8) : entre 12 et 25 essais sont requis pour pouvoir distinguer des variétés avec une « résolution » d'un point de notation CTPS.

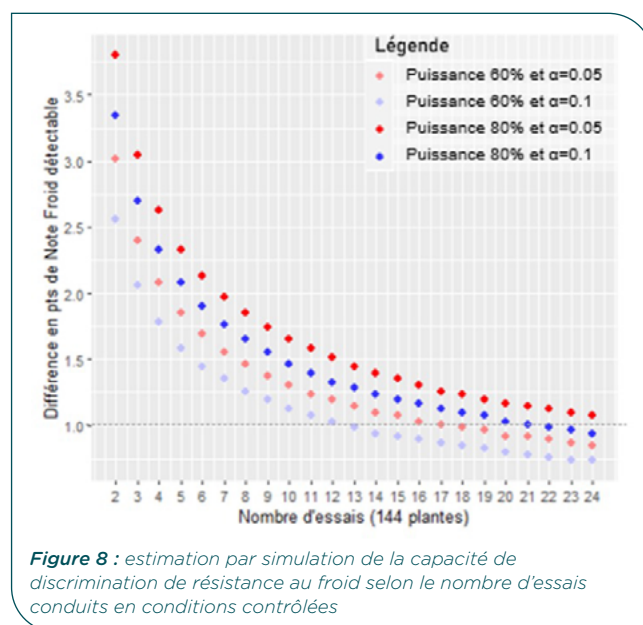


Figure 8 : estimation par simulation de la capacité de discrimination de résistance au froid selon le nombre d'essais conduits en conditions contrôlées

### ► Amélioration d'un modèle dynamique de résistance au froid

Le modèle publié par Lecomte et al (2003) s'appuie essentiellement sur des données recueillies sur le site de Chau-des-Prés, où les conditions de culture, de croissance et d'endurcissement au froid s'éloignent sensiblement des épisodes de gel destructeurs en plaine. Pour cette raison, il présente un taux de bonnes prédictions de 85% à Chau-des-Prés contre 16% sur un jeu de données d'essais au champ Arvalis (Lecombe, comm. pers.)(particularité des données Arvalis : ne sont incluses que des données issues d'essais ayant présentés quelques dégâts de gel). Plusieurs hypothèses sont avancées : l'approche de la transition florale, les niveaux de rayonnement et les alternances-gel-dégel ne sont pas intégrées et peuvent conduire à une fragilisation du couvert. Les deux premières sont explorées à l'aide d'expérimentations dédiées à Chau-des-Prés.

Une première expérimentation modulant le rayonnement a été mise en œuvre en 2021-2022 puis 2022-2023, en positionnant un filet d'ombrage, par comparaison au reste du dispositif dépourvu de filet.

L'effet de l'ombrage est dépendant de l'année (fig. 9), les deux scénarios climatiques étant eux-mêmes très différents. Sur la base de la bibliographie, il est dès lors supposé que l'effet du rayonnement n'est pas linéaire : des rayonnements trop faibles limitent la photosynthèse et donc l'accumulation d'osmolytes et par conséquent ralentissent le processus d'acclimatation (Pocock et al., 2001), alors que des rayonnements trop élevés entraînent de la photoinhibition et la production de ROS.

L'effet date de semis sur les deux années et toutes les notations (effets aléatoires) est significatif au seuil de 5% (fig. 10). L'analyse post-hoc révèle qu'un semis tardif n'engendre pas des dégâts de gel significativement différents d'une date de semis normale, alors qu'un semis précoce conduit à des dégâts foliaires plus importants (+7.5% par rapport au semis normal).

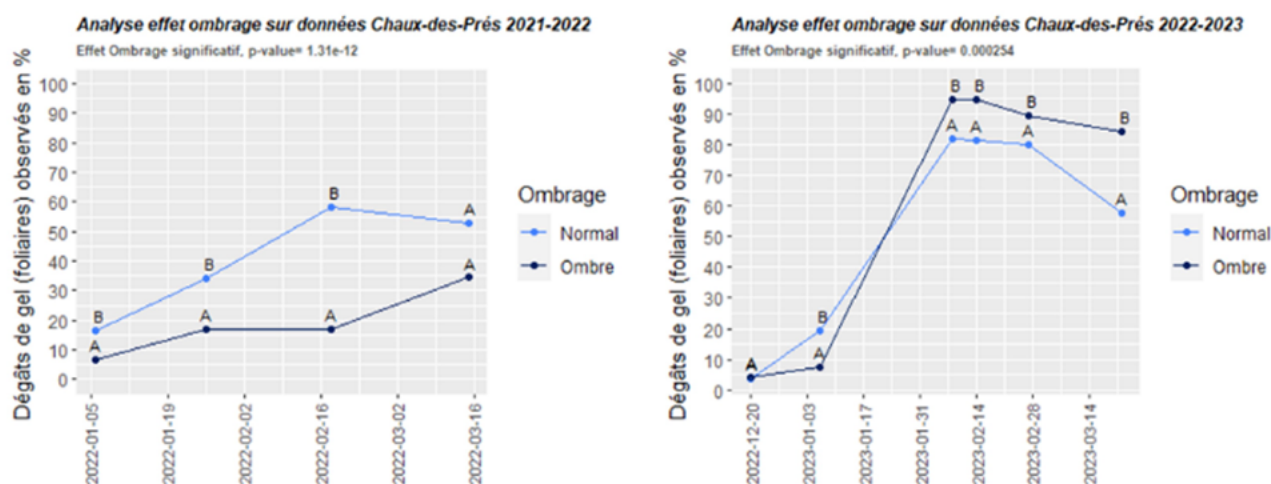


Figure 9 : évolutions chronologiques des dégâts foliaires observés avec et sans ombrage à Chaux des Prés (21-22 et 22-23) (moyennes ajustées avec ou sans ombrage, à chaque notation)

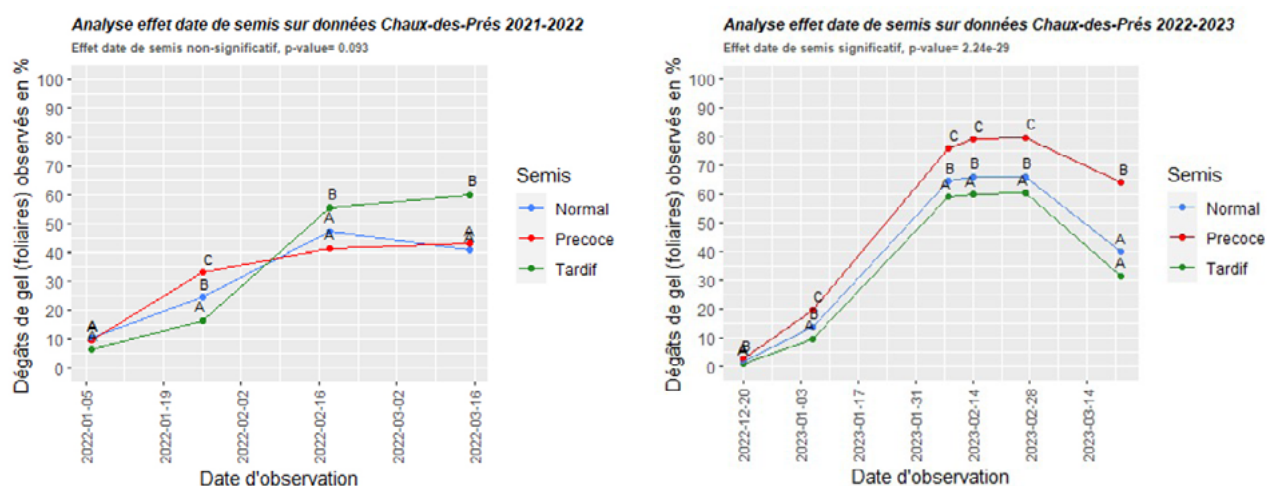


Figure 10 : effet de la date de semis sur les niveaux de dégâts foliaires observés à Chaux-des-Prés (20-21 à 22-23). n=84 par notation (dont 28 pour chaque modalité)

Cependant, en séparant les années d'étude, l'effet date de semis n'est en réalité pas significatif au seuil de 5% en 2021-22 mais l'est largement en 2022-23. Pour 2022-23 les différentes dates de semis ont des effets significatifs 2 à 2 : la date de semis normale entraîne des dégâts de gel 11,5% plus faibles que le semis précoce, mais 5% plus important qu'en semis tardif. L'interaction entre l'effet date de semis et l'effet variétal n'est pas significative. Les dégâts de gel plus importants en 2023, en fin de période hivernale, pour un semis précoce peuvent s'expliquer par une transition florale avancée par rapport aux autres modalités de dates de semis et donc une résistance au gel diminuée.

Deux modules d'amélioration ont été mis au point au cours de ce projet :

- Module de rayonnement : en fixant 2 valeurs de rayonnement seuil décrivant les situations où le rayonnement est limitant à l'acclimatation ou au contraire les cas où le rayonnement, trop important, est source de stress ralentissant l'acclimatation voire causant la désacclimatation.
- Module de passage de la transition florale : A partir de la prédiction du stade épi 1 cm la date de transition florale est estimée et la résistance au gel progressivement réduite.

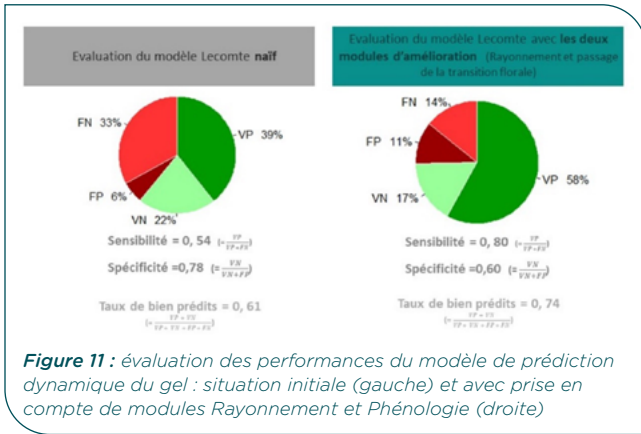
L'intérêt de ces deux modules est testé par validation croisée sur un rassemblement de jeux de données, comptant des essais historiques réalisés par Arvalis en plaine (de 1997 à 2012) et à Chaux -des-Prés (de 2004 à 2018) et à tous les essais menés dans le cadre du projet MESSAGE. Les prédictions du modèle sont jugées en fonction de la cohérence des prédictions avec les observations, toutes évaluées de manière qualitative (présence ou absence de dégâts).

En ajoutant ces deux modules au modèle Lecomte, les capacités de prédiction des dégâts de gel sont améliorées, avec 13% de bien prédits en plus (fig 11).

L'intérêt de chaque module a aussi été testé individuellement en réalisant une évaluation des capacités de prédiction avec le modèle original amélioré par l'un ou l'autre de ces deux modules. Il résulte de cette analyse que le module d'approche de la transition florale n'améliore presque pas les prédictions. Ainsi l'amélioration du modèle de prédiction des dégâts de gel repose surtout sur la prise en compte du rayonnement.

### ► Evolution temporelle des dégâts de froid sur les blés français et réflexions sur les idéotypes requis

Pour la majorité des stations, le cumul de dégâts de gel



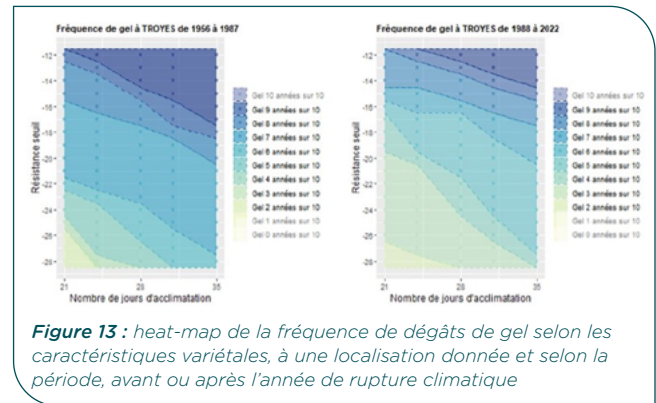
annuel prédit a tendance à diminuer de 1956 à 2022. Plus qu'une tendance globale de diminution, pour certaines localisations, les dégâts de gel semblent fortement diminuer aux alentours du début des années 90, avec des cumuls annuels de dégâts de gel importants avant cette période et nettement plus faibles après celle-ci (fig 12).

Une analyse statistique a été menée en vue de déterminer l'existence d'années de rupture dans la série chronologique des dégâts de gels prédits entre 1956 à 2022, aux 11 localisations choisies. Différentes années de rupture ont été mises en évidence pour chaque cas de figure (Idéotype X localisation). L'année 1987 est celle qui est ressortie pour quasiment tous les cas de figure.

Pour vérifier l'importance de cette rupture dans l'évolution des dégâts de gel, une analyse statistique des dégâts de gel modélisés (cumul sur l'année) avant 1987 et après 1988 est réalisée (modèle linéaire généralisé avec loi binomiale négative). Elle s'avère systématiquement significative (12 idéotypes simulés) pour Strasbourg, Lyon, Bourges, Melun et Trappes, et fréquemment significative (>50% des idéotypes testés) pour Besançon et Metz. Le profil des idéotypes testé influence évidemment le test : les variétés avec une

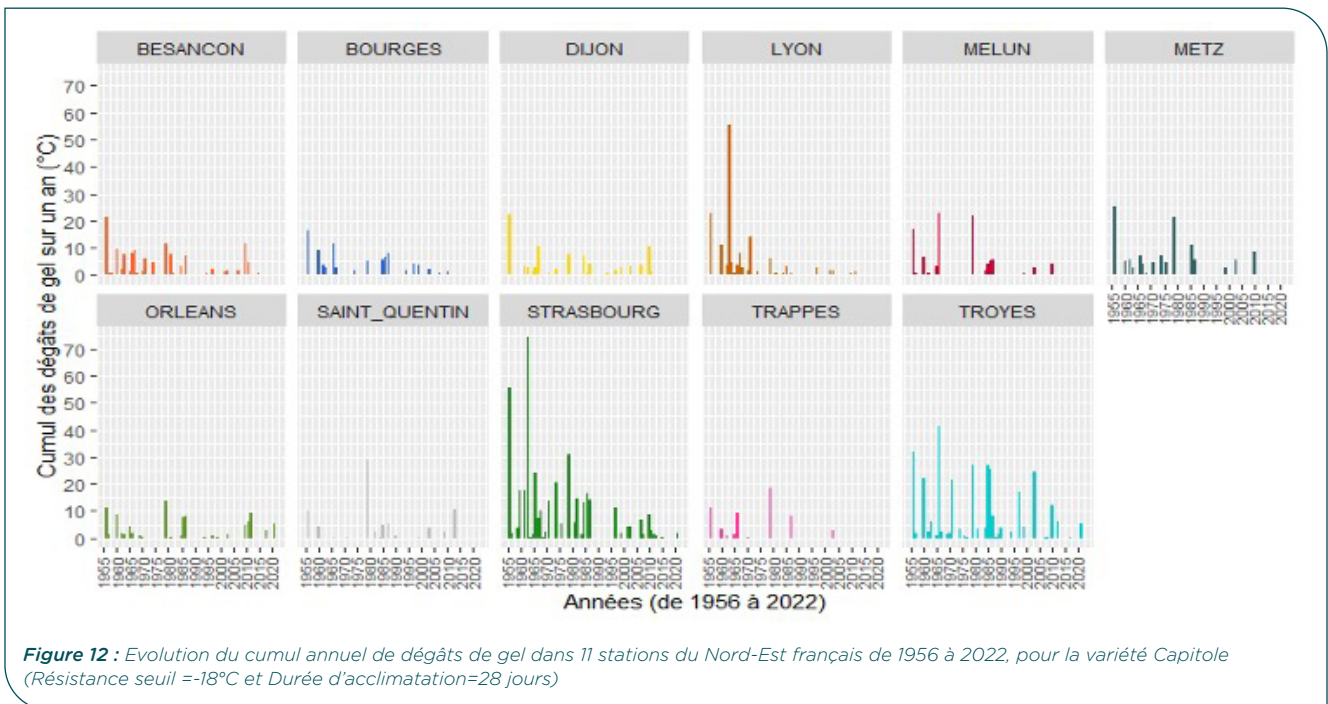
résistance seuil < -24°C montrent moins souvent d'effets significatifs, étant moins affectés par le gel.

Les dégâts de gel, pour les périodes de passé ancien 1956-1987 et de passé récent 1988-2022, sont prédits et permettent de déterminer les fréquences de gel à ces deux périodes en fonction des caractéristiques variétales, pour chaque station étudiée. Ces fréquences de dégâts de gels peuvent être résumées pour chaque période et chaque localisation présentant pour chaque idéotype, c'est-à-dire la combinaison entre une résistance-seuil donnée et une durée d'acclimatation, le risque de gel en nombre d'années de dégâts de gel sur 10 ans. L'exemple pour Troyes est présenté ci-dessous (fig 13).



Pour déterminer quel paramètre est le plus critique pour limiter les dégâts de froid, la comparaison d'idéotypes variant ces deux critères a été testée :

- Référence : variété Capitole de résistance seuil -22°C (Note Froid=6) et de durée d'acclimatation 4 semaines
- Modification de la résistance seuil de +/-6°C, ce qui équivaut à modifier la note Froid de +/-3 points
- Modification de la durée d'acclimatation de +/-1 semaine



Diminuer la résistance seuil ou la durée d'acclimatation permet de réduire significativement la fréquence de dégâts de gel par rapport à la référence Capitole, d'environ 1 année de gel sur 10 ans. Qu'elle porte sur l'un ou l'autre des paramètres, cette modification conduit à une réduction du même ordre de grandeur. Ces observations sont valables pour la période avant 1987 comme pour la période après 1988.

## DISCUSSION

### ► Un risque de gel en baisse tendancielle, mais qui ne disparaît pas

Le changement climatique oriente les températures à la hausse, y compris pendant l'hiver. Cette tendance peut laisser présager des températures minimales moins basses dans le futur qu'au cours du 20<sup>e</sup> siècle, et l'analyse réalisée sur un sous-ensemble de stations météorologiques française démontre que cela se traduit par une baisse théorique des dégâts. Il est cependant nécessaire de rappeler que les effets du froid ne sont pas uniquement liés aux minimales atteintes, mais également aux conditions d'abaissement des températures, qui conditionnent l'ampleur de l'endurcissement des cultures. Il faut d'ailleurs noter que les deux dernières grandes séquences de froid en France (2003 et 2012) ont notamment été destructrices par défaut d'endurcissement.

Il n'a pas été possible d'utiliser les projections climatiques futures (DRIAS) pour estimer le risque de dégâts ; en effet, les températures minimales disponibles dans les simulations présentent un biais qui affecte très directement les sorties du modèle de dégâts ; néanmoins, l'analyse rétrospective démontre que les risques de gel en France ont évolué à la fin du 20<sup>e</sup> siècle, sans pour autant disparaître ; ces résultats sont d'ailleurs cohérents avec des travaux analogues conduits sur pois (Castel *et al.*, 2017).

### ► Les limites de la modélisation pour identifier les idéotypes adaptés

L'utilisation d'un modèle dynamique de résistance au froid est un outil précieux pour raisonner les risques de dégât ; le modèle utilisé ici a surtout été entraîné sur des données de Chaux-des-Prés, et s'avère moins pertinent en plaine. Certaines limitations ont été identifiées : impact des niveaux de rayonnement, effet aggravant des alternances gel-dégel (Willick *et al.*, 2021), impact de la fin de la vernalisation (Bergjord *et al.*, 2008) et de l'approche de la transition florale. Certains de ces éléments ne peuvent cependant pas être aisément explorés -a fortiori au champ- compte-tenu de la non-maitrise des conditions climatiques. Pour ces raisons, la modélisation des dégâts de gel reste imparfaite, notamment dans l'optique d'une projection climatique qui induirait une anticipation phénologique. De plus, les paramètres variétaux du modèle sont peu nombreux (Rseuil et durée d'endurcissement), et la variabilité génétique existante pour la durée d'endurcissement semble relativement restreinte. Ceci limite la gamme d'idéotypes à tester pour identifier des comportements moins fragiles vis-à-vis des stress froids futurs.

### ► Des réseaux d'essais peu efficaces, qui requièrent d'être envirotypés pour les scénarii de gel

L'expérimentation en plein champ comme en conditions semi-contrôlées est aléatoire et peu efficace : les risques de ne pas avoir de niveau de froid discriminant (trop ou trop peu de gel), d'avoir une protection neigeuse ou une hétérogénéité spatiale conduisent à ne pas pouvoir valoriser certains essais (5 sur 12 essais au champ dans le cadre de ce projet). Par ailleurs, les conditions d'apparition du froid génèrent des interactions Génotype x Environnement significatives, partiellement expliquées par une aptitude à s'endurcir différente.

Le recours à un modèle descriptif de l'endurcissement des plantes présente malgré tout une solution pour envirotyper les scénarii de froid et permettre de décortiquer partiellement l'interaction Génotype x Environnement. Cette approche semble néanmoins encore assez peu utilisée dans les analyses génétiques s'intéressant à la résistance au gel (Lohwasser, 2018; Soleimani *et al.*, 2022).

### ► L'utilisation de conditions contrôlées : une option pour sécuriser l'évaluation, mais potentiellement coûteuse

Le recours à des conditions (semi-)contrôlées pour évaluer la résistance du matériel végétal au froid a fait l'objet de développements récents (Geves, comm. pers.). Le protocole développé dans le cadre du projet MESSAGE avait pour vocation à 1. compléter voire se substituer aux procédures standard d'évaluation de la résistance au gel, 2. Créer un outil permettant d'explorer des hypothèses physiologiques de résistance au froid, utilisables pour consolider les modèles dynamiques, 3. Evaluer la faisabilité d'évaluer des panels variétaux pour identifier les facteurs génétiques de résistance au froid. Ainsi, la méthode proposée conduit à des résultats assez bien corrélés ( $r^2=0.65$ ) aux références historiques acquises en conditions semi-contrôlées. Elle reste encore largement perfectible sur les effectifs testés (possibilité de travailler sur des lignes de semis plutôt que sur des plantes individuelles) et sur la méthode de phénotypage (possibilité de valoriser de l'analyse d'image pour objectiver et automatiser l'estimation des dégâts, utilisation d'imagerie hyperspectrale). Elle permet également de procéder à une évaluation rapide (2 mois) et désaisonnalisée de matériel végétal. Les scénarios d'acclimatation et de stress peuvent également être ajustés pour trier les variétés sur leur vitesse d'endurcissement (non testé).

Le recours aux conditions contrôlées peut donc s'avérer être une méthode efficace pour tester du matériel végétal en limitant le nombre d'expérimentations non discriminantes comme elles peuvent l'être au champ. Il s'agit cependant d'expérimentations coûteuses en temps de suivi, en équipement de laboratoire et en fluides et consommables.

## REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier Isabelle Lejeune-Hénaut et son équipe d'avoir permis d'établir une collaboration méthodologique entre le projet FSOV MESSAGE et le projet LEGHIVER

## Références bibliographiques

- Bao, Y., Xing, J., Liang, Y., Ren, Z., Fu, L., Yu, J., et al.** (2022). Analysis of overwintering indexes of winter wheat in alpine regions and establishment of a cold resistance model. *Field Crops Res.* 275, 108347. doi: 10.1016/j.fcr.2021.108347
- Bergjord, A. K., Bonesmo, H., and Skjelvåg, A. O.** (2008). Modelling the course of frost tolerance in winter wheat: I. Model development. *Eur. J. Agron.* 28, 321-330. doi: 10.1016/j.eja.2007.10.002
- Brulebois, E., Castel, T., Richard, Y., Chateau-Smith, C., and Amiotte-Suchet, P.** (2015). Hydrological response to an abrupt shift in surface air temperature over France in 1987/88. *J. Hydrol.* 531, 892-901. doi: 10.1016/j.jhydrol.2015.10.026
- Castel, T., Lecomte, C., Richard, Y., Lejeune-Hénaut, I., and Larmure, A.** (2017). Frost stress evolution and winter pea ideotype in the context of climate warming at a regional scale. *OCL* 24, D106. doi: 10.1051/ocl/2017002
- Chen, L.-J., Xiang, H.-Z., Miao, Y., Zhang, L., Guo, Z.-F., Zhao, X.-H., et al.** (2014). An Overview of Cold Resistance in Plants. *J. Agron. Crop Sci.* 200, 237-245. doi: 10.1111/jac.12082
- Dowgert, M. F., and Steponkus, P. L.** (1984). Behavior of the Plasma Membrane of Isolated Protoplasts during a Freeze-Thaw Cycle'. *Plant Physiol.* 75, 13.
- Fowler, D. B., Byrns, B. M., and Greer, K. J.** (2014). Overwinter Low-Temperature Responses of Cereals: Analyses and Simulation. *Crop Sci.* 54, 2395-2405. doi: 10.2135/cropsci2014.03.0196
- Fowler, D. B., Limin, A. E., and Ritchie, J. T.** (1999). Low-Temperature Tolerance in Cereals: Model and Genetic Interpretation. *Crop Sci.* 39, 626-633. doi: 10.2135/cropsci1999.0011183X003900020002x
- Gusta, L., and Fowler, D.** (1976). Effect of temperature on dehardening and rehardening of winter cereals. *Can. J. Plant Sci. - CAN J PLANT SCI* 56, 673-678. doi: 10.4141/cjps76-107
- Jan, N., Ul-Hussain, M., and Andrabi, K. I.** (2009). Cold resistance in plants: A mystery unresolved. *Electron. J. Biotechnol.* 12, 0-0. doi: 10.2225/vol12-issue3-fulltext-3
- Lamichhane, J. R.** (2021). Rising risks of late-spring frosts in a changing climate. *Nat. Clim. Change* 11, 554-555. doi: 10.1038/s41558-021-01090-x
- Lecomte, C., Giraud, A., and Aubert, V.** (2003). Testing a predicting model for frost resistance of winter wheat under natural conditions. *Agronomie* 23, 51-66. doi: 10.1051/agro:2002068
- Lohwasser, U.** (2018). Searching for Frost Tolerance in Wheat (*Triticum aestivum* L.) – A Genome Wide Association Study.
- Mahfoozi, S.** (2001). Developmental Regulation of Low-temperature Tolerance in Winter Wheat. *Ann. Bot.* 87, 751-757. doi: 10.1006/anbo.2001.1403
- Pearce, R. S.** (2001). Plant Freezing and Damage. *Ann. Bot.* 87, 417-424. doi: 10.1006/anbo.2000.1352
- Pocock, T. H., Hurry, V., Savitch, L. V., and Huner, N. P. A.** (2001). Susceptibility to low-temperature photoinhibition and the acquisition of freezing tolerance in winter and spring wheat: The role of growth temperature and irradiance. *Physiol. Plant.* 113, 499-506. doi: 10.1034/j.1399-3054.2001.1130408.x
- Reid, P. C., Hari, R. E., Beaugrand, G., Livingstone, D. M., Marty, C., Straile, D., et al.** (2016). Global impacts of the 1980s regime shift. *Glob. Change Biol.* 22, 682-703. doi: 10.1111/gcb.13106
- Soleimani, B., Lehnert, H., Babben, S., Keilwagen, J., Koch, M., Arana-Ceballos, F. A., et al.** (2022). Genome wide association study of frost tolerance in wheat. *Sci. Rep.* 12, 5275. doi: 10.1038/s41598-022-08706-y
- Trischuk, R. G., Schilling, B. S., Low, N. H., Gray, G. R., and Gusta, L. V.** (2014). Cold acclimation, de-acclimation and re-acclimation of spring canola, winter canola and winter wheat: The role of carbohydrates, cold-induced stress proteins and vernalization. *Environ. Exp. Bot.* 106, 156-163. doi: 10.1016/j.envexpbot.2014.02.013
- Willick, I. R., Tanino, K. K., and Gusta, L. V.** (2021). The impact of global climate change on the freezing tolerance of winter cereals in Western Canada. *J. Agron. Crop Sci.* 207, 88-99. doi: 10.1111/jac.12447
- Winfield, M. O., Lu, C., Wilson, I. D., Coghill, J. A., and Edwards, K. J.** (2010). Plant responses to cold: transcriptome analysis of wheat. *Plant Biotechnol. J.* 8, 749-771. doi: 10.1111/j.1467-7652.2010.00536.x

### MESSAGE

#### Modélisation et Evaluation des composantes de la rÉSistance Au GEI des céréales

Jean-Charles DESWARTE\*, Elyse CHAMPAGNEVILLE\*, Valérie DUFAYET\*, Guillaume BARRAL-BARON\*, Estelle MOLEROI, Gabriel BRUDIN

\* ARVALIS - Institut de la Vigne et du Raisin - ZA des Granges, Route de Calongeard, 91600 VILLERS-LE-BACLE  
 \* ARVALIS - Institut de Céréales en Champagne - Campus agricole du Mont Barraud, 51225 CHALONGES-CHAMPAGNE  
 \* INRAE Unité expérimentale au Domaine d'Espéranche - Domaine expérimental d'Espéranche, 91100 BRETEUILLE  
 4. ANCIENNOT - 7 Rue de Marivaux, 52000 MARIVAUX  
 5. BACT 201 - Institut d'Élevage 2000, 10000 L'ÉCLUSE-LE-CHENAUD

\* Correspondant du projet : Jean-Charles DESWARTE, jcdeswar@arvalis.fr

---

#### CONTEXTE

- Le risque de gel des céréales a connu ces dernières années en France, de l'ordre d'une année sur 10 sur la partie Est. Il est rétrospectivement difficile de le lier à la destruction totale de la culture et imposer un replant.
- Le changement climatique se manifeste par une hausse des températures, y compris pendant l'hiver, limitant en conséquence le risque de gel. Cependant, les conditions de base des hivers sont aussi importantes que les événements extrêmes qui affectent l'acquisition de la résistance au gel des cultures en limitant l'enrichissement et en réduisant le développement phénologique.
- Des températures plus élevées peuvent affecter la résistance au gel des cultures françaises, mais les supports scientifiques de la résistance au froid restent donc nécessaires pour les producteurs français, mais les supports expérimentaux peuvent ne pas être expérimentalement discriminants. Les essais au champ restent alors des évaluations réalisées historiquement à Chaux-des-Près (CPS) représentant des caractéristiques phénologiques des cultures européennes.

Le projet MESSAGE cherche à explorer des méthodes complémentaires à l'évaluation de la résistance au gel du matériel génétique. Il vise à comparer des méthodes au champ, en conditions semi-contrôlées et totalement contrôlées, et à explorer leurs complémentarités. La conception d'un modèle dynamique de résistance au froid enrichit l'approche expérimentale avec la possibilité de circonscrire les scénarii de gel ; elle permet également d'objectiver l'évolution du risque de gel et les parcelles potentielles.

---

#### RÉSEAU D'ESSAIS EN EXTÉRIEUR

- NBM : 18 expérimentations ont été conduites au champ en conditions semi-contrôlées entre 2020-2021 et 2022-2023, en France et à l'étranger (Allemagne, Pologne, Lituanie, Espagne). Elles visent à évaluer la résistance au gel de 24 variétés de blé tendre dans 5 régions historiques utilisées par INRAE pour établir la note CPS. La culture des essais est combinée aux recommandations locales, et les dégâts de gel ont été notés visuellement, quantifiés annuellement après les périodes de gel.
- Sur les 12 essais de screening menés au champ, 5 sont inutilisables pour la discrimination variétale (insécurité de froid insuffisante, hétérogénéité de l'establi). Les 6 essais en conditions semi-contrôlées (Chaux-des-Près, Hohentem) sont plus discriminants.
- 73% de la variance des notations émane des essais, contre 17% pour les génotypes et 10% pour l'interaction G x E. L'effet variétal est par le réseau est statistiquement significatif (p < 0,05).
- L'envoie de données de conditions de froid à l'aide du modèle permet d'expliquer certains résultats. Les modèles permettent d'expliquer certains résultats (Fig 2) ; les essais Chaux-des-Près 2023 et Hohentem 2021 ont permis d'objectiver l'évaluation complète, à la différence Vorseum et Hohentem 2021.

#### CONCLUSIONS

- L'évolution climatique a généré une réduction des dégâts de gel avec une rupture à la fin des années 1980 (observée rétrospectivement). Les nouvelles conditions climatiques sont plus discriminantes. Les conditions thermiques hivernales pourraient générer des défauts d'acquisition de la résistance au gel.
- Le modèle dynamique de résistance au gel (modèle de résistance au gel) permet de circonscrire les scénarii de gel et de limiter le risque de gel. L'utilisation d'un modèle dynamique de résistance au gel permet de circonscrire les scénarii de gel et de limiter le risque de gel. L'utilisation d'un modèle dynamique de résistance au gel permet de circonscrire les scénarii de gel et de limiter le risque de gel.

---

#### CONTRAINTES CONTRÔLÉES

Les essais au champ ont été réalisés en conditions contrôlées afin de tester la reproductibilité des tests et d'évaluer la sensibilité des cultures à des milieux et contrôlés pour permettre de discriminer la résistance de la culture à des milieux et contrôlés afin de tester la reproductibilité des tests et d'évaluer la sensibilité des cultures à des milieux et contrôlés.

Les essais au champ ont été réalisés en conditions contrôlées afin de tester la reproductibilité des tests et d'évaluer la sensibilité des cultures à des milieux et contrôlés.

Les essais au champ ont été réalisés en conditions contrôlées afin de tester la reproductibilité des tests et d'évaluer la sensibilité des cultures à des milieux et contrôlés.

Figure 1 : Illustration de la résistance thermique appliquée en conditions contrôlées pour évaluer des variétés de blé tendre au froid. Le diagramme illustre la relation entre la température et la résistance thermique.

Figure 2 : Schéma de la conception d'un modèle dynamique de résistance au gel. Le schéma illustre les interactions entre les conditions climatiques, les caractéristiques des cultures et la résistance au gel.

Figure 3 : Comparaison des incidences annuelles de dégâts de gel dans différentes régions. Le graphique compare les incidences de dégâts de gel dans différentes régions.

Figure 4 : Évaluation de la résistance au gel. Le graphique illustre l'évaluation de la résistance au gel des cultures.

Figure 5 : Évaluation de la résistance au gel. Le graphique illustre l'évaluation de la résistance au gel des cultures.

Figure 6 : Évaluation de la résistance au gel. Le graphique illustre l'évaluation de la résistance au gel des cultures.

Figure 7 : Évaluation de la résistance au gel. Le graphique illustre l'évaluation de la résistance au gel des cultures.

TÉLÉCHARGER LE POSTER

# WDV : Résistance/tolérance contre la maladie des pieds chétifs sur blé et sur orge

Robin Comte<sup>1</sup>, Thomas Armand<sup>2</sup>, Marlène Souquet<sup>2</sup>, Elodie Pichon<sup>2</sup>, Patrice Senellart<sup>3\*</sup>, Romain Valade<sup>4</sup>, Cindy Vitry<sup>4</sup>, Emmanuel Jacquot<sup>2</sup>

1 - ARVALIS Institut du végétal, 21 Chemin de Pau, 64121 Montardon, France

2 - PHIM, INRAE, CIRAD, Institut Agro, Univ. Montpellier, Cirad TA A-120/K, Campus international de Baillarguet, 34398, Montpellier, France

3 - Cetac, Centre Technique pour l'Amélioration des Céréales, 7 rue Coq-Héron, 75030 Paris Cédex 01

4 - ARVALIS Institut du Végétal, 91720 Boigneville, France

\***Coordinateur du projet** : [Patrice.Senellart@kws.com](mailto:Patrice.Senellart@kws.com)

## INTRODUCTION

Les céréales, comme la majorité des cultures, sont exposées à plusieurs maladies virales, dont la maladie des pieds chétifs (MPC) est l'une des plus importantes. La MPC a été signalée dans la plupart des régions céréalières du monde (Abt et Jacquot, 2015) et peut entraîner des pertes de rendement allant jusqu'à 90 % en cas de forte pression (Lindblad et Waern, 2002). Les virus inclus dans l'espèce *Mastrevirus Hordei* (Wheat Dwarf Virus (WDV) ou virus des pieds chétifs du blé ; famille : *Geminiviridae* ; genre : *Mastrevirus*) sont les agents étiologiques de cette maladie (Vacke, 1961). Les premières analyses de la diversité génomique du WDV ont permis de décrire des souches virales sur blé (WDV-w) et sur orge (WDV-b) partageant 83-84 % d'identité nucléotidique (Köklü *et al.*, 2007). Les isolats de WDV-w et WDV-b ont des propriétés biologiques différentes, notamment la capacité d'infecter leur hôte préféré (le blé et l'orge pour WDV-w et WDV-b, respectivement), mais pas l'hôte préféré de l'autre souche (Abt *et al.*, 2020). Le WDV est transmis de manière persistante et non propagative par la cicadelle *Psammotettix alienus* (Brault *et al.*, 2010 ; Wang *et al.*, 2014). Cette espèce d'insecte holarctique accomplit son cycle de vie sur les poacées, sur lesquelles *P. alienus* produit des descendants par reproduction sexée (Derlink *et al.*, 2018). Les cicadelles femelles gravides pondent des œufs dans le mésophylle des feuilles de Poacées. Quelques jours plus tard, les larves éclosent, puis se développent à travers 5 stades avant de devenir des adultes (mâles ou femelles) (Manurung *et al.*, 2005). Les larves et les adultes peuvent transmettre le WDV avec une efficacité similaire (Abt *et al.*, 2020). Dans les climats tempérés, les cicadelles virulifères introduisent le WDV dans les champs de céréales d'hiver nouvellement semés de début octobre jusqu'à la mort de ces vecteurs pendant la période froide de l'hiver (Abt et Jacquot, 2015). Au début du printemps, les larves issues des œufs d'hiver ont la possibilité de propager la maladie dans les champs jusqu'à ce que les plantes atteignent une résistance de maturité au virus ((stade DC 31) ; Lindblad et Sigvald, 2004). Les méthodes de lutte contre la MPC en parcelles de céréales sont principalement basées sur des pratiques agricoles. La gestion des repousses et des semis tardifs limiterait i) la présence de réservoirs pour le WDV et pour *P. alienus* et ii) l'exposition des jeunes plantes à l'activité vectorielle de la cicadelle (Lindblad et Waern,

2002). Enfin, des produits insecticides peuvent être utilisés pour réduire les populations de cicadelles. Cependant, leur efficacité contre *P. alienus* reste limitée (Vacke *et al.*, 2004).

Dans le but d'améliorer la durabilité et la productivité des systèmes agricoles, la culture de variétés résistantes (taux d'infection réduit et/ou moindre accumulation de virus dans la plante ; (Cooper et Jones, 1983)) et/ou tolérantes (réduction de l'expression de symptômes de la maladie ; (Cooper et Jones, 1983)) doit être envisagée pour protéger les céréales contre la maladie des pieds chétifs. Cependant, les travaux réalisés au cours des trois dernières décennies ont montré que la plupart des variétés de blé et d'orge testées pour leur comportement face à cette maladie sont sensibles au WDV (Sirlova *et al.*, 2005 ; Pfrieme *et al.*, 2022). En effet, seuls quelques cultivars de blé (par exemple les cvs. Tarso, Pagode, Banquet, MV Delma, MV Vekni et Svitava) ont montré une diminution i) du taux d'infection, ii) de l'accumulation du virus et/ou iii) de l'intensité des symptômes (Lindblad et Waern, 2002 ; Sirlova *et al.*, 2005 ; Benkovics *et al.*, 2010 ; Rippl *et al.*, 2020)). Cependant, la plupart de ce matériel partiellement résistants/tolérants a montré, en réponse à l'infection par le WDV, des pertes de rendement similaires à celles constatées pour des variétés de référence sensibles (par exemple, Sirlova *et al.*, 2005 ; Rippl *et al.*, 2020). Récemment, de faibles taux d'infection par le WDV (4,6 % à 5,7 %) et une réduction modérée du rendement (46,2 % à 76,8 %) ont été décrits pour 4 accessions de *Triticum* ssp. (Pfrieme *et al.*, 2022). Parmi ces ressources génétiques, le blé d'hiver var. Fisht a été utilisé pour la cartographie de QTL. Ce travail a permis d'identifier plusieurs QTLs de résistance à la MPC associés à une faible perte de rendement et à un faible titre viral. De même, deux QTL de tolérance, associés à une plus faible intensité des symptômes, ont été identifiés dans une lignée recombinante de blé d'hiver (Buerstmayr et Buerstmayr, 2023). Pour ce qui concerne les données relatives au pathosystème orge/WDV, peu d'informations sont présentes dans la littérature. Ainsi, seule la variété Post, par ailleurs présentant un QTL de résistance au virus de la Jaunisse Nanisante de l'Orge (JNO) sur le chromosome 2HL, est décrite pour sa tolérance face au WDV (Habekuß *et al.*, 2009). Ces résultats et le matériel végétal associé représentent de grandes opportunités pour la gestion future de la maladie des pieds chétifs. Cependant, comme les accessions résistantes/tolérantes au WDV mentionnées ci-dessus sont inadaptées aux exigences du marché national et/ou indisponibles pour

les céréaliers français (GEVES, 2023), les agriculteurs continuent de cultiver des variétés sensibles au WDV. Il n'est toutefois pas exclu que certaines variétés de blés et d'orges actuellement cultivées puissent disposer d'éléments génétiques présentant des caractéristiques intéressantes pour l'amélioration des futures stratégies de gestion contre la MPC. C'est donc spécifiquement ce point qui a été traité dans le cadre du projet « Résistance/tolérance contre la maladie des pieds chétifs sur blé et sur orge » en réalisant i) des expérimentations de terrain visant à identifier d'éventuelles ressources génétiques ayant un comportement significativement différents de référents sensibles lors de leur exposition à une pression virale (cicadelles virulifères) et ii) des travaux en conditions contrôlées de laboratoire pour caractériser des paramètres épidémiologiques impliqués dans l'introduction et la propagation du WDV sur une gamme de variétés de blé et d'orge supposées sensibles à la MPC.

## MATÉRIEL ET MÉTHODE

### ► Essais en laboratoire

#### Plantes, vecteur et virus

Douze cultivars de blé (Rubisko [RAGT Semences, Rodez, France] utilisé comme cultivar de référence, Boregar [RAGT Semences], Chevignon [Saaten Union], Complice [Florimond Desprez], KWS Extase [KWS Momont], Némó [Secobra Recherches], LG Absalon [Limagrain Europe], Hyking [Saaten Union], Filon [Florimond Desprez], RGT Libravo [RAGT], RGT Sacramento [RAGT] et Solindo CS [Caussade Semences]), et 12 variétés d'orge (Spazio [Apsov sementi SRL], Amistar, KWS Cassia, KWS Faro et KWS Joyau [KWS Momont], Hirondella [Saaten Union], Etincel, Coccinel, Idilic, Memento, SC1 et Visuel [Secobra Recherche]), tous disponibles pour les agriculteurs français, ont été utilisés dans cette étude.

Les graines ont été semées dans des tubes (diamètre : 2 cm ; hauteur : 10 cm ; 1 graine par tube) ou dans des pots (7 × 7 × 7 cm ; environ 30 graines par pot pour cv. Rubisko et cv. Etincel utilisés pour l'élevage des insectes) contenant un terreau Neuhaus® Huminsubstrat (N2, Klasmann Deilmann). Les plantules ont été maintenues pendant sept jours en chambre de culture (16 h/8 h ; 24 °C/20 °C).

La cicadelle *Psammotettix alienus* (collectée en Côte-d'Or en 2012 ; Abt *et al.*, 2020) a été élevée en chambre climatique (16 h/8 h ; 24 °C/20 °C ; 40 % HR) sur blé sain ou orge saine (insectes non virulifères) ou blé infecté ou orge infectée (insectes virulifères). Les virus utilisés sont les isolats WDV-w1 et WDV-b1 (Abt *et al.*, 2020). Le plasmide pBL-WDV-[Enk1] (GenBank AJ311031) a été utilisé comme standard ADN pour les analyses moléculaires.

#### Performances des cicadelles

Pour mesurer la qualité d'hôte des cultivars, la survie et la fécondité des femelles de *P. alienus* ont été suivies. Des femelles gravides non virulifères ont été déposées individuellement sur des plantules âgées de 7 jours (1 insecte/plante). Chaque plante a été confinée sous un sachet microperforé durant une semaine, période pendant laquelle les femelles pouvaient se nourrir et pondre. Après une semaine, l'état (vivant/

mort) des femelles a été enregistré puis les insectes retirés manuellement. Les plantes ont ensuite été maintenues quatre semaines supplémentaires sous sachet microperforé. Le nombre de nymphes écloses sur chaque plante a été compté. L'expérience a été répétée trois fois avec 4 à 10 plantes par cultivar.

#### Taux d'infection par le WDV

L'inoculation des plantules (âgées de 7 jours) a été réalisée en exposant chaque plante à deux cicadelles virulifères pendant 6 h (IAP). Après l'IAP, les insectes ont été retirés et les plantes maintenues trois semaines en chambre climatique. La présence du WDV a été testée par DAS-ELISA. L'expérience a été répétée trois fois avec 10 plantes par cultivar.

#### Période de latence et accumulation virale

Des cicadelles virulifères (10 insectes/plante) ont été déposées sur des plantes de cvs. Rubisko et Filon pendant 24 h (IAP). Toutes les plantes ont été infectées. Ces plantes sources ont ensuite été utilisées pour des tests de transmission à 2, 7, 14 et 21 jours après inoculation (DAI). À chaque DAI, environ 25 cicadelles saines ont été déposées sur une plante source pendant 24 h (AAP), puis transférées sur des plantules saines (2 insectes/plante test) pour un IAP d'une semaine. La présence du virus a été testée trois semaines plus tard par DAS-ELISA. Au total, 8 à 10 plantes sources par DAI ont été utilisées selon le cultivar, et 10 plantes tests par source. L'expérience a été répétée trois fois.

#### Sélection des cultivars par *P. alienus*

Des groupes de 5 plantes représentant 12 cultivars de blé ont été placés aléatoirement pour former une mosaïque dans une cage en plexiglas (50 × 50 × 80 cm). Douze femelles virulifères ont été relâchées au centre de cette arène. Après 14 jours, les insectes ont été retirés. Chaque plante a été isolée sous sachet microperforé et, 4 semaines plus tard, les nymphes présentes sur chaque plante ont été comptées, et la présence du WDV a été testée par DAS-ELISA. Cette expérience a été répétée trois fois avec deux cages par répétition.

#### Diagnostic sérologique (DAS-ELISA)

La partie aérienne de chaque plante a été broyée individuellement. Le test DAS-ELISA spécifique WDV (anticorps Loewe® 1:200) a été réalisé selon les recommandations du fournisseur. La densité optique à 405 nm (OD405) a été mesurée à 30 min, 1 h et 2 h. Le seuil de détection a été fixé à deux fois la moyenne des plantes saines, avec un minimum de 0,1.

#### Purification de l'ADN

Les 5 premiers centimètres des feuilles d'extrémité (plantes sources) ont été broyées avec des billes puis extraits avec le kit NucleoSpin RNA/DNA. L'ADN total a été élué dans 100 µL.

#### Standards ADN et quantification du WDV par qPCR

La charge virale a été mesurée via qPCR avec une gamme standard (10<sup>8</sup> à 10<sup>4</sup> copies/µL) du plasmide pBL-WDV-[Enk1]. Les amorces et sondes TaqMan utilisées sont celles de Gadiou *et al.* (2012). Les conditions d'amplification ont été de 95 °C 10 min ; 40 cycles 95 °C 15 s / 60 °C 1 min. Le signal fluorescent de la sonde FAM a été suivi et les Ct calculés avec le logiciel associé au LightCycler 480.

## Analyses statistiques

Les analyses ont été réalisées sous R 4.1.3. Les variables binaires (infection, transmission, colonisation et survie) ont été analysées par GLM binomial ou quasi-binomial. Les effectifs de nymphes ont été analysés par GLM quasi-Poisson. Les effets des cultivars ont été testés par comparaison de modèles (tests de Student). Les effets du DAI ont été testés à l'aide d'un test de Tukey. Les charges virales ont été transformées (log10) et analysées par ANOVA suivie de tests post-hoc EMM. Une analyse en composantes principales (PCA) suivie d'une classification hiérarchique ascendante (méthode de Ward) a permis de regrouper les cultivars selon leurs interactions plante-virus-vecteur.

### ► Réseau d'essais au champ

#### Matériel végétal utilisé

La liste des génotypes implantés a été progressivement réduite au fur et à mesure de l'avancement du projet, en prenant en compte les résultats obtenus au fil des années. Initialement, cette liste comprenait 76 variétés d'orge d'hiver (OH), à l'exception d'un site où 344 variétés étaient présentes, ainsi que 346 variétés de blé tendre d'hiver (BTH). Elle a ensuite été réduite au cours du projet, pour aboutir à une sélection finale de 14 génotypes d'orge d'hiver et de 24 génotypes de blé tendre lors de la dernière année du projet. En conditions de culture en cage insect-proof, en raison de l'espace limité disponible, la liste variétale était déjà considérablement restreinte dès le début, avec 14 à 26 variétés par espèce (Tableau 1).

		2020/2021	2021/2022	2022/2023	2023/2024
En plein champ	OH	344 var. sur 1 site + 76 var. sur les 5 autres	58 var. sur 6 sites	53 var. sur 6 sites + 14 var. sur site Arvalis	14 var. sur 1 site + 15 var. sur site Arvalis
	BTH	346 var. avec quelques variations suivant les sites (6 sites)	179 var. sur 6 sites	67 var. sur 6 sites + 13 var. sur site Arvalis	24 var. sur 1 site + 10 var. sur site Arvalis
En cage insect-proof	OH	/	15/20 variétés sur 2 sites	15/20 variétés sur 3 sites	15/20 variétés sur 4 sites
	BTH	/	14/20 variétés sur 2 sites	14/20 variétés sur 4 sites	14/26 variétés sur 6 sites

Tableau 1 : Essais « au champ » et « sous cage » mis en place lors des campagnes agricoles de 2021 à 2024. « var. » signifie « variétés ».

### Essais au champ

Les essais ont été mis en place sur plusieurs sites expérimentaux (Fig. 1), incluant des micro-parcelles (2 m<sup>2</sup>) implantées sur des sites d'obteneurs et des parcelles plus grandes (20 m<sup>2</sup>) sur le site Arvalis du Subdray (Fig. 2).

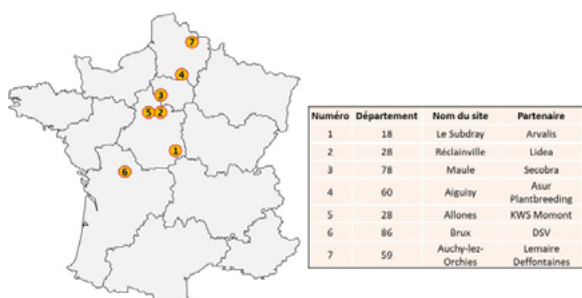


Figure 1 : Carte de France présentant les sites ayant accueillis des essais au champ.



Figure 2 : Dispositifs d'essais au champ : en micro-parcelles de 2m<sup>2</sup> (gauche) et en petites parcelles de 20m<sup>2</sup> (droite).

Des témoins sensibles de référence (var. Etincel pour l'orge et var. Rubisko pour le blé) et des référents supposés tolérants (var. Fisht, var. MV Vekni pour le blé ; var. Post pour l'orge) ont été intégrés aux dispositifs expérimentaux afin de comparer leur réponse face à la MPC avec celle des autres génotypes étudiés. Les parcelles ont été semées précocement (fin septembre/début octobre) afin de maximiser les infections naturelles par les cicadelles vectrices du WDV. Cette approche a permis d'évaluer la réponse des génotypes dans des conditions représentatives des pratiques culturales à risque, où les transmissions naturelles du virus sont les plus élevées.

### Essais en cages insect-proof

Les essais en cages insect-proof (dimension : environ 3 × 3 m) ont été menés sur certains de ces sites (Fig. 3). Ces essais ont bénéficié d'apports de cicadelles virulifères issues d'élevages produits au laboratoire (Abt *et al.*, 2020).



Figure 3 : Dispositif d'essai au champ en cage insect-proof vu de l'extérieur (gauche) et vu de l'intérieur (droite).

### Suivi des vecteurs de virus

Afin d'évaluer la pression exercée par la cicadelle *P. alienus* et par les pucerons ailés sur les essais conduits au champ, des pièges englués et des cuvettes jaunes ont été installés sur les parcelles expérimentales. Ces dispositifs ont permis de capturer les insectes depuis la levée des cultures jusqu'aux premières gelées. Les pièges ont fait l'objet de relevés bimensuels, comprenant l'identification et le dénombrement des cicadelles, ainsi que le dénombrement des pucerons ailés. Le statut sanitaire d'une partie des individus capturés a également été analysé.

### Analyse du statut virulifère des cicadelles piégées

Les acides nucléiques ont été extraits à partir des cicadelles selon le protocole d'extraction d'ADN au TNES de l'UMR PHIM (Abt *et al.*, 2020), permettant la conservation des individus. Après dosage par spectrophotométrie et dilution à 2 ng/μL, la détection du Wheat dwarf virus a été réalisée par qPCR SYBR Green. Les souches WDV-Barley et WDV-Wheat ont été

discriminées par analyse des courbes de dissociation, sur la base de leurs températures de fusion distinctes (79–80 °C et 81–82 °C, respectivement). Les co-infections ont été confirmées par qPCR avec sondes spécifiques.

### Analyses statistiques

Les analyses ont été réalisées sous R 4.1.2. Les tests statistiques utilisés sont décrits en légende des figures.

## RÉSULTATS

### ► Évaluation des interactions plante-virus-vecteur à l'échelle de la plante de blé

L'objectif de ce travail a été de caractériser, pour 12 variétés de blé et 12 variétés d'orge connues pour être sensibles à la MPC, les paramètres épidémiologiques impliqués dans l'introduction et la propagation du WDV. Les interactions plante-virus (taux d'infection, accumulation du virus et efficacité de la transmission) et plante-vecteur (survie et fécondité des cicadelles, et sélection de l'hôte) ont été suivies dans des environnements correspondant à une plante isolée et dans des environnements correspondant à une mosaïque de plantes combinant plusieurs variétés. Ces travaux ont permis i) de définir la qualité d'hôte de chaque variété pour le WDV et *P. alienus* et ii) d'évaluer l'impact du génotype de l'hôte sur l'épidémiologie de la maladie des pieds chétifs sur blé et sur orge.

### Interactions plante-vecteur : survie des cicadelles et production de larves

Afin de caractériser la qualité d'hôte intrinsèque des 12 génotypes de blé pour *P. alienus*, la survie et la fécondité des cicadelles femelles ont été contrôlées. Des insectes fondateurs sains ont été transférés sur des plantes de blé et maintenus pendant une semaine. A la fin de cette période d'élevage, les taux de survie ( $S_w$  = nombre de cicadelles vivantes / nombre de cicadelles utilisées dans l'expérience) ont été calculés pour chaque cultivar. Dans nos

conditions expérimentales, les taux de survie de *P. alienus* sur les cultivars de blé allaient de 96,7 %  $\pm$  3,3 % (cv. Rubisko) à 66,7 %  $\pm$  6,7 % (cv. Complice) (Fig. 4A). L'analyse statistique de ces données indique que la survie de *P. alienus* est significativement réduite sur les cvs. Complice (66,7 %  $\pm$  6,7 % ;  $P_{\text{Complice}} = 0,013$ ), Filon (73,3 %  $\pm$  16,67 % ;  $P_{\text{Filon}} = 0,031$ ), Hyking (66,7 %  $\pm$  14,5 % ;  $P_{\text{Hyking}} = 0,013$ ) et Nemo (73,3 %  $\pm$  3,3 % ;  $P_{\text{Nemo}} = 0,031$ ) par rapport aux données obtenues sur le cv. Rubisko. Ces données ont été complétées par l'évaluation du nombre de larves produites par une seule cicadelle fondatrice sur des plantes de blé (Lw). Ainsi, quatre semaines après l'élimination des femelles fondatrices de *P. alienus*, des populations de 23,2  $\pm$  3,9 larves/plante ont été observées sur le référent blé cv. Rubisko (Fig. 4B). Les valeurs moyennes de Lw obtenues sur les cvs. Complice (13,5  $\pm$  2,7) et Filon (11,5  $\pm$  3,6) (test t,  $P_{\text{Complice}} = 0,046$  ;  $P_{\text{Filon}} = 0,014$ ) sont significativement inférieures à la population produite sur cv. Rubisko (Fig. 4B). La taille des populations de cicadelles produites sur les autres cultivars de blé est similaire à celle observée sur Rubisko. L'ensemble de ces résultats montre que i) les cvs. Complice et Filon ont un impact négatif sur la survie et la reproduction de *P. alienus* et ii) la survie (mais pas la fécondité) de la cicadelle est modifiée sur les variétés Hyking et Nemo.

### Interactions plantes-virus : taux d'infection, latence et accumulation du virus

La sensibilité d'une plante peut être déterminée par l'efficacité de l'introduction d'un pathogène dans un hôte sain. Pour évaluer l'impact des cultivars de blé sur l'inoculation du WDV, le taux d'infection ( $I_w$  = nombre de plantes infectées / nombre de plantes inoculées) a été déterminé pour chaque cultivar. Les taux d'infection ont ensuite été comparés aux valeurs obtenues pour la référence Rubisko. Les inoculations du blé cv. Rubisko (2 cicadelles virulifères ; WDV-w ; période d'inoculation (IAP) : 6 h) ont conduit à un  $I_w$  de 47,7 %  $\pm$  14,5 % (Fig. 5). Les valeurs de  $I_w$  obtenues pour les autres blés varient de 13,3 %  $\pm$  6,7 % (cv. Filon) à 50,0 %  $\pm$  5,77 %

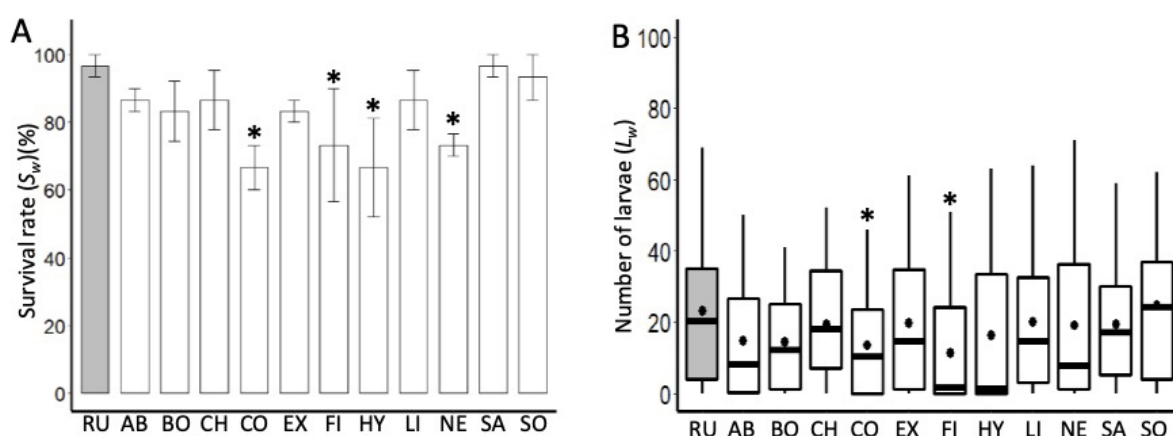
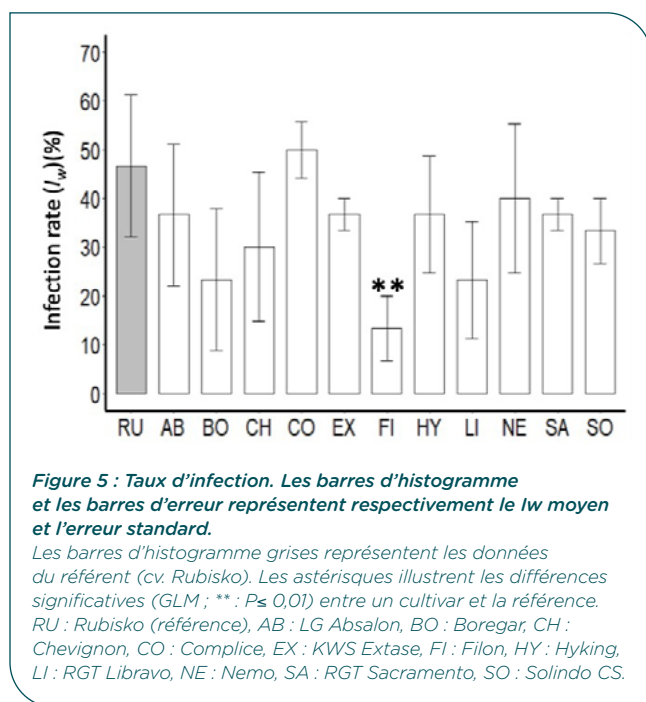


Figure 4 : Taux de survie (A) de *P. alienus* et nombre de nymphes (B) produites par chaque cicadelle sur blé.

(A) Les barres de l'histogramme et les barres d'erreur représentent la moyenne de  $S_w$  et l'erreur standard, respectivement. (B) Pour Lw, les diagrammes en boîte montrent les valeurs aberrantes (croix), les percentiles 10-90 % (moustaches), les percentiles 25-75 % (boîtes), la médiane (lignes) et la moyenne (point noir). Les barres grises de l'histogramme et les diagrammes en boîte représentent les données de la référence cv. Rubisko. Les astérisques illustrent les différences significatives (GLM ; \* :  $P \leq 0,05$ ) entre un cultivar et la référence. RU : Rubisko (référence), AB : LG Absalon, BO : Boregar, CH : Cheyignon, CO : Complice, EX : KWS Extase, FI : Filon, HY : Hyking, LI : RGT Libravo, NE : Nemo, SA : RGT Sacramento, SO : Solindo CS.

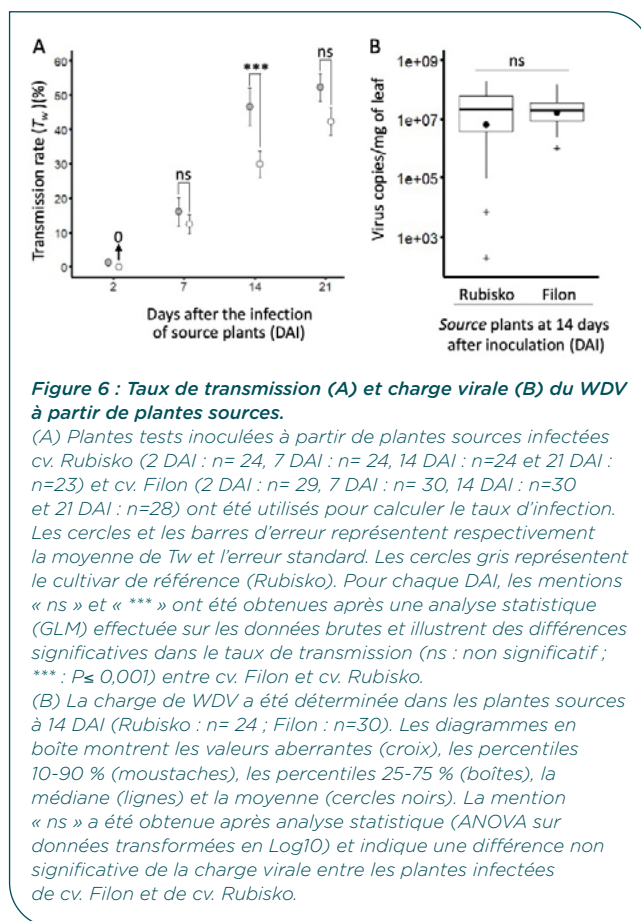
(cv. Complice). Seul le lw obtenu pour la variété Filon est significativement plus faible (3,5 fois) que celle obtenue pour var. Rubisko (test t ; P= 0,007, Fig. 5).



**Figure 5 : Taux d'infection. Les barres d'histogramme et les barres d'erreur représentent respectivement le lw moyen et l'erreur standard.**

Les barres d'histogramme grises représentent les données du référent (cv. Rubisko). Les astérisques illustrent les différences significatives (GLM ; \*\* :  $P \leq 0,01$ ) entre un cultivar et la référence. RU : Rubisko (référence), AB : LG Absalon, BO : Boregar, CH : Chevignon, CO : Complice, EX : KWS Extase, FI : Filon, HY : Hyking, LI : RGT Libravo, NE : Nemo, SA : RGT Sacramento, SO : Solindo CS.

Les expériences menées à l'échelle de la plante ont montré que le blé cv. Filon modifie les paramètres associés au vecteur et au virus. Pour mieux caractériser l'impact de cv. Filon sur les paramètres épidémiologiques impliqués dans la propagation du WDV, la période de latence du WDV dans ce blé a été étudiée. Des plantes (cvs. Filon et Rubisko) ont été inoculées avec le WDV-w1 (10 cicadelles virulifères/plante ; IAP= 24h), ce qui permet d'obtenir des plantes infectées. Ces plantes ont servi de source de virus dans les expériences de transmission réalisées à différents jours après l'inoculation des plantes sources (2, 7, 14 et 21 jours après inoculation (DAI)). Des taux de transmission de 1,4% ( $\pm 1,0\%$  ; n=24), 16,2% ( $\pm 4,1\%$  ; n=24), 46,7% ( $\pm 5,5\%$ , n=24) et 52,2% ( $\pm 4,1\%$ , n=23) ont été obtenus avec les plantes sources du cultivar Rubisko infectées pendant 2, 7, 14 et 21 jours, respectivement (Fig. 6A). Une tendance similaire a été observée pour le cv. Filon (2 DAI : 0%  $\pm 0\%$ , n=29 ; 7 DAI : 12,5%  $\pm 2,8\%$ , n=30 ; 14 DAI : 29,8%  $\pm 4,0\%$  ; n=30 ; et 21 DAI : 42,4%  $\pm 4,0\%$ , n=28). Les taux de transmission du WDV varient de manière significative en fonction du DAI (GLM ;  $P = 2,2 \times 10^{-16}$ ) et des cultivars de blé des plantes sources (GLM ;  $P = 0,001$ ), mais sans mettre en évidence d'interactions entre ces facteurs (GLM ;  $P = 0,29$ ). En outre, l'effet du cultivar blé sur les taux de transmission du WDV a été analysé à chaque DAI. Cette analyse a montré qu'aucune différence significative n'a été observée à 7 (test t ;  $P = 0,64$ ) et 21 (test t ;  $P = 0,11$ ) DAI. Toutefois, un taux de transmission réduit a été observé pour le cv. Filon à 14 DAI (test t ;  $P = 0,003$ ). Il est important de noter que cette diminution de l'efficacité de transmission à 14 DAI n'est pas associée à une réduction de la charge virale du WDV dans les plantes sources du cv. Filon (ANOVA ;  $P = 0,12$  ; Fig. 6B) ce qui suggère que le WDV s'accumule de manière similaire dans les plantes des cvs. Rubisko et Filon 14 jours après leur inoculation.



**Figure 6 : Taux de transmission (A) et charge virale (B) du WDV à partir de plantes sources.**

(A) Plantes tests inoculées à partir de plantes sources infectées cv. Rubisko (2 DAI : n= 24, 7 DAI : n= 24, 14 DAI : n=24 et 21 DAI : n=23) et cv. Filon (2 DAI : n= 29, 7 DAI : n= 30, 14 DAI : n=30 et 21 DAI : n=28) ont été utilisés pour calculer le taux d'infection. Les cercles et les barres d'erreur représentent respectivement la moyenne de  $T_w$  et l'erreur standard. Les cercles gris représentent le cultivar de référence (Rubisko). Pour chaque DAI, les mentions « ns » et « \*\*\* » ont été obtenues après une analyse statistique (GLM) effectuée sur les données brutes et illustrent des différences significatives dans le taux de transmission (ns : non significatif ; \*\*\* :  $P \leq 0,001$ ) entre cv. Filon et cv. Rubisko.

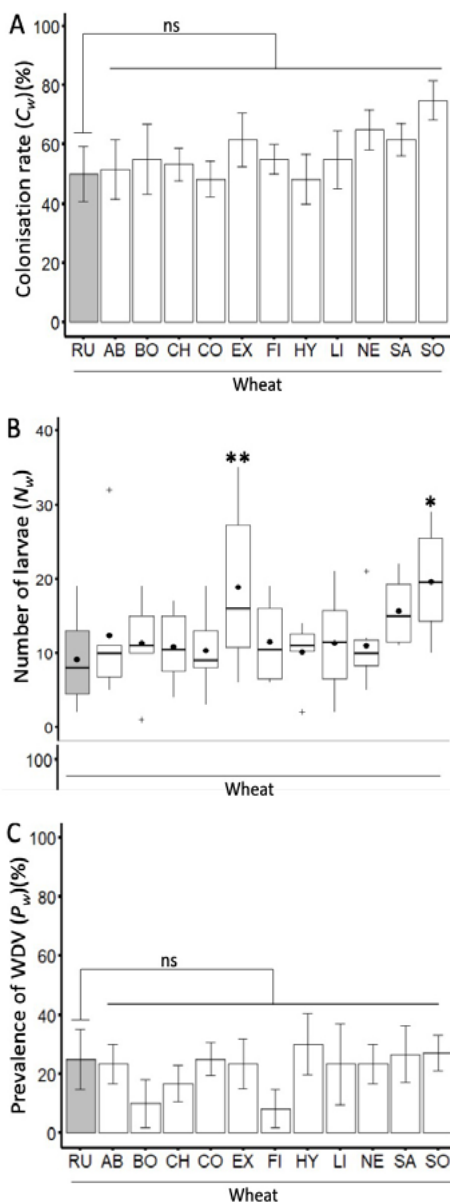
(B) La charge de WDV a été déterminée dans les plantes sources à 14 DAI (Rubisko : n= 24 ; Filon : n=30). Les diagrammes en boîte montrent les valeurs aberrantes (croix), les percentiles 10-90 % (moustaches), les percentiles 25-75 % (boîtes), la médiane (lignes) et la moyenne (cercles noirs). La mention « ns » a été obtenue après analyse statistique (ANOVA sur données transformées en Log10) et indique une différence non significative de la charge virale entre les plantes infectées de cv. Filon et de cv. Rubisko.

### Sélection de blé par *P. alienus*

Les insectes sont couramment exposés à une mosaïque de plantes, dont les caractéristiques (phénologie, phénotype, production de substances volatiles, ...) varient. Parmi ces plantes, les insectes doivent sélectionner un hôte pour accomplir leur cycle biologique. À l'aide d'approches indirectes, les plantes visitées par *P. alienus* ont été identifiées pour évaluer la préférence de cet insecte pour les 12 cultivars de blé intégrées à cette étude. Le taux de colonisation (Cw= nombre de plantes avec au moins une larve/nombre de plantes du cultivar utilisé dans l'expérience) associé à chaque blé i) a été déterminé à la fin de l'expérience en fonction de la présence de larves sur chaque plante individuelle et ii) a été utilisé comme un indicateur de la sélection de l'hôte. Selon Cw, 50,0 %  $\pm 3,9$  % des plantules de cv. Rubisko ont été utilisées par les cicadelles pour pondre des œufs pendant la période d'exposition de deux semaines (Fig. 7A). Les valeurs de Cw calculées pour les blés testés varient de 48,3 %  $\pm 8,3$  % (cv. Hyking) à 75,0 %  $\pm 6,7$  % (cv. Solindo CS) et sont similaires à Cw de cv. Rubisko (GLM ;  $P = 0,36$ ). Cela suggère que dans nos conditions expérimentales, *P. alienus* visite les 12 blés testés avec une fréquence similaire pour l'oviposition. Cependant, les analyses de la descendance des cicadelles (Nw = total des larves sur chaque plante d'un cultivar) ont montré que les Nw moyens observés sur les plantes de KWS Extase (18,8  $\pm 4,7$  larves ; t-test ;  $P_{KWS\ Extase} = 0,002$ ) et Solindo CS (15,7  $\pm 3,1$  larves ; t-test ;  $P_{Solindo\ CS} = 0,011$ ) sont significativement plus élevés que la population produite sur la référence Rubisko (9,2  $\pm 2,6$  individus) (Fig. 7B). Les Nw produites sur les autres blés (de 10,2  $\pm 4,3$  larves

(cv. Hyking) à  $15,7 \pm 4,7$  larves (cv. RGT Sacramento)) ne sont pas significativement différentes de la taille de la population de cicadelles obtenue sur Rubisko (test t ;  $P > 0,05$ ).

L'utilisation de cicadelles fondatrices virulifères dans l'expérience a permis de compléter l'analyse des préférences de *P. alienus* par le suivi de la prévalence du

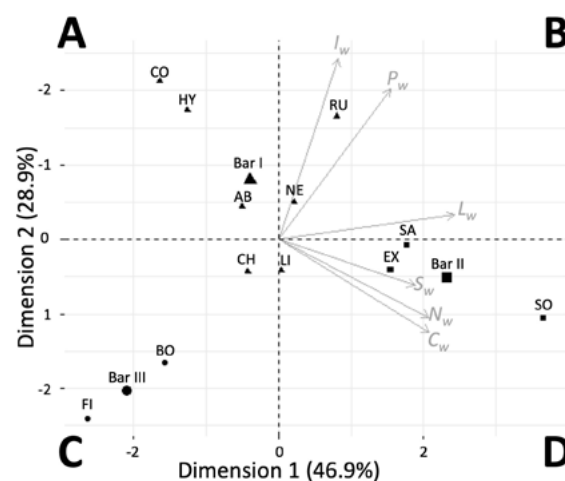


**Figure 7 : Taux de colonisation (A), nombre de nymphes (B) et prévalence du WDV (C) dans une mosaïque de blé.** Les barres de l'histogramme et les barres d'erreur représentent la moyenne et l'erreur standard, respectivement, pour  $C_w$  (A) et  $P_w$  (C). Pour  $N_w$  (B), les diagrammes en boîte montrent les valeurs aberrantes (croix), les percentiles 10-90 % (moustaches), les percentiles 25-75 % (boîtes), la médiane (lignes) et la moyenne (cercles noirs). Les barres grises de l'histogramme et les diagrammes en boîte représentent la variété de blé de référence Rubisko. Les mentions « ns » et « \* » ont été obtenues après une analyse statistique (GLM (famille binomiale (A et C) ou quasi-poisson (B)) effectuée sur les données brutes. Les astérisques illustrent les différences significatives (\* :  $P \leq 0,05$  et \*\* :  $P \leq 0,01$ ) entre une variété et Rubisko. ns : non significatif. RU : Rubisko (référence), AB : LG Absalon, BO : Boregar, CH : Chevignon, CO : Complice, EX : KWS Extase, FI : Filon, HY : Hyking, LI : RGT Libravo, NE : Nemo, SA : RGT Sacramento, SO : Solindo CS.

WDV dans les plantes. Les conditions expérimentales ont conduit à un taux moyen d'infection par le WDV de  $21,9 \% \pm 4,1 \%$  (données non illustrées). Si l'on se concentre sur la prévalence de la maladie ( $P_w$  = nombre de plantes infectées/nombre de plantes utilisées dans l'expérience) pour les différents cultivars, le référent sensible à la maladie (cv. Rubisko) a été infecté à un taux de  $25,0 \% \pm 10,6 \%$ . Les autres cultivars ont été infectés à un taux moyen compris entre  $8,3 \% \pm 6,5 \%$  (cv. Filon) et  $30,0 \% \pm 10,3 \%$  (cv. Hyking). Les analyses statistiques ont montré des  $P_w$  similaires pour les 12 variétés (GLM ;  $P > 0,69$ ) (Fig. 7C).

### Impact des cultivars de blé sur l'épidémiologie du WDV

L'impact d'une variété sur l'épidémiologie d'une maladie virale transmise par un insecte repose sur les effets potentiels des plantes sur les paramètres associés au vecteur et au virus. Pour décrire comment les 12 cultivars de blé sélectionnés pourraient modifier l'épidémiologie de la maladie des pieds chétifs du blé, une analyse en composantes principales (ACP) a été réalisée à partir des données relatives au taux de survie ( $S_w$ ), à la taille de la population ( $L_w$ ) et au taux d'infection ( $I_w$ ) recueillies à l'échelle de la plante, ainsi qu'au taux de colonisation ( $C_w$ ), à la taille de la population ( $N_w$ ) et à la prévalence du virus ( $P_w$ )



**Figure 8 : Biplot des paramètres associés aux virus et aux vecteurs dans 12 cultivars de blé sur la base des deux premières dimensions.**

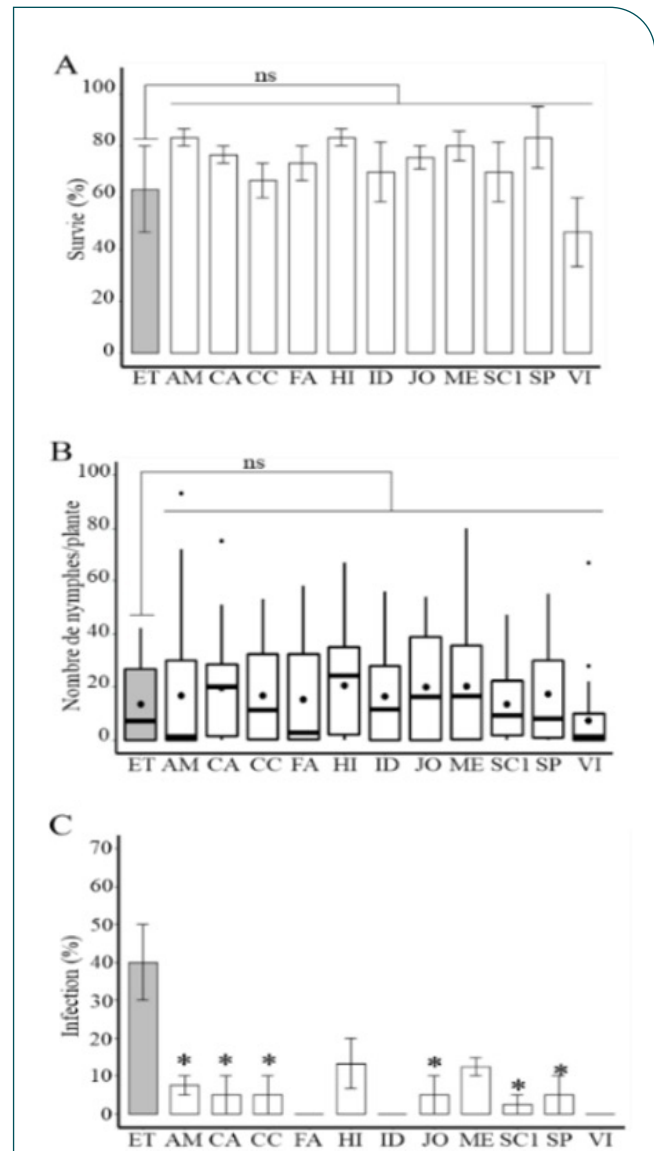
Les deux axes représentent les dimensions 1 et 2 d'une analyse en composantes principales (ACP) qui expliquent respectivement 46,9 % et 28,9 % de la variance de l'ensemble des données. Les flèches grises représentent les paramètres associés au virus (i.e.  $I_w$  et  $P_w$ ) et à la cicadelle (i.e.  $C_w$ ,  $S_w$ ,  $L_w$  et  $N_w$ ). L'orientation de ces paramètres a permis de définir 4 panneaux (A-D). Dans les panneaux A et B, les blés sont associés à des valeurs élevées pour les taux d'infection et la prévalence du virus. Les panneaux B et D comprennent des variétés présentant des valeurs élevées pour les paramètres associés aux vecteurs. Le panneau C est associé à des valeurs faibles pour les paramètres relatifs aux virus et aux vecteurs. Les blés (RU : Rubisko (référence), AB : LG Absalon, BO : Boregar, CH : Chevignon, CO : Complice, EX : KWS Extase, FI : Filon, HY : Hyking, LI : RGT Libravo, NE : Nemo, SA : RGT Sacramento, SO : Solindo CS) ont été regroupés en trois groupes (groupe I (triangles), groupe II (carré) et groupe III (cercle)) à la suite d'une analyse de regroupement hiérarchique (méthode de Ward). Le barycentre de chaque groupe est représenté (groupe I (triangle, Bar I), groupe II (carré, Bar II) et groupe III (cercle, Bar III)).

recueillies dans le cadre d'une expérience menée avec une mosaïque de plantes. Les deux premières dimensions de l'analyse ACP expliquent 75,8 % de la variance globale (46,9 % et 28,9 % pour les dimensions 1 et 2, respectivement). La dimension 1 explique la majeure partie de la variance du taux de colonisation (Cw,  $\cos^2= 0,58$ ), du nombre de larves (Lw,  $\cos^2= 0,78$  et Nw ;  $\cos^2= 0,57$ ). De plus, une grande partie de la variance du taux de survie (Sw ;  $\cos^2= 0,47$ ) et de la prévalence virale (Pw ;  $\cos^2= 0,32$ ) a également été expliquée par la dimension 1. La dimension 2 a permis d'identifier la majeure partie de la variation du taux d'infection (Iw ;  $\cos^2= 0,78$ ) et de la prévalence virale (Pw ;  $\cos^2= 0,54$ ). Les paramètres associés au choix des vecteurs et aux performances (à savoir Cw, Sw, Lw et Nw) ont contribué à la majeure partie de la dimension 1 (85,42%), tandis que les paramètres associés aux virus (à savoir Iw et Pw) ont expliqué la majeure partie de la dimension 2 (75,99%). La représentation des dimensions ACP 1 et 2 a permis de diviser le graphique en 4 panneaux (Fig. 8 ; panneaux A à D). Selon l'orientation des variables associées aux paramètres du virus, les cultivars présents dans les panneaux A et B sont associés à des taux d'infection et à une prévalence du virus élevés. De même, les cultivars présents dans les panneaux B et D présentent des valeurs élevées pour les paramètres associés au vecteur. Enfin, les cultivars du groupe C présentent de faibles valeurs pour les paramètres de surveillance du virus et des vecteurs. L'analyse ACP a placé la référence sensible Rubisko dans le panel B, ce qui indique que ce cultivar est très sensible au WDV et qu'il est un bon hôte pour *P. alienus*. Les autres cultivars testés se retrouvent dans les quatre panels (cvs. Complice, Hyking et LG Absalon dans le panel A ; cv. Némio dans le panel B ; cvs. Chevignon, Filon et Boregar dans le panel C ; cvs. KWS Extase, RGT Libravo, RGT Sacramento et Solindo CS dans le panneau D) mettant en évidence la variabilité de ces 12 blé pour les paramètres surveillés. Pour identifier les cultivars présentant des caractéristiques similaires en tant qu'hôtes du WDV et de *P. alienus*, des analyses de regroupement ont été effectuées. Cela a permis de définir 3 groupes. Le groupe I (Fig. 8 ; Bar I) comprend Rubisko et 6 cultivars (LG Absalon, Complice, Chevignon, Hyking, Libravo et Nemo), et présente un barycentre dans le panneau A, indiquant que ces blés présentent une qualité d'hôte élevée pour le WDV mais pas pour *P. alienus*. Le barycentre du groupe II (Fig. 8 ; Bar II) (Extase, Solindo CS et RGT Sacramento) se trouve dans le panneau D (hôtes de haute qualité pour *P. alienus* mais pas pour le WDV). Enfin, le groupe III regroupe les cultivars Filon et Boregar et présente un barycentre (Fig. 8 ; Bar III) dans le panneau C, suggérant que ces blés présentent une faible qualité d'hôte pour le WDV et pour *P. alienus*.

### Caractérisation des cultivars d'orge

En parallèle des travaux conduits sur blé, des actions de recherches ont été réalisées pour évaluer l'impact de variétés d'orge sur les performances de *P. alienus* et le taux d'infection du WDV. Des cicadelles femelles et saines (i.e. fondatrices) ont été déposées sur des plantes d'orge de manière à évaluer le taux de survie de *P. alienus* sur cette espèce végétale. Dans les conditions expérimentales utilisées, 63,3 % ( $\pm 16,7$ ) des cicadelles fondatrices ont survécu sur le cultivar

sensible de référence (cv. Etincel). Lorsque cette valeur est comparée au taux de survie de *P. alienus* sur les cultivars testés (taux de survie de 46,67 %  $\pm 13,33$  % (cv. Visuel) à 83,33 %  $\pm 12,02$  % (cv. Spazio)), aucune différence significative n'est observée ( $P \geq 0,05$ ) (Fig. 9A). En complément, la fécondité de *P. alienus* a été évaluée. Sur cv. Etincel, les femelles *P. alienus* ont produit en moyenne 13,33 nymphes ( $\pm 2,64$ ), une valeur similaire aux autres orges testées (de 7,27 nymphes  $\pm 2,49$  (cv. Visuel) à 20,66 nymphes  $\pm 3,36$  (cv. Hironde)) ;  $P \geq 0,05$  ; Fig. 9B). La sensibilité au WDV des cultivars d'orge inclus dans l'étude a été évaluée.



**Figure 9 : Performances de *P. alienus* (A et B) et taux d'infection du WDV-b1 (C) pour différents cultivars d'orge.**

(A-C) Les barres d'histogrammes et les barres d'erreurs représentent respectivement la moyenne et l'erreur standard. (B) Les diagrammes en boîtes indiquent la médiane (ligne noire), la moyenne (ronds noirs), le 1er et le 3ème quartile (boîte), les 10 et 90 centiles (moustaches) et les données aberrantes (petits ronds noirs). Les barres et les boîtes grises correspondent aux données obtenues pour la référence (cv. Etincel). Les astérisques indiquent une différence significative entre la référence sensible et un cultivar testé. ns : non significatif ; \* :  $P \leq 0,05$ . ET : Etincel, AM : Amistar, CA : KWS Cassia, CC : Coccinel, FA : KWS Faro, HI : Hironde, ID : Idilic, JO : KWS Joyau, ME : Memento, SCI : SCI, SP : Spazio et VI : Visuel.

Pour cela, une procédure d'inoculation légèrement différente à celle utilisée dans les travaux conduits sur blé (basée sur l'utilisation de 3 insectes/plante et d'une durée d'inoculation de 24 h ; 20 plantes/cultivar ; 2 répétitions). Comparé au cv. Etincel (40,0 % ± 10,0 %), le taux d'infection du WDV-b1 est significativement réduit sur les cultivars d'orge testés (taux d'infection inférieurs à 7,5 ± 2,5 (cv. Amistar) ; P < 0.05), à l'exception des cvs. Hironde (13,3 % ± 6,7 % ; P = 0.06) et Memento (12,5 % ± 2,5 % ; P = 0.08) (Fig. 9.C). Aucune plante infectée par le WDV-b1 n'a été diagnostiquée pour les cvs. KWS Faro, Idilic et Visuel (Fig. 9.C).

### ► Évaluation du comportement de variétés de blé et d'orge vis-à-vis de la maladie des pieds chétifs au champ

#### Suivi des cicadelles *P. alienus* et de la pression virale

Pour d'évaluer la pression du vecteur, des pièges englués ont été installés afin de capturer les cicadelles tout au long de la saison, depuis la levée des cultures jusqu'aux premières gelées. Entre 2020 et 2023, 2 906 cicadelles de l'espèce *P. alienus* ont été capturées sur des sites répartis dans les départements de la Vienne (86), du Cher (18), de l'Oise (60) et de l'Eure-et-Loir (28). Les captures ont révélé une variabilité interannuelle marquée, avec une présence élevée des cicadelles dès la semaine 41 et diminuant progressivement jusqu'à la fin de la saison (Fig. 10).

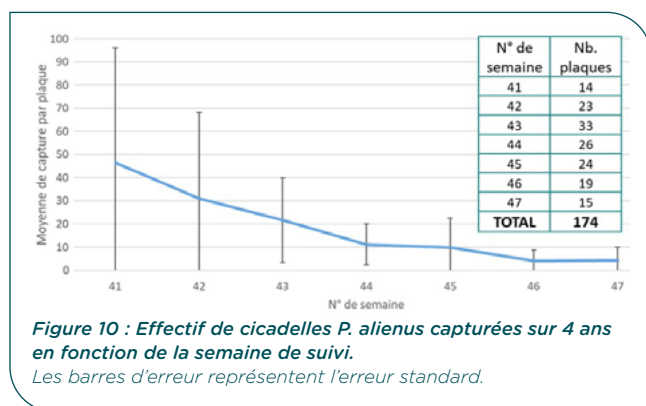


Figure 10 : Effectif de cicadelles *P. alienus* capturées sur 4 ans en fonction de la semaine de suivi.

Les barres d'erreur représentent l'erreur standard.

Les analyses moléculaires réalisées sur un sous-échantillon de 2 077 cicadelles ont révélé que plus de 50 % d'entre elles étaient porteuses du WDV. Parmi celles-ci, environ 30 % étaient infectées par l'isolat spécifique au blé (WDV-W), tandis qu'environ 20 % l'étaient par l'isolat spécifique à l'orge (WDV-B). La proportion de cicadelles virulifères a présenté une variation temporelle importante, atteignant jusqu'à 70 % en semaine 43, avant de chuter à 10 % en semaine 47 (Fig. 11). Mais il est important de noter que l'effectif de cicadelles capturées puis analysées est bien moindre en semaine 47 par rapport à la semaine 43, ce qui peut indirectement influencer la robustesse des prévalences obtenues. De plus, l'échantillonnage de ces cicadelles au champ a été réalisé par capture sur plaque engluée. Il est donc possible qu'un biais soit associé à cette technique de capture, notamment en ce qui concerne le sex-ratio des individus capturés, ainsi que, peut-être, la prévalence du virus chez les individus capturés sur plaque.

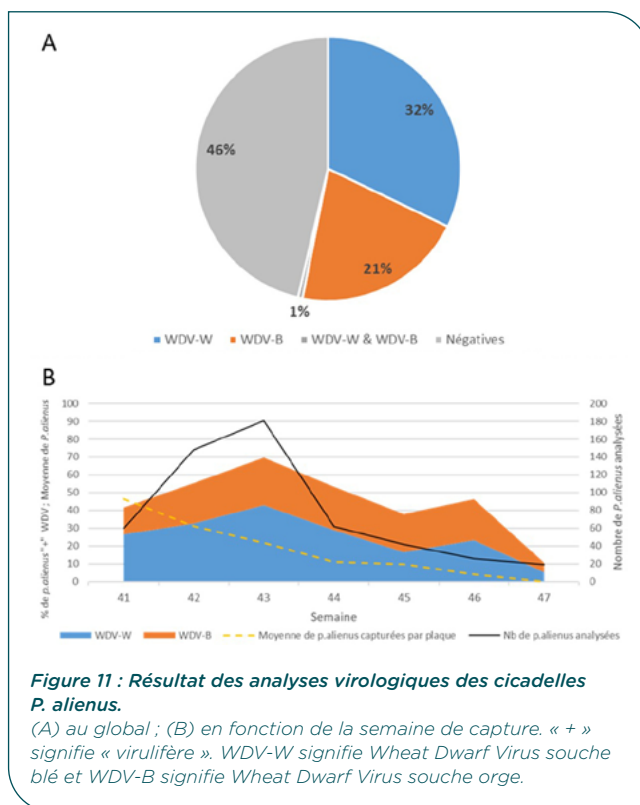


Figure 11 : Résultat des analyses virologiques des cicadelles *P. alienus*.

(A) au global ; (B) en fonction de la semaine de capture. « + » signifie « virulifère ». WDV-W signifie Wheat Dwarf Virus souche blé et WDV-B signifie Wheat Dwarf Virus souche orge.

#### Réponse des géotypes étudiés au WDV

Les essais au champ ont permis d'identifier des géotypes de blé et d'orge présentant des niveaux de sensibilité variés face au WDV. En ce qui concerne le blé, les variétés Fisht, MV Vekni, Agrounia, MV Martina et Mirleben ont montré une moindre sensibilité au WDV sur la base des symptômes par rapport au témoin sensible Rubisko (Fig. 12). À l'inverse, les variétés Nemo, Chevignon et RGT Tweeteo ont présenté des symptômes plus marqués, indiquant une sensibilité plus importante au virus WDV.

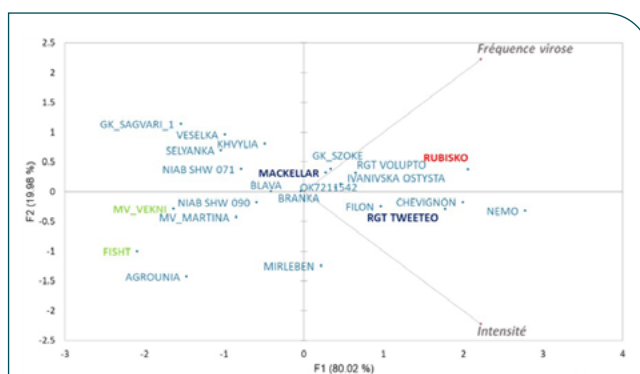
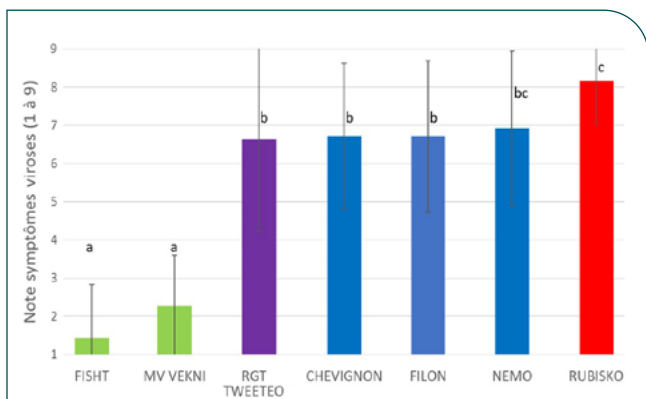


Figure 12 : Biplot des notes de fréquence de plantes symptomatiques et d'intensité des symptômes pour 23 variétés de blé sur la base des deux premières dimensions.

Compilation de sept essais, sur cinq sites et sur trois années. Les deux axes représentent les dimensions 1 et 2 d'une analyse en composantes principales (ACP) qui expliquent respectivement 80,02 % et 19,98 % de la variance de l'ensemble des données. Les axes gris représentent les paramètres Fréquence virale et Intensité de la maladie. En rouge, apparaît la variété témoin sensible Rubisko, en vert les variétés « références » peu sensibles (Fisht et MV Vekni), en bleu foncé apparaissent les variétés tolérantes à la JNO (Mackellar et RGT Tweeteo), et en bleu clair les autres variétés de l'étude.

En cages insect-proof, en raison des sélections successives de géotypes au fil des années, peu de variétés sont communes aux essais 2022, 2023 et 2024. Cependant, ces essais ont permis de confirmer le comportement peu sensible des variétés Fisht et MV Vekni sur la base des symptômes, comparativement au témoin sensible Rubisko et au témoin tolérant à la JNO, RGT Tweeteo (Fig. 13). La réussite de ces essais en conditions de cages insect-proof ouvre la voie à l'utilisation possible de ce système pour caractériser plus facilement la sensibilité variétale du blé tendre via ce type de dispositif.



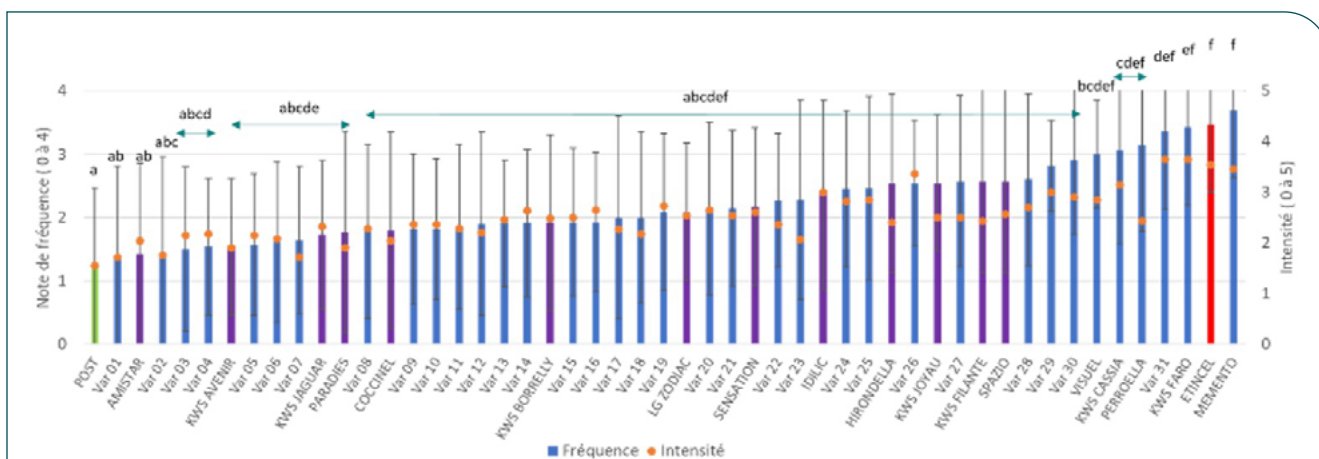
**Figure 13 : Histogramme représentant la note de symptômes viroses (pieds chétifs) en fonction du géotype cultivé dans des dispositifs en cages insect-proof.**

Compilation de 12 essais menés en cages insect-proof (4 sites et 2 années). La note symptômes viroses est une échelle de 1 à 9 : 1 signifiant l'absence de symptômes et 9 la disparition des plantes. En rouge, apparaît la variété témoin sensible Rubisko, en vert les variétés « références » peu sensibles (Fisht et MV Vekni), en violet apparaît la variété tolérante à la JNO (RGT Tweeteo), et en bleu les autres variétés de l'étude. Les barres d'erreur représentent l'erreur standard. Les lettres identiques (a, b, c) indiquent que les groupes correspondants ne diffèrent pas significativement entre eux, tandis que des lettres différentes montrent des différences significatives ( $p < 0,05$ ; ANOVA avec test post-hoc de Duncan).

Concernant l'orge d'hiver, au champ, le cultivar Post s'est distingué par une faible symptomatologie, suivi des cultivars Var 01, Amistar et Var 02, qui ont montré une symptomatologie bien plus faible que le témoin Etincel. En revanche, la plupart des autres variétés étudiées ont présenté une sensibilité comparable à celle du témoin (Fig. 14). Il est important de préciser que sur orge, l'espèce étant plus sensible que le blé à la JNO, la contamination des essais par la JNO a eu plus d'impact que le blé. L'interprétation des résultats est donc plus difficile. En cages insect-proof, les contaminations importantes dues à l'introduction de pucerons vecteurs de la JNO dans le dispositif n'ont pas permis de classer les variétés selon leur niveau de sensibilité au WDV.

En ce qui concerne les dispositifs d'essai en parcelle de 20 m<sup>2</sup> mis en place au Subdray (Arvalis) durant les automnes 2021 et 2023, la faible présence de MPC n'a malheureusement pas permis d'évaluer la sensibilité des variétés étudiées vis-à-vis du virus des pieds chétifs sur la base des pertes de rendement. Le dispositif mis en place sur ce même site en 2022 a, quant à lui, présenté à la fois des infestations par les pucerons et par la cicadelle *P. alienus*. Les deux maladies (JNO et MPC) ont été retrouvées sur le dispositif.

Concernant le blé, le témoin Rubisko a présenté une surface atteinte de 20 %, avec une perte de rendement d'environ 17 % entre les micro-parcelles non traitées et celles traitées avec un insecticide (Fig. 15). Les variétés possédant un gène de résistance partielle à la JNO, comme Wolverine et RGT Tweeteo, ont montré des surfaces similaires mais des pertes de rendement moins importantes, de l'ordre de 5 à 10 %. En revanche, la variété de référence MV Vekni, supposée moins sensible au WDV, a été impactée dans des proportions proches de celles du témoin. Ces résultats suggèrent que la JNO a eu un impact important sur le dispositif blé, rendant difficile l'évaluation de la sensibilité variétale vis-à-vis du WDV, présent en moindre proportion.



**Figure 14 : Histogramme représentant les notes de symptômes de pieds chétifs (fréquence et intensité de la maladie) en fonction du géotype.**

Compilation de 9 essais menés sur 6 sites (3 années). La note de fréquence est représentée par des histogrammes et correspond à une échelle de 0 à 4 : 0 signifiant l'absence de symptôme et 4 signifiant que 100% des plantes de la parcelle présentent des symptômes. La note d'intensité est représentée par un point orange et correspond à une échelle de 0 à 5 : 0 signifiant l'absence de symptôme et 5 signifiant la disparition des plantes. En rouge, apparaît la variété témoin sensible Etincel, en vert la variété « référence » peu sensible (Post), en violet apparaissent les variétés tolérantes à la JNO (Amistar, Hironde, ...) et en bleu les autres variétés de l'étude. Les barres d'erreur représentent l'erreur standard sur la variable « Note de fréquence ». Les lettres identiques (a, b, c, d, e, f) indiquent que les groupes correspondants ne diffèrent pas significativement entre eux, tandis que des lettres différentes montrent des différences significatives sur la variable « Note de fréquence » ( $p < 0,05$ ; ANOVA avec test post-hoc de Tukey).

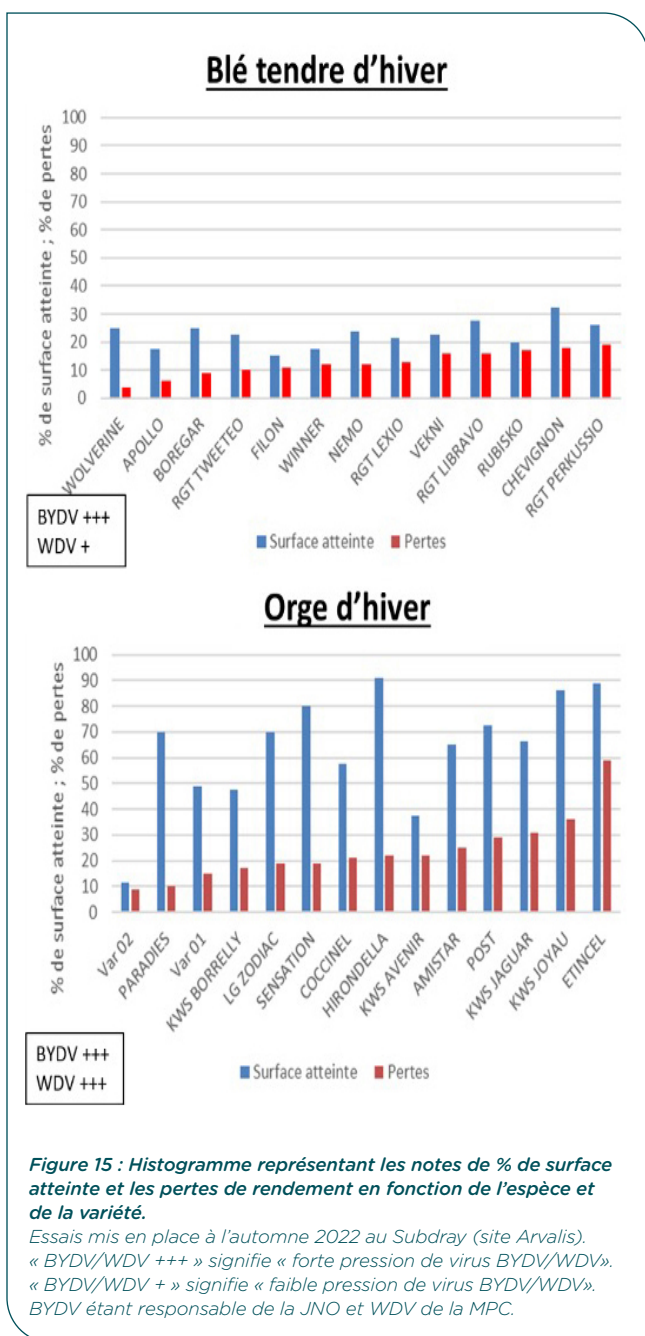
Concernant l'orge, la variété témoin Etincel a été fortement impactée, avec environ 80 % de surface atteinte et 60 % de pertes de rendement. La variété de référence vis-à-vis du WDV, POST, présente une perte de rendement plus faible, de 30 % environ. Parmi les variétés tolérantes à la JNO, on observe une grande variabilité de pertes de rendement, allant de 35 % pour KWS Joyau à 10 % pour Paradies. Ces résultats suggèrent une présence marquée des deux virus dans le dispositif, confirmée par analyse moléculaire. Dans ce contexte de forte pression virale (JNO et MPC), certaines variétés, telles que Var 02, Paradies, Var 01 ou encore KWS Borrelly, se sont distinguées par leurs faibles pertes comparées au témoin. Malgré la contamination par la JNO, les résultats de cet essai sont particulièrement pertinents, car, en conditions de terrain, la présence de la MPC sur une parcelle est souvent associée à celle de la JNO, entraînant ainsi une pression combinée des deux maladies sur les variétés.

Un autre point important à souligner concerne la corrélation entre les notations des symptômes et les pertes de rendement (Fig. 15). Nous observons que, pour certaines variétés, cette corrélation est plutôt bonne, tandis que pour d'autres, elle apparaît moins fiable, que ce soit pour le blé ou l'orge. Par exemple, pour le blé, RGT Perkussio a perdu près de trois fois plus de rendement que Boregar pour un même niveau de surface atteinte. De même, pour l'orge, KWS Jaguar a perdu trois fois plus de rendement que Paradies, alors que la surface atteinte était quasi équivalente. Ces résultats soulignent l'importance d'évaluer les variétés également sur le critère des pertes de rendement, qui reste le critère décisif.

## DISCUSSION

Après les semis de céréales d'hiver (en octobre-novembre en Europe occidentale), les insectes vecteurs de virus migrants depuis les réservoirs sont exposés à une mosaïque de variétés d'hôtes potentiels (Macholdt et Honermeier, 2016 ; Krishna et Veetil, 2022) et doivent donc choisir un hôte afin de se nourrir et de se reproduire. Cette étape de migration permet l'introduction (l'inoculation primaire) du virus dans les parcelles de plantes nouvellement semées. Bien que notre compréhension du processus de sélection des hôtes par les membres des Cicadellidae ait été récemment améliorée (par exemple Tholt *et al.*, 2015 ; Aráoz *et al.*, 2019), les préférences de ces insectes pour les espèces/cultivars hôtes sont peu documentées (voir Appala *et al.*, 2019 pour un exemple). Les résultats produits en laboratoire dans le cadre de cette étude montrent que les cultivars de blé et d'orge semblent avoir un effet neutre sur le processus de sélection de l'hôte par *P. alienus*, ce qui suggère que la fréquence des inoculations primaires peut être considérée comme similaire entre les différentes variétés implantées.

Une fois introduits dans le champ, les insectes se nourrissent des plantes et ont, pour les individus virulifères, la possibilité de délivrer des particules virales dans l'hôte (Brault *et al.*, 2010). Les particules virales inoculées utilisent les ressources de l'hôte pour démarrer l'infection (Péréfarres *et al.*, 2014 ; Jain *et al.*, 2023). Ainsi, l'efficacité de l'infection de l'hôte (taux d'infection) dépend de la souche/de l'isolat du virus (Chain *et al.*, 2005 ; Péréfarres *et al.*, 2014), de l'espèce végétale/du cultivar (qualité de l'hôte ; Benkovics *et al.*, 2010 ; Souquet *et al.*, 2021) et/ou des stress abiotiques (Yvon *et al.*, 2017). Le suivi du taux d'infection (un indicateur de la qualité de l'hôte) met en évidence les différentes sensibilités des hôtes sensibles au WDV. Associée à la fréquence des inoculations primaires, la réduction des taux d'infection a un impact négatif sur l'intensité de l'introduction de la maladie dans les champs (Jones *et al.*, 2010). De plus, comme cela a été démontré pour de nombreux pathosystèmes, la dynamique de population de l'insecte, qui repose sur la capacité de l'insecte à s'accoupler, à se reproduire, à pondre des œufs et à assurer la viabilité de la descendance, est un facteur essentiel de la propagation des maladies virales transmises par les insectes (Fabre *et al.*, 2003 ; Shaw *et al.*, 2017). Ainsi, toute propriété d'antibiose (impact négatif d'une plante sur les performances des insectes (Dogimont *et al.*, 2010)) d'un cultivar devrait être prise en compte pour



gérer les populations d'insectes vecteurs. Cette étude montre que plusieurs génotypes de blé (par exemple les cvs. Complice, Hyking, Nemo et Filon) réduisent la survie et/ou la fécondité de *P. alienus*, ce qui suggère que ces cultivars réduisent le nombre de vecteurs qui seront disponibles pour accomplir la dissémination secondaire. Enfin, l'efficacité de la propagation secondaire d'une maladie virale dépend de la qualité des plantes en tant que source de virus. La diminution significative de l'efficacité de la transmission observée avec les plantes sources du cv. Filon utilisées 14 jours après l'inoculation illustre les variations possibles de la qualité de l'hôte pour la transmission du virus. Cependant, ce résultat n'est pas associé à une accumulation plus faible de WDV.

Les données présentées ci-dessus tiennent compte de l'effet du génotype hôte sur les paramètres épidémiologiques individuels basés sur les interactions plante-virus ou plante-vecteur. Cette approche a été largement utilisée dans la littérature pour caractériser l'impact des plantes sur plusieurs maladies virales (Ripl *et al.*, 2020 ; Kordan *et al.*, 2021 ; Souquet *et al.*, 2021 ; Pichon *et al.*, 2022 ; Chen *et al.*, 2023). Cependant, l'épidémiologie des maladies virales transmises par les insectes résulte de la combinaison de ces interactions. Une analyse multivariée a été réalisée pour décrire la qualité d'hôte des variétés de blé étudiées. Cette approche a permis de montrer que les cultivars Filon et Boregar présentent une sensibilité réduite à la MPC. En outre, des blés présentant une qualité d'hôte réduite pour le virus (par exemple cv. Solindo CS) ou le vecteur (par exemple cvs. Complice et Hyking) ont été décrits.

Concernant le volet expérimental conduit au champ, un large panel de variété de blé et d'orge inscrites ou non au catalogue français a été étudié. L'interprétation des résultats a été compliquée par la co-infection avec la JNO, une maladie virale transmise par les pucerons et fréquemment observée dans les parcelles de céréales à paille. Cette co-infection a pu interférer avec l'expression des symptômes de la MPC, rendant plus difficile l'évaluation précise des symptômes attribuables uniquement à l'infection par le WDV.

Néanmoins, grâce à un nombre important d'essais répartis sur plusieurs sites et années, il a été possible d'identifier des génotypes d'intérêt de blé et d'orge. De plus, les dispositifs en cages, mis en place à partir de la seconde année du projet, semblent prometteurs, notamment pour l'évaluation variétale du blé. Ils pourraient permettre de caractériser la sensibilité des variétés de blé et d'orge au WDV de manière plus sûre et moins coûteuse. Cependant, ce type de dispositif n'est pas tout à fait exempt de contamination par la JNO, et la date d'introduction des cicadelles dans les cages insect-proof est un facteur déterminant pour assurer la réussite de ce type d'essai. De plus, le faible nombre de plantes de chaque génotype dans ces cages nécessite de multiplier le nombre de cages pour disposer de résultats robustes.

Concernant le blé tendre, la variété Filon se distingue du témoin sensible sur la base des symptômes. Cependant, elle reste nettement plus symptomatique que les variétés de référence Fisht et MV Vekni. D'autres variétés de blé, telles que Agrounia, MV Martina et Mirleben, semblent afficher un comportement proche de celui des référents peu sensibles. Une étude plus approfondie de ces variétés, à l'instar de ce qui a été fait sur le cv. Filon en laboratoire, pourrait permettre d'identifier les caractères responsables de cette moindre sensibilité ainsi que les traits génétiques associés.

En ce qui concerne l'orge, les cultivars Var 01 et Var 02 montrent des résultats prometteurs en termes de réduction des symptômes. Par ailleurs, la variété Amistar, tolérante à la JNO, présente également un bon comportement vis-à-vis de la maladie des pieds chétifs, ouvrant ainsi la voie à un potentiel cumul de tolérances (à la JNO et à la maladie des pieds chétifs).

Alors que la base moléculaire sous-jacente aux phénotypes observés doit à présent être évaluée (identification des QTL ; par exemple Pfrieme *et al.*, 2022), les résultats produits par ce projet pourraient déjà être pris en compte pour les futurs programmes de sélection contre la MPC et/ou pour la mise en place de stratégies de gestion agronomique de cette maladie.

## Références bibliographiques

**Abt, I., Jacquot, E.** (2015). Wheat dwarf., in: Virus Diseases of Tropical and Subtropical Crops, CABI Plant Protection Series. CABI, pp. 27-41.

**Abt, I., Souquet, M., Angot, G., Mabon, R., Dallot, S., Thébaud, G., Jacquot, E.** (2020). Functional transcomplementation between wheat dwarf virus strains in wheat and barley. *Viruses* 12, 34. <https://doi.org/10.3390/v12010034>

**Appala, Raju, Sessa, Mahalakshmi, Sandhya, Rani** (2019). Screening of genotypes against cotton leafhopper, *Amarasca devastans* (Cicadellidae: Hemiptera) 7, 861-864.

**Aráoz, M.V.C., Jacobi, V.G., Fernandez, P.C., Albarracin, E.L., Virla, E.G., Hill, J.G., Catalán, C. a. N.** (2019). Volatiles mediate host-selection in the corn hoppers *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae) and *Peregrinus maidis* (Hemiptera: Delphacidae). *Bull. Entomol. Res.* 109, 633-642. <https://doi.org/10.1017/S000748531900004X>

**Benkovics, A.H., Vida, G., Nelson, D., Veisz, O., Bedford, I., Silhavy, D., Boulton, M.I.** (2010). Partial resistance to Wheat dwarf virus in winter wheat cultivars. *Plant Pathol.* 59, 1144-1151. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2010.02318.x>

**Brault, V., Uzest, M., Monsion, B., Jacquot, E., Blanc, S.** (2010). Aphids as transport devices for plant viruses. *C. R. Biol.* 333, 524-538. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2010.04.001>

**Buerstmayr, M., Buerstmayr, H.** (2023). Two major quantitative trait loci control wheat dwarf virus resistance in four related winter wheat populations. *Theor. Appl. Genet.* 136, 103. <https://doi.org/10.1007/s00122-023-04349-3>

**Chain, F., Riault, G., Trottet, M., Jacquot, E.** (2005). Analysis of accumulation patterns of barley yellow dwarf virus-PAV (BYDV-PAV) in two resistant wheat lines. *Eur. J. Plant Pathol.* 113, 343-355. <https://doi.org/10.1007/s10658-005-7966-7>

**Chen, Y.-J., Pandey, S., Catto, M., Leal-Bertioli, S., Abney, M.R., Bag, S., Hopkins, M., Culbreath, A., Srinivasan, R.** (2023). Evaluation of wild peanut species and their allotetraploids for resistance against thrips and thrips-transmitted tomato spotted wilt orthotospovirus (TSWV). *Pathogens* 12, 1102. <https://doi.org/10.3390/pathogens12091102>

**Clark, M.F., Adams, A.N.** (1977). Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *J. Gen. Virol.* 34, 475-483. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-34-3-475>

**Cooper, J.I., Jones, A.T.** (1983). Responses of plants to viruses: proposals for the use of terms. *Phytopathology* 73, 127. <https://doi.org/10.1094/Phyto-73-127>

**Derlink, M., Abt, I., Mabon, R., Julian, C., Virant-Doberlet, M., Jacquot, E.** (2018). Mating behavior of *Psammotettix alienus* (Hemiptera: Cicadellidae). *Insect Sci.* 25, 148-160. <https://doi.org/10.1111/1744-7917.12379>

**Dogimont, C., Bendahmane, A., Chovelon, V., Boissot, N.** (2010). Host plant resistance to aphids in cultivated crops: genetic and molecular bases, and interactions with aphid populations. *C. R. Biol., Les pucerons : modèles biologiques et ravageurs des cultures* 333, 566-573. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2010.04.003>

**Fabre, F., Dedryver, C.-A., Leterrier, J., Plantegenest, M.** (2003). Aphid abundance on cereals in autumn predicts yield losses caused by barley yellow dwarf virus. *Phytopathology* 93, 1217-22. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2003.93.10.1217>

**Gadiou, S., Ripl, J., Jaňourová, B., Jarošová, J., Kundu, J.K.** (2012). Real-time PCR assay for the discrimination and quantification of wheat and barley strains of wheat dwarf virus. *Virus Genes* 44, 349-355. <https://doi.org/10.1007/s11262-011-0699-0>

**GEVES**, (2023). Le catalogue officiel des espèces et variétés de plantes cultivées en France. <https://www.geves.fr/>. URL <https://www.geves.fr/catalogue/> (accessed 9.5.23).

**Habekuß, A., Riedel, C., Schliephake, E., & Ordon, F.** (2009). Breeding for resistance to insect-transmitted viruses in barley - an emerging challenge due to global warming. *Journal für Kulturpflanzen* 61, 53-61.

**Jain, H., Chahal, S., Singh, I., Sain, S., Siwach, P.** (2023). The rising threat of geminiviruses: molecular insights into the disease mechanism and mitigation strategies. *Mol. Biol. Rep.* 50, 3835-3848. <https://doi.org/10.1007/s11033-023-08266-y>

**Jones, R.A.C., Salam, M.U., Maling, T.J., Diggle, A.J., Thackray, D.J.** (2010). Principles of predicting plant virus disease epidemics. *Annu. Rev. Phytopathol.* 48, 179-203. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-073009-114444>

**Köklü, G., Ramsell, J.N.E., Kvarnheden, A.** (2007). The complete genome sequence for a Turkish isolate of wheat dwarf virus (WDV) from barley confirms the presence of two distinct WDV strains. *Virus Genes* 34, 359-366. <https://doi.org/10.1007/s11262-006-0029-0>

**Kordan, B., Wróblewska-Kurdyk, A., Bocianowski, J., Stec, K., Jankowski, K., Gabryś, B.** (2021). Variation in susceptibility of rapeseed cultivars to the peach potato aphid. *J. Pest Sci.* 94, 435-449. <https://doi.org/10.1007/s10340-020-01270-2>

**Lindblad, M., Sigvald, R.** (2004). Temporal spread of wheat dwarf virus and mature plant resistance in winter wheat. *Crop Prot.* 23, 229-234. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2003.08.011>

**Lindblad, M., Waern, P.** (2002). Correlation of wheat dwarf incidence to winter wheat cultivation practices. *Agric. Ecosyst. Environ.* 92, 115-122. [https://doi.org/10.1016/S0167-8809\(01\)00302-4](https://doi.org/10.1016/S0167-8809(01)00302-4)

**Macholdt, J., Honermeier, B.** (2016). Impact of climate change on cultivar choice: adaptation strategies of farmers and advisors in German cereal production. *Agronomy* 6, 40. <https://doi.org/10.3390/agronomy6030040>

**Manurung, B., Witsack, W., Mehner, S., Grüntzig, M., Fuchs, E.** (2005). Studies on biology and population dynamics of the leafhopper *Psammotettix alienus* Dahlb. (Homoptera: Auchenorrhyncha) as vector of wheat dwarf virus (WDV) in Saxony-Anhalt, Germany / Zur Biologie und Populationsdynamik der Zwergzikade *Psammotettix alienus* Dahlb. (Homoptera: Auchenorrhyncha) als Vektor des Wheat dwarf virus (WDV) in Sachsen-Anhalt, Deutschland. *Z. Für Pflanzenkrankh. Pflanzenschutz J. Plant Dis. Prot.* 112, 497-507.



# HELMO : Identification des pathogènes fongiques, du risque maladie et des facteurs génétiques de résistance pour une gestion intégrée et durable de l'helminthosporiose de l'orge

Romain VALADE<sup>1\*</sup>, Agathe JUNG<sup>1</sup>, Cindy VITRY<sup>1</sup>, Stéphanie LE PRIEUR<sup>1</sup>, Eloïse METEIER<sup>1</sup>, Faharidine MOHAMADI<sup>1</sup>, Julie RAMIREZ<sup>2</sup>, Thierry BOUTHILLIER<sup>3</sup>, Emmanuelle DYRSZKA<sup>4</sup>, Amélie GENTY<sup>5</sup>, Ellen GOUEMAN-DUGUE<sup>6</sup>, Guillaume ROULLET<sup>7</sup>, Mathieu TISON<sup>8</sup>, Clara SIMON<sup>9</sup>, Eric GILLARD<sup>10</sup>, Anne-Charlotte LOMBART<sup>10</sup>, Jean-François HERBOMMEZ<sup>11</sup>, Doriane HAMERNIG<sup>1</sup>, Matthieu BOGARD<sup>12</sup>, Pierre GLADIEUX<sup>12</sup>

1 - ARVALIS, Institut du végétal, Station expérimentale, 91720 Boigneville, FRANCE

2 - Plant Health Institute Montpellier, INRAE, CIRAD, Institut Agro, IRD, Université de Montpellier, FRANCE

3 - ASUR PlantBreeding, 163 ter Avenue de Flandre, 60190 Estrées Saint Denis

4 - SYNGENTA, 1228 chemin de l'Hobit, 31790 Saint-Sauveur

5 - SECOBRA Recherches, Centre de bois-Henry, 78580 Maule

6 - FLORIMOND DESPREZ, 3 rue Florimond Desprez, 59242 Cappelle-en-Pévèle

7 - UNISIGMA, 2 rue du petit Sorri, 60480 Froissy

8 - RAGT2n, 615 rue Lavoisier, 59112 Annoeullin

9 - LIMAGRAIN Europe, Biopôle Clermont-Limagne, 63360 Saint-Beauzire

10 - LEMAIRE DEFFONTAINES, 180 rue du rossignol, 59310 Auchy les Orchies

11 - KWS MOMONT Recherche, 7 rue du Martinval, 59246 Mons-en-Pévèle

12 - Arvalis Institut du végétal, 110 chemin de la côté vieille, 31450 Baziège, FRANCE

± responsables d'action

\*Coordinateur du projet : Romain VALADE, r.valade@arvalis.fr

## INTRODUCTION

L'orge est la seconde céréale à paille cultivée en France avec une surface d'environ 1.8 millions d'hectares et une production moyenne de 12 millions de tonnes. Cette céréale, aux nombreux débouchés et économiquement importante pour l'agriculture française, est soumise à différents stress abiotiques et biotiques qui limitent la production. Les maladies cryptogamiques sont nombreuses, souvent spécifiques à l'orge et difficiles à identifier (et donc quantifier) du fait de la ressemblance des symptômes causés par différents pathogènes. En France, la maladie fongique la plus fréquente et nuisible est l'helminthosporiose, notamment sur orge d'hiver. La nuisibilité moyenne est estimée à environ 15q/ha selon l'année et la sensibilité variétale (Arvalis, Perspectives Agricoles, 2024)

L'helminthosporiose est causée par un complexe d'espèces du genre *Pyrenophora* et *Cochliobolus*. Parmi le genre *Pyrenophora*, trois taxa sont responsables de l'helminthosporiose (au sens vernaculaire) : *P. teres* f. *teres* (*Ptt*) responsable de la forme « réseaux » (Net form of Net Blotch : NFNB), *P. teres* f. *maculata* (*Ptm*) responsable de la forme « taches » (Spot form of Net Blotch : SFNB), *P. graminea* responsable des « stries de l'orge ». Une quatrième espèce *C. sativus* est également décrite comme agent causal. Les symptômes causés par *Ptt*, *Ptm* et *C. sativus* sont assez similaires et confondables au champ.

Sur le plan épidémiologique et biologique, *P. teres* survit sur les résidus de culture, infecte par ses ascospores, se propage de manière asexuée, et colonise les tissus sénescents. *Ptt* agit comme nécrotrophe intercellulaire, tandis que *Ptm* et *P. graminea* sont hémibiotrophes et produisent des structures intracellulaires (haustories). *P. graminea* vit sous forme de mycélium dans le grain et infecte systématiquement la plantule via le coléorhize.

Historiquement, *Ptt* prédominait mondialement jusqu'aux années 1970, avant l'émergence de *Ptm* en Australie et Amérique du Nord (McLean *et al.*, 2010) et en France dans les années 90 (Arabi *et al.* 1992). Généralement, une seule forme domine dans une région donnée, et l'introduction de variétés résistantes à une forme peut favoriser l'autre (Louw *et al.*, 1996). En France, *Ptt* est maintenant considérée comme prédominante, mais peu d'études récentes existent sur l'occurrence des espèces, la diversité génétique et les ressources génétiques associées. Des cas d'hybrides viables entre *Ptt* et *Ptm* ont été observés (Liu *et al.*, 2011), tandis que la co-occurrence avec *P. graminea* n'est pas documentée, bien que leur proximité phylogénétique et leur capacité de croisement en laboratoire aient été démontrées (Ariyawansa *et al.*, 2014).

De nombreuses études ont caractérisé les spectres de virulence des formes de *Pyrenophora* à l'aide de lignées différentielles (Afanasenkov *et al.*, 2009), révélant un grand nombre de pathotypes (Liu *et al.*, 2011). Des interactions gène-pour-gène sont supposées, bien qu'aucun gène de résistance ni d'avirulence n'ait encore été cloné. D'autres facteurs de virulence, comme des toxines nécrotrophiques, interagiraient avec des gènes de sensibilité inconnus.

Les génomes des trois formes de *Pyrenophora* sont aujourd'hui bien séquencés et assemblés (Ellwood *et al.* 2010, Wyatt *et al.* 2018, Syme *et al.* 2018, Wyatt *et al.* 2018, Wyatt *et al.* 2021). En revanche, la connaissance de la diversité pathotypique de *C. sativus* reste plus limitée. Les travaux disponibles indiquent une possible base monogénique de la virulence ou de la résistance (Valjavec-Gratian & Steffenson, 1997; Zhong & Steffenson, 2001; Arabi & Jawhar, 2003), avec une diversité pathotypique semble-t-il inférieure à celle de *Ptt* et *Ptm* (Arabi & Jawhar, 2003).



De nombreuses études ont recherché le déterminisme génétique de la résistance à *P. teres*, d'abord via des populations bi-parentales, puis via des panels de variétés (Koladia *et al.*, 2017; Wonneberger *et al.*, 2017a,b; Richards *et al.*, 2017; Vatter *et al.*, 2017; Rozanova *et al.*, 2019; Tamang *et al.*, 2019; Novakazi *et al.*, 2019). Ces travaux ont majoritairement porté sur l'orge de printemps et sur l'espèce *Ptt*. Les analyses par génétique d'association sur de larges panels de diversité révèlent que la résistance aux deux formes de *P. teres* est polygénique, impliquant de nombreux QTL à effets faibles et des interactions QTL × environnement. Toutefois, plusieurs régions génomiques récurrentes, identifiées dans différents panels et conditions, indiquent l'existence de QTL d'intérêt, certains communs aux deux formes de *P. teres*. À ce jour, aucune étude n'a encore utilisé les approches de prédiction génomique pour modéliser cette résistance. À l'inverse, le déterminisme génétique de la résistance de l'orge à *C. sativus* reste moins documenté et semble principalement gouverné par des traits quantitatifs (Kumar *et al.*, 2002). Dans l'Upper Midwest (USA), un cultivar résistant (Dixon) issu de l'accession NDB112 a été déployé dès 1964 (Wilcoxson, 1990). Bien qu'efficace pendant plusieurs décennies, des cas de virulence ont compromis cette résistance (Roy *et al.*, 2010). Fetch *et al.* (2008) ont montré qu'environ 5,8 % des accessions d'orge de printemps testées aux États-Unis étaient résistantes à *C. sativus*. À ce jour, aucune donnée n'existe concernant la résistance des variétés françaises d'orge d'hiver vis-à-vis de cet agent pathogène.

La lutte contre l'helminthosporiose de l'orge passe principalement par la lutte génétique et par la lutte fongicide. Une première intervention précoce en végétation (T1) est souvent réalisée pour réduire l'inoculum primaire, puis une seconde intervention a fréquemment lieu autour des stades DFE/sortie des barbes (T2) dans l'objectif de protéger les deux dernières feuilles qui contribuent fortement au rendement final et au calibrage de l'orge.

La variabilité interannuelle de la nuisibilité dépend également du niveau de résistance variétale de l'orge cultivé. Il convient donc de proposer aux producteurs des outils d'aide à la décision s'appuyant sur des modèles prévisionnels de risque maladie afin de pouvoir les accompagner dans la gestion des interventions fongicides. Les effets de certaines variables climatiques sur le développement de *Pyrenophora teres* sur orge ont déjà été étudiés. Cependant, aucun modèle mécaniste décrivant la dynamique épidémiologique du pathogène au niveau de la plante n'a pour autant été publié. Néanmoins, un premier modèle de régression logistique intégrant des co-variables climatiques et agronomiques a été mis en place par Arvalis en 2017 (Gourdain *et al.*, 2018) à partir de données d'épidémiologie pour prédire l'apparition précoce de la rhynchosporiose et de l'helminthosporiose. Le recours à des modèles de type statistique s'est déjà révélé assez performant pour des problématiques de prévision de risque maladie à condition de disposer de jeux de données suffisamment conséquents et représentatifs des situations observées en pratique (Gourdain *et al.*, 2009 ; Pierre *et al.*, 2015). Cependant, ce type de modèle ne permet souvent de ne répondre qu'à un seul objectif précis et le modèle développé par Arvalis en 2017 se limite ainsi à la

prévision du risque précoce autour du stade 2 nœuds de l'orge. Il n'existe pas à notre connaissance de modèle pour prédire le niveau de risque d'helminthosporiose au moment du T2.

Ainsi, le projet HELMO a pour objectifs de (i) caractériser la diversité des populations pathogènes impliquées dans l'helminthosporiose en France (ii) identifier des régions du génome associées à la résistance par des essais au champ et en conditions contrôlées (iii) et développer un modèle de prédiction du risque.

## MATÉRIEL ET MÉTHODE

### ► Caractérisation du complexe d'espèces et de la structure génétique des populations.

#### Échantillonnage et isolement des souches de *Pyrenophora Cochliobolus*

La collecte des souches responsables des symptômes d'Helminthosporiose a été réalisée à partir de feuilles d'orge symptomatiques prélevées entre 2018 et 2023. Au total, 110 échantillons ont été collectés dans 40 lieux différents correspondant à 24 départements sur 42 variétés (37 orges d'hiver, 5 orges de printemps). Après l'échantillonnage, le tissu symptomatique a été soit traité immédiatement pour l'isolement monospore, soit conservé à 4 °C jusqu'au traitement. Des cultures monospores ont été obtenues en trois étapes à partir d'une sélection des échantillons reçus en 2018, 2020 et 2021 : (i) une colonie a été obtenue par inoculation d'une boîte de Petri contenant du milieu PDA avec une conidie prélevée sur le tissu symptomatique après incubation en chambre humide. A ce stade, un premier diagnostic basé sur les phénotypes des spores et des cultures sur PDA a été réalisé pour éliminer les souches ne correspondant ni à au genre *Pyrenophora* ni à *Cochliobolus* ; (ii) une extraction rapide d'ADN a été réalisée à l'aide de Chelex 100 (Bio-Rad), et cet ADN a été utilisé pour effectuer une PCR avec les amorces et les conditions mises au point par Leisova *et al.* (2006) afin de confirmer la présence de *Pyrenophora*, (iii) pour les colonies où la présence du pathogène a été confirmée ou si il y avait une suspicion de *Cochliobolus*, une seule conidie a été prélevée pour produire de nouvelles colonies utilisées pour la suite de l'étude. Par ailleurs, certaines souches ne produisant plus de conidies après leur prélèvement sur la feuille, l'isolement a été réalisé par sectionnement et transfert de l'extrémité d'un hyphes. Au total, 207 isolats monospore de *P. teres* ont été mis en collection. Aucune souche de *Cochliobolus* n'a été isolée par cette méthode à partir des échantillons de feuilles symptomatiques.

#### Développement de ressources génomiques et analyses de génomique comparative

##### Souches séquencées, données génomiques publiques et assemblages

Les espèces de *Pyrenophora* d'importance économique, telles que *P. teres* (formes *Ptt* et *Ptm*), *P. graminea*, *P. tritici repentis* (*Ptr*), et *P. bromi*, ont été incluses, ainsi que sept espèces phylogénétiquement proches et deux espèces plus éloignées utilisées comme groupes externes (Tableau 1). Au total, 13 espèces ont été incluses, représentées par 117 isolats dont 20 isolats

issus de la collection française (2.1.1). Les autres isolats provenaient de collections publiques ou d'autres groupes de recherche, afin de maximiser le nombre de localisations géographiques représentées pour chaque espèce. Pour *P. tr*, seules les données génomiques issues de bases de données publiques ont été utilisées. Notre jeu de données comprenait également les assemblages de génomes disponibles publiquement pour *P. tr* et *P. tm*. L'ADN a été extrait selon une modification de la méthodologie décrite par Carlsen *et al.* (2017). Pour chaque isolat, cinq disques de culture ont été inoculés dans un erlenmeyer de 250 mL contenant 60 mL de milieu de Fries modifié, puis incubés à 27 °C et à 120 tr/min pendant sept jours. Le contenu de l'erlenmeyer a été homogénéisé, puis mélangé à 60 mL supplémentaires de milieu de Fries. Le mélange a été incubé pendant deux jours supplémentaires dans les mêmes conditions. Après incubation, le mycélium a été lavé à l'eau distillée stérile et recueilli à l'aide d'un voile de filtration (pores < 0,3 mm). L'excédent de liquide a été éliminé par pressage du mycélium à travers le voile à l'aide de papier absorbant. Le mycélium a été congelé à -20 °C et lyophilisé pendant 24 à 36 heures, selon sa teneur en eau. Le tissu lyophilisé a été transféré dans un tube à microcentrifugation de 2 mL et broyé à l'azote liquide à l'aide d'une perceuse équipée de pilons à billes bleues en plastique (Sigma-Aldrich). Un volume suffisant pour atteindre le repère de 200 µL dans le tube a été utilisé pour l'extraction, selon la méthode décrite par Carlsen *et al.* (2017), avec un traitement supplémentaire à la RNase. La qualité

de l'ADN extrait a été évaluée par spectrophotométrie (Nanodrop) et par électrophorèse sur gel d'agarose, tandis que sa quantité a été déterminée à l'aide du kit Qubit® dsDNA haute sensibilité. Les échantillons d'ADN ont ensuite été conservés à -20 °C jusqu'à leur utilisation. Le séquençage de l'ADN a été réalisé chez Montpellier Genomix (MGX) à l'aide de la technologie Illumina. Une banque d'ADN a été construite avec une taille d'insert de 550 pb à l'aide du kit TruSeq Nano DNA Library Preparation (Illumina). Les banques d'ADN ont été séquencées à l'aide d'un séquenceur Illumina NovaSeq 6000.

Les séquences obtenues ont été inspectées et les adaptateurs éliminés avec FASTQC 0.11.9 et MULTIQC 1.11 (Andrews. 2010, Ewels *et al.* 2016) et TRIMMOMATIC 0.39 (Bolger *et al.* 2014), respectivement. Les séquences de tous les isolats nouvellement séquencés, ainsi que les séquences publiques de trois isolats de *P. graminea*, ont été assemblées avec ABYSS (Simpson *et al.* 2009), en utilisant des tailles de k-mer comprises entre 20 et 90. La taille de k-mer maximisant les valeurs N50 et L50 a été sélectionnée. Les séquences répétées ont été recherchées dans les assemblages à l'aide de REPEATMODELER 2.0.3 (Flynn *et al.* ; 2020), puis masquées à l'aide de REPEATMASKER v4 (Smit *et al.*, 2015). La complétude des assemblages a été évaluée en calculant le pourcentage d'orthologues universels à copie unique présents, estimé à l'aide de BUSCO 5.4.3 (Manni *et al.* 2021) et de la base de données pleosporales\_odb10.

Taxon	Hôte principal	Nombre d'isolats			Origine géographique des isolats
		Isolat obtenu à partir d'une collection biologique publique	Assemblage récupéré à partir d'une base de données publique	Nombre total d'isolats	
<i>Pyrenophora teres f. teres</i>	Orge ( <i>Hordeum vulgare</i> )	22	8	30	Australie, Canada, Danemark, France, Hongrie, Maroc, USA
<i>P. teres f. maculata</i>	Orge ( <i>Hordeum vulgare</i> )	9	4	13	Australie, Canada, Danemark, France, Hongrie, Nouvelle Zélande, USA
<i>P. graminea</i>	Orge ( <i>Hordeum vulgare</i> )	1	4	5	Chine, Japon, Tunisie
<i>P. tritici-repentis</i>	Bla ( <i>Triticum aestivum</i> )	0	10	10	Algérie, Australie, Azerbaïdjan, Brésil, Canada, Allemagne, Syrie, Tunisie, USA
<i>P. bromi</i>	Brome inerme ( <i>Bromus inermis</i> )	6	0	6	Canada, Allemagne, Hongrie, Japon
<i>P. chaetomioides</i>	Avoine ( <i>Avena sativa</i> )	5	0	5	Canada, Japon
<i>P. cynosuri</i>	Crételle des près ( <i>Cynosurus cristatus</i> )	1	0	1	Nouvelle Zélande,
<i>P. dictyoides</i>	Multiple graminées	7	0	7	Canada, Allemagne, Japon
<i>P. grahamii</i>	Fléole des près ( <i>Phleum pratense</i> )	5	0	5	Canada, Allemagne, Japon
<i>P. lolii</i>	Multiple graminées	10	0	10	Belgique, Allemagne, Japon, Pays-Bas
<i>P. poae</i>	Pâturin des près ( <i>Poa pratensis</i> )	8	0	8	Belgique, Canada, Allemagne, Japon, Pays-Bas, USA
<i>P. trichostoma</i>	Multiple graminées	4	0	4	Suisse, USA
<i>P. fugax</i> <sup>a</sup>	Multiple graminées	4	0	4	Koweït, Hongrie
<i>P. nobleae</i> <sup>a</sup>	Multiple graminées	9	0	9	Allemagne, Japon
	<b>Total</b>	<b>91</b>	<b>26</b>	<b>117</b>	

<sup>a</sup> : espèces utilisées comme groupes externes, c'est à dire espèces qui sont phylogénétiquement distantes des autres d'après Ariyawansa *et al.*, (2014) and Marin-Felix *et al.*, (2019)

**Tableau 1** : Isolats de *Pyrenophora* inclus dans les analyses de génomique comparative

## Analyse phylogénétique et inférence de l'arbre phylogénétique

Les orthologues à copie unique identifiés avec BUSCO ont servi à inférer les relations phylogénétiques. Les orthologues à copie unique présents dans tous les génomes ont été alignés à l'aide de TRANSLATORX (Manni *et al.* 2021) afin de préserver le cadre de lecture. L'attribution taxonomique des isolats a été réalisée en concaténant toutes les séquences alignées, puis en construisant un réseau à l'aide de la distance de Hamming à l'aide de SPLITSTREE 4.17.2 (Dress *et al.* 1996).

Les généalogies ont été inférées pour chaque orthologue unique présent dans tous les génomes, à l'aide de la méthode du maximum de vraisemblance avec RAXML-NG 0.9.0 (Kozlov *et al.* 2019), en utilisant le modèle GTR+R, avec 1 000 répliquats bootstrap. Toutes les généalogies ont été utilisées pour inférer un arbre phylogénétique à l'aide d'ASTRAL-III 5.7.5 (Zhang *et al.* 2018), avec les paramètres par défaut. Les longueurs des branches de l'arbre phylogénétique ont été calculées à l'aide de RAXML (options --evaluate --brlen scaled --opt-model on --opt-branches on).

## Prédiction des gènes

Les séquences protéiques et les données RNAseq ont été utilisées pour guider la prédiction des gènes à partir des génomes. Pour *Ptt*, *Ptm* et *Ptr*, nous avons utilisé les lectures RNAseq brutes et les séquences protéiques disponibles publiquement (numéros d'accès RNAseq : SRR9875074 et CMM1ATCACGL005, et numéros d'accès protéomique : UP000249757 et UP000001067, respectivement). Pour les autres espèces, l'extraction et le séquençage de l'ARN ont été réalisés, comme décrit ci-après.

Un isolat par espèce a été cultivé sur un milieu PDA et un milieu de Fries enrichi en pénicilline à 25 °C pendant sept jours. Quatre-vingts milligrammes de mycélium ont été récoltés et placés dans un tube à centrifugation, immédiatement immergé dans l'azote liquide. Le mycélium a ensuite été broyé à froid dans des mortiers refroidis à l'azote liquide jusqu'à l'obtention d'une poudre fine. Le mycélium broyé a été remis dans le tube à centrifugation (maintenu au froid), puis 1 mL de réactif TRIzol a été ajouté. Le tube a été vortexé trois fois pendant 30 secondes, puis placé sur glace pendant 5 minutes. Après incubation sur glace, 200 µL de chloroforme ont été ajoutés, la solution a été vortexée pendant 15 secondes, puis laissée sur glace pendant 10 minutes avant centrifugation à 4 °C à 12 000 g pendant 15 minutes. La phase supérieure contenant l'ARN a été transférée dans un nouveau tube, puis 250 µL d'isopropanol froid, 125 µL de citrate de sodium 0,8 M et 125 µL de chlorure de sodium 1,2 M ont été ajoutés. Le tube a été mélangé par retournement 16 fois, puis laissé sur glace pendant 10 minutes avant centrifugation à 4 °C à 12 000 g pendant 8 minutes. Le surnageant a été éliminé et le culot d'ARN a été lavé deux fois avec 1 mL d'éthanol à 75 %, puis centrifugé à 4 °C à 12 000 g pendant 5 minutes. Après le dernier lavage, le culot a été séché à l'air pendant 5 minutes, puis remis en suspension dans de l'eau sans RNase. La suspension a été incubée à 4 °C pendant 2 heures. Un traitement à la DNase a été réalisé à l'aide du kit DNase I, sans RNase, HC de Thermo Scientific.

L'ARN extrait a été évalué en termes de qualité et de quantité à l'aide d'un analyseur de fragments. L'ARN obtenu après culture des isolats sur les milieux PDA et Fries a été comparé, et l'échantillon de meilleure qualité a été sélectionné pour le séquençage. Des banques d'ADNc ont été construites avec une taille d'insert de 550 pb à l'aide du kit TruSeq Nano de préparation de banques d'ADN (Illumina). Le séquençage des banques a été effectué sur un séquenceur Illumina NovaSeq 6000 au centre Montpellier Genomix (MGX). Les séquences de lecture ont été inspectées et les adaptateurs éliminés à l'aide de FASTQC 0.11.9 et de MULTIQc 1.11 (Andrews, 2010, Ewels *et al.* 2016), et de TRIMMOMATIC 0.39 (Bolger *et al.* 2014), respectivement. L'assemblage des séquences a été réalisé avec TRINITY 2.13.2 (Grabherr *et al.* 2011) avec les paramètres par défaut.

Les modèles de gènes ont été prédits avec MAKER 3.31 (Cantarel *et al.* 2018) à partir des génomes masqués des séquences répétées, des transcriptomes assemblés et du protéome de *Ptt* pour tous les isolats, à l'exception de *Ptr* et *P. bromi*, pour lesquels le protéome de *Ptr* a été utilisé. Les paramètres par défaut ont été conservés, à l'exception de la valeur de split\_hit, fixée à 5000 pour correspondre aux caractéristiques des génomes fongiques (Min *et al.* 2017). Une seconde prédiction de gènes a été réalisée à l'aide de MAKER afin d'affiner les résultats. Pour cette seconde étape, l'entraînement de SNAP a été effectué avec les paramètres obtenus lors de la première prédiction, en ne retenant que les modèles de gènes présentant un score ADE inférieur à 0,25 et codant des polypeptides de plus de 50 acides aminés.

## Analyses d'orthologie, de pangénome et de variation moléculaire

Différentes approches ont été utilisées pour identifier les orthologues aux niveaux interspécifique et intraspécifique. Au niveau interspécifique, les relations d'orthologie ont été analysées à l'aide d'OrthoFinder (Emms *et al.* 2015), en sélectionnant un isolat par espèce en fonction de la qualité de l'assemblage et du nombre de gènes prédits.

Au niveau intraspécifique, les protéomes prédits ont servi à effectuer une recherche blastp exhaustive pour chaque espèce. L'algorithme SILIX (Miele *et al.* 2011) a été utilisé pour inférer les relations d'homologie à partir des résultats blast, avec un paramètre de chevauchement (-r) fixé à 0,50. La structure et la taille du pangénome ont été déterminées à l'aide d'analyses de raréfaction.

Les séquences codantes des orthologues à copie unique ont été alignées à l'aide de TRANSLATORX afin de préserver le cadre de lecture. Des statistiques descriptives de la variation nucléotidique ont été calculées pour les espèces, à l'exception de *Pyrenophora dictyoides2* (car  $n = 3$  est trop petit pour le D de Tajima), ainsi que pour tous les orthologues à copie unique avec un échantillon de plus de trois séquences, à l'aide d'EGGLIB V3.3.0 (Siol *et al.* 2022). Les alignements comportant plus de 20 % de sites présentant des insertions/délétions (indels) ont été exclus, et, dans les alignements restants, les codons contenant des indels ont été filtrés. Après ce filtrage, seuls les alignements de plus de 1 000 pb ont été conservés.

## Diversité génétique et structure des populations de *Pyrenophora*

### Extraction ADN

L'ADN des 207 isolats de la collection a été extrait selon la méthodologie décrite dans le 2.1.2. (Carlsen *et al.* 2017).

Des banques de génotypage par séquençage (GBS) ont été construites à partir de 100 ng d'ADN par isolat. L'ADN a été digéré par l'enzyme ApeKI pendant 2 h à 75 °C. Un code-barres spécifique a été ajouté à chaque échantillon par ligation (ADN ligase T4 ; 30 min à 22 °C). Les échantillons barcodés (5 µl chacun) ont été regroupés, puis l'ADN a été amplifié. La purification a été réalisée pour éliminer les adaptateurs et les dimères d'amorces à l'aide du kit Wizard Genomic DNA (Promega), et la qualité a été vérifiée au bioanalyseur en mesurant la quantité et la longueur (150–300 pb) des fragments. Les banques ont été séquencées à l'aide de la technologie Illumina NovaSeq 6000. Les séquences obtenues (150 pb) ont été démultiplexées à l'aide de GBSx 1.3 (Herten *et al.* 2015) et ont été analysées selon les méthodes décrites précédemment.

### Identification des espèces et estimation de la divergence nucléotidique

Pour l'affiliation taxonomique, les séquences GBS ont été alignées sur le génome de référence de chacune des deux formes de *P. teres* (Wyatt *et al.* 2018, Wyatt *et al.* 2021) à l'aide de Bowtie 2.5 (Langmead *et al.* 2012) avec les paramètres par défaut. L'identification et le filtrage des SNP ont été réalisés à l'aide de Bcftools 1.16 (Li, 2011). Après représentation graphique, pour chaque individu, des distributions de la qualité d'alignement (MQ) et de la profondeur de séquençage sous forme d'histogrammes, les seuils de filtrage ont été fixés à MQ  $\geq$  40 et à une profondeur de séquençage par individu  $\geq$  3. Les sites présentant plus de 50 % de données manquantes ont été supprimés à l'aide de Vcftools 0.1.16 (Danecek *et al.* 2011). Les fichiers d'identification des variants (VCF ; un fichier avec *Ptt* comme référence et un fichier avec *Ptm*) ont été convertis en pseudo-alignements au format FASTA. Des réseaux phylogénétiques de type « neighbour-net » ont été construits à l'aide de Splitstree 4.17.2 (Dress *et al.* 1996) à partir de fichiers de pseudo-alignement FASTA. Ces réseaux ont été construits sur la base de la distance *p* (également appelée distance de Hamming), qui correspond au nombre de positions où deux vecteurs diffèrent, calculée par Splitstree. Les isolats ont été assignés au génome de référence auquel ils étaient les plus proches selon cette métrique.

La divergence entre les deux formes a été quantifiée en calculant la divergence nette :

$$D_a = d_{XY} - ((\pi_{Ptt} + \pi_{Ptm})/2)$$

où  $d_{XY}$  représente la divergence nucléotidique et  $\pi$  la diversité nucléotidique. L'alignement de courtes séquences de *Ptt* sur une référence *Ptm*, et inversement, a mis en évidence une divergence significative.

### Quantification moléculaire des formes *Ptt* et *Ptm* dans des échantillons foliaires

Dans l'objectif de diagnostiquer rapidement la présence des deux formes de *P. teres* à partir d'échantillons foliaires sans passer par des isolements monospores,

une méthode qPCR a été internalisée et validée dans nos conditions de laboratoire. Cette méthode a été adaptée des amorces et sondes développées par Mair *et al.* (2023) et Knight *et al.* (2024). La sensibilité, la spécificité des amorces, les limites de détection, la reproductibilité, la répétabilité ont été étudiées selon les critères du laboratoire d'ARVALIS (données non présentées). La méthode développée en duplex (quantification simultanée des deux formes en une seule réaction) a été validée pour l'étude malgré une amplification croisée des deux systèmes d'amorces avec *P. graminea* (données non présentées).

Les 110 échantillons foliaires ont été analysés par qPCR. Dix demi-feuilles par échantillon ont été broyées avec le vibro-broyeur Restch (MM400). L'extraction ADN a été réalisée à partir de 50mg de farine, avec le kit NucleoSpin Plant II (Macherey-Nagel) selon le protocole du fournisseur adapté par le laboratoire. Le temps d'incubation a été prolongé à 90min et 10µL de protéinase K (20mg/mL) ont été ajoutés. Les acides nucléiques ont été dilués à 30ng/µL. La quantification qPCR en duplex a été réalisée en duplicat avec l'instrument BIORAD CFX96.

### Caractérisation de la diversité pathotypique

L'objectif de cette action était de développer une méthodologie fiable et reproductible pour évaluer la résistance variétale à *Pyrenophora teres* à partir d'une collection d'isolats issus de France.

#### Matériel végétal

Seize variétés d'orge ont été testées : onze variétés d'hiver issues d'une sélection de variétés françaises et cinq variétés de printemps issues d'un ensemble différentiel international proposé par Afanassenko *et al.* Neuf des variétés françaises ont été sélectionnées lors d'une étude antérieure menée par ARVALIS en France, car elles étaient représentatives des différents groupes génétiques porteurs de différents allèles QTL liés à la résistance à l'helminthosporiose. Ces variétés étaient : California, Manolia, Memento, Murena, Etincel, Perroella, Majestic, Sy Scoop et Trapeze, les quatre premières étant des variétés à deux rangs et les cinq dernières des variétés à six rangs. De plus, deux variétés françaises supplémentaires (Ketos et Touareg, orge d'hiver à six rangs) ont été incluses comme témoins positifs car elles ont montré une forte sensibilité à l'helminthosporiose au champ (Communication personnelle, Matthieu Bogard, 2022). Les cinq variétés de printemps (à deux rangs) de la série Afanassenko sont, de la plus résistante à la plus sensible : C19825, Prior, Harbin, Skiff et Harrington. Le matériel d'orge pour l'inoculation a été obtenu en semant huit à quatorze graines, selon le taux de germination de chaque variété, dans des pots de 7 x 7 x 9 cm contenant du substrat N2 humin (Neuhaus®) et en les maintenant en serre à une température de 21 ± 3 °C, avec 14 h/jour de lumière naturelle ou artificielle (280 W/m<sup>2</sup>). Après deux semaines, les plantes présentaient deux feuilles complètement développées.

#### Matériel fongique

Nous avons utilisé la collection de 207 isolats de *P. teres* prélevés entre 2018 et 2021 dans différentes localités en France (Ramirez Martinez *et al.* 2024, cf. 2.1.1).

L'absence de production de conidies a été observée

pour de très nombreuses souches après l'isolement initial sur boîtes de Petri. Par conséquent, l'induction de la formation de conidies a été tentée selon de nombreuses approches afin d'obtenir un nombre suffisant de spores pour réaliser des infections en conditions contrôlées (données non montrées). L'approche ayant permis de maximiser la production de conidies sur boîte de Petri est une méthodologie adaptée de Jacques *et al.* (2021). Les colonies ont été cultivées sur gélose V8-PDA pendant une semaine. Seize disques de 6 mm ont été positionnés le long du bord de la gélose V8-PDA fraîche dans les boîtes de Petri, la face mycélienne orientée vers le haut. Ces boîtes de Petri, couvercles retirés, ont été placées dans des boîtes de conservation propres et translucides, puis exposées à la lumière UV proche (UV-P) pendant 24 heures. Elles ont ensuite été scellées et incubées dans l'obscurité à 15 °C pendant 18 heures. Après incubation, l'excédent d'agar, non en contact avec les disques de culture, a été éliminé. L'observation des conidies a conduit à un rinçage délicat des disques avec 5 mL d'une solution de Tween 80 à 0,02 %, et le détachement des conidies du mycélium a été réalisé à l'aide d'un pinceau. La concentration en conidies a été déterminée à l'aide d'une cellule de comptage de Malassez.

#### Production et inoculation de l'inoculum

Différentes méthodes d'inoculation ont été testées afin d'identifier une méthode standard adaptée à l'évaluation de la résistance à l'helminthosporiose chez les variétés d'orge. L'inoculation a été réalisée et évaluée sur des plantes entières et des feuilles détachées. Deux types d'inoculum, à savoir des conidies et du mycélium, ont été testés sur les plantes entières, tandis que seules les conidies ont été utilisées sur les feuilles détachées. Comme de nombreux isolats ne produisaient pas de conidies, ou pas suffisamment pour obtenir une suspension concentrée adaptée à l'inoculation, notre première approche a consisté à inoculer des plantes avec des suspensions de conidies pour les isolats conidiogènes et, parallèlement, à inoculer des plantes avec du mycélium, en adaptant les méthodologies utilisées dans d'autres études (Arabi *et al.* 1992, Karakaya *et al.* 2006, Oğuz *et al.* 2017, Oğuz *et al.* 2019) pour tous les isolats (conidiogènes et aconidiogènes). Notre objectif était d'élaborer une méthodologie permettant de tester les variétés indépendamment de leur capacité à produire des conidies.

#### Inoculation de plantes entières à l'aide de suspensions de conidies

Les conidies obtenues selon la méthode modifiée de Jacques *et al.* (2021) ont été mises en suspension dans l'eau et ajustées à une concentration de  $2 \times 10^5$  conidies/mL pour sept isolats produisant suffisamment de conidies (*Ptt* : n = 6, *Ptm* : n = 1). 1 mL de cette suspension a ensuite été mélangé à 1 mL d'une solution cryoprotectrice dans un flacon de 2 mL et conservé à -80 °C jusqu'à l'inoculation. La survie des conidies après cryoconservation a été confirmée préalablement. Le jour de l'inoculation, les flacons ont été décongelés à 4 °C, puis mélangés à une solution de gélatine à 0,5 % pour obtenir un volume final de 20 mL, soit une concentration de 5 000 conidies/mL. La concentration et la quantité de suspension de conidies ont été préalablement

standardisées à l'aide des isolats FRA0005 et FRA0055 et des variétés Etincel et Trapeze. Les plantes ont été obtenues selon la méthode décrite précédemment. Pour chaque isolat, un plateau contenant un pot de huit plantes par variété a été préparé, les pots étant disposés aléatoirement. Le plateau a été uniformément pulvérisé avec 20 mL de suspension de conidies. Les plantes inoculées ont été placées pendant 24 h dans une chambre de brumisation obscure à 28 °C et à 100 % d'humidité relative, puis dans une pièce à 19 °C, sous une photopériode de 12 h/12 h et un éclairage de 165  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ . Après une semaine, les symptômes ont été évalués. Six feuilles par pot ont été collées sur du papier blanc, puis scannées pour obtenir des images à haute résolution, analysées ultérieurement avec le logiciel LeAFtool (<https://github.com/sravel/LeAFtool>) intégré à IPSDK Explorer 3.2. Ce logiciel utilise une approche d'apprentissage automatique pour construire des modèles capables de reconnaître et de mesurer la surface des lésions foliaires. Deux modèles ont été construits et entraînés pour reconnaître la nécrose et la chlorose, symptômes de la tache réticulée. Le premier modèle était adapté à l'analyse de la quasi-totalité des feuilles symptomatiques, tandis que le second a été entraîné à analyser uniquement les feuilles fortement desséchées après l'infection et l'incubation, cas où le premier modèle ne parvenait pas à identifier la feuille, celle-ci étant entièrement chlorotique. Les deux modèles ont permis de détecter la maladie quelle que soit la forme de *P. teres*.

#### Inoculation de plantes entières à l'aide d'une suspension de mycélium

Trente-deux isolats conidiogènes et aconidiogènes, représentatifs des différents groupes génétiques de *P. teres* identifiés dans Ramírez Martínez *et al.* (2024) ont été sélectionnés et répartis en six lots. Chaque isolat a été cultivé sur 10 boîtes de Petri contenant du milieu PDA pendant 10 jours à 25 °C dans l'obscurité, les boîtes étant scellées avec du ruban adhésif afin d'éviter toute formation de conidies. Après 10 jours, 2 g de mycélium ont été prélevés par grattage des colonies à l'aide de scalpels propres, mis en suspension dans du Tween 80 à 0,02 %, soniqués (50 Hz pendant 30 s), puis filtrés sur une gaze de nylon en conservant le mycélium retenu. Le filtrat, susceptible de contenir des conidies, a été éliminé. Le mycélium a ensuite été mis en suspension dans 20 mL de gélatine à 1 %, homogénéisé, puis soniqué à nouveau jusqu'à obtention d'un mélange homogène.

La suspension mycélienne a été utilisée pour pulvériser les plantes d'un plateau préalablement préparé, contenant les 16 variétés d'orge disposées aléatoirement. Les plateaux ont ensuite été traités comme lors d'une pulvérisation de conidies : placés en chambre de brumisation pendant 24 h, puis à 19 °C pendant une semaine.

L'inoculation de mycélium mélangé à de la gélatine n'a produit que de faibles symptômes, voire aucun (résultats non présentés). L'observation des feuilles n'a révélé aucune trace de gélatine, ce qui indique que l'inoculum avait été lessivé dans la chambre de brumisation. Par conséquent, la méthode a été modifiée pour le lot suivant d'isolats, en remplaçant la gélatine par du Tween 20 à 0,2 % pour préparer la suspension mycélienne.

Avec cette suspension, l'inoculum n'a pas été lessivé et des symptômes typiques de l'helminthosporiose ont été observés, bien que les lésions soient plus petites que celles obtenues avec les conidies. Afin d'accroître l'étendue des symptômes, la durée d'exposition en chambre humide a été portée à 48 h, ce délai étant considéré comme optimal pour induire l'infection par les conidies (Oğuz *et al.* 2017). Cependant, après 48 h d'obscurité, les plantes présentaient un état défavorable, avec des feuilles pâles et chlorotiques. D'autres conditions d'éclairage et méthodes ont donc été testées : par exemple, les plantes inoculées ont été placées dans des sacs en plastique plutôt que dans une chambre humide, ou exposées à la lumière (artificielle ou naturelle) pendant un certain temps avant d'être replacées dans une chambre humide. Pour chaque traitement expérimental, les symptômes ont été évalués sept jours après l'inoculation, selon la même méthode d'analyse d'images que pour le test aux conidies. Un test de corrélation de Spearman a été réalisé avec R (<https://www.r-project.org/>) afin d'évaluer la relation potentielle entre la surface d'infection obtenue par conidies et celle obtenue par mycélium.

#### Inoculation de feuilles détachées à l'aide d'une suspension de conidies

Parallèlement aux expériences réalisées sur le mycélium, nous avons entrepris d'évaluer la pathogénicité en utilisant uniquement les sept isolats ayant sporulé suffisamment pour procéder au test de pathogénicité, et en utilisant des feuilles détachées plutôt que des plantes entières, sachant que les résultats peuvent être corrélés à ceux obtenus avec des plantes entières (El-Mor *et al.* 2018). Les conidies ont été produites et collectées selon la méthodologie adaptée de Jacques *et al.* [38], décrite précédemment. La concentration des suspensions de conidies a été ajustée à 18 750 conidies/mL avant leur mélange à la solution cryoprotectrice, puis leur conservation à -80 °C. Cette concentration avait été préalablement standardisée lors d'une expérience préliminaire menée avec quatre isolats (FRA0005, FRA0018, FRA0042 et FRA0064) et trois variétés (Etincel, Touareg et Trapèze) (résultats non présentés). Le protocole d'inoculation foliaire a été adapté de la méthodologie décrite par El-Mor *et al.*

Pour chaque variété, six secondes-feuilles ont été prélevées sur des plants âgés de deux semaines et placées dans une chambre humide constituée d'une boîte de Petri carrée de 245 mm contenant 0,8 % d'agar. Les six feuilles ont été fixées à la face interne du couvercle de la boîte de Petri à l'aide de deux bandes de ruban adhésif translucide, leur face inoculée orientée vers l'agar. Les boîtes de Petri ont été fermées en évitant tout contact direct des feuilles avec l'agar. Pour chaque isolat, le stock de conidies congelées préalablement préparé a été décongelé, puis conservé à 4 °C et mélangé à une solution de gélatine à 0,5 % pour obtenir une concentration finale de 1875 conidies/mL. Les feuilles contenues dans chaque boîte de Petri (une boîte par variété) ont été inoculées avec 1 mL de suspension conidienne par pulvérisation uniforme sur leur surface. Les boîtes inoculées ont été maintenues à 25 °C, sous une photopériode de 12 h/12 h, pendant sept jours avant la mesure des symptômes à l'aide d'un logiciel d'analyse d'images, comme décrit

précédemment. Trois répétitions techniques ont été réalisées, soit trois boîtes de Petri inoculées pour chaque isolat et chaque variété. Des témoins négatifs ont été obtenus par pulvérisation d'une suspension de gélatine sans conidies. L'expérience a été répétée deux fois, portant le total à trois réplicats biologiques.

Le pourcentage de surface lésée (surface de la lésion divisée par la surface de la feuille) a été calculé, puis analysé statistiquement à l'aide de R. La reproductibilité de la méthode a été évaluée en examinant les corrélations entre les réplicats au moyen du test de Spearman. Le pourcentage de surface lésée a été estimé pour chaque réplicat technique de chaque combinaison variété-isolat, puis moyenné sur l'ensemble des réplicats biologiques. Pour déterminer l'effet du facteur variété sur cette proportion, un modèle linéaire a été utilisé. Ce modèle a également pris en compte les effets potentiels des réplicats, ainsi que l'interaction entre les facteurs isolat et variété. La fonction `drop1` a été utilisée pour évaluer le poids de chaque facteur du modèle. Les variétés et les isolats ont été comparés par paires à l'aide du test de Tukey. Un autre modèle linéaire a ensuite été analysé afin d'explorer les interactions potentielles entre l'origine des isolats de *Ptt* et le type d'orge. Pour ce faire, les isolats ont été classés selon le type d'orge d'origine (orge de printemps ou d'hiver), tandis que les variétés d'orge ont également été séparées selon leurs exigences de vernalisation (orge de printemps ou d'hiver). Les résidus des modèles ont été examinés à l'aide de graphiques quantile-quantile (qq-plots).

#### ► **Déterminisme génétique et modélisation basée sur des marqueurs génétiques de la résistance à l'helminthosporiose chez l'orge d'hiver**

##### Matériel végétal

Un panel de 289 accessions d'orge a été testé dans le projet. Ce panel comprend un sous-ensemble de la collection nationale d'orge d'hiver établie précédemment dans le cadre des projets CASDAR COLNATOR et CASDAR RHYNO (200 accessions), 80 variétés d'orge d'hiver inscrites en France et 9 variétés d'orge de printemps. Ce panel comprend des variétés inscrites en France entre 1934 et 2020 mais aussi des lignées de sélection non inscrites. Il est composé pour moitié d'orges 2 rangs et pour moitié d'orges 6 rangs.

##### **Phénotypage en conditions agronomiques**

Le panel a été testé pour la sensibilité à l'helminthosporiose dans 9 essais en conditions agronomiques réalisés dans le cadre du projet FSOV HELMO. Par ailleurs, des notations de sensibilité à l'helminthosporiose étaient disponibles dans des essais réalisés antérieurement sur les 200 accessions de la collection nationale d'orges d'hiver et pour les 280 accessions hiver du panel dans les projets CASDAR COLNATOR et CASAR RHYNO. Au total, vingt essais en conditions agronomiques ont été réalisés dans différents lieux en France (Tableau 2). Ceux-ci correspondaient généralement à des dispositifs en deux blocs randomisés constitués de parcelles d'observation de deux à trois lignes de 1m pour chaque variété. Dans chaque essai, des notations visuelles de la sensibilité à l'helminthosporiose ont été réalisées à différentes dates dans chaque essai et la notation la plus discriminante a été retenue. Par ailleurs, la date d'épiaison et la hauteur

Projet	Partenaire	Année	Essai	Lieu	Latitude	Longitude	Date semis	Hauteur plante	Date d'épiaison	d1.helm	d2.helm	d3.helm
COLNATOR	SECOBRA	2017	SEC17	MAULE	48.92	1.82	05/10/2016	X	X	16/05/2017		
COLNATOR	LIMAGRAIN	2017	LIM17	VERNEUIL-L-ETANG	48.65	2.84	05/10/2016		X	unknown		
COLNATOR	UNISIGMA	2017	UNI17	FROISSY	49.57	2.22	30/09/2016	X	X	19/05/2017		
COLNATOR	KWS-MOMONT	2017	KWS17	MONS-EN-PEVELLE	50.48	3.10	02/10/2016	X	X	25/04/2017	30/05/2017	
COLNATOR	ASUR PLANT BREEDING	2018	ASU18	ESTREES-SAINT-DENIS	49.25	2.44	04/10/2017	X	X	unknown		
COLNATOR	LEMAIRE-DEFFONTAINES	2018	LEM18	AUCHY-LEZ-ORCHIES	50.47	3.23	04/10/2017	X	X	25/04/2018	23/05/2018	
COLNATOR	SYNGENTA	2018	SYN18	BERCHERES-LES-PIERRES	48.32	1.57	18/10/2017	X	X	23/05/2018		
COLNATOR	RAGT	2018	RAG18	PREMESQUES	50.66	2.95	29/09/2017	X	X	17/05/2018		
RHYNO	FLORIMOND-DEPREZ	2021	FLO21	HOUVILLE-LA-BRANCHE	48.44	1.64	18/10/2020	X	X	03/05/2021	04/06/2021	
RHYNO	ARVALIS	2022	ARV22	VILLIERS-LE-BACLE	48.73	2.11	14/10/2021	X	X	27/04/2022	13/05/2022	
RHYNO	UNISIGMA	2022	UNI22	ESSUILES	49.48	2.27	13/10/2021	X	X	18/05/2022		
HELMO	FLORIMOND-DEPREZ	2022	FLO22	HOUVILLE-LA-BRANCHE	48.44	1.64	16/10/2021	X	X	13/04/2022	01/05/2022	27/05/2022
HELMO	SECOBRA	2022	SEC22	MAULE	48.92	1.82	18/10/2021			07/05/2022		
HELMO	LEMAIRE-DEFFONTAINES	2023	LEM23	AUCHY-LES-ORCHIES	50.49	3.19	11/10/2022		X	15/05/2023		
HELMO	UNISIGMA	2023	UNI23	REUIL-SUR-BRECHE	49.51	2.23	05/10/2022		X	22/05/2023		
HELMO	RAGT	2023	RAG23	HANTAY	50.54	2.88	12/10/2022		X	11/05/2023	24/05/2023	
HELMO	ASUR	2023	ASU23	ESTREES-SAINT-DENIS	49.25	2.44	05/10/2022	X	X	18/04/2023	23/05/2023	
HELMO	FLORIMOND-DEPREZ	2023	FLO23	HOUVILLE-LA-BRANCHE	48.44	1.64	16/10/2022	X	X	07/04/2023	24/04/2023	22/05/2023
HELMO	LIMAGRAIN	2023	LIM23	VERNEUIL-L'ETANG	48.65	2.96	11/10/2022	X	X	25/04/2023	11/05/2023	
HELMO	SECOBRA	2023	SEC23	MAULE	48.92	1.82	19/10/2022			26/04/2023	17/05/2023	

**Tableau 2 :** Descriptif des essais utilisés pour rechercher des facteurs de résistance à l'helminthosporiose de l'orge par génétique d'association. Les essais ont été réalisés dans le cadre de différents projets (CASDAR COLNATOR, CASDAR RHYNO et FSOV HELMO) et par différents partenaires entre 2017 et 2023. L'acronyme de chaque essai est indiqué ainsi que le lieu, les coordonnées, la date de semis, si des mesures de hauteur ou de date d'épiaison ont été réalisés et les dates de notation de la sensibilité à l'helminthosporiose (1 à trois notations ont été réalisées selon les essais).

Code isolats	Plante hôte	Variété	Département	Laboratoire
FRA0018	Orge Hiver	Ketos	77	ARVALIS
FRA0055	Orge Printemps	KWS Jessie	28	ARVALIS
FRA0042	Orge Hiver	Etincel	28	INRAE
FRA0064	Orge Printemps	RGT Planet	91	INRAE

**Tableau 3 :** Caractéristiques des isolats de *Pyrenophora teres f. teres* utilisés pour évaluer la sensibilité variétale du panel en conditions contrôlées par les laboratoires d'INRAE PHIM et ARVALIS.

des plantes ont été mesurées dans la plupart des essais. Les notes visuelles de sensibilité à l'helminthosporiose ont été corrigées des effets de la date d'épiaison et de la hauteur selon la méthode proposée par (Beuningen and Kohli, 1990) : d'abord, les notes ont été normalisée par le calcul du coefficient relatif d'infection (RCI)

$$RCI_{ij} = S_{ij} / \max(S_j) \times 100$$

Avec  $RCI_{ij}$  le coefficient relatif d'infection pour le génotype  $i$  dans l'essai  $j$ ,  $S_{ij}$  la note de sensibilité du génotype  $i$  dans l'essai  $j$  et  $\max(S_j)$  la sensibilité maximale observée dans l'essai  $j$ . Ensuite, les résidus de la régression linéaire multiple expliquant  $RCI_{ij}$  par la hauteur et la date d'épiaison ont été calculés pour chaque génotype dans chaque essai :

$$RCI_{ij} = HD_{ij} + PH_{ij} + \epsilon_{ij}$$

Avec  $RCI_{ij}$  le coefficient relatif d'infection pour le génotype  $i$  dans l'essai  $j$ ,  $HD_{ij}$  la date d'épiaison du génotype  $i$  dans l'essai  $j$ ,  $PH_{ij}$  la hauteur du génotype  $i$  dans l'essai  $j$  et  $\epsilon_{ij}$  les résidus de la régression nommés DRIHH (« deviation from the regression of infection on heading and height »).

### Phénotypage en conditions contrôlées

La sensibilité du panel a été évaluée pour 4 souches de la collection française dont 2 isolées à partir d'orge d'hiver et 2 isolées à partir d'orge de printemps (Tableau 3). Deux souches ont été testées dans les conditions expérimentales mises au point à INRAE et deux autres dans celles d'Arvalis avec des protocoles légèrement différents en ce qui concerne le dispositif, l'inoculation et la notation des symptômes. La mise au

point et la comparaison des protocoles ont été réalisées dans le cadre du projet mais ne sont pas détaillées dans cet article pour conserver la clarté du texte.

#### Protocole INRAE

Les souches FRA0042 (isolée à partir d'un échantillon d'orge d'hiver) et FRA0064 (issue d'un échantillon d'orge de printemps) ont été testées par INRAE pour 276 variétés du panel. Neuf expérimentations indépendantes par souche ont été réalisées pour pouvoir phénotyper l'ensemble du panel. La variété ETINCEL était présente dans tous les essais et les autres variétés étaient présentes dans deux essais pour chaque souche (2 répétitions biologiques). Des pots contenant 6 plantes ont été produits en chambre de culture. L'inoculation a été réalisée sur feuilles détachées selon le protocole décrit précédemment (cf. 2.1.5). La deuxième feuille de chaque plante a été prélevée et l'ensemble des feuilles a été étalé sur une boîte contenant un milieu gélosé. L'inoculation de chaque boîte a été réalisée par spray de 1mL d'une solution à 1875 spores.mL<sup>-1</sup> et les boîtes ont été maintenues à 25°C pendant 7 jours pour favoriser le développement des spores. Des scans des feuilles ont été réalisés et le pourcentage de surface nécrosée à 7 jours post-inoculation a été déterminé par analyse d'image.

#### Protocole Arvalis

Les souches FRA0018 (issue d'un échantillon d'orge d'hiver) et FRA0055 (issue d'un échantillon d'orge de printemps) ont été testées par ARVALIS pour 275 variétés du panel. Les variétés ont été réparties dans cinq expérimentations indépendantes par souche. Huit variétés témoins (Etincel, RGT Planet, Ketos, Memento, Majestic, Sy Scoop, Solen et Laser) étaient présentes dans tous les essais ainsi que deux témoins négatifs non inoculés (Etincel et RGT Planet). En dehors des témoins, chaque variété était présente dans deux essais pour chaque souche (répétitions biologiques). Des pots contenant 5 plantes ont été produits en chambre de culture. Les pots ont été arrosés et maintenus en chambre de culture avec une température diurne de 22°C, nocturne de 18°C, une photopériode de 16h et une humidité relative de 80% le jour et 100% la nuit. L'inoculation a été réalisée à semis +12 jours sur 5 feuilles (répétitions techniques) à l'aide d'une solution de spores (3750 spores.mL<sup>-1</sup>) étalée au pinceau sur une zone délimitée de 7cm par feuille (trois allers-retours). Les pots ont été ensachés durant 72h afin de favoriser l'infection. Des notations visuelles du pourcentage de surface nécrosée ont été réalisées 7 et 10 jours après inoculation. Les notations à 10 jours post-inoculation, plus discriminantes, ont été retenues pour les analyses. Pour chaque variété, une moyenne du pourcentage de surface nécrosée a été calculée pour chaque souche en tenant compte d'un effet aléatoire « essais » et d'un effet « variété » fixe à l'aide d'un modèle mixte.

### **Génétique d'association et prédiction génomique**

Les 280 variétés d'orge d'hiver du panel ont été génotypées à l'aide de la puce Illumina Infinium iSelect 50K (Bayer *et al.* 2017). Les données manquantes ont été imputées à l'aide de Beagle (Browning, 2008) et les marqueurs ont été cartographiés sur la version 2 du génome de Morex (Monat *et al.* 2019). La structure de la population a été évaluée à l'aide de STRUCTURE

(Pritchard *et al.* 2000) et le nombre de sous-populations a été déterminé à l'aide de la méthode proposée par (Evanno *et al.* 2005). Une GWAS a été réalisée pour le DRIHH dans chaque essai au champ et pour le pourcentage de nécroses pour chaque souche testée en conditions contrôlées à l'aide du modèle mixte suivant :

$$Y_{ij} = \mu_j + \beta_{mj}X_{im} + PC_{ik} + G_i + \epsilon_i$$

Avec  $Y_{ij}$  le phénotype de l'individu  $i$  dans l'essai ou pour la souche  $j$ ,  $\mu$  la moyenne dans l'essai ou pour la souche  $j$ ,  $\beta_{mj}$  l'effet fixe du marqueur  $m$  dans l'essai ou pour la souche  $j$ ,  $X_{im}$  le génotype de l'individu  $i$  au marqueur  $m$ ,  $PC_{ik}$  les coordonnées de l'individu  $i$  sur la composante principale  $k$  (deux composantes ont été retenues),  $G_i$  l'effet aléatoire du génotype  $i$  avec une covariance dérivée de la matrice d'apparentement calculée avec rrBLUP et  $\epsilon_{ij}$  un résidu.

Ce modèle a été ajusté pour chaque marqueur à l'aide du package MM4LMM (Laporte *et al.* 2022). Un seuil de significativité de  $-\log_{10}(p)=5,09$  a été calculé à l'aide de la méthode proposée par (Gao *et al.* 2010). Une méta-analyse des résultats de GWAS par essai ou souche a été réalisée séparément à l'aide du package metaGE (Walsche *et al.* 2025). Un modèle à effets aléatoires a été ajusté, tenant ainsi compte de l'hétérogénéité possible des effets des QTL entre les essais/souches. La procédure de Benjamini-Hochberg a été appliquée pour identifier des marqueurs significativement associés avec des valeurs  $p \leq 0,05$ .

Les limites des QTL ont été définies en fonction du déséquilibre de liaison (DL) (Cormier *et al.* 2014). Le DL a été calculé en tenant compte de la structure de la population et de l'apparentement à l'aide du package LDcorSV (Mangin *et al.* 2012). Tout d'abord, un seuil (« DL critique ») correspondant au 95<sup>ème</sup> percentile du DL calculé pour 1 000 000 de paires de marqueurs non liés (cartographiés sur différents chromosomes) a été calculé. Ensuite, le DL entre SNP significativement associés et cartographiés sur un même chromosome a été calculé et ils ont été regroupés en fonction de la distance moyenne à l'aide d'un seuil de 1 - « DL critique ». Pour chaque cluster de SNP, le DL a été calculé pour chaque paire de marqueurs dans une région située entre le marqueur proximal du cluster de SNP -5% de la longueur totale du chromosome et le marqueur distal du cluster de SNP +5% de la longueur totale du chromosome. La décroissance du DL a ensuite été modélisée à l'aide d'un spline et la distance physique correspondant à un DL égal à 0,2 a été calculée. Cette valeur a été utilisée pour étendre les limites des QTL (Alqudah *et al.* 2020). Les QTL ont été nommés en concaténant le nom du chromosome et la position du marqueur le plus significatif (en Mbp). Les gènes ayant des fonctions prédites liées à la résistance à la maladie (« disease resistance protein », « leucine rich-repeat », « receptor-kinase ») ont été identifiés et leur différentiel d'expression a été examiné à partir de la base de données accessible sur <http://barleyexp.com/> (Li *et al.* 2023). Les résultats de GWAS ont été confrontés aux résultats publiés dans la littérature sur la sensibilité à *P. Ptt* et *Ptm* (Tamang *et al.* 2015; Burlakoti *et al.* 2016; Koladia *et al.* 2017; Wonneberger *et al.* 2017a, b; Richards *et al.* 2017; Vatter *et al.* 2017; Amezrou *et al.* 2018; Rozanova *et al.* 2019; Novakazi *et al.* 2019).

La sensibilité moyenne à l'helminthosporiose de chaque individu a été calculée à l'aide d'un modèle linéaire mixte avec le génotype en effet fixe et l'essai en effet aléatoire. Un modèle GBLUP a été calibré à l'aide du package BGLR (Pérez and de los Campos, 2013). Une validation croisée de type k-fold (k=10) a été réalisée afin d'évaluer la capacité du modèle à prédire la sensibilité à l'helminthosporiose pour des génotypes non testés : pour chaque fold, 10% des variétés ont été écartées du jeu de données de calibration, le modèle a été calibré sur les 90% de variétés restantes et la corrélation entre valeurs prédites et observées pour les 10% restantes a été calculée. Ce processus a été répété 10 fois et la moyenne des corrélations entre valeurs prédites et valeurs observées obtenues pour chaque fold a été calculée.

### ► Prédiction du risque Helminthosporiose

Dans le cadre du projet FSOV HELMO, nous avons étudié les facteurs agronomiques et climatiques associés au développement de l'helminthosporiose afin de construire des outils de prévision du risque et d'optimiser les interventions fongicides en T1 et en T2. Les analyses ont finalement porté sur la prévision du risque avant et après DFE afin de couvrir l'ensemble des situations décisionnelles et de vérifier la cohérence des prévisions sur le cycle cultural. Des méthodes statistiques ont été mobilisées afin d'atteindre cet objectif en exploitant de larges bases de données. L'enjeu final est de mieux anticiper les niveaux de risque, de limiter les applications inutiles et d'ajuster les traitements en fonction de leur impact potentiel sur la nuisibilité.

#### Jeu de données mobilisés

Afin de construire des modèles prédictifs du risque lié à l'helminthosporiose de l'orge, deux bases de données ont été construites en compilant des données issues de différentes sources.

Une première base de données (BDD1) a été constituée à partir d'observations réalisées en France entre 2004 et 2024 sur 2 390 parcelles non traitées issues des réseaux d'épidémiosurveillance Vigicultures/Végéobs. Pour chaque parcelle, 20 plantes ont été échantillonnées et les trois dernières feuilles déployées (F1, F2, F3) notées pour l'incidence d'helminthosporiose (0-20) selon Simonneau *et al.* (2011b). La base intègre également des informations agronomiques. L'analyse s'est limitée aux observations précoces, entre les stades 1N et DFP, afin de garantir l'utilisation exclusive de parcelles non traitées et d'identifier les variables associées au développement précoce de la maladie. Deux variables cibles à prédire ont été définies : (i) la date de franchissement du seuil de 20 % d'incidence moyenne, et (ii) l'incidence moyenne observée sur F1-F3 entre 1N et DFP.

Une seconde base de données (BDD2) a été constituée à partir de notations de sévérité en fin de cycle, réalisées sur témoins non traités entre les stades Zadoks 71 (début remplissage du grain) et 75 (grain laiteux). Les données proviennent d'essais conduits par Arvalis et d'essais conduits dans le projet HELMO, incluant plusieurs observations par essai selon la variété, le stade de développement et les étages foliaires notés. Afin d'intégrer cette

variabilité et d'obtenir une valeur unique par site-année, des moyennes ajustées selon niveau de sensibilité variétal, le stade et l'étage foliaire ont été calculées à l'aide du package R *emmeans*. Cette démarche a permis d'analyser spécifiquement l'effet de la note de sensibilité variétale sur la sévérité finale et de constituer un jeu de données de sévérité finale de l'helminthosporiose couvrant 162 sites-années. Ce jeu de données a été utilisé pour développer des modèles prédictifs du risque climatique lié à la sévérité d'helminthosporiose en fin de cycle.

Pour l'analyse des deux bases de données, les variables d'incidence moyenne d'helminthosporiose précoce (BDD1) et de sévérité finale (BDD2), exprimées en pourcentage ont été préalablement transformées afin de stabiliser la variance et d'améliorer la normalité des résidus (Ahrens *et al.* 1990).

#### Analyse préliminaire des effets des facteurs agronomiques

Une analyse de variance (ANOVA) a été réalisée afin d'évaluer les effets des facteurs agronomiques sur l'incidence moyenne précoce d'helminthosporiose dans la BDD1. Le modèle incluait la note de résistance variétale à l'helminthosporiose, la précocité de semis (précoce/moyen/tardif), le précédent cultural (orge vs autre), le travail du sol (labour vs non-labour) et les interactions (note de résistance x précocité de semis et travail du sol x précédent) comme effets fixes. Des effets aléatoires pour année, secteur géographique et leur interaction ont été inclus pour prendre en compte la structure hiérarchique du jeu de données. Les hypothèses d'homoscédasticité et la normalité des résidus ont été vérifiées graphiquement.

#### Variables climatiques étudiées

Dans les différentes bases de données, des variables climatiques ont été calculées à partir de plusieurs paramètres météorologiques : température, précipitations, évapotranspiration et rayonnement. Les données, disponibles à une résolution journalière, proviennent d'un réseau étendu de stations Arvalis et Météo-France. Ces variables ont été ensuite interpolées et attribuées aux coordonnées géographiques de chaque parcelle (Deudon *et al.*, 2017).

Une quinzaine de variables climatiques potentiellement influentes sur le risque de développement de l'helminthosporiose ont été définies à partir de la littérature et d'avis d'experts. Parmi ces variables figurent par exemple la pluviométrie cumulée, le nombre de jours pluvieux, le nombre de séquences de trois jours consécutifs de pluie, le nombre de jours avec une température maximale supérieure à 15 °C, la somme des températures minimales, ... Des indices cumulatifs intégrant simultanément les conditions journalières de température et de précipitations favorables à la sporulation d'après la littérature, ont également été explorés. Les variables climatiques ont été calculées pour la campagne en cours, la précédente et l'interculture, afin d'intégrer l'effet potentiel de l'inoculum résiduel.

Deux types de fenêtres temporelles ont été explorées pour le calcul des variables climatiques : (i) des intervalles définis par des stades phénologiques de l'orge, estimés à l'aide d'un modèle phénologique décrit par Gouache *et al.* (2012), et (ii) des périodes

calendaires, d'abord basées sur les saisons, puis optimisées via une approche calendaire glissante (« window pane » Gouache *et al.*, 2015) afin d'identifier au mieux les périodes calendaires les plus déterminantes. Cette approche consiste à faire varier simultanément la date de début et la durée de la fenêtre de calcul de chaque variable, ce qui a permis de générer plus de 4 000 variables climatiques distinctes.

### Sélection préalable des variables climatiques

Pour construire les modèles prédictifs, une réduction de dimensionnalité s'est avérée nécessaire en raison du grand nombre de variables par rapport aux observations et pour limiter le risque de multicollinéarité lié aux fortes corrélations entre variables climatiques susceptibles de biaiser les estimations des modèles. Une présélection des variables explicatives a ainsi été réalisée en trois étapes : (i) suppression des variables fortement corrélées ( $r^2 > 0.8$ ), (ii) élimination des variables à faible variabilité ( $CV < 0.05$ ), (iii) sélection de variables par régression pénalisée LASSO (Tibshirani, 1996).

### Méthodes de modélisation

Afin d'identifier les variables agro-climatiques les plus prédictives du risque de développement de l'helminthosporiose de l'orge et de mettre en place des modèles prédictifs, différentes méthodes statistiques ont été mobilisées. Pour la prévision de l'incidence précoce et de la sévérité en fin de cycle, les performances de modèles de régression linéaire ont été comparées à celles de modèles d'apprentissage automatique via des forêts aléatoires (Breiman, 2001) qui permettent d'explorer des relations non linéaires. La prévision du franchissement du seuil de 20 % d'incidence a été réalisée à l'aide de modèles de survie de Cox à risques proportionnels, permettant de modéliser le temps jusqu'à l'événement tout en intégrant les observations censurées et d'estimer l'effet des facteurs explicatifs via des rapports de risque (Cox, 1972). Pour chaque méthode, les variables du modèle final ont été sélectionnées parmi l'ensemble des variables testées selon une procédure adaptée : une sélection stepwise basée sur l'AIC pour les régressions linéaires et les modèles de Cox, et une élimination itérative de la variable la moins importante pour les forêts aléatoires jusqu'à atteindre la RMSEP (Root Mean Square Error of Prediction) minimale. L'ensemble des analyses ont été réalisées sous R (version 4.4.1).

### Évaluation des modèles

Les modèles ont été évalués par validation croisée, stratifiée par année, afin de tenir compte de la variabilité interannuelle et de limiter les biais liés à la structure temporelle des données. Les métriques utilisées pour évaluer et comparer les niveaux de performance obtenus entre les régressions linéaires et les forêts aléatoires sont le RMSEP, qui mesure la précision des prédictions, et l'efficacité globale, définie comme la proportion de variance expliquée par le modèle. La performance des modèles de survie de Cox a été évaluée à l'aide de l'indice de concordance (C-index), qui quantifie la concordance entre les prédictions et l'ordre réel du dépassement du seuil de 20% d'incidence d'helminthosporiose.

La pertinence des variables explicatives retenues dans les modèles finaux a été examinée par expertise agronomique, et leur cohérence comparée entre les différentes approches de modélisation.

## RÉSULTATS

### ► Caractérisation du complexe d'espèces et de la structure génétique des populations

#### Développement de ressources génomiques et analyses de génomique comparative

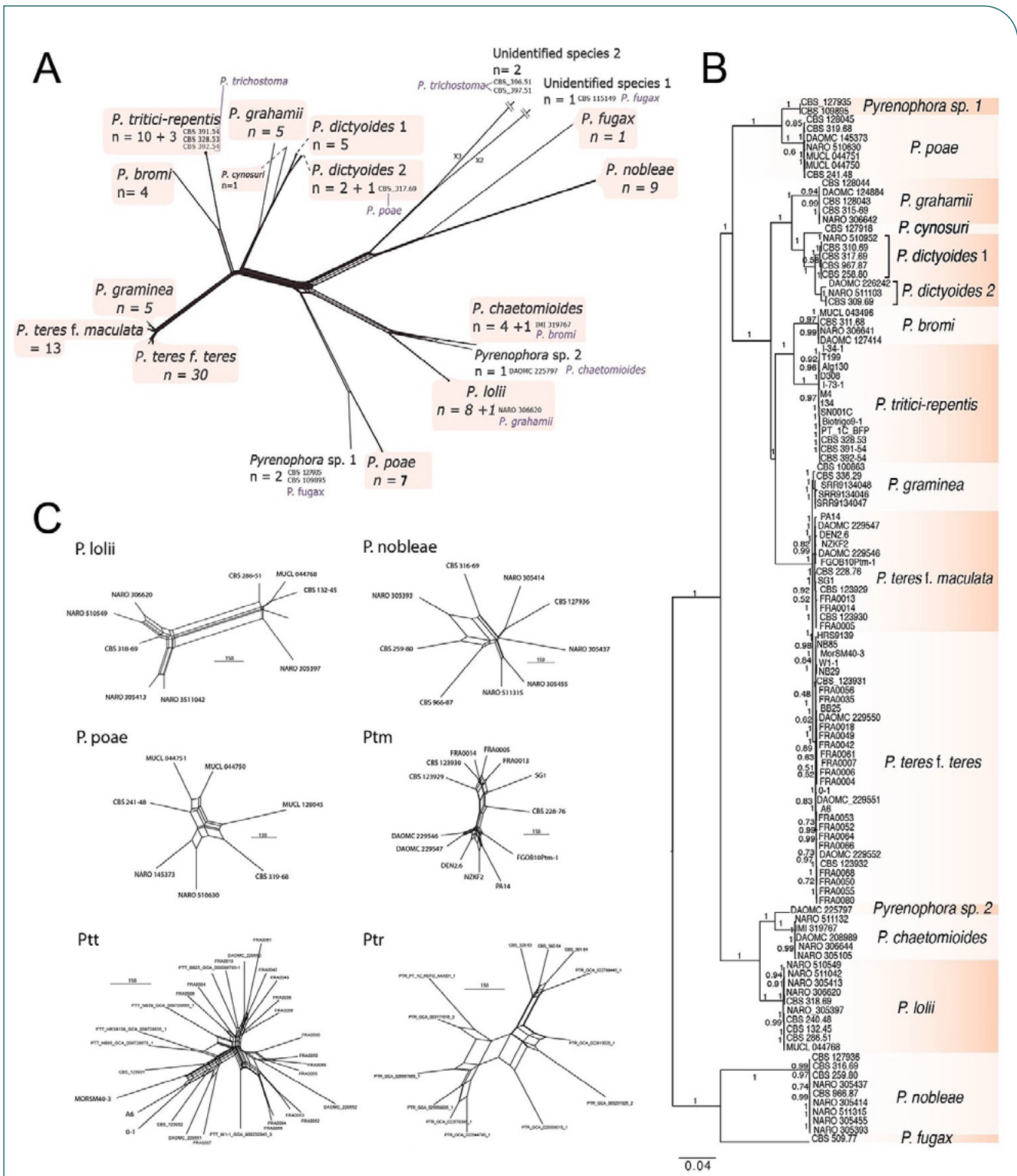
Nous avons assemblé et analysé les génomes de 117 isolats, représentant 13 espèces morphologiques de *Pyrenophora*, afin de mieux comprendre leur histoire évolutive et leurs déterminants de virulence.

Nous avons utilisé BUSCO pour évaluer la qualité de l'assemblage et inférer les relations phylogénétiques. Pour tous les isolats, des scores BUSCO élevés (> 90 %) ont été obtenus, avec une valeur moyenne de 93,5 % (écart-type = 3,8). Un réseau phylogénétique Neighbor-Net, construit à partir de l'alignement et de la concaténation de 1983 gènes BUSCO à copie unique présents dans tous les isolats, a révélé que certains d'entre eux avaient été mal classés (Figure 1). Trois isolats (CBS 115149, CBS 396.51 et CBS 397.51), initialement identifiés comme *P. trichostoma* et *P. fugax*, présentaient une distance génétique significative par rapport aux autres isolats, ce qui suggère qu'ils pourraient appartenir à un autre genre. Ces isolats ont été désignés comme « espèces non identifiées 1 et 2 » (Figure 1) et exclus des analyses ultérieures. Deux isolats, bien qu'étroitement apparentés à *P. poae*, n'ont pu être rattachés avec certitude à aucune espèce connue de *Pyrenophora* ; ils ont été désignés comme *Pyrenophora* sp. 1. Six isolats se sont révélés être des erreurs de classification et ont pu être réattribués à une espèce différente. Parmi ces six isolats, trois initialement classés comme *P. trichostoma* ont été reclassés comme *Ptr* (CBS\_391.54, CBS\_328.53, CBS\_392.54), un isolat précédemment désigné comme *P. poae* a été reclassé comme *P. dictyoides* (CBS 317.69), un isolat initialement catégorisé comme *P. bromi* a été reclassé comme *P. chaetomioides* (IMI 319767), et un isolat désigné comme *P. grahamii* a été reclassé comme *P. lolli* (NARO 306620).

Après l'assignation phylogénétique basée sur le réseau Neighbor-Net, 114 isolats de *Pyrenophora* ont été conservés dans l'ensemble de données. Un total de 5156 gènes BUSCO monocopies ont été identifiés dans les 114 assemblages génomiques, et une généalogie génique a été inférée pour chacun d'eux. Les généalogies géniques individuelles ont été combinées à l'aide d'ASTRAL, et l'arbre phylogénétique résultant illustre les relations entre les espèces et les isolats étudiés. La plupart des nœuds de l'arbre phylogénétique sont étayés par des valeurs de bootstrap élevées (Figure 1).

L'arbre phylogénétique a révélé que certaines espèces morphologiques correspondaient à des complexes d'espèces, c'est-à-dire des groupes composites englobant plusieurs espèces phylogénétiques cryptiques. *Pyrenophora dictyoides* a pu être divisée en deux groupes divergents, désignés *P. dictyoides* 1 (le plus grand) et *P. dictyoides* 2 (le plus petit). Un isolat divergent (DAOMC 225797) a également été identifié au sein de *P. chaetomioides*, considéré comme une espèce distincte et inconnue. Cet isolat avait initialement





été classé comme « *P. chaetomioides (avenae)* » dans la collection d'où il provenait. La taxonomie de *P. chaetomioides* est complexe, car *P. chaetomioides* et *P. avenae* sont à la fois des noms valides et des synonymes (Index Fugorum). Nous avons conclu qu'il était plus précis de classer DAOMC 225797 comme une nouvelle espèce, *Pyrenophora* sp. 2. Nous émettons l'hypothèse que cet isolat pourrait appartenir à l'espèce *P. avenae*, mais des analyses complémentaires, telles que l'intégration d'isolats de référence de cette espèce et la construction d'un arbre phylogénétique, sont nécessaires pour confirmer cette classification.

Les niveaux de variation moléculaire étaient remarquablement similaires entre les espèces. La diversité nucléotidique synonyme ( $\pi_S$ ) variait de 0,0022/pb chez *Ptt* à 0,008/pb chez *P. graminea*, et le ratio  $\pi_N/\pi_S$  variait de 0,219 chez *P. graminea* à 0,318 chez *Ptt* (Tableau 4). Les tests de Kruskal-Wallis ont révélé des différences significatives entre les espèces ( $\pi_S$ :  $H = 3209,2$ ,  $p = 0,0$ ;  $\pi_N/\pi_S$ :  $H = 525,9$ ,  $p = 1,3 \times 10^{-106}$ ), mais les tests post hoc de Mann-Whitney (non présentés) n'ont pas permis de distinguer les espèces selon leur caractère invasif. Les valeurs de  $\pi_S$  observées se situaient dans la plage attendue pour un ascomycète phytopathogène (c.-à-d. inférieures à 1%) et étaient compatibles avec des tailles de population effectives  $N_e$  de l'ordre de  $10^4$  (en supposant une valeur médiane de  $\pi_S$  de 0,0027/pb, un taux de mutation  $\mu = 2 \times 10^{-8}$ /pb [21] et  $N_e = \pi_S/2\mu$ ). Les estimations de  $\pi_N/\pi_S$ , nettement inférieures à  $\pi_N/\pi_S = 1$ , indiquent que la sélection négative agit relativement efficacement pour éliminer les mutations délétères. Pour *Ptt*, *Ptr* et *Ptm*, les valeurs de  $\pi_S$  et  $\pi_N/\pi_S$  étaient supérieures à celles attendues pour des espèces invasives, étant donné que l'histoire démographique de l'invasion peut s'accompagner de goulets d'étranglement entraînant une réduction de la diversité nucléotidique et un

enrichissement en mutations faiblement délétères (ce qui augmente le ratio  $\pi_N/\pi_S$ ). Contrairement aux niveaux de variation moléculaire, la statistique de neutralité de Tajima (D) différait significativement entre les espèces (test de Kruskal-Wallis :  $H = 3206,1$ ,  $p = 0,0$ ), allant de valeurs médianes de  $D = -0,82$  chez *P. graminea* et *P. chaetomioides* à  $D = 1,46$  chez *P. grahamii*. Chez les organismes présentant une alternance de cycles sexués et asexués, comme les champignons phytopathogènes, les estimations de D de Tajima sont mieux interprétées dans le cadre de modèles de coalescence à fusions multiples (Ariyawansa et al, 2014). Les arbres de coalescence obtenus avec ces modèles présentent des généalogies plus étoilées et un excès de variants de faible fréquence (par exemple, des variants uniques) et de haute fréquence, ce qui se traduit par une valeur de D de Tajima plus négative que dans le modèle de Kingman à taille de population constante. Le D de Tajima était légèrement négatif chez *P. bromi*, *P. chaetomioides*, *P. graminea*, *P. poae* et *Ptt* (Tableau 4), ce qui est cohérent avec une taille de population relativement stable ou une croissance démographique modérée, et une structure de population peu profonde. Chez *P. dictyoides*, *P. grahamii*, *P. lolii*, *P. nobleae*, *Ptm* et *Ptr*, au contraire, le coefficient D de Tajima était positif, ce qui est cohérent avec une subdivision de la population. La structure plus profonde de *P. lolii*, *Ptm* et *Ptr* peut être visualisée dans les réseaux phylogénétiques (Figure 1).

#### Diversité génétique et structure des populations de *Pyrenophora*

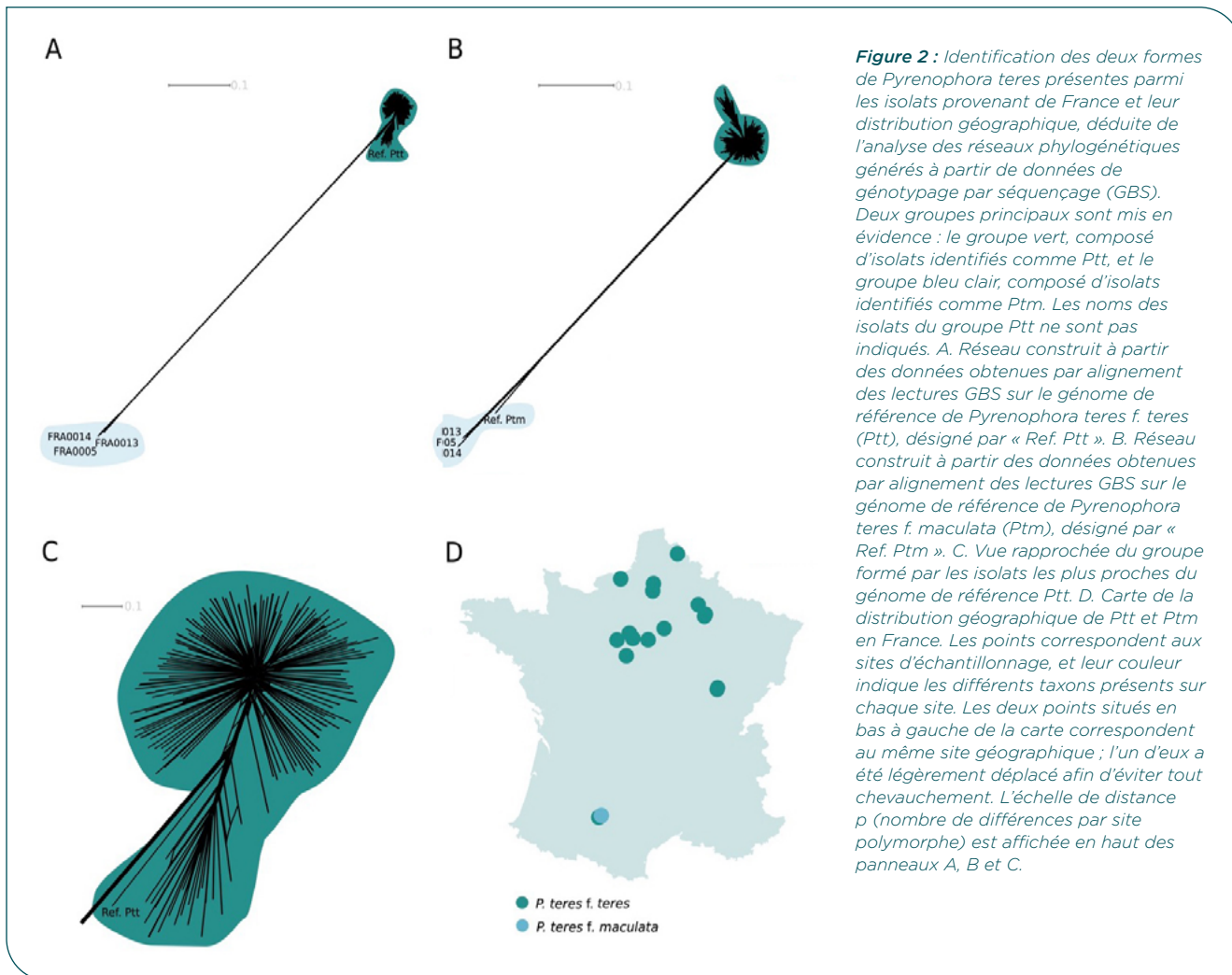
##### *Ptt* est plus fréquent que *Ptm* comme agent pathogène de l'orge en France

Au total, 207 isolats de *Pyrenophora teres* ont été obtenus lors de quatre campagnes de collecte réalisées en 2018 (n=39), 2019 (n=11), 2020 (n=94) et 2021 (n=63). Ces isolats provenaient de 16 localités réparties dans

Espèce	N	lseff	nseff	S	$\pi_S$	D	$\pi_N/\pi_S$
<i>P. bromi</i>	3373	1113 (1083.2)	4 (0.3)	1 (22)	0.0026 (0.0145)	-0.61 (1.19)	0.3177 (0.3051)
<i>P. chaetomioides</i>	4897	813 (981.1)	4 (0.7)	1 (19.7)	0.0028 (0.0179)	-0.78 (1.01)	0.3132 (0.3472)
<i>P. dictyoides 1</i>	4120	1149 (1049)	5 (0.6)	4 (26.8)	0.0044 (0.015)	1 (1.05)	0.3001 (0.384)
<i>P. grahamii</i>	4945	1065 (1046.9)	5 (0.9)	0 (21.9)	0.0029 (0.0151)	1.46 (1.03)	0.3124 (0.2718)
<i>P. graminea</i>	5712	861 (928.9)	4 (0.8)	3 (21.8)	0.0079 (0.0105)	-0.82 (0.89)	0.2189 (0.3146)
<i>P. lolii</i>	5274	711 (971.2)	6 (2.9)	1 (20)	0.0037 (0.0131)	1.3 (1.16)	0.3109 (0.3487)
<i>P. nobleae</i>	7786	627 (958.8)	5 (2.5)	0 (15.5)	0.0025 (0.0121)	0.36 (1.34)	0.3115 (0.3108)
<i>P. poae</i>	2799	612 (939.9)	4 (1.7)	1 (19.4)	0.008 (0.0137)	-0.2 (1.28)	0.2203 (0.3291)
<i>Ptm</i>	5998	567 (857.6)	7 (3.6)	2 (21.6)	0.0062 (0.0144)	0.43 (1.33)	0.2245 (0.3835)
<i>Ptt</i>	4513	519 (818.4)	9 (3.7)	0 (17.4)	0.0022 (0.0145)	0.32 (1.35)	0.318 (0.4107)
<i>Ptr</i>	6403	507 (785.7)	15 (9.3)	1 (23.5)	0.0024 (0.0114)	-0.14 (1.47)	0.3091 (0.8659)

Pour toutes les statistiques, à l'exception de N, les médianes sont présentées, avec l'écart type entre parenthèses. *Ptm* = *Pyrenophora teres* f. *maculata*; *Ptt* = *P. teres* f. *teres*; *Ptr* = *P. tritici-repentis*; N = nombre d'orthologues à copie unique inclus dans les calculs; lseff = nombre effectif de sites inclus dans les calculs; nseff = nombre moyen de chromosomes inclus dans les calculs par site; S = nombre de sites en ségrégation;  $\pi_S$  = diversité nucléotidique aux sites synonymes; D = statistique de neutralité de Tajima;  $\pi_N$  et  $\pi_S$  = diversité nucléotidique aux sites non synonymes et synonymes, respectivement.

Tableau 4 : Statistiques descriptives de la variation nucléotidique chez onze espèces de *Pyrenophora*.



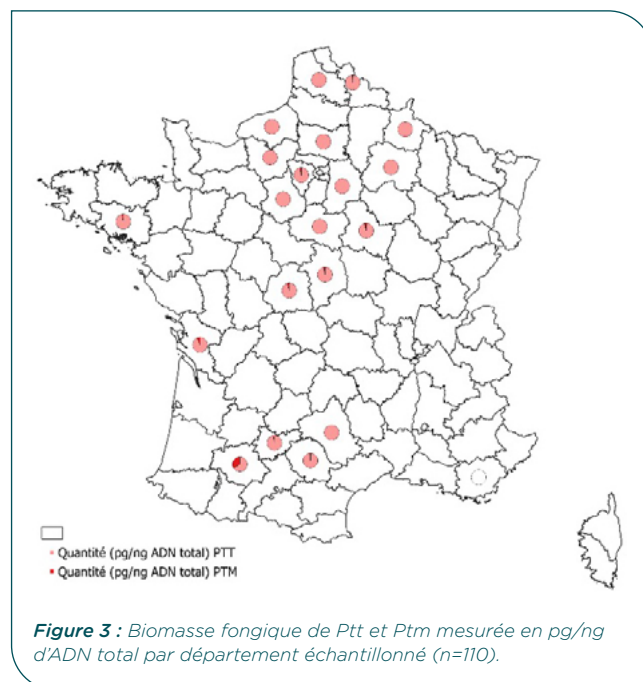
12 départements français, avec un nombre d'isolats par localité variant de 3 à 48 selon la disponibilité de tissus symptomatiques. Plus de 15 variétés d'orge ont été échantillonnées, dont l'orge de printemps à deux rangs (n=26) et l'orge d'hiver (n=181). Les besoins en vernalisation étaient connus pour l'ensemble des 207 isolats, tandis que le nom de la variété et le nombre de rangs étaient connus pour 204 d'entre eux (données non montrées).

Les séquences GBS couvraient respectivement 30 % et 32 % des génomes de référence de *Ptt* et *Ptm*. L'analyse des SNP a identifié  $1,1 \times 10^5$  SNP pour le jeu de données *Ptt* et  $8,4 \times 10^4$  SNP pour le jeu de données *Ptm*. Les réseaux phylogénétiques ont montré que la plupart des isolats (n = 204) étaient étroitement apparentés au génome de référence *Ptt* (distance p moyenne de 0,08 différence/site polymorphe ; Figure 2), tandis que seuls trois isolats étaient étroitement apparentés au génome de référence *Ptm* (distance p moyenne de 0,2 différence/site polymorphe ; Figure 2). La divergence nette (Da) entre *Ptt* et *Ptm* était de 0,006/pb (écart-type : 0,016), ce qui suggère une divergence il y a environ 0,128 million d'années. Aucune réticulation n'a été observée entre les branches *Ptt* et *Ptm*, ce qui indique l'absence d'hybrides dans le jeu de données.

*Ptt* a été isolé dans toutes les zones échantillonnées, tandis que *Ptm* n'a été isolé que dans le sud-ouest de la France, coexistant avec *Ptt* dans le même champ.

### Caractérisation de la distribution des espèces de *P. teres* à l'échelle de la France par méthode moléculaire

L'analyse des 110 échantillons par qPCR ont confirmé les résultats obtenus par la méthode d'isolement.



*Ptt* est la forme prédominante en France sur tout le territoire. *Ptt* a été détecté (valeur qPCR supérieure à la limite de détection de la méthode) dans 90% des échantillons contre 20% pour *Ptm*. *Ptt* représente 98.65% de la biomasse fongique totale et est largement majoritaire dans l'ensemble des départements échantillonnés (Figure 3). *Ptm* a été détecté dans 10 des 24 départements échantillonnés avec une cooccurrence des deux formes dans 20 échantillons. En proportion par rapport à *Ptt*, *Ptm* a été quantifié un peu plus abondamment dans le Sud-Ouest ce qui explique les résultats issus des isolements (Figure 3). Les concentrations de *Ptt*, exprimées varient significativement selon l'année (modèle mixte linéaire :  $F_{3,78} = 9,81$ ;  $p < 0,001$ ). L'année 2022 présente des niveaux significativement plus faibles que 2020, 2021 et 2023 (comparaisons post-hoc ajustées,  $p < 0,01$ ), tandis que 2020 et 2021 ne différaient pas significativement. Une augmentation des concentrations est observée en 2023 par rapport à 2020 ( $p = 0,041$ ). Pour chaque année, malgré des pressions différentes, la proportion de *Ptm* par rapport à *Ptt* est assez stable (de 0.2% pour 2020 et 2021 à 2.3% pour 2023).

*Pyrenophora teres f. teres* est subdivisé en deux groupes principaux en France

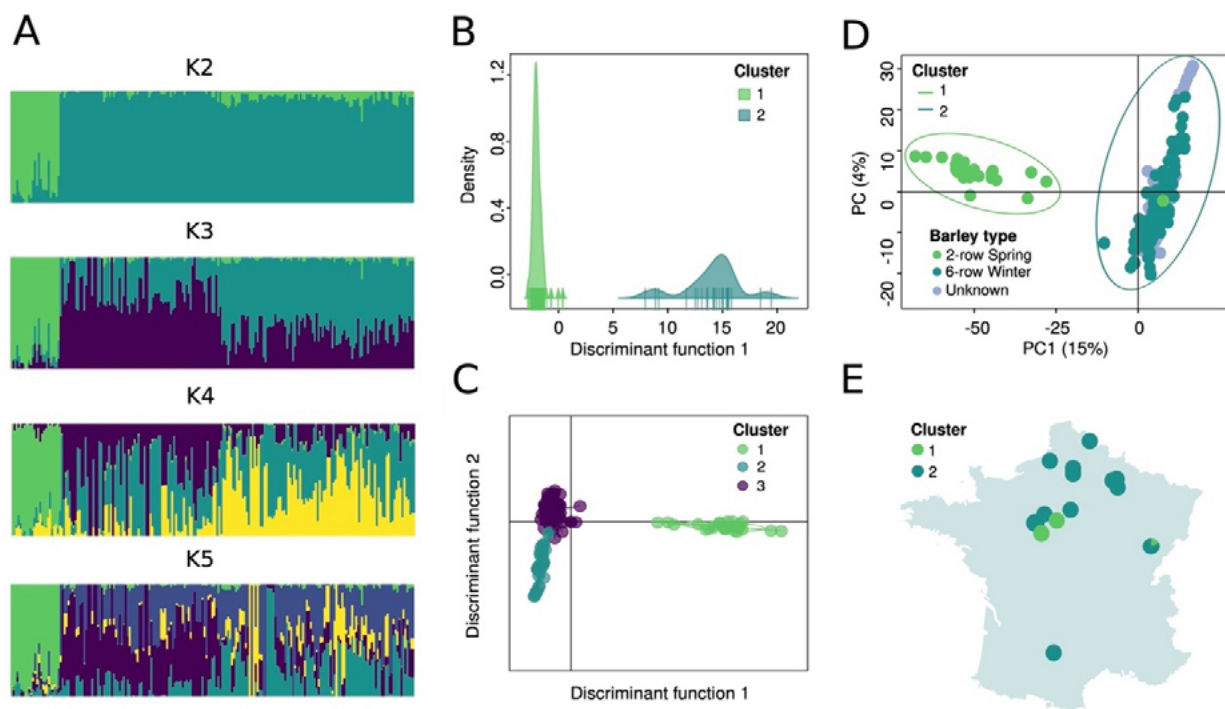
Les analyses de structure de population ont porté sur les 204 isolats de *Ptt*, en utilisant comme génome de référence celui de l'isolat français FRA0042 (assemblage :  $6,8 \times 10^4$  contigs > 1 Mb, N50 = 328 kb, L50 = 30, score BUSCO = 94,4 %). En moyenne, 43 %

du génome de référence de 32 Mb a été couvert, et l'ensemble de données filtré contenait  $6,3 \times 10^4$  SNP.

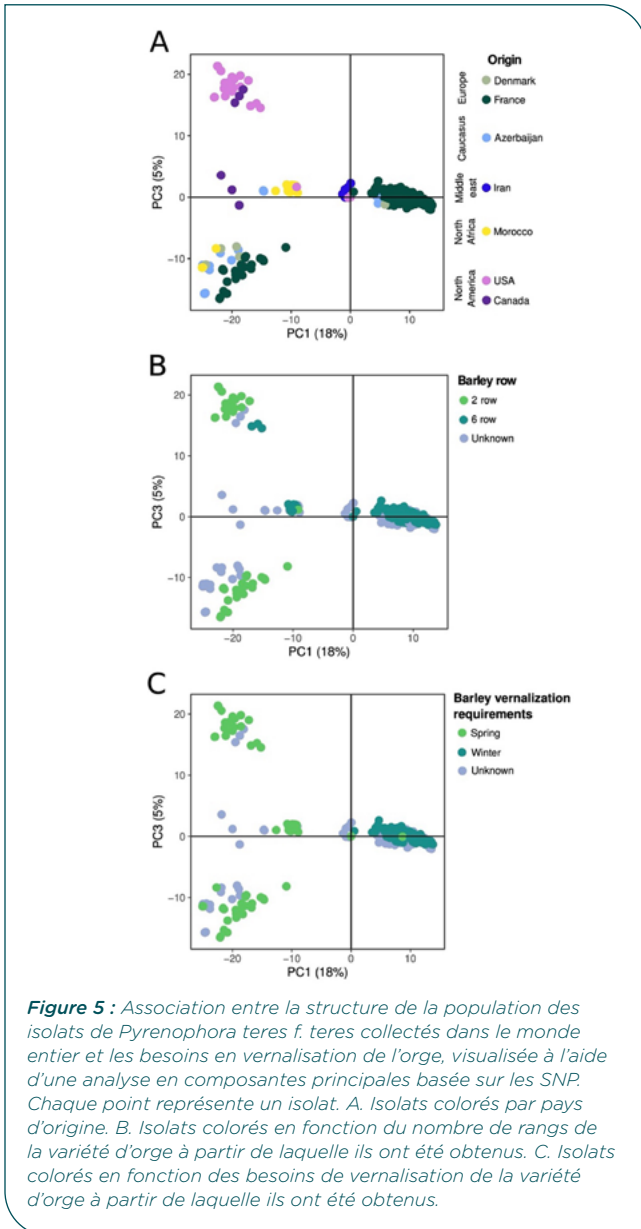
Les analyses de subdivision par sNMF et DAPC ont mis en évidence deux groupes nettement différenciés au sein de *Ptt*. Avec sNMF, seul K=2 a produit deux groupes clairement séparés, tandis que la DAPC suggérait K=3 selon le Bayesian Information Criterion, mais seul K=2 a montré une subdivision nette (Figure 4). L'AMOVA a indiqué que 45 % de la variation était distribuée entre les clusters, avec une divergence nette  $D_a = 0,0014$ /pb. L'admixture était limitée, avec 0,5 % des isolats présentant une ascendance mélangée.

Les deux clusters ont montré une diversité génétique similaire (cluster 1 :  $\pi=0,00434$ /pb ; cluster 2 :  $\pi=0,00433$ /pb) mais des valeurs du D de Tajima contrastées (cluster 1 :  $D=1,47$  ; cluster 2 :  $D=-0,72$ ). La décroissance du déséquilibre de liaison suggère l'existence de recombinaison au sein des populations, et les analyses ont montré que plus de 90 % de la variation génétique se distribuait au sein des localités ou des variétés, contre moins de 10% seulement entre les localités ou variétés.

L'analyse en composantes principales (ACP) a révélé que l'appartenance aux clusters était fortement associée au type d'orge : le cluster 1 provenait principalement d'orge de printemps à deux rangs, et le cluster 2 d'orge d'hiver à six rangs (Figure 4). Seule la Côte d'Or (Bourgogne) présentait les deux clusters au même site, sans différence significative dans les proportions d'ascendance par rapport aux autres régions (test de Wilcoxon,  $p = 0,562$  et  $0,067$ ).



**Figure 4 :** Subdivision de la population de *Pyrenophora teres f. teres* en France, estimée à partir de données de génotypage par séquençage de 204 isolats issus de 16 sites d'échantillonnage. A. Proportions d'ascendance dans K groupes, estimées par sNMF, chaque isolat étant représenté par un segment subdivisé en K intervalles. B. Analyse discriminante en composantes principales (ADCP) à deux groupes, basée sur 20 composantes principales. C. DAPC à trois groupes, basée sur 25 composantes principales. D. Analyse en composantes principales des données de génotypage, chaque isolat étant représenté par un point coloré selon son type d'orge d'origine, et les ellipses indiquant les groupes d'isolats identifiés par DAPC et sNMF. E. Distribution géographique des deux principaux groupes de *Pyrenophora teres f. teres* en France, avec des diagrammes circulaires représentant la proportion d'isolats de chaque groupe par site d'échantillonnage.



### Structure globale de *Ptt* et association avec les exigences de vernalisation

La combinaison d'isolats français de *Ptt* avec des données génomiques mondiales et de nouveaux échantillons nord-américains de *Ptt* a permis d'obtenir 133 609 SNP sans données manquantes. L'ACP a révélé que les composantes principales 1, 2 et 3 expliquaient respectivement 18 %, 8 % et 5 % de la variation totale. Les composantes principales 1 et 3 ont permis de mettre en évidence la différenciation géographique, tandis que la composante principale 1 a également permis de séparer les isolats en fonction des exigences de vernalisation de l'orge (hiver vs printemps ; Figure 5).

Le regroupement par sNMF a confirmé ces résultats :  $K = 2$  a séparé les isolats en groupes d'orge de printemps et d'orge d'hiver, et l'augmentation de  $K$  a subdivisé le groupe d'orge de printemps en sous-groupes nord-africain, européen/moyen-oriental et nord-américain (Figure 5). Ces résultats suggèrent que l'adaptation au type d'orge, notamment les exigences de vernalisation, est fortement corrélée à la structure de la population, en plus de la géographie.

### Caractérisation de la diversité pathotypique

Parmi les 207 isolats, seulement 9 % ont produit des conidies et seulement cinq ont montré une production abondante, facilement observable au microscope. La méthode adaptée de Jacques *et al.* (2021) a permis d'améliorer la production d'inoculum en soumettant les champignons à un stress (blessure, exposition à la lumière N-UV, aération), puis à des conditions sombres et fraîches. Des isolats initialement non conidiogènes ont produit des conidies, et la sporulation des isolats déjà producteurs a été augmentée. Un inoculum approprié a été obtenu à partir de sept isolats : un *Ptm* (FRA0005) et six *Ptt* (FRA0018, FRA0024, FRA0042, FRA0055, FRA0061 et FRA0064).

Au fil des cultures, certaines souches initialement prolifiques (ex. FRA0055) ont montré un déclin de la production de conidies, déclin pouvant être restauré grâce à des conditions expérimentales adaptées. Ces résultats suggèrent que le manque de conidies est lié à la régulation de l'expression génique plutôt qu'à des mutations génomiques.

#### Inoculation de plantes entières

Nous avons testé l'inoculation complète de plantes à l'aide de 32 isolats, en utilisant du mycélium et des conidies. La pulvérisation du mycélium a produit des symptômes faibles, et l'augmentation de la quantité de mycélium a posé problème pour obtenir une suspension homogène. L'utilisation de Tween 20 a amélioré la suspension par rapport à la gélatine, mais aucune corrélation n'a été observée entre les zones de lésions obtenues par mycélium et celles obtenues par conidies. Cette méthode s'est révélée peu fiable pour évaluer la résistance variétale.

#### Inoculation de feuilles détachées

Nous avons testé sept isolats producteurs de conidies sur des feuilles détachées. Les contrôles négatifs présentaient généralement zéro zone symptomatique, bien que certaines chloroses aient été observées sur quelques variétés. La cohérence entre les réplicats biologiques a été confirmée (Spearman,  $\rho > 0,8$ ), ce qui a permis l'analyse de l'ensemble des données.

Un modèle linéaire exploratoire sur les zones de lésions (transformées par logit) a révélé :

- Interaction isolat\*variété très significative ( $p < 2 \times 10^{-16}$ ,  $R^2 = 0,903$ )
- Effet de la variété très significatif ( $p < 2 \times 10^{-16}$ )
- Effet de l'isolat moins marqué mais détectable pour certaines analyses

Les variétés françaises Trapeze et Sy Scoop ont présenté la résistance la plus élevée, tandis que Prior, Skiff et Harrington ont été les plus sensibles. Certaines variétés ont montré une spécialisation vis-à-vis de certains isolats, révélant un phénomène d'adaptation locale. Par exemple, Trapeze est résistant à FRA0061 mais sensible à FRA0064, tandis que Ketos présente le schéma inverse. L'isolat *Ptm* a montré une virulence comparable à celle des isolats *Ptt*. La variété Etincel a montré une résistance remarquable à *Ptm*, cohérente avec son adoption récente en France pour sa résistance à l'helminthosporiose.

Une analyse de l'effet du type d'orge (printemps vs hiver) et de l'origine de l'isolat (printemps ou hiver) a montré que seule la variété testée influençait significativement la surface des lésions ( $p < 2 \times 10^{-16}$ ), avec une plus grande sensibilité des orges de printemps ( $p = 0,87$  pour l'interaction non significative).

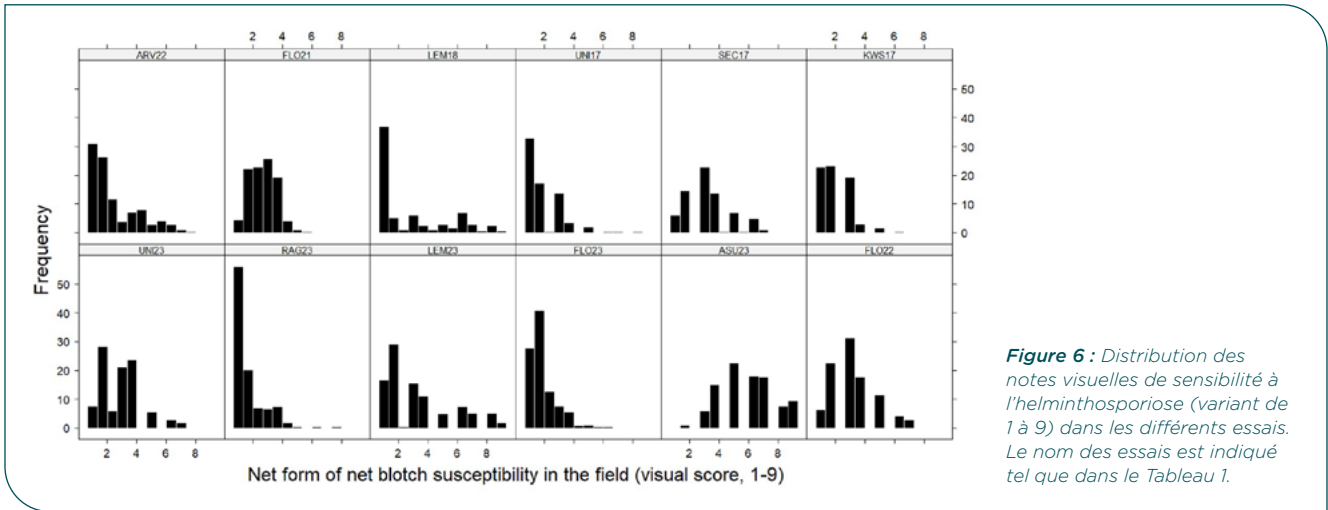


Figure 6 : Distribution des notes visuelles de sensibilité à l'helminthosporiose (variant de 1 à 9) dans les différents essais. Le nom des essais est indiqué tel que dans le Tableau 1.

► **Déterminisme génétique et modélisation basée sur des marqueurs génétiques de la résistance à l'helminthosporiose chez l'orge d'hiver**

**Essais agronomiques**

Au total, des notations de sensibilité à l'helminthosporiose ont été réalisées dans 20 essais en conditions agronomiques pour ce panel. L'analyse des données phénotypiques a conduit à écarter 8 essais avec une pression maladie faible. Sur les douze essais restants, la date de notation la plus discriminante a été retenue et des valeurs moyennes pour chaque variété ont été calculées. Les notes moyennes de sensibilité à l'helminthosporiose variaient de 1.7 à 5.9 selon les essais et les distributions des notes dans les différents essais indiquent une majorité de variétés résistantes dans le panel (Figure 6). Une analyse de variance a permis d'estimer le pourcentage de variance expliqué par le facteur variété à 14% et celui expliqué par le facteur essai à 36%. Ceci indique une part probablement importante d'interaction génotype × environnement. L'héritabilité à l'échelle du réseau d'essais a été estimée à 0.69. Les corrélations entre sensibilité à l'helminthosporiose, date d'épiaison et hauteur montrent :

- Des corrélations significatives avec la date d'épiaison dans 5 essais sur 12 avec des valeurs comprises entre -0.27 et 0.17
- Des corrélations significatives avec la hauteur dans 5 essais sur 12 avec des valeurs comprises entre -0.52 et 0.25

Les notes de sensibilité à l'helminthosporiose ont été corrigées des effets de la date d'épiaison et de la hauteur par le calcul du DRIHH. Les corrélations du DRIHH entre essais montrent des valeurs faibles avec une moyenne égale à 0.17 (minimum -0.12, maximum 0.52) confirmant les fortes interactions génotype × environnement.

**Essais en conditions contrôlées**

Des notations de sensibilité à l'helminthosporiose ont été réalisées pour 4 souches en conditions contrôlées (Tableau 3). Pour chaque souche, les variétés constituant le panel ont été réparties dans différents essais avec des variétés témoins présentes dans tous les essais. Pour les deux souches testées par Arvalis, les corrélations entre essais montraient une bonne répétabilité entre essais. La sensibilité moyenne variait de 11.2 à 38% selon les souches (Figure 7). L'héritabilité estimée pour chaque souche variait de 0.29 à 0.79 avec des valeurs supérieures à 0.70 pour trois souches. Le pourcentage de variance expliqué par le facteur variété a été estimé à 30% et celui expliqué par le facteur souche à 23%. Là encore, une part importante d'interaction génotype × environnement est probable et l'héritabilité à l'échelle de l'ensemble des essais en conditions contrôlées a été estimée à 0.41. La distribution des notes de sensibilité dans ces essais ont permis de montrer des valeurs plus faibles pour les souches testées par Arvalis comparées à celles testées par INRAE, possiblement lié aux différences de protocoles

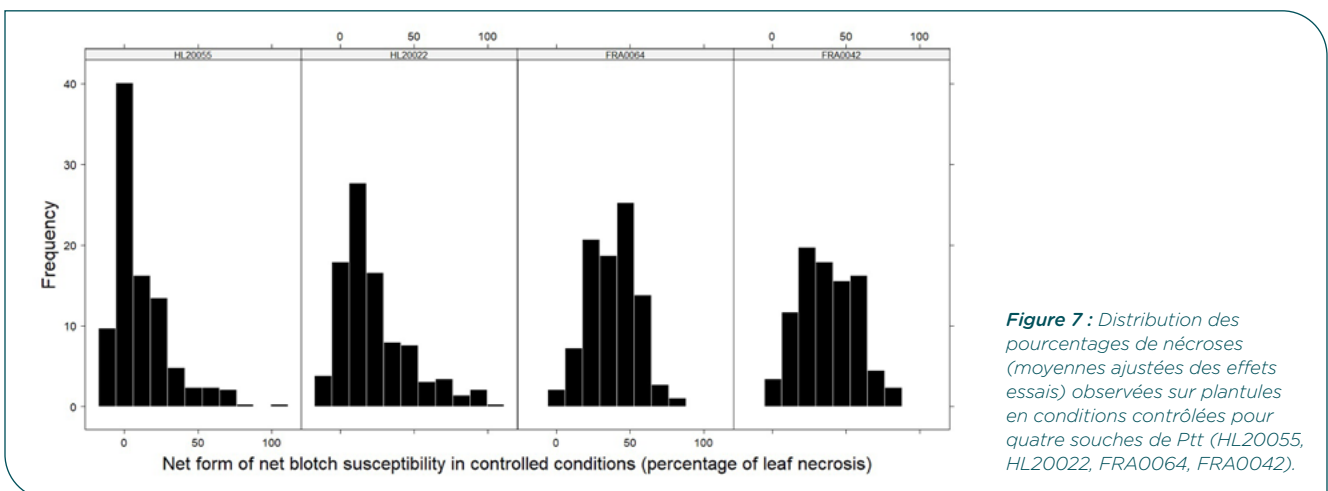


Figure 7 : Distribution des pourcentages de nécroses (moyennes ajustées des effets essais) observées sur plantules en conditions contrôlées pour quatre souches de Ptt (HL20055, HL20022, FRA0064, FRA0042).

entre les deux instituts. Par ailleurs, la sensibilité des orges de printemps inoculés avec les souches issues d'échantillons d'orge d'hiver paraissait plus faible que celle des orges d'hiver et inversement. Ceci peut être expliqué par la structuration des populations de *Ptt* mise en évidence dans le projet (cf. 3.1.2). Les corrélations entre notes de sensibilité pour les différentes souches étaient faibles (maximum 0.22) confirmant l'importance des interactions génotype × environnement.

### Génétique d'association et prédiction génomique

Les 280 variétés hiver du panel ont été génotypées avec la puce à SNP « Illumina 50K iSelect » qui a permis d'obtenir des données pour 43 231 marqueurs avec un pourcentage de données manquante moyen de 0,3%. Après filtrage des marqueurs monomorphes et des marqueurs avec une fréquence de l'allèle minoritaire inférieure à 5%, 31 955 marqueurs ont été sélectionnés pour les travaux ultérieurs. Ainsi, 4000 à 7000 marqueurs étaient présents sur chaque chromosome et la densité de marquage était variable selon la position chromosomique avec une densité plus importante dans les parties télomériques où le taux de recombinaison est plus élevé. L'analyse de la structuration du panel de variétés hiver à partir des données de génotypage a permis d'identifier deux-sous populations correspondant aux orges 2 rangs et 6 rangs (données non montrées).

Un premier scan du génome pour le DRIHH dans chaque essai et pour le pourcentage de nécrose pour chaque souche a permis d'identifier 110 marqueurs significativement associés à la sensibilité à l'helminthosporiose sur les chromosomes 2H, 4H et 6H. Sur les 110 marqueurs associés, 93 étaient localisés sur le chromosome 6H, en particulier dans une zone péricentromérique à fort DL. Le marqueur le plus significatif sur ce chromosome (JHI-Hv50k-2016-398720)

a été utilisé comme covariable afin d'effectuer un second scan du génome et d'améliorer la résolution des QTL présents sur ce chromosome. Ainsi, 67 marqueurs localisés sur les chromosomes 2H, 4H, 5H et 6H ont pu être identifiés pour le DRIHH dans chaque essai et pour le pourcentage de nécrose pour chaque souche. 18 marqueurs supplémentaires ont pu être identifiés sur les chromosomes 1H, 2H, 3H et 6H par méta-analyse. L'ensemble des marqueurs associés ont été regroupés en 9 QTLs (Tableau 5). En particulier, les QTLs suivants ont été identifiés pour plusieurs essais et/ou souches :

- QPt-2H-28 pour deux souches en conditions contrôlées
- QPt-6H-54 pour deux souches en conditions contrôlées et un essai en conditions agronomiques
- QPt-6H-358 pour une souche en conditions contrôlées et trois essais en conditions agronomiques

A cela s'ajoutent deux QTLs additionnels identifiés par méta-analyse sur les essais en conditions contrôlées (QPt-1H-7, QPt-3H-9). Certains QTL n'étaient représentés que par un marqueur (QPt-1H-7, QPt-2H-1, QPt-3H-9, QPt-4H-595). L'intervalle de QPt-5H-498 a été estimé à 7kbp tandis que l'intervalle de QPt-6H-54 a été estimé à 97Mbp du fait du DL. L'analyse de la fréquence des allèles de résistance aux différents QTLs montre que l'allèle favorable était peu représenté pour 4 QTLs (QPt-2H-1, QPt-3H-9, QPt-5H-498, QPt-6H-54) ainsi que des différences marquées entre orges 2 et 6 rangs pour QPt-6H-358 et QPt-5H-498 (Figure 8). L'absence de corrélation entre le nombre de QTLs de résistance dans chaque accession et le DRIHH moyen indique une absence d'effets additifs des QTLs ce qui questionne une stratégie de pyramidage de l'ensemble des QTLs. L'examen de la sensibilité moyenne pour différentes combinaisons alléliques aux QTLs (représentées par au moins cinq individus) a permis d'identifier les combinaisons les plus intéressantes pour

QTL ID	Chr	Intervalle physique	Essai/isolat	Marqueur le plus significatif	Position du marqueur le plus significatif	Max -log10(p)	Allèle favorable	Méthode
<b>QPt-1H-7</b>	1H	7254189 - 7254189		JHI-Hv50k-2016-8306	7254189	4.37	AA	metaGE
<b>QPt-2H-1</b>	2H	880829 - 880829	FLO22	SCRI_RS_142851	880829	5.09	CC	SEA
<b>QPt-2H-28</b>	2H	23995925 - 28973874	FRA0042; HL20022	JHI-Hv50k-2016-74955	27655068	7.05	GG	metaGE; SEA
<b>QPt-3H-9</b>	3H	8948624 - 8948624		JHI-Hv50k-2016-153661	8948624	4.26	AA	metaGE
<b>QPt-4H-595</b>	4H	595307323 - 595307323	HL20055	JHI-Hv50k-2016-263864	595307323	5.05	CC	SEA
<b>QPt-5H-498</b>	5H	498131186 - 498138356	RAG23	JHI-Hv50k-2016-317808	498131186	5.21	CC	SEA
<b>QPt-6H-54</b>	6H	45758911 - 142433702	FRA0042; HL20022; RAG23	JHI-Hv50k-2016-386866	54240966	7.71	CC	metaGE; SEA
<b>QPt-6H-358</b>	6H	358331457 - 360107398	HL20022; LEM18; RAG23; SEC17	JHI-Hv50k-2016-398720	358331457	8.72	CC	metaGE; SEA
<b>QPt-6H-570</b>	6H	569815238 - 570637279	FRA0064	JHI-Hv50k-2016-432291	569815238	5.83	GG	metaGE; SEA

**Tableau 5 :** QTL de sensibilité à l'helminthosporiose identifiés dans un panel de 280 orges d'hiver françaises testées dans 12 essais en conditions agronomiques et pour 4 souches en conditions contrôlées. Le nom des QTLs, le chromosome, l'intervalle du QTL établit selon le déséquilibre de liaison local, le nom des essais et/ou souches pour lesquels le QTL a été identifié, le marqueur le plus significatif, sa position, la -log10(p) maximale, l'allèle favorable et la méthode de détection sont indiqués.

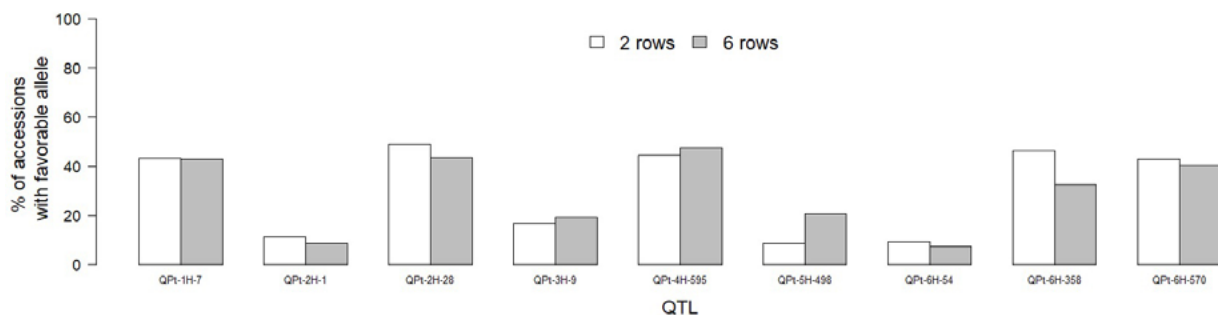


Figure 8 : Pourcentage des accessions du panel de type 2 ou 6 rangs porteuses de l'allèle favorable pour les différents QTL identifiés.

réduire le niveau de sensibilité. Ces résultats indiquent que QPt-5H-498 et QPt-6H-54 sont peu fréquents dans les combinaisons les plus intéressantes.

Une analyse du contenu en gènes des QTLs a permis d'identifier 69 gènes potentiellement impliqués dans l'interaction plante × pathogène pour quatre QTLs (QPt-2H-28, QPt-6H-49, QPt-6H-54 et QPt-6H-570). L'utilisation de la base de données d'expression « BarleyExpDB » a permis d'identifier 5 gènes montrant une réponse à l'inoculation avec *Cochliobolus sativus* (un champignon différent de *Pyrenophora teres* mais causant lui aussi des symptômes d'helminthosporiose).

Un modèle de prédiction génomique a été calibré pour la sensibilité moyenne à l'helminthosporiose calculée sur l'ensemble des essais en conditions agronomiques. Un schéma de validation croisée de type k-folds a été appliqué de manière à estimer les capacités du modèle à prédire la sensibilité à l'helminthosporiose à partir des données de génotypage des variétés. Les capacités prédictives du modèle semblent satisfaisantes avec une corrélation moyenne entre valeurs prédites et observées de 0.57 et une RMSE de 0.58 point pour la sensibilité moyenne à l'helminthosporiose (données non montrées).

### ► Prédiction du risque Helminthosporiose

#### Prévision de l'incidence d'helminthosporiose précoce

Caractérisation de la pression observée dans la base de données Vigicultures/Végéobs

La distribution de l'incidence moyenne de l'helminthosporiose sur les trois derniers étages foliaires,

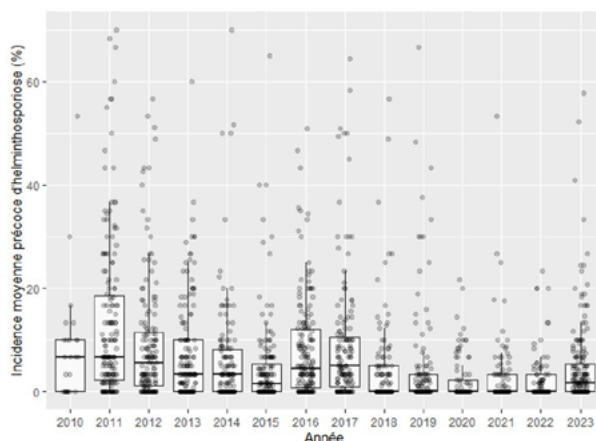


Figure 9 : Distribution de l'incidence précoce de l'helminthosporiose par année entre 2010 et 2023 observée dans la BDD1.

telle qu'observée dans la base de données BDD1 entre les stades 1N et DFP a été calculée (Figure 9). Les incidences moyennes observées restent globalement faibles et traduisent une occurrence précoce limitée de la maladie malgré quelques valeurs extrêmes. Certaines années (2011, 2012, 2016, 2017) présentent toutefois des niveaux légèrement plus élevés, mais l'ensemble met surtout en évidence une forte variabilité interannuelle.

#### Effets des facteurs agronomiques

L'ANOVA a révélé un effet significatif de la note de résistance variétale sur la fréquence moyenne d'helminthosporiose. Toutefois, cet effet reste limité puisqu'une augmentation d'un point de la note de résistance diminue en moyenne la fréquence d'attaques précoces de 1.3%. Aucun autre facteur agronomique étudié n'a montré d'influence significative. Concernant la date de semis, la tendance observée à un risque accru avec des semis précoces est cependant cohérente avec la littérature et l'absence de significativité pourrait résulter d'interactions non modélisées avec le climat automnal.

#### Facteurs agro-climatiques identifiés et performance prédictive des modèles

Les modèles retenus en fonction des approches de modélisation et les plages de calcul des variables climatiques considérées, retiennent entre 4 et 9 variables explicatives. Ils présentent des RMSEP similaires (11-12.5 %) mais des efficacités négatives, indiquant une incapacité à prédire le risque mieux qu'une simple moyenne. De même, les modèles de Cox montrent des performances faibles : le meilleur atteint un C index de 0.62, à peine supérieur au hasard, révélant une discrimination limitée et une faible valeur prédictive. De plus, l'analyse des variables retenues dans les modèles ne révèle pas de véritable cohérence d'un modèle à l'autre. Seule la sensibilité variétale est systématiquement sélectionnée, avec un effet négatif sur le risque d'incidence précoce, conformément aux connaissances agronomiques. Par ailleurs, des conditions estivales pluvieuses en interculture et des températures hivernales négatives apparaissent également de façon fréquente, toutes deux étant associées à une augmentation du risque. Il est également surprenant que les modèles ne fassent pas ressortir de variables climatiques printanières, pourtant déterminantes pour les infections secondaires.

#### Prévision de la sévérité d'helminthosporiose en fin de cycle

Caractérisation de la pression observée dans la base de données des essais

A l'instar de la BDD1, les données mettent en évidence une forte variabilité interannuelle et intra-annuelle de la pression d'helminthosporiose observée en fin de cycle

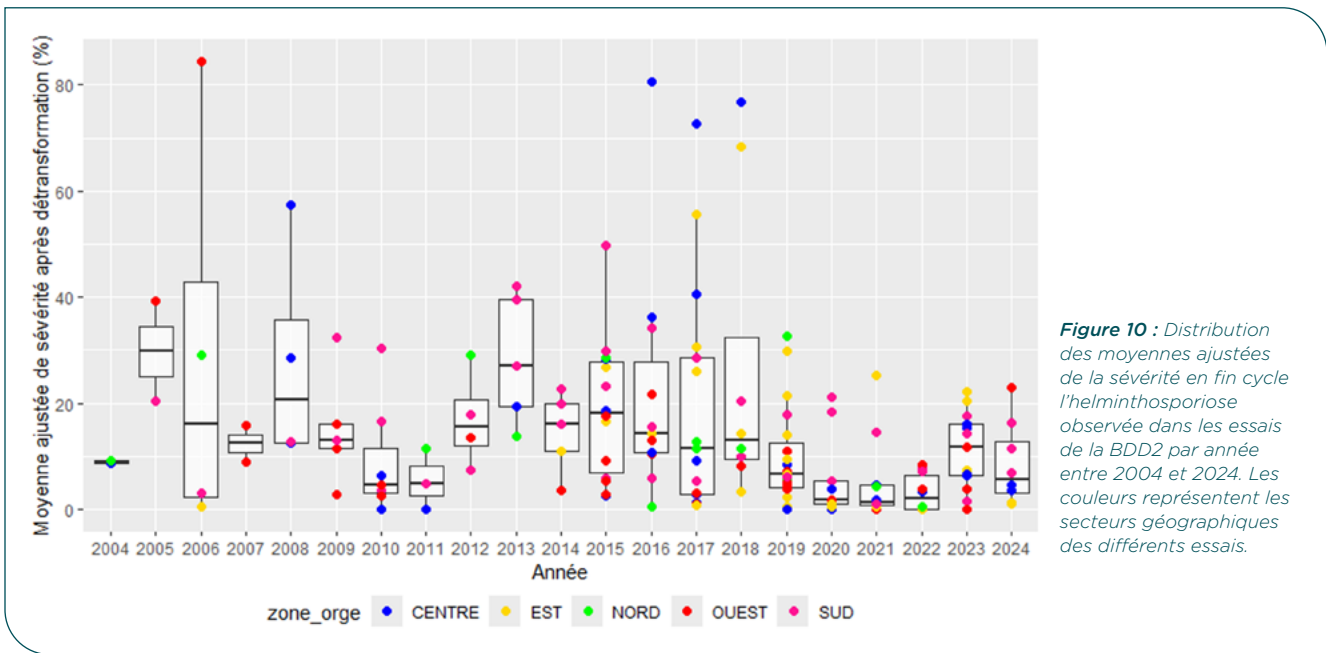


Figure 10 : Distribution des moyennes ajustées de la sévérité en fin cycle l'helminthosporiose observée dans les essais de la BDD2 par année entre 2004 et 2024. Les couleurs représentent les secteurs géographiques des différents essais.

dans les différents essais de la base de données BDD2 (162 sitesxannées) (Figure 10).

Effet de la sensibilité variétale :

L'analyse de variance révèle un effet significatif de la résistance variétale sur la sévérité finale d'helminthosporiose. Les moyennes ajustées après détransformation montrent une réduction progressive de la sévérité, de 17.6 % pour les variétés notées 4 à 5.5 % pour celles notées 8.

Facteurs agro-climatiques identifiés et performance prédictive des modèles :

Les différents modèles retiennent entre 4 et 10 variables explicatives et présentent des performances proches, avec des RMSEP élevés (14.6 % à 16.3 %) et des efficacités globales faibles (-0.02 à 0.17). Ces résultats traduisent une précision prédictive insuffisante au regard de la variabilité de la variable à prédire. Néanmoins, certaines variables sont fréquemment sélectionnées tant pour la campagne étudiée que parfois pour la campagne précédente, indépendamment de la méthode de calcul des variables climatiques, de la stratégie de modélisation mise en œuvre, ou de la variable étudiée, ce qui suggère une association potentielle de ces variables avec le risque étudié. On retrouve ainsi un effet récurrent des températures élevées en avril mai, ainsi que du nombre de jours de pluie, tous deux associés à une augmentation du risque, tandis que le cumul de rayonnement sur cette période est lié à une réduction du risque. Ces résultats sont cohérents avec les conditions favorables connues – printemps doux (15-25 °C ; Mathre, 1982) et humides (McLean *et al.*, 2009) –, et suggèrent que le rayonnement pourrait refléter des situations plus ensoleillées et moins humides, réduisant la durée d'humectation foliaire et donc le potentiel d'infection.

Parmi les modèles étudiés, le plus performant est une régression linéaire qui repose sur sept variables climatiques issues de l'approche « window pane » (données non montrées). Dans ce modèle, et comme pour l'analyse de l'infection précoce, les pluies en interculture en août et les températures hivernales

négatives, sont également associés à une augmentation du risque. Ceci suggère, d'une part, que des conditions estivales humides pourraient favoriser les repousses d'orge et le maintien de l'inoculum (Backes *et al.*, 2021), et, d'autre part, que des épisodes de froid hivernal pourraient ralentir la décomposition des résidus infectés, contribuant ainsi à la persistance de l'inoculum. Néanmoins, La comparaison entre valeurs observées et prédites par ce modèle en validation croisée par année montre une performance de prédiction faible.

**DISCUSSION**

**► Structure génétique et occurrence des espèces**

Notre étude a apporté un nouvel éclairage sur l'histoire de la diversification des espèces graminicoles de *Pyrenophora*. La phylogénie du genre et le statut taxonomique des différentes espèces ont été clarifiés. De ce fait, notre étude constitue la première tentative d'évaluation de l'évolution du genre *Pyrenophora* à l'aide de méthodes génomiques. Nos recherches permettent de fournir plusieurs précisions importantes. Les études antérieures utilisant des marqueurs moléculaires tels que l'ITS, la LSU et la GPDH (Aryawansa *et al.* 2014, Marin-Felix *et al.* 2019) présentaient un certain nombre de divergences entre elles, ainsi que des différences par rapport à nos résultats. Par exemple, les trois isolats que nous avons réattribués à *P. trichostoma* par Marin-Felix *et al.* (2019) prouvent qu'il s'agit en réalité de la même espèce (Index Fugorum, 2024). Nous avons également clarifié la relation entre les espèces *P. trichostoma* et *P. bromi*, confirmant qu'elles sont des espèces sœurs Aryawansa *et al.* (2014) et invalidant des résultats récents (Marin-Felix *et al.* 2019, Rodrigues *et al.* 2023). Nous avons également démontré que *P. graminea* et *P. trichostoma* représentent des lignées distinctes, et donc probablement des espèces différentes, contrairement aux affirmations précédentes (Aryawansa *et al.* 2014). Pour le reste des données, la topologie inférée est globalement cohérente avec les résultats antérieurs, même s'il convient de noter que notre résolution phylogénétique est supérieure, ce qui

permet, par exemple, de montrer que certaines espèces morphologiques, telles que *P. dictyoïdes*, sont en réalité des complexes d'espèces phylogénétiques.

En termes de structure génétique des espèces, nos résultats indiquent que les différentes espèces de *Pyrenophora* graminicoles présentent des niveaux de structure génétique variés, mais des niveaux de variation moléculaire très similaires, indépendamment de leur histoire d'invasion. Cependant, la taille limitée de notre échantillonnage ne nous permet pas de déterminer si la variation observée au sein de la subdivision de la population reflète des différences d'effort d'échantillonnage ou si elle est véritablement représentative de la structure génétique des espèces de *Pyrenophora*.

Un effort très significatif a été réalisé pour échantillonner des feuilles symptomatiques à l'échelle nationale et isoler les agents pathogènes causaux. Aucune souche de *C. sativus* ou *P. graminea* n'a été isolée à partir des échantillons français. Ce résultat suggère que ces deux espèces sont peu présentes en France sur les orges. L'absence ou la faible fréquence de *P. graminea* était un résultat attendu car les symptômes sont caractéristiques (non observés dans l'échantillonnage), que son observation est rare et que sa dissémination par la semence est fortement limitée par les traitements de semence. Pour *C. sativus*, à notre connaissance, aucune étude récente n'a essayé d'estimer sa présence sur le territoire. Or, les symptômes causés sur l'orge par ce champignon sont proches de ceux de la forme *Ptm* et pourrait entraîner une sous-estimation de son importance. Notre étude suggère que cet agent pathogène est réellement peu fréquent en France sur feuilles d'orge. Ce résultat est assez cohérent avec les conditions de développement de ce champignon qui cause le « spot blotch » principalement dans des zones de production chaudes et humides (Basak *et al.* 2025). Néanmoins, ce champignon est aussi connu pour attaquer d'autres céréales (blé, seigle, triticale) notamment au niveau du grain (causant la moucheture par exemple) et des racines. De plus, en prenant en compte les conséquences du changement climatique, une surveillance plus fréquente pourrait être menée en utilisant des méthodes plus rapides telles que des méthodes moléculaires pour anticiper un risque d'émergence sur orge mais aussi les autres céréales hôtes.

Un résultat majeur du projet est la confirmation que *Ptt* est largement dominant sur *Ptm* en France, avec seulement 1,4 % des isolats correspondant à *Ptm* dans la collection d'isolats. Ce résultat est confirmé par les analyses moléculaires effectuées sur la totalité des échantillons pour lesquels la fréquence de détection (85% versus 20%) et la biomasse fongique de *Ptt* (98,6% de la somme de la biomasse totale des deux formes) sont très largement supérieures à celles de *Ptm*. Ceci contraste avec les données historiques suggérant que *Ptm* était auparavant la forme prédominante (Arabi *et al.* 1992) ce qui indique un changement rapide de la composition de la population au cours des trois dernières décennies. Des changements similaires ont été rapportés dans d'autres régions et sont probablement influencés par la résistance de l'hôte et des facteurs environnementaux (McLean *et al.* 2010, Marshall *et al.* 2015). La présence à bruit de fond de *Ptm* milite pour

continuer à évaluer la sensibilité variétale à cette forme pour anticiper une éventuelle recrudescence.

La faible fréquence de *Ptm* a empêché une analyse détaillée de la structure des populations, mais la forte différenciation au sein des populations de *Ptt* en France, associée au type d'orge, souligne une possible adaptation à l'hôte. Un effort d'isolement complémentaire pourra être mené dans les échantillons significativement positifs en qPCR pour *Ptm* afin de collecter des isolats qui pourront être séquencés et pathotypés.

Nos analyses indiquent que les populations de *Ptt* sont subdivisées en deux groupes principaux correspondant à l'orge de printemps et à l'orge d'hiver. L'existence d'une telle structure suggère que les populations du pathogène sont différenciellement adaptées aux deux types d'orge, et/ou aux conditions de leur culture. Ces travaux ouvrent de nombreuses perspectives de recherche pour déterminer les barrières, notamment prézygotiques (Giraud *et al.* 2006, Servedio *et al.* 2011) qui contribuent au maintien des deux populations, et en particulier, la contribution relative de l'adaptation à l'hôte et de l'adaptation aux conditions abiotiques. Nos résultats soulignent également l'importance de tester de nouvelles variétés d'orge résistantes à des isolats de *Ptt* issus d'orges de printemps et d'hiver, notamment dans les régions où ces deux types d'orge sont cultivés. Ils ouvrent aussi des questions sur l'impact de la pratique agricole consistant à semer des orges de printemps à l'automne sur la structure des populations et leurs adaptations à l'hôte (adaptation ou maladaptation, transfert de facteurs de virulence entre populations, ...).

### Pathogénicité et résistance variétale

Nos résultats montrent que la production de conidies chez *P. teres* est fortement influencée par des facteurs environnementaux et des stimuli liés à l'hôte. Les approches répétées d'inoculation sur l'orge et de ré-isolation permettent de réactiver la sporulation mais sont chronophages et peu efficaces pour générer de grandes quantités de conidies. L'utilisation de conditions spécifiques (blessures, lumière N-UV, aération, obscurité et températures plus fraîches) constitue une méthode prometteuse pour accroître la production de conidies.

Les méthodes développées dans les deux laboratoires pour évaluer la résistance variétale en conditions contrôlées sur feuilles détachées ou plantes entières se sont montrées fiables et reproductibles dans chaque laboratoire.

Les différences de résistance observées entre les variétés et les isolats indiquent un phénomène de spécialisation de l'hôte. Certaines variétés (Trapeze, Sy Scoop) offrent une protection efficace contre plusieurs isolats, tandis que d'autres (Prior, Skiff, Harrington) sont uniformément sensibles. Cette interaction entre diversité génétique du pathogène et variétés d'orge souligne l'importance d'adapter la gestion des cultures à la diversité locale des isolats de *P. teres*. Les méthodologies développées constituent des outils complémentaires aux essais au champ pour l'évaluation de la résistance variétale et peuvent servir à des études génomiques visant à identifier les gènes impliqués dans la résistance ou la spécialisation de *P. teres*.

Ainsi, neufs QTLs ont pu être détectés sur l'ensemble des données utilisées (essais en conditions agronomiques et



en conditions contrôlées) et à l'aide de deux méthodes de génétique d'association (GWAS par essai ou souche et méta-analyse). En particulier, trois QTLs semblent robustes car identifiés pour au moins deux essais/souches (QPt-2H-28, QPt-6H-54 et QPt-6H-358). Parmi ceux-ci, le QTL QPt-6H-358 semble particulièrement intéressant car significatif pour une souche et trois essais. Par ailleurs, deux QTLs additionnels (QPt-1H-7 et QPt-3H-9) ont été identifiés grâce à la méthode de méta-analyse et n'auraient pas été détectés sur la base des résultats de GWAS par essai. La puissance de cette méthode a donc permis d'identifier des QTLs supplémentaires du fait de la consistance de l'effet de ces QTLs pour différentes souches (p-value légèrement en dessous du seuil de significativité pour les GWAS par souche mais signe de l'effet identique entre souches). Un marqueur a déjà été publié dans l'intervalle QPt-2H-28 (Rozanova *et al.* 2019) ainsi que des marqueurs dans les zones QPt-6H-54 et QPt-6H-358 (Richards *et al.* 2017; Rozanova *et al.* 2019; Novakazi *et al.* 2019) dans des études sur la résistance à *Ptt*. Les études de génétique d'association publiées dans la littérature conduisent généralement à lister les marqueurs significativement associés à la sensibilité à l'helminthosporiose. Les travaux réalisés ici conduisent à préciser pour chaque région un intervalle en s'appuyant sur le déséquilibre de liaison local. Ceci devrait permettre de faciliter l'utilisation des QTLs en sélection assistée par marqueurs et ouvre la voie à d'éventuelles études ultérieures de cartographie fine des QTLs.

L'analyse du contenu en gènes des QTLs a permis d'identifier 69 gènes potentiellement impliqués dans l'interaction plante × pathogène pour quatre QTLs dont 5 gènes montrant un différentiel d'expression du fait de l'inoculation avec *C. sativus*. Ceci indique que ces gènes (i) sont exprimés in planta et (ii) interviennent dans l'interaction avec *C. sativus*. Ces 5 gènes semblent donc de bons candidats pour des études ultérieures. Aucun gène n'a pu être identifié pour le QTL QPt-6H-358 qui semble pourtant le plus intéressant car significatif pour une souche en conditions contrôlées et trois essais en conditions agronomiques. Néanmoins, ce type d'analyse repose sur l'identification par mots-clés des gènes dont la fonction prédite est potentiellement en lien avec l'interaction plante × pathogène. Ce type d'approche *in silico* peut conduire à la fois à des faux positifs et à des faux négatifs. En effet, certaines fonctions prédites telles que « protéin kinase » peuvent être associées à l'interaction plante-pathogène mais toutes les protéines de ce type ne le sont pas nécessairement. Par ailleurs, cette analyse se base sur le contenu en gène de Morex v2. Or, certains QTL peuvent être associés à un polymorphisme de type présence-absence (PAV ; « presence absence variation ») et le gène causal est possiblement absent chez Morex.

Les capacités prédictives du modèle de prédiction génomique indiquent qu'il est possible d'utiliser ce type de stratégie afin de sélectionner des individus à partir de données de génotypage. Néanmoins, la précision du modèle étant modérée, il est sans doute nécessaire de ne pas appliquer un taux de sélection trop élevé afin d'éviter d'éliminer des individus mal-prédits.

### **Prédiction du risque maladie**

Prédire l'apparition d'une maladie aux champs et l'implémenter dans des outils d'aide à la décision est

un moyen efficace d'accompagner les producteurs pour accroître l'efficacité d'utilisation des produits phytosanitaires. Bien que de nombreuses approches aient été évaluées, les modèles retenus pour la prévision du développement de l'helminthosporiose, tant en début qu'en fin de cycle, présentent globalement une capacité prédictive limitée, se traduisant par des valeurs de RMSEP élevées et des efficacités généralement négatives. Certains signaux climatiques – notamment pluies et température élevées au printemps, pluies importantes pendant l'interculture et gel hivernal – demeurent toutefois régulièrement associés au niveau de risque en fin de cycle. Leur récurrence suggère que ces covariables sont utiles dans la prévision du risque, mais sans toutefois constituer, à elles seules, des prédicteurs suffisamment robustes pour une estimation fiable du risque. Dans ces conditions, il n'est pas possible, à ce stade, d'envisager l'usage opérationnel de ces modèles pour moduler la protection contre l'helminthosporiose de l'orge en fonction de la nuisibilité attendue.

Ces résultats laissent donc supposer que des variables déterminantes manquent probablement, en particulier l'humectation foliaire, identifiée dans la littérature comme un facteur clé et susceptible d'interagir non linéairement avec la température. Une piste d'amélioration consisterait peut-être à développer un modèle mécaniste représentant explicitement les relations complexes entre variables climatiques non agrégées (température, humectation, précipitations) sur les différentes phases du cycle épidémique. Des essais exploratoires ont été réalisés dans ce sens au cours du projet, mais se sont révélés non concluants, probablement en raison de l'absence de données d'humidité ou d'humectation disponibles et de la résolution temporelle limitée au pas journalier. En outre, une approche d'analyse fonctionnelle des données (FDA) pourrait peut-être permettre de mieux rendre compte de la dynamique temporelle des séries climatiques brutes non agrégées.

Concernant les facteurs agronomiques, hormis la résistance variétale, aucun ne ressort de manière significative sur le développement précoce d'helminthosporiose. L'absence d'effet du précédent orge – sans doute aussi lié à sa faible représentation dans la base de données – et du travail du sol sur la survie des résidus infectés suggèrent que des déterminants extérieurs à la parcelle pourraient être prépondérants. L'intégration de variables caractérisant le contexte des pratiques culturales l'échelle du paysage constituerait ainsi une piste d'analyse pertinente pour de futurs modèles.

## **CONCLUSION**

Le projet HELMO apporte des éléments nouveaux et déterminants pour la compréhension de la diversité, de la structure génétique et de l'épidémiologie des agents causaux de l'helminthosporiose de l'orge en France. Les analyses génomiques menées ont permis de clarifier la phylogénie du genre *Pyrenophora*, confirmer que *Pyrenophora teres* est le taxon principal causant la maladie et démontrer une forte prédominance de *Ptt* par rapport à *Ptm*. La dynamique historique des formes

*Ptt* et *Ptm* et la mise en évidence d'une structuration nette des populations de *Ptt* selon le type d'orge (printemps versus hiver) soulignent l'importance de l'épidémiosurveillance pour gérer au mieux la résistance variétale. L'identification de plusieurs QTLs associés à la résistance, dont certains déjà décrits dans la littérature, constitue un levier concret pour la sélection assistée par marqueurs et pour l'amélioration génétique de l'orge. En parallèle, malgré des jeux de données indépendants conséquents et les nombreuses approches méthodologiques testées, nous n'avons pas pu développer un modèle de prévision du risque performant pour l'implémenter dans un OAD. Les résultats suggèrent que l'intégration de données climatiques plus précises, de variables paysagères et le développement de modèles mécanistes pourraient améliorer les capacités prédictives.

Dans l'ensemble, ce projet fournit des avancées substantielles pour la surveillance, la compréhension et

la gestion de l'helminthosporiose de l'orge en France. Il met également en lumière l'intérêt et la nécessité de poursuivre les efforts d'épidémiosurveillance, d'intégrer des données environnementales plus fines et de renforcer les liens entre génétique du pathogène, génétique de l'hôte et modélisation épidémiologique. Ces résultats constituent une base solide pour optimiser les stratégies de protection des cultures dans un contexte de changement climatique et d'évolution rapide des populations pathogènes.

## REMERCIEMENTS

Nous remercions l'ensemble des collaborateurs et collaboratrices de tous les partenaires qui ont contribué à ce projet, acquis les données expérimentales et participé aux analyses. Nous remercions vivement le FSOV et son comité d'engagement pour le financement du projet HELMO.

## Références bibliographiques

- Afanasenko O.S., Jalli M., Pinnschmidt H.O., Filatova O., Platz G.J.** (2009). Development of an international standard set of barley differential genotypes for *Pyrenophora teres* f. *teres*. *Plant Pathology* 58, 665-676.
- Ahrens W. H., Cox D. J., & Budhwar G.** (1990). Use of the arcsine and square root transformations for subjectively determined percentage data. *Weed Science*, 38, 452-458.
- Alqudah A.M., Sallam A., Stephen Baenziger P., Börner A.** (2020). GWAS: Fast-forwarding gene identification and characterization in temperate Cereals: lessons from Barley – A review. *J Adv Res* 22:119-135.
- Amezrou R, Verma RPS, Chao S, et al** (2018). Genome-wide association studies of net form of net blotch resistance at seedling and adult plant stages in spring barley collection. *Mol Breed* 38:58.
- Andrews S.** (2010). FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data. (Babraham Bioinformatics, Babraham Institute, Cambridge, United Kingdom).
- Arabi, M.I., Barrault, G., Sarrafi, A., and Albertini, L.** (1992). Variation in the resistance of barley cultivars and in the pathogenicity of *Drechslera teres* f. sP. *maculata* and *D. teres* f. sP. *teres* isolates from France. *Plant Pathology* 41, 180-186.
- Arabi M.I.E, Jawhar M.** (2003). Pathotypes of *Cochliobolus sativus* (spot blotch) on barley in Syria. *Journal of Phytopathology* 85, 193-196.
- Backes A., Guerriero G., Ait Barka E., & Jacquard C.** (2021). *Pyrenophora teres*: taxonomy, morphology, interaction with barley, and mode of control. *Frontiers in Plant Science*, 12, 614951.
- Bayer M.M., Rapazote-Flores P., Ganal M., et al.** (2017). Development and Evaluation of a Barley 50k iSelect SNP Array. *Front Plant Sci* 8: <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01792>
- Beuningen LT van, Kohli M.M.** (1990). Deviation from the regression of infection on heading and height as a measure of resistance to *Septoria tritici* blotch in wheat. *Plant Dis* 74:488-493.
- Bolger, A.M., Lohse, M., and Usadel, B.** (2014). Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics* 30, 2114-2120.
- Breiman L.** (2001). Random forests. *Machine Learning*, 45(1), 5-32.
- Browning S.R.** (2008). Missing data imputation and haplotype phase inference for genome-wide association studies. *Hum Genet* 124:439-450.
- Burlakoti R.R., Gyawali S., Chao S, et al.** (2016). Genome-Wide Association Study of Spot Form of Net Blotch Resistance in the Upper Midwest Barley Breeding Programs. *Phytopathology* 107:100-108.
- Cantarel, B.L., Korf, I., Robb, S.M.C., Parra, G., Ross, E., Moore, B., Holt, C., Alvarado, A.S., and Yandell, M.** (2008). MAKER: an easy-to-use annotation pipeline designed for emerging model organism genomes. *Genome research* 18, 188-196.
- Carlsen, S.A., Neupane, A., Wyatt, N.A., Richards, J.K., Faris, J.D., Xu, S.S., Brueggeman, R.S., and Friesen, T.L.** (2017). Characterizing the *Pyrenophora teres* f. *maculata*-barley interaction using pathogen genetics. *G3: Genes, Genomes, Genetics* 7, 2615-2626.
- Cormier F., Le Gouis J., Dubreuil P., et al.** (2014). A genome-wide identification of chromosomal regions determining nitrogen use efficiency components in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor Appl Genet* 127:2679-2693.
- Cox D. R.** (1972). Regression models and life-tables. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Methodological)*, 34(2), 187-202.
- Danecek, P., Auton, A., Abecasis, G., Albers, C.A., Banks, E., DePristo, M.A., Handsaker, R.E., Lunter, G., Marth, G.T., and Sherry, S.T.** (2011). The variant call format and VCFtools. *Bioinformatics* 27, 2156-2158.
- Deudon O., Le Bris X., & Piraux, F.** (2017). Interest and implementation of a spatialization method of meteorological data used in Agricultural Decision Support Tools. In *Proceedings of the 2017 EFITA Congress*, Montpellier, France

- Dress, A., Huson, D., and Moulton, V.** (1996). Analyzing and visualizing sequence and distance data using SPLITSTREE.
- El-Mor, I.M., Fowler, R.A., Platz, G.J., Sutherland, M.W., and Martin, A.** (2018). An improved detached-leaf assay for phenotyping net blotch of barley caused by *Pyrenophora teres*. *Plant Disease* 102, 760-763.
- Emms, D.M., and Kelly, S.** (2015). OrthoFinder: solving fundamental biases in whole genome comparisons dramatically improves orthogroup inference accuracy. *Genome biology* 16, 157. *Discrete Applied Mathematics* 71, 95-109.
- Evanno G., Regnaut S., Goudet J.** (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study. *Mol Ecol* 14:2611-2620.
- Ewels, P., Magnusson, M., Lundin, S., and Källér, M.** (2016). MultiQC: summarize analysis results for multiple tools and samples in a single report. *Bioinformatics* 32, 3047-3048.
- Fetch TG, Steffenson BJ, Bockelman HE, Wesenberg DM.** (2008). Spring barley accessions with dual spot blotch and net blotch resistance. *Canadian Journal of Plant Pathology* 30, 534-542.
- Flynn, J.M., Hubley, R., Goubert, C., Rosen, J., Clark, A.G., Feschotte, C., and Smit, A.F.** (2020). RepeatModeler2 for automated genomic discovery of transposable element families. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 117, 9451-9457.
- Gao X., Becker L.C., Becker D.M., et al.** (2010). Avoiding the high Bonferroni penalty in genome-wide association studies. Avoiding the high Bonferroni penalty in genome-wide association studies. *Genet Epidemiol Genet Epidemiol* 34, 34:100, 100-105.
- Gouache D., Le Bris X., Bogard M., Deudon O., Pagé C., & Gate P.** (2012). Evaluating agronomic adaptation options to increasing heat stress under climate change during wheat grain filling in France. *European Journal of Agronomy*, 39, 62-70.
- Gouache, D., Léon M. S., Duyme F., & Braun P.** (2015). A novel solution to the variable selection problem in Window Pane approaches of plant pathogen-climate models: Development, evaluation and application of a climatological model for brown rust of wheat. *Agricultural and Forest Meteorology*, 205, 51-59.
- Gourdain E, Couleaud G, Piraux F.** (2018). Piloteur la première intervention sur orge d'hiver. *Végéphyt- 12<sup>ème</sup> conférence sur les maladies des plantes- TOURS- 11 et 12 décembre 2018.*
- Gourdain E, Piraux F, Barrier-Guillot B.** (2009). Les outils pour gérer le risque deoxynivalénol sur blé tendre et blé dur. *AFPP - 9<sup>ème</sup> Conférence Internationale sur les Maladies des Plantes, Tours, 8 et 9 décembre 2009.*
- Grabherr, M.G., Haas, B.J., Yassour, M., Levin, J.Z., Thompson, D.A., Amit, I., Adiconis, X., Fan, L., Raychowdhury, R., and Zeng, Q.** (2011). Full-length transcriptome assembly from RNA-Seq data without a reference genome. *Nature biotechnology* 29, 644-652.
- Herten, K., Hestand, M.S., Vermeesch, J.R., and Van Houdt, J.K.J.** (2015). GBSX: a toolkit for experimental design and demultiplexing genotyping by sequencing experiments. *BMC bioinformatics* 16, 1-6.
- Jacques, S., Lenzo, L., Stevens, K., Lawrence, J., and Tan, K.-C.** (2021). An optimized sporulation method for the wheat fungal pathogen *Pyrenophora tritici-repentis*. *Plant Methods* 17, 52.
- Karakaya, A., and Akyol, A.** (2006). Determination of the seedling reactions of some Turkish barley cultivars to the net blotch.
- Koladia VM, Faris JD, Richards JK, Brueggeman RS, Chao S, Friesen TL.** (2017). Genetic analysis of net form net blotch resistance in barley lines Clho 5791 and Tifang against a global collection of *P. teres* f. *teres* isolates. *Theoretical and Applied Genetics* 130, 163-173.
- Kozlov, A.M., Darriba, D., Flouri, T., Morel, B., and Stamatakis, A.** (2019). RAxML-NG: a fast, scalable and user-friendly tool for maximum likelihood phylogenetic inference. *Bioinformatics* 35, 4453-4455.
- Knight, N. L., Adhikari, K. C., Dodhia, K. N., Mair, W. J. & Lopez-Ruiz, F. J.** (2024). Workflows for detecting fungicide resistance in net form and spot form net blotch pathogens. *Pest Management Science* 80, 2131-2140.
- Kumar J, Schäfer P, Hückelhoven R, Langen G, Baltruschat H, Stein E, Nagarajan S, Kogel KH.** (2002). *Bipolaris sorokiniana*, a cereal pathogen of global concern: cytological and molecular approaches towards better control. *Molecular Plant Pathology* 3, 185-195.
- Langmead, B., and Salzberg, S.L.** (2012). Fast gapped-read alignment with Bowtie 2. *Nat Meth* 9, 357-359.
- Laporte F., Charcosset A., Mary-Huard T.** (2022). Efficient ReML inference in variance component mixed models using a Min-Max algorithm. *PLoS Comput Biol* 18:e1009659.
- Leisova, L., Kucera, L., Minarikova, V., and Ovesna, J.** (2005). AFLP-based PCR markers that differentiate spot and net forms of *Pyrenophora teres*. *Plant Pathology* 54, 66-73.
- Li, H.** (2011). A statistical framework for SNP calling, mutation discovery, association mapping and population genetical parameter estimation from sequencing data. *Bioinformatics* 27, 2987-2993.
- Li T., Li Y., Shangguan H, et al.** (2023). BarleyExpDB: an integrative gene expression database for barley. *BMC Plant Biol* 23:170.
- Liu Z, Ellwood SR, Oliver RP, Friese TL.** (2011). *Pyrenophora teres*: profile of an increasingly damaging barley pathogen. *Molecular Plant Pathology* 12, 1-19.
- Louw, J.P.J.C.P.W., and Holz, G.** (1996). Relative importance of the barley net blotch pathogens *Pyrenophora teres* f. *teres* (net-type) and *P. teres* f. *maculata* (spot-type) in South Africa. *African Plant Protection* 2, 89-95.
- Mair, W. J. Wallwork, H. , Garrard, T.A. , Haywood, J. , Sharma, N. , Dodhia, K.N. , Oliver, R.P., Lopez-Ruiz, F.J.** (2023). Emergence of resistance to succinate dehydrogenase inhibitor fungicides in *Pyrenophora teres* f. *teres* and *P. teres* f. *maculata* in Australia.
- Manni, M., Berkeley, M.R., Seppey, M., and Zdobnov, E.M.** (2021). BUSCO: assessing genomic data quality and beyond. *Current Protocols* 1, e323.
- Mangin B., Siberchicot A., Nicolas S., et al.** (2012). Novel measures of linkage disequilibrium that correct the bias due to population structure and relatedness. *Heredity* 108:285-291.
- Mathre D. E. (Ed.)**. (1997). *Compendium of barley diseases* (Vol. 90). St. Paul, MN: APS Press.
- McLean, M.S., Howlett, B.J., and Hollaway, G.J.** (2010). Spot form of net blotch, caused by *Pyrenophora teres* f. *maculata*, is the most prevalent foliar disease of barley in Victoria, Australia. *Australasian Plant Pathology* 39, 46-49.

- Miele, V., Penel, S., and Duret, L.** (2011). Ultra-fast sequence clustering from similarity networks with SiLiX. *BMC bioinformatics* 12, 116.
- Min, B., Grigoriev, I.V., and Choi, I.-G.** (2017). FunGAP: Fungal Genome Annotation Pipeline using evidence-based gene model evaluation. *Bioinformatics* 33, 2936-2937.
- Monat C., Padmarasu S., Lux T., et al.** (2019). TRITEX: chromosome-scale sequence assembly of Triticeae genomes with open-source tools. *Genome Biol* 20:284.
- Novakazi F, Afanasenko O, Anisimova A, Platz GJ, Snowdon R, Kovaleva O, Zubkovich A, Ordon F.** (2019). Genetic analysis of a worldwide barley collection for resistance to net form of net blotch disease (*Pyrenophora teres* f. *teres*). *Theoretical and Applied Genetics* 132, 2633-2650.
- Oğuz, A.Ç., KarAkaya, A., ErGÜN, N., and Sayim, I.** (2017). Turkish barley landraces resistant to net and spot forms of *Pyrenophora teres*. *Phytopathologia Mediterranea* 56, 217-223.
- Oğuz, A.Ç., Rahimi, A., and Karakaya, A.** (2019). Seedling response of Iranian barley landraces to *Pyrenophora teres* f. *teres* and *Pyrenophora teres* f. *maculata*. *Journal of Agricultural Sciences* 25, 86-92.
- Pérez P., de los Campos G.** (2013). BGLR: A Statistical Package for Whole Genome Regression and Prediction. R package version.
- Pierre, A., E. Gourdain, G. Couleaud, X. Le Bris, F. Moreau, O. Deudon, E. Heritier, D. Simonneau and F. Piroux.** (2015). Elaboration d'un modèle d'alerte de maladie fongique sur grandes cultures : application au pathosystème puccinia striiformis/ble tendre d'hiver. Proc Afpp - Onzième Conférence Internationale Sur Les Maladies Des Plantes Tours - 7-9 Décembre 2015.
- Pritchard J.K., Stephens M., Donnelly P.** (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155:945-959.
- Ramírez Martínez, J., Guillou, S., Le Prieur, S., Di Vittorio, P., Bonal, F., Taliadoros, D., Gueret, E., Fournier, E., Stukenbrock, E.H., Valade, R., Gladieux P.** (2024). Deep population structure linked to host vernalization requirement in the barley net blotch fungal pathogen. *Microbial Genomics* 10, 001241.
- Richards JK, Friesen TL, Brueggeman RS.** (2017). Association mapping utilizing diverse barley lines reveals net form net blotch seedling resistance/susceptibility loci. *Theoretical and Applied Genetics* 130, 915-927.
- Rožanova IV, Lashina NM, Mustafin ZS, Gorobets SA, Efimov VM, Afanasenko OS, Khlestkina EK.** (2019). SNPs associated with barley resistance to isolates of *Pyrenophora teres* f. *teres*. *BMC Genomics* 20, 292.
- Roy JK, Smith KP, Muehlbauer GJ, Chao S, Close TJ, Steffenson BJ.** (2010). Association mapping of spot blotch resistance in wild barley. *Molecular Breeding* 26, 243-256.
- Simonneau D., et al.** (2011b). *Vigicultures® — Mode opératoire observation Orges d'hiver*. 16 p.
- Simpson, J.T., Wong, K., Jackman, S.D., Schein, J.E., Jones, S.J.M., and Birol, I.** (2009). ABySS: a parallel assembler for short read sequence data. *Genome research* 19, 1117-1123.
- Siol, M., Coudoux, T., Ravel, S., and De Mita, S.** (2022). EggLib 3: A python package for population genetics and genomics. *Molecular Ecology Resources* 22, 3176-3187.
- Smit, A.F.A., Hubley, R., and Green, P.** (2015). RepeatMasker Open-4.0. 2013-2015.
- Tamang P, Richards JK, Alhashal A, Sharma Poudel R, Horsley RD, Friesen TL, Brueggeman RS.** (2019). Mapping of barley susceptibility/resistance QTL against spot form net blotch caused by *Pyrenophora teres* f. *maculata* using RIL populations. *Theoretical and Applied Genetics* 132, 1953-1963.
- Tibshirani R.** (1996). Regression shrinkage and selection via the Lasso. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Methodological)*, 58(1), 267-288.
- Valjavec-Gratian M, Steffenson BJ.** (1997). Genetics of virulence in *Cochliobolus sativus* and resistance in barley. *Phytopathology* 87, 1140-1144.
- Vatter T, Maurer A, Kopahnke D, Perovic D, Ordon F, Pillen K.** (2017). A nested association mapping population identifies multiple small effect QTL conferring resistance against net blotch (*Pyrenophora teres* f. *teres*) in wild barley. *PLoS ONE* 12.
- Walsche A.D., Vergne A., Rincant R., et al.** (2025) metaGE: Investigating genotype x environment interactions through GWAS meta-analysis. *PLOS Genet* 21:e1011553.
- Wilcoxon RD, Rasmusson DC, Miles MR.** (1990). Development of barley resistant to spot blotch and genetics of resistance. *Plant Disease* 74, 207-210.
- Wonneberger R, Ficke A, Lillemo M.** (2017a). Mapping of quantitative trait loci associated with resistance to net form net blotch (*Pyrenophora teres* f. *teres*) in a doubled haploid Norwegian barley population. *PLoS ONE* 12.
- Wonneberger R, Ficke A, Lillemo M.** (2017b). Identification of quantitative trait loci associated with resistance to net form net blotch in a collection of Nordic barley germplasm. *Theoretical and Applied Genetics* 130, 2025-2043.
- Wyatt, N.A., Richards, J.K., Brueggeman, R.S., and Friesen, T.L.** (2018). Reference assembly and annotation of the *Pyrenophora teres* f. *teres* isolate O-1. G3: Genes, Genomes, Genetics 8, 1-8
- Wyatt, N.A., and Friesen, T.L.** (2021). Four reference quality genome assemblies of *Pyrenophora teres* f. *maculata*: a resource for studying the barley spot form net blotch interaction. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 34, 135-139.
- Zhang, C., Rabiee, M., Sayyari, E., and Mirarab, S.** (2018). ASTRAL-III: polynomial time species tree reconstruction from partially resolved gene trees. *BMC bioinformatics* 19, 15-30.
- Zhong S, Steffenson BJ.** (2001). Virulence and molecular diversity in *Cochliobolus sativus*. *Phytopathology* 91, 469-476.



# PrediCroit : Estimation de la capacité de prédiction génomique de la valeur d'un croisement

Claire OGET-EBRAD<sup>1,8</sup>, Emmanuel HEUMEZ<sup>2</sup>, Laure DUCHALAIS<sup>3</sup>, Ellen GOUEMAND-DUGUE<sup>4</sup>, Sandrine BERGES<sup>5</sup>, Patrice WALCZAK<sup>6</sup>, Paul BATAILLON<sup>7</sup>, François-Xavier OURY<sup>1</sup>, Jean-Michel ELSEN<sup>8</sup>, Sophie BOUCHET<sup>1</sup>

1 - INRAE-Université Clermont-Auvergne, UMR 1095, GDEC, 5 chemin de Beaulieu 63100 Clermont-Ferrand, FRANCE

2 - INRAE-UE 0972, GCIE, 2 chaussée Brunehaut, Estrées Mons, BP50136, 80203 Peronne Cedex, FRANCE

3 - AGRI-Obtentions, chemin de la Petite Minière, 78280 Guyancourt, FRANCE

4 - FLORIMOND DESPREZ VEUVE & FILS, 59242 Cappelle-en-Pévèle, FRANCE

5 - INRAE-UE 1375, PHACC, 5 chemin de Beaulieu 63100 Clermont-Ferrand, FRANCE

6 - INRAE UE 1373, FERLUS, Les Verrines, CS80006, 86600 Lusignan, FRANCE

7 - INRAE UE 0802, APC, 24 chemin de Borde-Rouge, CS52627, 31326 Castanet-Tolosan, FRANCE

8 - INRAE-Université de Toulouse, UMR1388, GenPhySE, Castanet-Tolosan, FRANCE

\*Coordinateur du projet : Sophie BOUCHET, sophie.bouchet@inrae.fr

## INTRODUCTION

Les prédictions génomiques peuvent être utilisées pour optimiser le choix des croisements, pour un ou plusieurs caractères quantitatifs simultanément (Zhong and Jannink 2007; Lehermeier *et al.* 2017a; Neyhart *et al.* 2019; Danguy des Déserts *et al.* 2023).

L'objectif du FSOV PrediCroit est de tester notre capacité de prédiction de la valeur d'un croisement à partir de marqueurs moléculaires ainsi que la corrélation entre deux caractères dans une descendance. Pour preuve de concept, nous testons ici notre capacité à prédire les meilleurs croisements pour le rendement, la date d'épiaison, la hauteur et le taux de protéine. Nous estimons aussi la corrélation entre le rendement et le taux de protéine. L'objectif du projet est (1) de comparer la moyenne (PM : Parental Mean), l'écart-type (SD : Standard Deviation) et la moyenne des meilleurs

individus (UC : Utility Criterion) dans une descendance (Figure 1) ainsi que la corrélation entre caractères ( $r_{G(1,2)}$ ), estimés analytiquement et les valeurs observées au champ, (2) d'identifier par simulation les facteurs qui influencent notre capacité de prédiction de ces composantes, (3) de tester si une formule analytique d'estimation de SD qui prend en compte l'erreur d'estimation des effets des marqueurs et la composition génomique des parents améliore l'estimation.

Pour ceci, nous avons évalué dans six lieux et quatre années 6 365 descendants issus de 101 croisements avec 55 descendants en moyenne provenant des programmes de sélection INRAE/Agri-obtentions et Florimond-Desprez (FD).

Un article résume une partie des résultats (Oget *et al.* 2024).

## MATÉRIEL ET MÉTHODE

### Prédiction déterministe de la valeur d'un croisement

Grâce aux prédictions génomiques, il est possible de prédire la moyenne (PM : parental mean) et l'écart type (SD : standard deviation) d'un croisement, ainsi que la moyenne des meilleurs descendants (UC : Usefulness Criterion), la corrélation entre deux caractères ( $r_{G(1,2)}$ ) ainsi que la moyenne des meilleurs individus pour des caractères secondaires (UCcor).

#### Pour le caractère principal :

D'après Schnell et Utz (1975) :

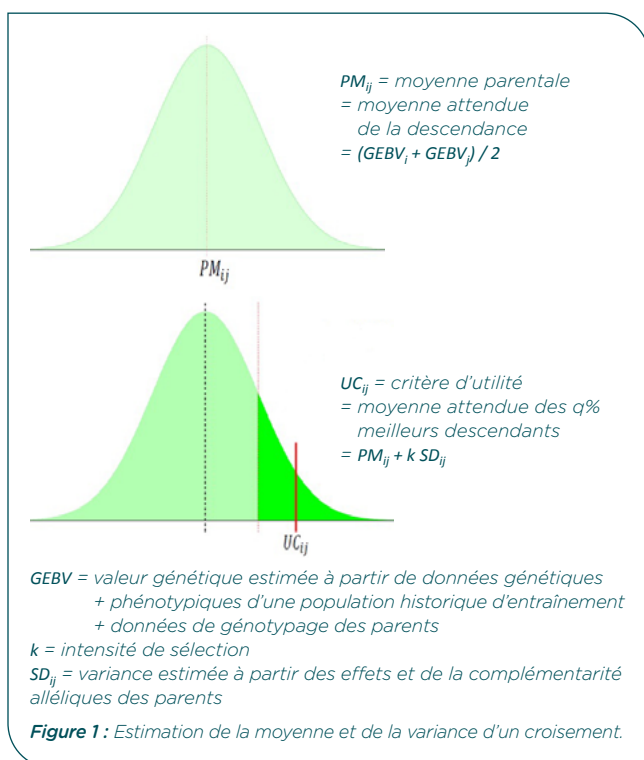
$$UC_1 = PM_1 + iSD_{G(1)} \quad (1)$$

Avec  $UC_1$  la moyenne espérée des meilleurs descendants,  $PM_1$  la moyenne espérée des parents (estimée comme la moyenne des GEBV),  $i$  l'intensité de sélection,  $SD_{G(1)}$  l'écart type espéré de la descendance pour le caractère principal.

D'après Zhong et Jannink (2007) :

$$SD_G^2 = \sum_{i=1}^L \alpha_i^2 + 2 \sum_{i < j} \frac{1-2c_{ij}}{1+2c_{ij}} \alpha_i \alpha_j \quad (2)$$

Avec  $SD_G^2$  la variance génétique du caractère,  $\alpha_i$  et  $\alpha_j$  les effets de substitution des allèles des loci  $i$  et  $j$ ,  $c_{ij}$  le taux de recombinaison entre les loci  $i$  et  $j$ .



Pour le caractère secondaire, d'après Neyhart et. al (2019) :

$$SD_{G(1,2)}^2 = \sum_{i=1}^{L(1)} \sum_{j=1}^{L(2)} \frac{1-2c_{i(1)j(2)}}{1+2c_{i(1)j(2)}} \alpha_{i(1)} \alpha_{j(2)} \quad (3)$$

Avec  $SD_{G(1,2)}^2$  la covariance génétique attendue entre deux caractères,  $c_{i(1)j(2)}$  le taux de recombinaison entre le locus  $i$  du caractère 1 et le locus  $j$  du caractère 2,  $\alpha_{i(1)}$  l'effet de substitution d'allèle du locus  $i$  pour le caractère 1, et  $\alpha_{j(2)}$  l'effet de substitution d'allèle du locus  $j$  pour le caractère 2.

$$r_{G(1,2)} = \frac{SD_{G(1,2)}}{\sqrt{\sigma_{G(1)}^2 \sigma_{G(2)}^2}} \quad (4)$$

Avec  $r_{G(1,2)}$  la corrélation génétique entre les caractères 1 et 2,  $SD_{G(1)}^2$  et  $SD_{G(2)}^2$  les variances génétiques respectives des caractères 1 et 2,  $SD_{G(1,2)}$  la racine carrée de la covariance génétique attendue entre deux caractères.

$$UC_2 = PM_2 + iSD_{G(2)}$$

$$UC_{cor} = PM_2 + ir_{G(2)}SD_{G(2)} \quad (5)$$

Avec  $UC_2$  la moyenne espérée des meilleurs descendants,  $PM_2$  la moyenne espérée des parents,  $i$  l'intensité de sélection,  $SD_{G(2)}$  l'écart type espéré de la descendance pour le caractère secondaire,  $r_{G(1,2)}$  la corrélation génétique attendue entre les deux caractères.

La population d'entraînement contient les variétés françaises inscrites ces 20 dernières années ainsi que les lignées du programme de sélection INRAE-AO, soit 2146 lignées au total. Un modèle RR-BLUP et des modèles bayésiens ont été utilisés pour estimer les effets des marqueurs. Les taux de recombinaison  $c$  ont été estimés à partir d'un panel de diversité mondial (Danguy et al, 2021).

#### ► Estimation au champ de la valeur d'un croisement

Au total, 101 croisements ont été produits. Les parents ont été génotypés avec une puce 35K.

Tous les partenaires ont évalué au champ les descendance à l'aide d'un dispositif augmenté (20% de répétitions). Deux témoins (RGT\_CESARIO et CHEVIGNON) sont répétés dans tous les essais. Les parents des croisements sont également répétés dans les essais à partir de l'année 2. Au total, 9727 parcelles ont été évaluées sur 4 ans.

Les données expérimentales pour le rendement, la teneur en protéines, la hauteur et la précocité ont été ajustées après corrections spatiales. La qualité des données est très satisfaisante et les corrélations très bonnes entre essais.

## RÉSULTATS

### ► Comparaison de la valeur des croisements observée et prédite

Pour le rendement (taux de protéine), les corrélations entre essais (année x lieu) sont de 0.48 (0.43) en moyenne, la répétabilité des mesures de 0.32 (0.52) et l'héritabilités génomiques de 0.53 (0.51) (Table 1).

Caractère	cor_année	rep_plot	h <sup>2</sup> _genome
Rendement	0.48	0.32	0.53
Prot	0.43	0.52	0.51
Hauteur	0.79	0.73	0.56
Épiaison	0.88	0.85	0.73

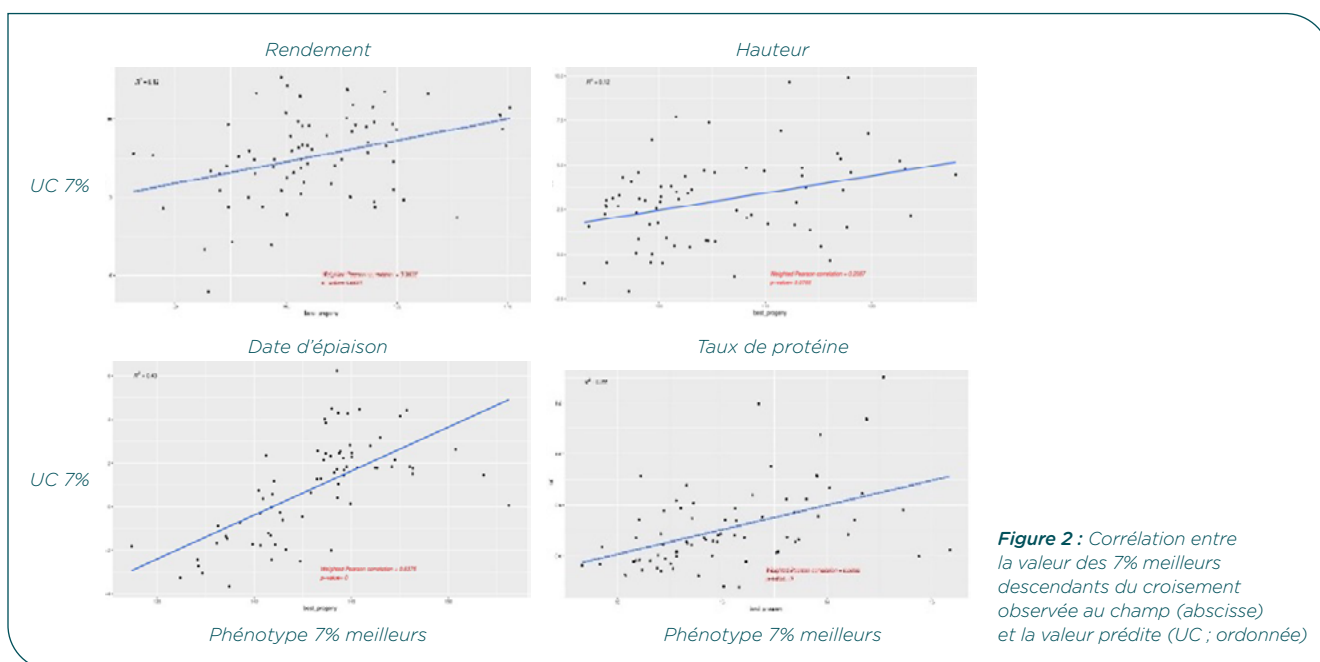
Table 1 : Statistiques expérimentales.

Pour notre population d'entraînement, on remarque que la hauteur et la date d'épiaison sont mieux prédits avec des modèles de prédiction génomique bayésiens imposant une distribution des effets des marqueurs non Gaussienne, suggérant une architecture polygénique avec des QTL majeurs (Table 2).

Modèle	Rendement	Prot	Hauteur	Épiaison
BayesA	0.62	0.6	0.6	0.81
rrBLUP	0.62	0.52	0.6	0.65

Table 2 : Capacité de prédiction des GEBV en cross-validation pour différents modèles de prédiction génomique (60% training population / 40% Validation population)

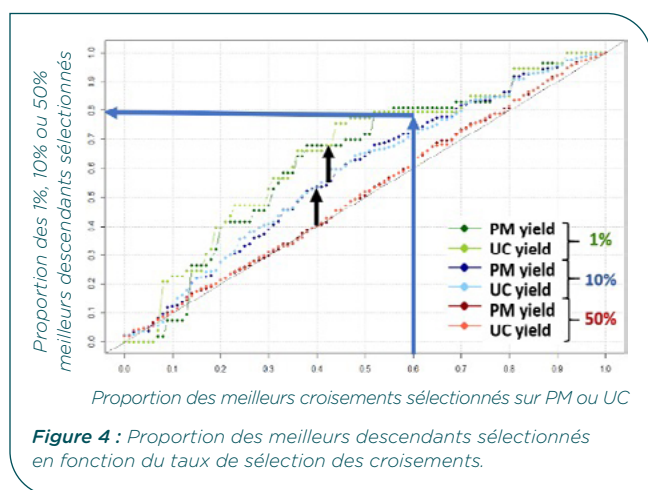
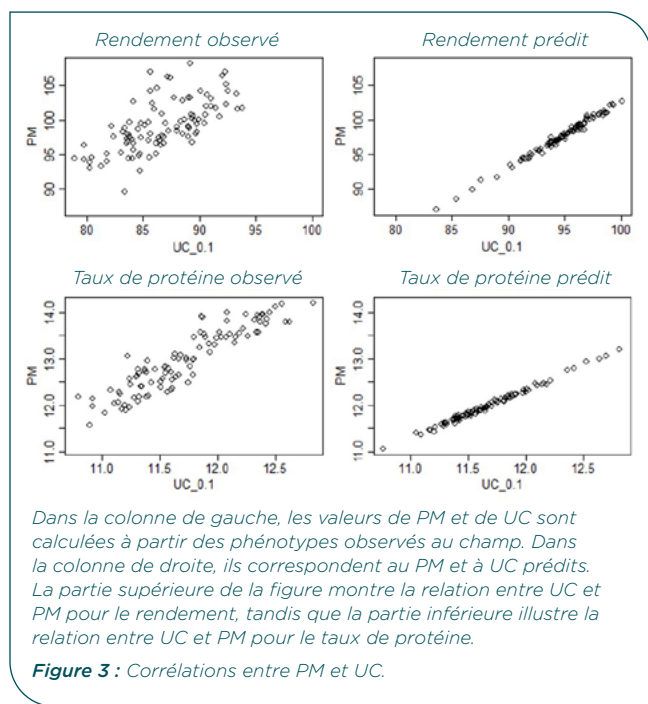
Nous avons comparé les composantes de valeur de croisement (PM, SD et UC) prédites et observées pour tous les caractères. Pour UC, nous avons comparé la valeur moyenne des 7% et 10% meilleurs descendants (Figure 2).



Les moyennes de descendance observées et prédites (PM) sont significativement corrélées : 0.38, 0.63, 0.51 and 0.91, pour le rendement, le taux de protéine, la hauteur et la date d'épiaison respectivement. Les écart-types (SD) observés et prédits sont significativement corrélés pour la hauteur et la date d'épiaison (0.59 et 0.38, respectivement) mais pas pour le rendement et le taux de protéine (0.01 et 0.13, respectivement). Mais les valeurs prédites et observées de l'UC sont significativement corrélées (0.45, 0.52, 0.54 and 0.74 pour le rendement, le taux de protéine, la hauteur et la date d'épiaison, respectivement).

On remarque que pour la hauteur et la date d'épiaison, SD est mieux prédit avec des modèles de prédiction génomique bayésiens imposant une distribution des effets des marqueurs non Gaussienne (0.63-0.64 et 0.46-0.49, respectivement) qu'avec des modèles imposant une distribution Gaussienne (0.53-0.54 et 0.33-0.34, respectivement), suggérant une architecture polygénique avec des QTL majeurs.

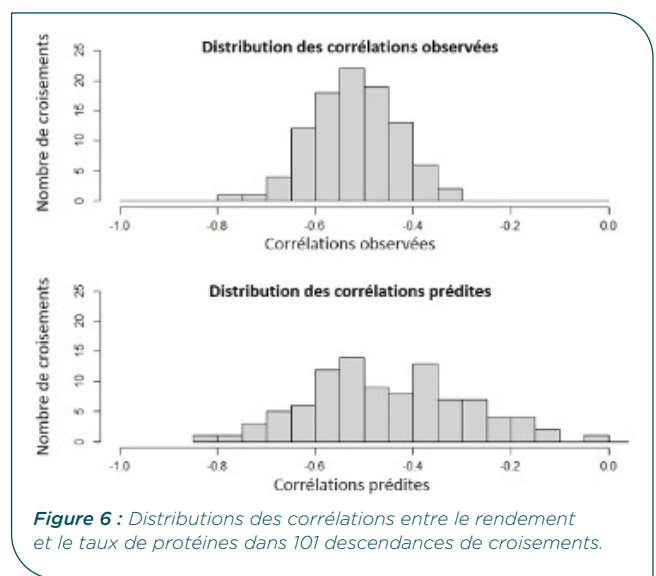
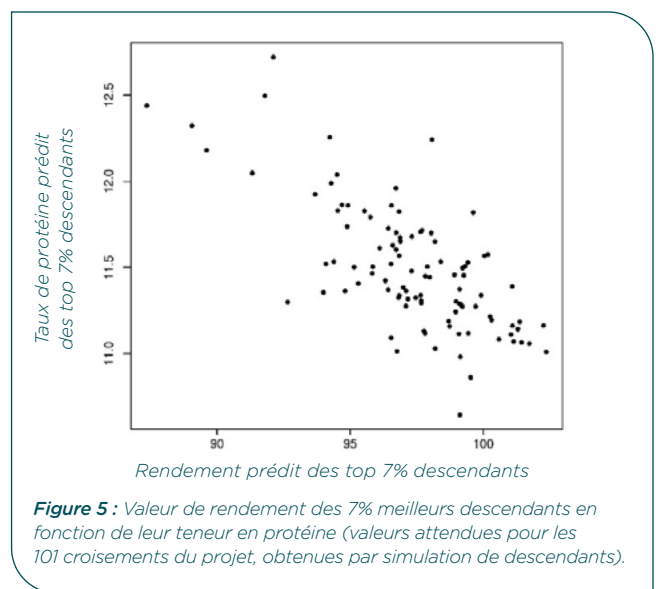
On remarque que dans ces croisements élites, la corrélation entre PM et UC est très forte, pour les paramètres observés au champ et pour les valeurs prédites en particulier (Figure 3).



En triant les croisements sur PM ou UC (Figure 4), on peut obtenir 80% des 1% meilleurs descendants en faisant seulement 60% des croisements. Par contre UC n'est pas plus efficace que PM.

### ► Comparaison de la corrélation rendement / taux de protéine observée et prédite

Les corrélations rendement/taux de protéine observées et prédites sont négatives (Figure 5). Nous observons cependant une grande variabilité des corrélations entre teneur en protéine et rendement suivant les croisements, d'après les prédictions et au champ (Figure 6).



Malgré une corrélation entre corrélations observées et prédites nulle, la valeur des meilleurs descendants pour le caractère secondaire (UCcor) est bien prédite (Table 3).

Cor (cor(obs), cor(pred))	rrBLUP	BayesA
Hauteur/Rdt	0.27	0.16
Taux de protéine/Rdt	0.39	0.38
Date d'épiaison/Rdt	0.61	0.65

**Table 3 :** Corrélation entre valeurs observées et prédites de la la valeur des meilleurs individus en rendement pour le caractère secondaire.

### ► Corrélation entre la proportion de descendants GPD+ des croisements observée et UCcor

La proportion de descendants GPD+ (GPD>6) (valeur observée) est corrélée à la prédiction UCcor (teneur en protéine des meilleurs individus en rendements) ( $r=0.6$ ).

Si on ne s'intéresse qu'au 20% meilleurs croisements en rendement, le nombre de GPD+ par croisement est corrélé à la corrélation rendement/taux de protéine prédite.

Certains des parents de croisements sont des blés améliorants. La plupart sont des blés BPS ou BP. Les blés améliorants semblent être des variétés génétiquement très différentes, en particulier pour les allèles liés aux protéines (Figure 6).

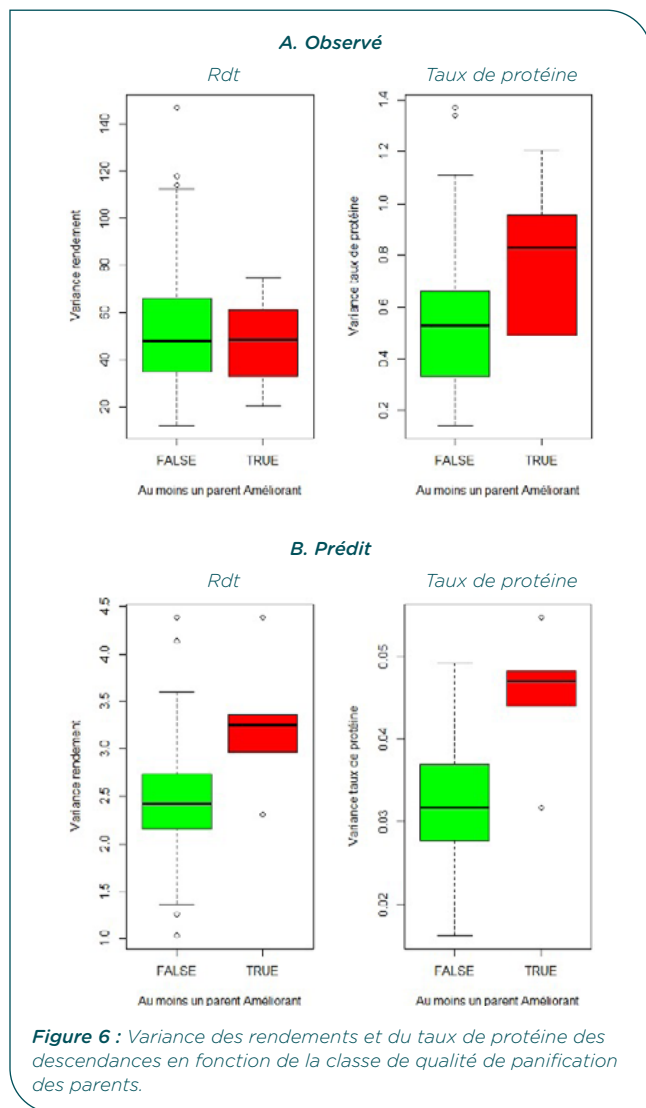


Figure 6 : Variance des rendements et du taux de protéine des descendance en fonction de la classe de qualité de panification des parents.

Par contre les descendants GPD+ avec un bon rendement viennent de croisements BPSxBPS ou BPSxBP en majorité, rarement avec un parent améliorant.

En conclusion, on prédit très bien la valeur des meilleurs croisements avec PM. Il y a un problème de shrinkage dans les prédictions des SD qui sont déjà faibles dans le matériel élite. SD contribue très peu à UC par rapport à PM. La faible capacité prédictive de SD provient aussi (1) de la taille limitée de la population

d'entraînement, (2) d'une diversité de croisements limitée, il ne s'agit que de « bons » croisements, (3) des tailles de descendance limitées, ne permettant pas de réaliser leur potentiel de variance, limitant la probabilité de produire des « outliers ».

### ► Capacité de prédiction attendue en fonction de la taille des descendance : simulations

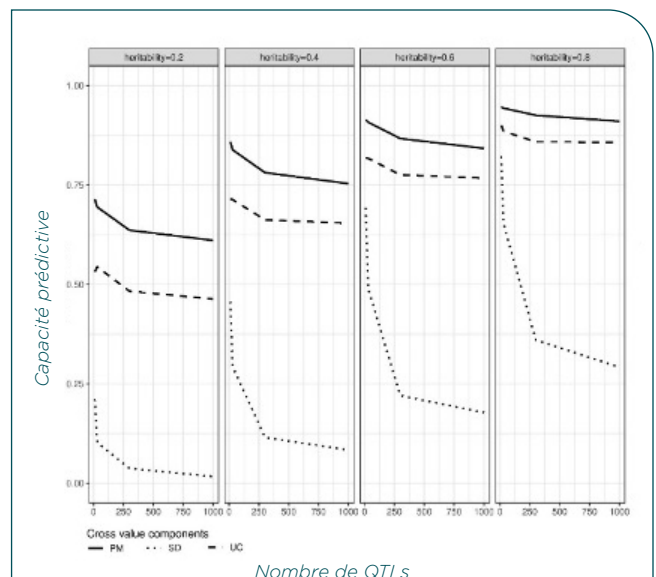
Nous avons estimé les composantes de la valeur d'un croisement (PM, SD, UC) en utilisant une formule analytique ou en simulant les descendance de 73 croisements expérimentaux.

Nous avons simulé différents scénarios, en faisant varier le nombre de QTL (de 10 à 1,000), l'héritabilité du caractère (de 0.2 à 0.8), et la taille de la descendance (de la taille expérimentale de 55 en moyenne à 2,000). Nous avons simulé 20 caractères pour chaque nombre de QTL. Les QTL ont été positionné aléatoirement le long de la carte génétique (Danguy des Déserts *et al.* 2021). Leurs effets suivent une distribution normale  $N(0,1)$ . Ces effets des marqueurs vrais ont été ajustés pour que la variance des TBV soit similaire à la variance des GEBV observée pour le rendement dans la TP.

Pour les effets des marqueurs, nous avons utilisé soit les effets des marqueurs vrais (TRUE scenario) où l'erreur d'estimation des effets des marqueurs serait négligeable (les tailles de TP et de la descendance sont infinies et le modèle de prédiction parfait), soit des effets de marqueurs estimés (ESTIMATED scenario) considérant que la taille de la TP est limitée.

Pour chaque scénario, nous avons comparé les valeurs des trois composantes dans les descendance simulées avec les valeurs estimées avec la formule analytique.

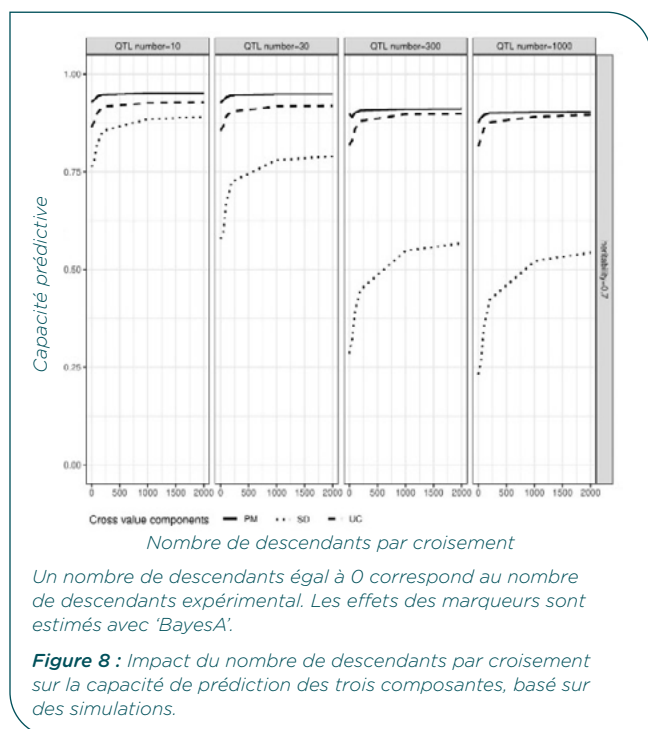
La capacité de prédiction augmente avec l'héritabilité et diminue avec le nombre de QTL, en particulier SD (Figure7).



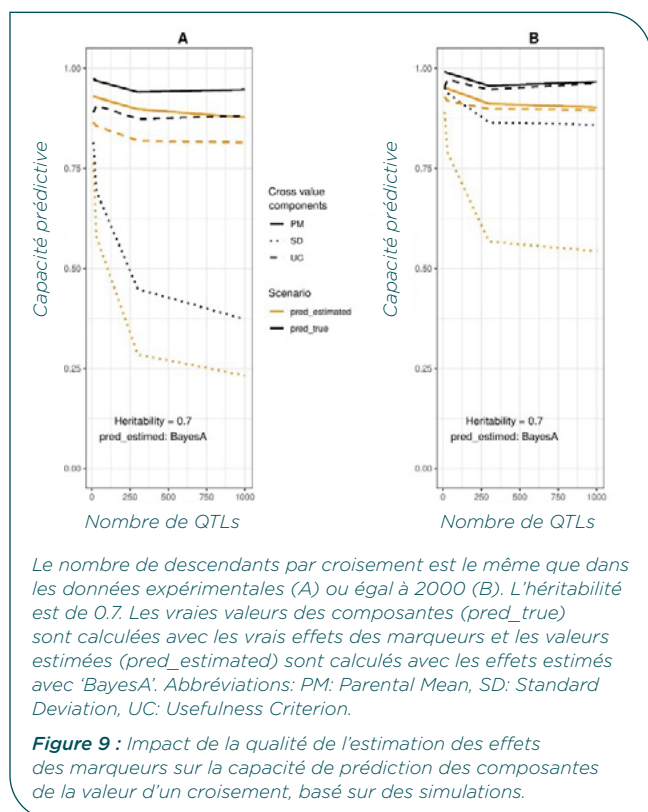
Le nombre de descendants par croisement est le même que dans les données expérimentales, les effets des marqueurs sont estimés avec un modèle de prédiction génomique 'BayesA'. PM: Parental Mean, SD: Standard Deviation, UC: Usefulness Criterion.

Figure 7 : Impact de l'architecture génétique sur la capacité de prédiction des trois composantes de la variance, basé sur des simulations.

La capacité de prédiction augmente avec la taille de la descendance (Figure 8). On observe deux seuils de taille importants, 250 et 1000 qui correspondent à des sauts en termes de capacité de prédiction.

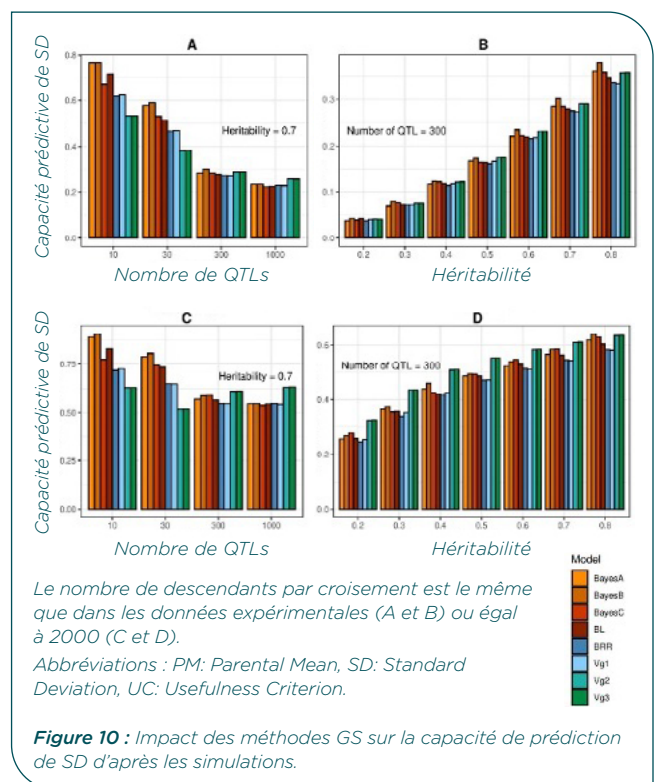


Nous avons comparé un scénario où les effets sont parfaitement estimés (« TRUE ») ou estimés à partir d'une base de données (« ESTIMATED »). Alors que PM et UC sont toujours correctement estimés quelque soit le scénario, SD n'est bien estimé (accuracy > 0.4) que lorsque les effets des marqueurs sont parfaitement estimés (Figure 9A) ou la taille de la population est grande (Figure 9B).



D'après les simulations, la capacité de prédiction augmente avec l'héritabilité, la taille de la descendance et diminue avec le nombre de QTL, en particulier pour SD.

SD est très impacté par la qualité d'estimation des effets des marqueurs. Une formule qui prend en compte l'erreur d'estimation des effets des marqueurs (Vg3) permet d'améliorer les prédictions lorsque le nombre de QTL >= 300 et la taille de la population est grande (2000 ici) (Figure 10 C et D). Dans le cas contraire, ce sont les modèles bayésiens qui produisent les meilleures estimations.



Nous validons ainsi notre capacité de prédiction d'UC malgré une mauvaise corrélation de SD avec les données expérimentales. Cette capacité de prédiction dépend de l'architecture du caractère et de la taille de la descendance. Autrement dit, pour réaliser le potentiel de variance estimé analytiquement pour un croisement donné, il faut produire une taille de descendance suffisante.

Un article scientifique détaille ces résultats (Oget-Ebrad *et al.* 2024).

## DISCUSSION

La corrélation entre l'UC et la moyenne des meilleures lignées au champ est bonne (Table 4) même si la taille de nos populations expérimentales (55 descendants en moyenne) ne nous permet pas de valider notre capacité de prédiction de l'écart-type dans la descendance.

	Rendement	Prot	Hauteur	Épiaison
GEBV accuracy	0.62	0.6	0.6	0.81
cor( UC / phenotypes)	0.45	0.52	0.54	0.74

**Table 4 :** Statistiques de prédictions.

La capacité de prédiction de l'UC pour la date d'épiaison nous permet d'avoir confiance en nos modèles de prédiction génomique. La capacité de prédiction est moins bonne pour le rendement, sans doute à cause du GxE, mais reste intéressante d'un point de vue gain génétique (Danguy *et al.*, 2023).

La prédiction est moins bonne pour la hauteur de plante, sans doute parce que la variance pour ce caractère est très faible dans le matériel élite et la précision de mesure d'environ 5 cM. Nous pensons avoir de meilleures prédictions de la hauteur dans des panels plus variés. En effet, il a déjà été rapporté plusieurs fois que la capacité de prédiction de la variance de la descendance, et de la valeur d'un croisement, dépend du rapport  $\text{var}(\text{sd}) / \text{var}(\text{PM})$  pour l'ensemble des descendances.

Estimer la corrélation dans les croisements à fort potentiel de rendement permet de choisir les meilleurs croisements pour rendement et protéine. Par contre UC n'apporte rien par rapport à PM. Il s'agit de matériel élite, les variances prédites sont très shrinkées, les croisements ne sont pas très variés et surtout les tailles de descendances sont très faibles.

Dans un programme de sélection, pour réaliser le potentiel d'un croisement, il faudrait essayer d'évaluer de grandes descendances pour les UC exceptionnels, plus tôt dans les générations, donc avec un typage très peu cher. Pour l'instant, seule la variance inter croisement est exploitée, pas la variance intra croisement dans les programmes de sélection INRAE-AO. Un seul descendant par croisement maximum est évalué pour le rendement à partir de la F6.

Pour la prédiction des corrélations, notre premier objectif est d'améliorer la compréhension du

déterminisme génétique conjoint du rendement et du taux protéine en utilisant un maximum de populations et d'environnements grâce à une analyse meta-QTL. Nous souhaitons mieux comprendre le nombre de QTLs pléiotropes et en DL, ceux qui sont en répulsion de phase en particulier dans le matériel élite. Nous essaierons d'imputer les données de génotypage 35K avec la 420K et utiliserons tous les marqueurs pour mieux estimer les variances.

Nous allons tester notre capacité de prédiction de SD et de la corrélation entre deux caractères dans un matériel plus varié par simulation. Nous testerons des scénarios avec un typage moins cher en F4 pour choisir un plus grand nombre de descendants à évaluer en F6 pour certains croisements à UC exceptionnel. Nous évaluerons le gain génétique pour les deux caractères sur le long terme.

Nous comparerons des scénarios de sélection pour le rendement et le taux de protéine en sélectionnant soit sur le phénotype, la GEBV,  $\text{PM}_1$  et  $\text{PM}_2$ ,  $\text{UC}_1$  et  $\text{UC}_2$ ,  $\text{UC}_1$  et  $\text{UCcor}$  en partant de matériel élite ou plus variés, pour évaluer la possibilité de sélectionner pour le rendement avec moins de contrainte sur le taux de protéine grâce aux prédictions génomiques.

En effet, le matériel élite se distingue du matériel plus ancien par :

- une proportion d'allèles favorables pour le rendement (taux de protéine) supérieure (inférieure),
- un nombre d'allèles favorables pour le rendement en répulsion avec les allèles favorables à la teneur en protéine supérieur,
- une corrélation rendement/taux de protéine plus négative.

## Références bibliographiques

**Bijma P, Wientjes YCJ, Calus MPL.** 2020. Breeding Top Genotypes and Accelerating Response to Recurrent Selection by Selecting Parents with Greater Gametic Variance. *Genetics*. 214(1):91. <https://doi.org/10.1534/genetics.119.302643>

**Danguy des Déserts A et al.** 2023. Comparison of genomic-enabled cross selection criteria for the improvement of inbred line breeding populations. *G3 Genes|Genomes|Genetics*. jkad195. <https://doi.org/10.1093/g3journal/jkad195>

**Danguy des Déserts A, Bouchet S, Sourdille P, Servin B.** 2021. Evolution of Recombination Landscapes in Diverging Populations of Bread Wheat. *Genome Biology and Evolution*. 13(8) <https://doi.org/10.1093/gbe/evab152>. <https://doi.org/10.1093/gbe/evab152>

**Heslot N, Jannink J-L, Sorrells ME.** 2013. Using Genomic Prediction to Characterize Environments and Optimize Prediction Accuracy in Applied Breeding Data. *Crop Science*. 53(3):921-933. <https://doi.org/10.2135/cropsci2012.07.0420>

**Lehermeier C, Teyssèdre S, Schön C-C.** 2017a. Genetic gain increases by applying the usefulness criterion with improved variance prediction in selection of crosses. *Genetics*. 207(4):1651-1661

**Lehermeier C, Teyssèdre S, Schön C-C.** 2017b. Genetic Gain Increases by Applying the Usefulness Criterion with Improved Variance Prediction in Selection of Crosses. *Genetics*. 207(4):1651-1661. <https://doi.org/10.1534/genetics.117.300403>

**Neyhart JL, Lorenz AJ, Smith KP.** 2019. Multi-trait Improvement by Predicting Genetic Correlations in Breeding Crosses. *G3 Genes|Genomes|Genetics*. 9(10):3153-3165. <https://doi.org/10.1534/g3.119.400406>

**Oget-Ebrad C et al.** 2024. Validation of cross-progeny variance genomic prediction using simulations and experimental data in winter elite bread wheat. *Theor Appl Genet*. 137(10):226. <https://doi.org/10.1007/s00122-024-04718-6>

**Schnell FW, Utz HF.** 1975. Bericht über die Arbeitstagung der Vereinigung österreichischer Pflanzenzüchter.

**Wellmann R.** 2019. Optimum contribution selection for animal breeding and conservation: the R package optiSel. *BMC Bioinformatics*. 20(1):25. <https://doi.org/10.1186/s12859-018-2450-5>

**Zhong S, Jannink J-L.** 2007. Using quantitative trait loci results to discriminate among crosses on the basis of their progeny mean and variance. *Genetics*. 177(1):567-576



# PGEN-BW : Phosphorus use efficiency and genetics of bread wheat (Déterminants génétiques de l'efficacité d'utilisation du phosphore chez le blé tendre)

Francesca DEGAN<sup>1</sup>\*, Alexia CREZE<sup>1</sup>, Christophe Salon<sup>2</sup>, Fabiano Sillo<sup>3</sup>, Malcolm Hawkesford<sup>4</sup>, Andrew Riche<sup>4</sup>, Roger Sylvester Bradley<sup>5</sup>, Alison Rollett<sup>5</sup>, Pete Berry<sup>5</sup>, Tally Wright<sup>6</sup>, Camila Zanella<sup>6</sup>, Delphine Hourcade<sup>1</sup>, Raffaella Balestrini<sup>3</sup>, Christian Jeudy<sup>2</sup>, Yann Manes<sup>7</sup>, Ivan Ortiz-Monasterio<sup>8</sup>

1 - Arvalis Institut du Végétal

2 - INRAE UMR Agroécologie

3 - IPSP CNR (Istituto per la Protezione Sostenibile delle Piante - Consiglio Nazionale delle Ricerche), Italie

4 - Rothamsted Research, Royaume Uni

5 - ADAS, Royaume Uni

6 - NIAB, Royaume Uni

7 - International Maize Improvement Programs, ex-Syngenta France

8 - CIMMYT

\*Coordinateur du projet : Francesca DEGAN, f.degan@arvalis.fr

## INTRODUCTION

Le blé tendre (*Triticum aestivum* L.) est la première céréale cultivée au monde en termes de surface et la seconde en termes de production (FAO, 2025). Il représente à lui seul environ 95 % de la production mondiale de blé (Mastrangelo & Cattivelli, 2021). Cette culture occupe une place centrale dans la sécurité alimentaire mondiale, mais elle se caractérise également par une forte dépendance aux engrais phosphatés, consommant davantage de phosphore (P) que le maïs (*Zea mays*) et le riz (*Oryza sativa*) (Heffer, 2013). Depuis le milieu du XX<sup>e</sup> siècle, les pays européens ont appliqué des doses de fertilisants parfois excessives, notamment en P (Billen et al., 2021; Valkama et al., 2009). Ces pratiques ont pu conduire les sélectionneurs à négliger la tolérance au stress phosphaté, dans la mesure (Wissuwa et al., 2009). Cette situation devient préoccupante alors que plusieurs études prévoient l'épuisement progressif des gisements de roches phosphatées, ressource non renouvelable, dans les prochaines décennies (Li et al., 2016; Schoumans et al., 2015). La découverte récente d'importants dépôts en Norvège pourrait temporairement repousser cette échéance, mais ne remet pas en cause la nécessité de réduire la dépendance agricole au P.

À cela s'ajoute le problème sanitaire lié à la contamination des engrais phosphatés par des métaux lourds, notamment le cadmium (Cd), dont l'Union européenne a récemment abaissé la limite réglementaire dans les grains de blé à 0,15 mg kg<sup>-1</sup> (European Commission, 2021). Réduire l'usage des engrais phosphatés constitue donc également un levier pour limiter le transfert de Cd aux grains et améliorer la qualité sanitaire des productions (Genchi et al., 2020).

Cependant, une carence en phosphore réduit fortement la biomasse et le rendement, caractère majeur de sélection en blé. En effet, le phosphore joue pourtant un rôle essentiel dans le fonctionnement cellulaire : synthèse de l'ADN, production d'ATP, constitution des membranes, croissance et développement. Malgré son importance agronomique, les bases génétiques et physiologiques de l'efficacité d'utilisation du P restent encore mal comprises en blé.

Dans le passé, l'étude de l'efficacité du phosphore (PUE - phosphorus use efficiency) s'est centrée davantage sur l'efficacité d'acquisition du phosphore (PAE) du sol, appelée

plus correctement Phosphorus uptake efficiency PupE, qui mesure la capacité de la culture à extraire le P du sol et des engrais, sans cependant comptabiliser l'efficacité d'utilisation du phosphore (PutE) définie comme la biomasse produite par unité de P accumulée (Wissuwa et al., 2009) plus difficile à évaluer (Rose & Wissuwa, 2012). Plusieurs versions de la PUE se trouvent dans la littérature, en fonction du type de biomasse considéré (plante entière, grain...) et de comment le P disponible est calculé. L'analyse détaillée du PutE en composantes de grain, de partie aérienne et de racines révèle des informations supplémentaires sur la contribution des différentes parties de la plante à l'efficacité globale. Par exemple, bien que le ratio d'efficacité du P (PER) relie la matière sèche des grains au P dans la partie aérienne, il est souvent davantage corrélé à l'indice de récolte (HI) qu'à des traits physiologiques associés à l'utilisation interne du P. Cela signifie qu'une augmentation apparente du PER peut refléter un HI plus élevé plutôt qu'une amélioration de l'utilisation interne du P.

D'un point de vue physiologique, une réduction de la force du puits de phosphore dans les grains en développement est considérée comme un trait idéal pour améliorer l'efficacité d'usage du P et réduire les exportations agricoles de P (Richardson et al., 2011; Rose et al., 2010). Des études montrent que les niveaux de P dans les grains ne limitent pas directement le potentiel de rendement une fois un certain seuil atteint, ce qui suggère que le rendement des grains n'est généralement pas affecté par la quantité de P dans le grain (Batten et al., 1986; Raboy, 2020). Cependant, il est essentiel de maintenir une concentration minimale de P dans le grain pour éviter une baisse de la vigueur des plantules, notamment dans les sols pauvres en P.

Les corrélations entre la PUE, la biomasse et le rendement montrent également que des valeurs élevées de PUE ou de PER peuvent indiquer une limitation en P plutôt qu'une véritable amélioration de l'efficacité. Par ailleurs, la concentration critique en P (Pc) nécessaire pour un rendement maximal diminue à mesure que la biomasse aérienne augmente, en relation avec les concentrations en azote (Bélangier et al., 2015; Cadot et al., 2018; Ziadi et al., 2008). L'indice de nutrition en P (PNI), un outil de diagnostic basé sur la plante pour évaluer la suffisance en P, considère Pc comme une fonction de la concentration en N, offrant une évaluation robuste et indépendante des

variations des concentrations du P du sol et des effets liées à la nutrition azotée.

La difficulté consiste à disposer des sols à très basse teneur en phosphore pour pouvoir mesurer des carences en phosphore observables au champ sur blé tendre d'hiver. Cependant, cette situation peut aussi provoquer d'autres facteurs limitants du point de vue agronomique (autres carences nutritionnelles, attaques de pathogènes du sol...), rendant plus difficile l'interprétation des résultats. De plus, la carence en phosphore est souvent très hétérogène, suivant ou non des propriétés pédologiques. Des dispositifs statistiques d'essais spécifiques sont donc nécessaires pour prendre en compte cette hétérogénéité spatiale. Enfin, la dynamique et la disponibilité du phosphore fourni par le sol ou les engrais peut être fortement impactée par les pratiques agricoles, entraînant des interactions Génotype × Environnement × Management significatives (voir pour un exemple sur orge, en lien avec des pratiques contrastées de travail du sol (George et al., 2011). Cependant, de nombreux débats méthodologiques sont encore d'actualité à propos de leurs interactions et de la meilleure composante à activer pour améliorer rapidement la PUE (Rose et al., 2011; F. Wang et al., 2016, 2017).

Les traits racinaires de surface sont une des clefs pour mieux comprendre et améliorer la PUE. Cependant, les étudier au champ implique encore beaucoup d'incertitudes et des mesures destructives (Neumann et al., 2009), parce que les techniques de phénotypages racinaires actuellement disponibles au champ ne sont pas adaptées à l'évaluation des nombreux génotypes nécessaires pour une étude génétique (200 lignées au minimum). L'utilisation d'outils de phénotypages en conditions contrôlées (comme celui décrit dans Jeudy et al., 2016) est donc incontournable, mais ceux-ci doivent être employés avec précaution (Zhao et al., 2018).

Si de nombreuses études ont identifié une variabilité phénotypique en réponse au stress phosphaté (Rose & Wissuwa, 2012; Soumya et al., 2021), les QTLs associés sont encore peu nombreux et dispersés, souvent difficiles à comparer entre études (Cu et al., 2020).

Récemment, 28 QTL majeurs et 18 clusters de QTL ont été identifiés sur plusieurs chromosomes dont 2B, 4B et 7B pour des traits liés à l'absorption et l'utilisation du P (K. Wang et al., 2014; Zhang & Wang, 2015). Plusieurs gènes candidats impliqués dans le transport et la régulation du P ont également été caractérisés, notamment **TaPHO2-A1**, régulateur négatif de l'homéostasie du phosphate. Sa suppression augmente l'absorption du P et le rendement sous carence en P (Ouyang et al., 2016). La famille des transporteurs **TaPHT1** sont impliqués dans l'absorption racinaire du phosphate et sont régulés dans la réponse à la carence en P (Teng et al., 2017), ainsi que **TaPSTOL**, homologue du gène **OsPSTOL1** du riz connu pour améliorer la tolérance à la carence en P (Milner et al., 2018).

Dans ce contexte, les approches de génétique d'association (GWAS) constituent un outil efficace pour détecter les QTLs impliqués dans la tolérance à la carence en P au sein de larges panels de diversité (Uffelmann et al., 2021). Parallèlement, la sélection génomique représente une méthode prometteuse pour prédire des caractères complexes, contrôlés par de nombreux loci à faible effet, comme ceux liés à la PUE et au stress phosphaté (Atanda et al., 2022; Meuwissen et al., 2001; Xu et al., 2018).

Dans cette étude, 199 accessions de blé tendre ont

été évaluées dans trois essais contrastés en P afin de caractériser leur réponse au stress phosphaté. Des analyses phénotypiques, de puissance statistique et de structure génétique ont été menées, permettant la réalisation de GWAS multi sites et l'élaboration de modèles de prédiction génomique. Les objectifs étaient (i) d'évaluer la diversité de réponse d'un panel européen de blé tendre à différents niveaux de fertilisation phosphatée, (ii) d'identifier des QTLs associés à la tolérance à la carence en P, et (iii) d'évaluer le potentiel de la sélection génomique pour améliorer l'adaptation du blé aux sols pauvres en P.

Bien que la plupart des études sur l'efficacité d'utilisation du phosphore (PUE) soient menées au champ, les composantes liées à l'architecture et au fonctionnement du système racinaire jouent un rôle déterminant dans l'acquisition du phosphore, un élément faiblement mobile dans le sol. La variabilité génétique de traits tels que la longueur racinaire, la densité des racines fines, la surface d'exploration, l'angle d'insertion ou encore le ratio racines/parties aériennes constitue un levier essentiel dans les stratégies d'acquisition du P. Cependant, ces traits restent difficilement accessibles en conditions de plein champ en raison de la forte hétérogénéité du sol, de la structure racinaire complexe du blé et des contraintes méthodologiques liées au déterrage.

Pour dépasser ces limitations, le projet FSOV PGEN BW a intégré un second volet complémentaire de **phénotypage racinaire en conditions contrôlées**, basé sur l'utilisation de **RhizoTubes®** dans deux plateformes expérimentales (ALSIA - Italie ; 4PMI - INRAE Dijon, France). Un sous-panel de génotypes européens et CIMMYT a ainsi été évalué en conditions contrastées de phosphore (P+ vs P-), permettant d'étudier de manière non destructive la dynamique de croissance racinaire, l'absorption du P, la plasticité des réponses racinaires à la carence et leur contribution potentielle à la PUE. Ce dispositif complète l'évaluation en plein champ en apportant une lecture mécanistique des stratégies variétales liées à l'acquisition du P.

## MATÉRIEL ET MÉTHODE

### ► Phénotypage de la partie aérienne au champ

#### En France

Un panel de 199 génotypes de blé tendre d'hiver (*Triticum aestivum* L.) a été utilisé pour étudier la tolérance à la carence en phosphore. Ce panel comprend des variétés élites représentatives de la diversité génétique cultivée en Europe, incluant des cultivars issus de programmes de sélection récents. Les semences ont été fournies par les partenaires du projet FSOV PGEN BW.

En France, quatre essais au champ ont été conduits entre 2021 et 2023 sur deux localisations françaises : à Giroussens (acronyme GIR, code postale 81500) en 2021, 2022 et 2023 et à Vievy le Rayé (acronyme VIE code postale 41290), un essai en 2021. Chaque essai comportait deux modalités de fertilisation phosphatée : i) P+ (AP) : apport phosphaté élevé, correspondant à la dose agronomiquement recommandée ; ii) P- (NP) : absence ou forte réduction d'apport en P afin d'induire une contrainte limitante. Les essais ont été conduits en **dispositif en blocs randomisés** avec deux répétitions. En fonction des configurations du terrain, les dispositifs étaient soit en split-plot (GIR21) soit en cris-cross (tous les autres essais). Le suivi agronomique standard (désherbage, régulation, protection fongicide) a été

appliqué de manière homogène à toutes les modalités. À maturité, les composantes de rendement et le rendement grain ont été mesurés sur chaque micro-parcelle. Des sous échantillons de grains ont été prélevés pour analyser la **teneur en phosphore** et calculer le **Grain Phosphorus Yield (GPY)**, correspondant au rendement grain × concentration en P du grain. Trois indicateurs principaux ont été calculés : i) **Phosphorus Use Efficiency (PUE)**, la capacité de la plante à produire du rendement par unité de P disponible (sol + fertilisation) ; ii) **Phosphorus Uptake Efficiency (PUE)**, la capacité de la plante à absorber le P présent dans le sol et l'engrais ; iii) **Indice de sensibilité à la carence en P ( $\Delta P$ )** :

$$\Delta P = 100 \times (GY_{AP} - GY_{NP}) / GY_{AP}$$

Les drones ont été utilisés pour collecter des données spectrométriques sur chaque parcelle des différents essais à cinq dates réparties entre la mi-décembre et la mi-avril. Ces cinq dates correspondent aux stades suivants : au début du tallage, courant tallage, fin tallage, élongation de la tige, deuxième nœud.

Plusieurs **indices de végétation sensibles à la chlorophylle** ont été estimés : **NDVI** (Normalized Difference Vegetation Index) (Kriegler et al., 1969; Rouse et al., 1974), **CI<sub>red edge</sub>** (Red Edge Chlorophyll Index) (Gitelson et al., 2005), **CI<sub>green</sub>** (Green Chlorophyll Index) (Xie et al., 2018), **MCARI2** (Modified Chlorophyll Absorption in Reflectance Index) (Haboudane, 2004), **MTCI** (MERIS Terrestrial Chlorophyll Index) (Dash & Curran, 2007), **NDRE** (Normalized Difference Red Edge Index) (Tucker, 1979). Les formules correspondantes sont présentées dans le Tableau 1.

Acronyme	Equation
NDVI	$\frac{NIR - Red}{NIR + Red}$
CI <sub>red edge</sub>	$\frac{NIR}{Red\_edge} - 1$
CI <sub>green</sub>	$\frac{NIR}{Green} - 1$
MTCI	$\frac{1.5 [2.5(NIR - Red) - 1.3(NIR - Green)]}{\sqrt{(2 \cdot NIR + 1)^2 - (6 \cdot NIR - 5\sqrt{Red})} - 0.5}$
MTCI	$\frac{NIR - Red\_edge}{Red\_edge - Red}$
MTCI	$\frac{NIR - Red\_edge}{NIR + Red\_edge}$

**Tableau 1 :** Formules des indices de végétation. Red : réflectance dans le rouge (-660 nm). NIR : réflectance dans le proche infrarouge (-750-800 nm). Red<sub>edge</sub> : réflectance dans la bande red-edge (-705-740 nm). Green : réflectance dans le vert (-550 nm)

Ces indices ont été mesurés par drone pour chaque parcelle, en conditions **AP** et **NP**, afin d'évaluer leur potentiel en tant que **proxys de l'efficacité d'utilisation du phosphore (PUE)**. Pour chaque index, une cinétique multi-dates a permis de calculer **l'aire sous la courbe (AUC)**, puis la déviation  $\Delta AUC$  entre P+ et P-. Ces déviations ont été corrélées à  $\Delta P$  afin d'identifier les indices les plus discriminants.

Les données ont été analysées via un **modèle mixte** différent par essai, incluant : un effet fixe de la modalité P (P+ vs P-), un effet fixe du génotype, un effet génotype × modalité, des effets aléatoires liés au dispositif expérimental et aux stress éventuels. L'héritabilité des traits a été estimée, et des moyennes ajustées (BLUPs) ont été calculées par essai et par modalité.

Enfin, un modèle mixte ajuste les valeurs des indicateurs

rendement grain (GY), Grain Phosphorus Yield (GPY) et la Phosphorus Use Efficiency (PUE) pour l'ensemble des essais au champs en France :

**Equation 1**

$$Y_{ijn} = \mu + managn \times cult_j + |trial_i| + |cult_j \times trial_i| + \epsilon_{ijn}$$

Ce modèle statistique représente l'analyse d'un trait mesuré au champ en tenant compte à la fois des effets de conduite, de génotype et d'essai. La variable  $Y_{ijn}$  correspond à la valeur observée pour le génotype  $j$ , dans l'essai  $i$ , sous la conduite  $n$ . Le terme  $\mu$  représente la moyenne globale de l'ensemble des observations. L'effet combiné  $managn \times cult_j$  traduit l'interaction entre la conduite et la variété, c'est à dire la manière dont chaque génotype réagit à une modalité de gestion donnée (par exemple P+ ou P-). L'effet  $trial_i$  correspond aux différences entre essais, incluant les variations de sol, de climat et d'organisation expérimentale propres à chaque site ou année. L'interaction  $cult_j \times trial_i$  décrit la manière dont les génotypes modifient leur performance selon les environnements, reflétant des effets  $G \times E$  (génotype × environnement). Enfin,  $\epsilon_{ijn}$  représente le terme résiduel, intégrant toutes les sources de variabilité non expliquées par les autres facteurs.

Les génotypes ont été génotypés par SNP. Les marqueurs ont été filtrés selon la fréquence allélique minoritaire (MAF > 5 %), le taux de génotypage (> 90 %), l'équilibre de Hardy Weinberg.

Une analyse en composantes principales (ACP) et un modèle d'ascendance (K-matrix) ont permis de caractériser la structure de population. Des GWAS ont été menées séparément pour chaque essai et chaque modalité en utilisant un modèle mixte (MLM) intégrant la matrice de relations génétiques (kinship), les composantes principales (structure), le génotype comme effet fixe. Les seuils de significativité ont été déterminés par contrôle du taux de fausses découvertes (FDR). Les analyses ont permis d'identifier 85 marqueurs SNP associés, regroupés en 16 régions génomiques (QTL) impliquées dans : la PUE, le GPY, la sensibilité au stress phosphaté ( $\Delta P$ ), le rendement sous P-, les indices de végétation liés à la chlorophylle.

### **Au Royaume-Uni**

Les essais britanniques avaient pour objectif de caractériser la réponse variétale à la disponibilité en phosphore dans des environnements océaniques tempérés contrastés. Deux plateformes ont contribué à cette étude : Rothamsted Research, avec des essais conduits entre 2022 et 2023, et ADAS, avec un essai récolté en 2024.

À Rothamsted, l'objectif principal était de construire une courbe de réponse au phosphore sur plusieurs niveaux de P Olsen, croisée avec six variétés contrastées pour le rendement, la concentration en phosphore des grains et les paramètres d'efficacité. Les variétés étudiées sont Soissons, Rubisko, RGT Saki, LG Quasar, Siskin et Hereward. Elles couvrent un gradient de précocité et de potentiel de rendement. Les niveaux de P Olsen du sol s'étendaient de faibles valeurs à plus de 15 ppm. Les observations sur deux années montrent que le rendement augmente avec le P Olsen jusqu'à atteindre un plateau vers 15-20 ppm, tandis que la teneur en phosphore des grains se stabilise autour de 10 ppm. Les mesures incluaient le rendement grain, la concentration en phosphore du grain, le P uptake total et

divers paramètres agronomiques. Les analyses statistiques portaient sur l'estimation du plateau de rendement, du seuil de saturation du P grain et sur la stabilité interannuelle des classements variétaux.

L'essai conduit par ADAS visait à évaluer la sensibilité variétale à la disponibilité en phosphore dans des conditions modernes de production. La parcelle expérimentale présentait un contraste pédologique marqué, avec un P Olsen de 13 mg·L<sup>-1</sup> en modalité P- et de 24 mg·L<sup>-1</sup> en modalité P+. Le semis a été effectué le 25 septembre 2023. Le suivi du couvert a reposé sur des mesures de NDVI réalisées dès décembre 2023, puis de nouveau en avril 2024.

### ► Phénotypage racinaire en conditions contrôlées

Un sous panel de 26 génotypes issus du panel européen PGEN BW a été sélectionné pour les études racinaires. Ces génotypes représentent une diversité d'origines, incluant des variétés européennes récentes et des lignées de printemps issues du CIMMYT, et présentent des contrastes supposés ou avérés de tolérance à la carence en phosphore.

Deux infrastructures de phénotypage non destructif ont été mobilisées : la plateforme 4PMI de l'INRAE Dijon, utilisant des RhizoTubes® à membrane semi-perméable permettant une observation externe du système racinaire sous solution nutritive contrôlée ; et la plateforme ALSIA à Metaponto (Italie), équipée de tubes cylindriques transparents de 60 cm × 10 cm remplis de sol naturel pauvre en phosphore. Ces deux environnements permettaient de comparer la croissance racinaire dans des contextes contrôlés mais contrastés en termes de substrat, de climat et de durée d'expérimentation.

Deux niveaux de disponibilité en phosphore ont été appliqués : une modalité P+ correspondant à une solution nutritive contenant 0,3 mM NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (équivalent d'environ 162 kg P/ha), et une modalité P- fixée à 0,0032 mM NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (environ 1,7 kg P/ha). Les autres éléments nutritifs ont été ajustés pour garantir l'homogénéité des conditions d'alimentation entre modalités.

Les conditions climatiques étaient contrôlées à 4PMI, avec des températures de 23,3 °C le jour et 19,3 °C la nuit, une humidité relative de 65 % et un éclairage artificiel de 355 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. À ALSIA, les plantes étaient cultivées à 19 °C le jour et 15 °C la nuit, dans une atmosphère à 80 % d'humidité relative, sous lumière naturelle. Chaque génotype était répété entre quatre et six fois selon la plateforme et la modalité.

À 4PMI, les images étaient acquises trois fois par semaine avec une résolution de 12 000 × 12 000 pixels via le système RhizoCab HD, puis segmentées à l'aide d'algorithmes de deep learning développés par l'INRAE afin d'extraire les surfaces et longueurs racinaires ainsi que les cinétiques de croissance. À ALSIA, six images étaient prises à 60° d'intervalle, puis assemblées en un panorama 360°. La segmentation reposait sur un filtrage multi échelle (LoG) et une réduction de bruit par décomposition en valeurs singulières (SVD). Les mesures permettaient d'estimer la surface racinaire cumulée et sa dynamique temporelle.

En fin d'essai, après 28 jours à 4PMI et 96 jours à ALSIA, les plantes étaient récoltées. Les racines et les parties aériennes étaient séparées, pesées fraîches puis séchées, avant analyse des biomasses respectives, du nombre de tiges, de la hauteur, et des teneurs en phosphore des tissus par ICP OES ou ICP MS. Le phosphore du sol était également analysé à ALSIA.

Cinq indicateurs racinaires ou physiologiques d'efficacité du phosphore ont été calculés : la Phosphorus Acquisition Efficiency (PAE), la Phosphorus Use Efficiency (PUE), la Root P Relative Acquisition Efficiency (PRAE), l'Agronomic P Use Efficiency (APUE) et la P Relative Efficiency (PRE). Un indicateur composite, appelé « P indicator », a été construit en normalisant et combinant ces cinq mesures pour chaque génotype (Sillo et al., 2025). Sur la base des valeurs APUE et du poids sec de la biomasse, les génotypes ont été catégorisés en quatre groupes : Efficient and Responsive (ER) ; Efficient and Nonresponsive (ENR) ; Nonefficient and Responsive (NER) ; Nonefficient and Nonresponsive (NENR) (Neto et al., 2016).

Les analyses statistiques reposaient sur des modèles mixtes intégrant les effets du génotype, de la modalité phosphore, du temps et de leurs interactions. Des courbes de croissance ont été ajustées par splines B, et des comparaisons ont été réalisées par tests t au seuil de 5 %. La concordance entre plateformes était évaluée à partir des corrélations de Pearson, du coefficient de concordance de Lin et d'une analyse de Bland Altman.

## ► RÉSULTATS

### ► Essais au champ (France, 2021-2023)

#### Conditions expérimentales et variabilité des sols

En 2021-2022, trois essais ont été conduits en France : GIR21 (Giroussens), VIE21 (Vievy le Rayé) et GIR22 (Giroussens). Les sols présentaient des niveaux de P Olsen contrastés (0-30 cm) : GIR21 ≈ 38 mg·kg<sup>-1</sup> (zone fertilisée) vs ≈ 20 mg·kg<sup>-1</sup> (zone non fertilisée), VIE21 ≈ 32 mg·kg<sup>-1</sup>, GIR22 ≈ 28 mg·kg<sup>-1</sup> (avant fertilisation). Deux modalités étaient implantées : AP/P+ (apport 120 kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>·ha<sup>-1</sup>, superphosphate 45) vs NP/P- (sans apport). En 2023, un 4<sup>e</sup> essai GIR23 a été implanté (Giroussens) sur un sol à P Olsen ≈ 15 mg·kg<sup>-1</sup>, confirmant un contexte plus carencé qu'en 2021-2022.

#### Effets "Génotype" et "Fertilisation P" sur rendement et P des grains

L'essai VIE21 (2021) montre que le génotype explique 93,9 % de la variance de rendement (p<0,01) ; la conduite P et l'interaction G×P ne sont pas significatives. Pour le P des grains, le génotype explique 54,4 % (p<0,05), l'interaction reste non significative. Ce résultat est cohérent avec l'absence de stress P marqué à VIE21. À GIR21 (2021) le génotype est significatif (66,5 % de variance), et l'interaction G×P significative (30,3 %). Cependant, la conduite est marginale (p<0,1). Pour la concentration du P dans le grain, le génotype est significatif (p<0,001). La présence de mauvaises herbes a interagi avec la modalité P et affecté rendement et P grain en NP, illustrant la compétition exacerbée en situation de stress hydrique et thermique. À GIR22 (2022) le génotype est significatif (77,8 % de variance du rendement), la conduite et l'interaction G×P non significatives sur le rendement. Un effet marginal est observé de la conduite sur P grain.

En synthèse, le génotype domine la variance du rendement dans tous les sites/années ; l'effet P apparaît lorsque la contrainte est avérée (GIR21, GIR22, GIR23), beaucoup moins sinon (VIE21). Les statistiques descriptives (min-max-moyenne-CV) détaillent des étendues larges pour le rendement en grain, GY de 14,2 à 122,3 q·ha<sup>-1</sup> (selon essais/modalités), la quantité de phosphore récoltée dans le grain,

GPY de 3,4 à 58,2 kg P-ha<sup>-1</sup> ; la PUE médiane plus élevée en NP qu'en AP, ce qui est attendu puisque le dénominateur "P disponible" est plus faible en NP.

Variable	Conduite	Génotype	GxP
GY	7.38% (*)	3.61% (***)	2.01% (***)
PUE	18.51% (*)	2.22% (***)	2.74% (***)
GPY	6.39% (*)	1.26% (*)	1.64% (***)

**Tableau 2** : Résultats du modèle mixte entre tous les essais conduits en France.  
 \*\*\* = hautement significatif ( $p < 0,001$ ). \*\* = significatif ( $p < 0,01$ ).  
 \* = significatif ( $p < 0,05$ ). • = tendance à la significativité ( $p < 0,1$ )

Le Tableau 2 illustre les résultats du modèle mixte appliqué aux indicateurs du projet pour tous les essais. Ce modèle permet ainsi d'isoler l'effet propre du génotype, celui de la conduite, ainsi que leurs interactions, tout en tenant compte explicitement des variations liées aux essais et aux interactions génotype × site. Les indicateurs développés pour évaluer l'efficacité du phosphore, tels que le rendement grain (GY), le Grain Phosphorus Yield (GPY) et la Phosphorus Use Efficiency (PUE), montrent que la variété exerce un rôle déterminant sur tous les traits liés à l'utilisation et à l'accumulation du phosphore. Le rendement grain est fortement influencé par la variété, avec une interaction significative avec la conduite, indiquant que les variétés réagissent différemment selon les pratiques culturales. Pour la PUE, la conduite et la variété ont toutes deux un effet significatif, et leur interaction très marquée montre que les réponses variétales en conditions contrastées sont complexes. Le GPY est également fortement influencé par la variété, tandis que la conduite présente un effet plus faible, bien que l'interaction variété × conduite soit hautement significative. Dans l'ensemble, ces résultats soulignent que l'optimisation de l'efficacité du phosphore repose à la fois sur le choix variétal et sur des stratégies de conduite adaptées aux conditions de disponibilité en P.

### Indices de végétation et proxys de tolérance P

Les cinétiques d'indices (5-7 vols drone selon site) ont permis d'intégrer la réponse de la canopée via l'AUC (Area Under the Curve). L'écart d'AUC (AP-NP) a été mis en relation avec l'indice de tolérance à la carence en phosphore (Tableau 3).  $Cl_{red\ edge}$  ressort comme le meilleur, avec  $r = 0,47$  à GIR21 et  $r = 0,34$  à VIE21, supérieurs à NDVI/NDRE/MTCI/MCARI2 (MTCI non significatif à VIE21). Cette cohérence multi sites appuie l'usage de  $Cl_{red\ edge}$  comme proxy du stress P en conditions de terrain, sous réserve d'une calibration site spécifique.

### Héritabilités, GWAS et prédiction génomique

Les héritabilités, au sens large  $H^2$ , varient selon les traits : élevées pour GY ( $\approx 0,61$ ), intermédiaires pour PUE ( $\approx 0,43$ ), plus modestes pour des dérivés comme PUE\_delta ou des résiduels (RRY) — reflétant la forte composante environnementale et la difficulté à "isoler" l'efficacité interne de l'acquisition.

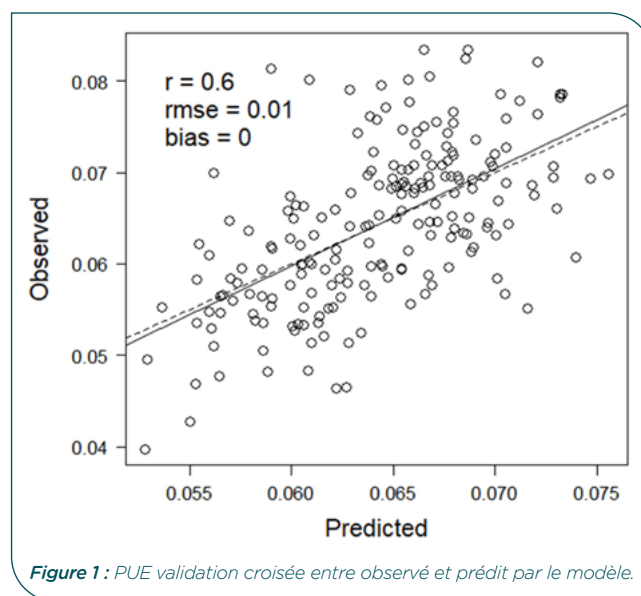
L'analyse GWAS (modèles MLM intégrant kinship et structure), sur 199 accessions génotypées (TaBW280K, 90K, 35K + imputation), a identifié 85 associations regroupées en 17 QTL sur 10 chromosomes (2A, 2B, 2D, 3A, 4B, 4D, 5A, 5B, 6B, 7B), couvrant PUE, GY, GPY, indices drone et indices de tolérance (RRY, RRGPY). Un QTL majeur sur 2D correspond à *Ppd D1* (photopériode), expliquant jusqu'à

29,7 % de la variance pour PUE dans certaines conditions ; des QTL robustes ont été identifiés pour GPY en 4B/5A et pour  $Cl_{red\ edge}$  en 6B.

Trial	Delta P (%)	Delta AUC (%)	Coefficient de corrélation de Pearson					
			$Cl_{red\ edge}$	$Cl_{green}$	MTCI	MCARI2	NDRE	NDVI
GIR21	-40 to 60	30 to 70	0.47	0.45	0.45	0.37	0.43	0.36
VIE21	-5 to 10	-10 to 10	0.34	0.33	0.13 <sup>+</sup>	0.33	0.25	0.19
GIR22	-10 to 40	-180 to 60	0.56	0.62	0.56	0.37	0.5	0.51
GIR23	-10 to 30	-10 to 19	0.13 <sup>+</sup>	0.16 <sup>+</sup>	-0.11 <sup>+</sup>	-0.07 <sup>+</sup>	-0.07 <sup>+</sup>	-0.23 <sup>+</sup>

**Tableau 3** : Coefficient de corrélation de Pearson entre le Delta AUC et le Delta P. <sup>+</sup>Not significative ( $p > 0.05$ )

Les prédictions génomiques (BGLR, RKHS) affichent des précisions  $r$  de 0,03 à 0,65 selon le trait ; les meilleures précisions concernent GY en NP ( $\approx 0,65$ ) et PUE ( $\approx 0,60$ ), indiquant un potentiel opérationnel pour réduire les coûts de phénotypage sous contrainte P à moyen terme (Figure 1).



**Figure 1** : PUE validation croisée entre observé et prédit par le modèle.

### ► Essais au champ (Royaume Uni, 2022-2024) Rothamsted (2022-2024) : courbe de réponse P (6 variétés)

Dans les campagnes successives, une courbe de réponse a été conduite avec plusieurs niveaux de P du sol et d'apport d'engrais sur 6 variétés. En contexte britannique tempéré et sur sols à gamme Olsen P faible moyenne, le rendement grain augmente avec P Olsen jusqu'à -15-20 ppm, puis tend à plafonner tandis que la concentration en P des grains augmente jusqu'à -10 ppm (cohérent avec un effet de dilution inverse du rendement). Les variétés ont montré des classements de rendement similaires entre les années. Les variétés à rendement plus élevé

(Siskin, LG Quasar et RGT Saki) présentent des teneurs en P grain plus faibles à Olsen P élevée, suggérant un meilleur couplage acquisition utilisation et une moindre exportation de P à rendement donné. L'analyse met également en évidence une corrélation positive entre le rendement et la concentration en P du grain, bien que certaines variétés s'écartent de cette tendance générale. Hereward et Soissons présentent une déviation négative, avec à la fois un rendement et une teneur en P du grain plus faibles que prévu. À l'inverse, Robigus montre une déviation positive, caractérisée par une teneur en P du grain plus élevée pour un niveau de rendement donné. Dans les situations de faible disponibilité en phosphore, Quasar et RGT Saki maintiennent par ailleurs des niveaux de rendement relativement élevés, indiquant une bonne tolérance au déficit en P. La variété Siskin, quant à elle, associe rendement élevé et faible concentration en P du grain, ce qui en fait une variété particulièrement intéressante pour limiter les exportations de phosphore via la récolte. Les résultats indiquent également que le prélèvement total de phosphore est principalement déterminé par le niveau de rendement, tandis que la teneur en P du grain ne constitue pas un bon prédicteur du rendement. La Figure 2, qui présente les courbes de PUE en fonction du phosphore disponible dans le sol, met en évidence les différences de réponse entre variétés.

#### ADAS (2024) : suivi NDVI et contraste P sol

Un essai multi variétés a été suivi avec P Olsen  $\approx 13 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (NP) vs  $\approx 24 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (P+). Dès décembre 2023, le NDVI est plus

élevé en P+ qu'en NP (différences inter variétés présentes, sans interaction variétés  $\times$  P détectée au premier passage). Ces résultats confirment la sensibilité précoce de proxys de vigueur (NDVI) à la nutrition P, en interaction avec la nutrition azotée et la biomasse pour des stades précoces, et instruisent la fenêtre optimale d'acquisition pour discriminer les réponses variétales en hiver océanique doux.

#### ► Phénotypage racinaire

##### Divergence et plasticité des stratégies d'acquisition

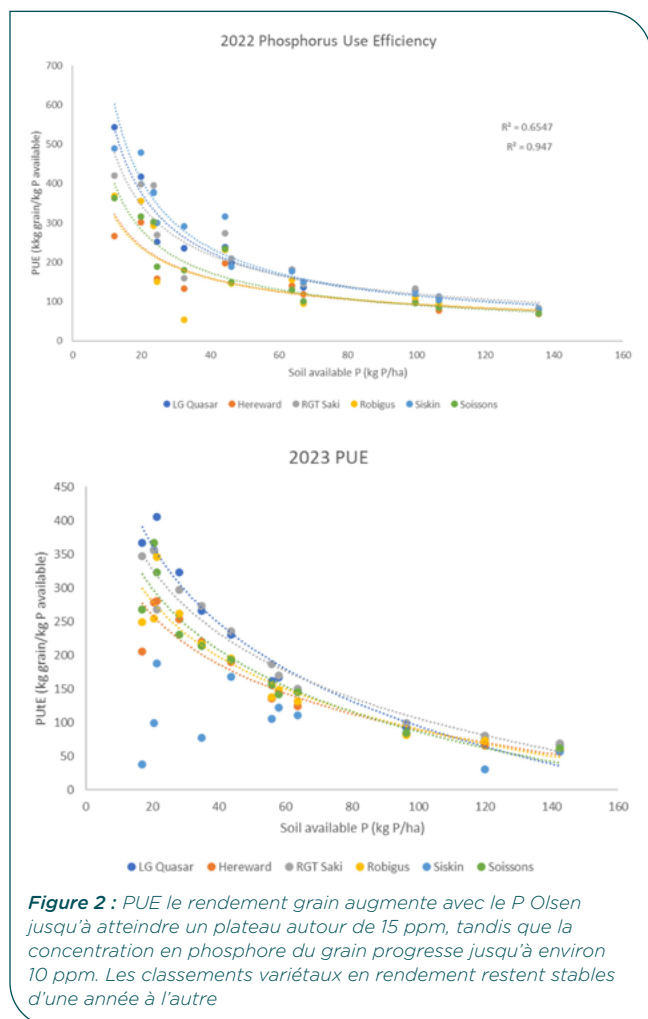
Sur 26 génotypes évalués à 4PMI (Dijon, 28 j en en RhizoTubes®) et ALSIA (Metaponto, 96 j), la plasticité racinaire et la coordination acquisition utilisation ont été quantifiées via PAE, PUE, PRAE, APUE et un indicateur composite ("P indicator"). La corrélation PAE-PUE montre que la modalité P+ est positive à 4PMI ( $r = 0,81$ ), mais négative à ALSIA ( $r = -0,89$ ), suggérant qu'à long terme et sous P abondant, l'acquisition accrue peut se faire au détriment de l'utilisation interne. En revanche, dans la modalité P- est positive dans les deux plateformes ( $r = 0,67$  et  $0,49$ ), montrant l'ajustement coordonné acquisition + utilisation en carence P. Le classement des variétés selon l'indicateur APUE avec la méthode de Neto (ER/ENR/NER/NENR) montre pour le dispositif ALSIA, le classement suivant : ER = Alessio, CIMMYT10, CIMMYT15 ; plusieurs lignées CIMMYT en ENR (efficaces mais peu réactives à l'apport) ; NENR inclut Johnson, Crusoe, Robigus. Dans la plateforme 4PMI, le classement était : ER = CIMMYT15, Gedser, RGT Libravo, Hyking, Soissons ; ENR fréquent chez CIMMYT (cohérent avec des stratégies "conservatives" d'utilisation interne). En résumé, sous P-, les variétés avec PAE élevé sont : Hyking, Ionesco, Soissons (ALSIA) ; Complice, Gedser, CIMMYT10 (4PMI). En revanche, sous P+, les variétés avec PUE élevé sont Robigus, CIMMYT11, Donator (ALSIA) ; Soissons, CIMMYT14, Ionesco (4PMI). Ces contrastes illustrent la diversité des stratégies racinaires (prospéction vs efficacité d'utilisation) et leur dépendance à l'échelle de temps de l'essai (28 vs 96 jours) et au substrat (inerte vs sol naturel).

##### Concordance inter plateformes et robustesse de l'indicateur composite

Malgré des protocoles différents (période, substrat, schéma d'apport),  $\sim 30\%$  des génotypes gardent un rang cohérent entre plateformes (Figure 3). Le coefficient de corrélation de Pearson entre P indicator (P-) ALSIA vs 4PMI atteint  $R = 0,426$  ( $p=0,03$ ) ; la concordance de Lin est  $R = 0,424$  ( $p=0,0069$ ) ; Bland Altman confirme une bonne accordabilité, avec un seul génotype en dehors des limites (Pibrac). Cela valide l'utilité opérationnelle d'un indicateur synthétique combinant acquisition et utilisation pour pré sélection de tolérance P en conditions contrôlées complémentaires du champ.

##### Rôle des traits racinaires

Les données ALSIA indiquent, sous P-, des taux de croissance racinaire accentués chez Advisor, Crusoe, Donator, Ionesco, RGT Lexio, RGT Pulko, avec accélération en fin de cycle, signe d'une réallocation vers le compartiment racinaire pour compenser la carence, tandis que des génotypes comme Rubisko n'expriment cette dynamique qu'en P+. L'interaction à trois voies (temps  $\times$  génotype  $\times$  traitement) est hautement significative, confirmant la forte dépendance génotypique des trajectoires de croissance racinaire en fonction de P.



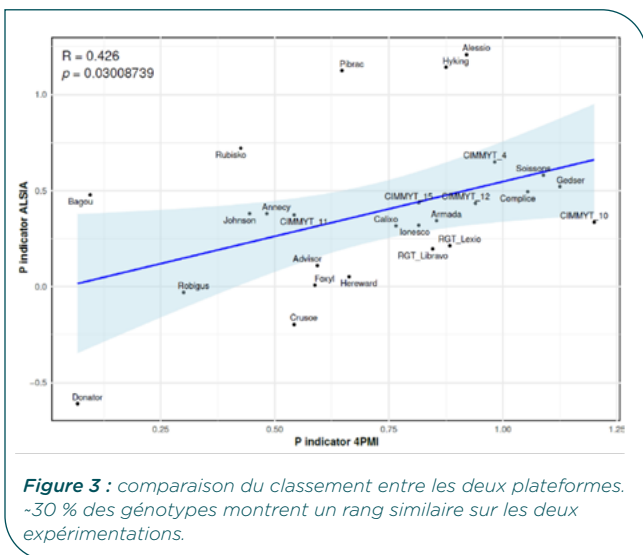


Figure 3 : comparaison du classement entre les deux plateformes. ~30 % des génotypes montrent un rang similaire sur les deux expérimentations.

## DISCUSSION

### ► Une discrimination variétale forte, modulée par l'intensité réelle de la contrainte en phosphore

Les analyses multi sites montrent que la variabilité génétique constitue le principal facteur expliquant le rendement, avec une part de variance atteignant 94 % à VIE21 et 66 % à GIR21. L'effet du phosphore ne devient apparent que lorsque la carence est significative. À GIR21, environnement clairement limitant, l'interaction génotype × modalité P explique près de 30 % de la variance en rendement, alors qu'elle est quasiment nulle à VIE21 où le P Olsen est élevé. Ces contrastes soulignent la nécessité de caractériser précisément le statut phosphaté du sol, par exemple 15 mg.kg<sup>-1</sup> à GIR23 contre 32 mg.kg<sup>-1</sup> à VIE21, afin de bien interpréter les réponses AP/NP et d'éviter de surestimer la sensibilité variétale lorsque la contrainte est insuffisante.

### ► Les proxys issus du red edge complètent les indices classiques pour détecter le stress P

L'intégration temporelle des indices de végétation (AUC) met en évidence la performance supérieure du CI\_red edge pour détecter les situations de stress phosphaté par rapport aux autres indices de végétation. Les corrélations entre ΔAUC et Δrendement atteignent  $r = 0,47$  à GIR21 et  $r = 0,34$  à VIE21, supérieures à celles obtenues avec NDVI, NDRE ou MCARI2. Le CI\_red edge, sensible aux variations précoces de chlorophylle et d'architecture foliaire, apparaît ainsi comme un indicateur précoce et robuste de la contrainte P. L'essai ADAS confirme par ailleurs que les différences NDVI entre P+ et P- sont détectables dès décembre, sans interaction variétés × traitement, ce qui valide l'existence d'une fenêtre hivernale de détection utile, avant la montaison et l'interaction avec l'azote, tant pour la sélection que pour le pilotage agronomique.

### ► L'architecture génétique de la PUE est fortement conditionnée par la phénologie

Le GWAS conduit sur 199 lignées a permis d'identifier 17 QTL répartis sur 10 chromosomes. Parmi ceux ci, un QTL majeur sur 2D correspond à Ppd D1, gène clé du contrôle de la photopériode. Ce locus influence simultanément la PUE, le GPY et le rendement (GY), ce qui montre que

la phénologie conditionne la dynamique d'acquisition et d'utilisation du phosphore. Les QTL mettant en jeu la PUE doivent donc être interprétés avec prudence : certains reflètent vraisemblablement des effets phénologiques plutôt qu'un déterminisme direct de l'absorption du P. La faible stabilité des associations entre sites français et britanniques renforce l'importance de validations multi environnements. Malgré cela, plusieurs QTL récurrents sur 4B, 5A, 6B et 7B, associés à la concentration du P dans le grain et la PUE, révèlent l'existence de déterminants génétiques robustes.

### ► La sélection génomique montre un potentiel opérationnel élevé

Les modèles de prédiction génomique (RKHS) atteignent des précisions élevées, de l'ordre de  $r \approx 0,65$  pour le rendement en NP et  $r \approx 0,60$  pour la PUE. Ces niveaux de performance indiquent que la sélection génomique peut réduire fortement les besoins en phénotypage, en particulier sous P limité, et qu'elle est adaptée à des traits complexes, fortement influencés par l'environnement. Combinée aux proxys drone, elle permet de concevoir un pipeline réaliste de sélection intégrée, fondé sur un pré criblage via les indices AUC CI\_red edge, suivi d'une prédiction génomique du rendement NP et de la PUE, puis d'une validation ciblée sur sols dont le P Olsen est inférieur ou égal à 15 ppm, seuil identifié comme discriminant au Royaume Uni.

### ► Les essais britanniques éclairent les mécanismes de la réponse au P

Les données obtenues à Rothamsted révèlent un plateau de réponse autour de 15 ppm P Olsen, ainsi qu'un plateau de P grain proche de 10 ppm, constants sur plusieurs années d'expérimentation. Au delà de ces niveaux, le phosphore du sol seule ne limite plus le rendement. Les variétés les plus productives se caractérisent par une teneur en P grain plus faible, ce qui traduit une efficacité d'absorption-utilisation plus forte du phosphore : elles produisent davantage de biomasse et de grain pour une quantité de P absorbée donnée. Ce résultat s'inscrit pleinement dans les objectifs d'une agriculture plus économe en intrants, qui vise à maximiser le rendement tout en réduisant l'exportation minérale et donc les besoins d'apports compensatoires.

### ► Les techniques de phénotypage racinaire révèlent des compromis subtils entre acquisition et utilisation du P

Les observations réalisées dans les différentes plateformes mettent en évidence des comportements contrastés selon le niveau de phosphore. En condition P-, l'acquisition (PAE) et l'utilisation interne (PUE interne) sont systématiquement corrélées positivement, avec des coefficients compris entre 0,49 et 0,67. En condition P+, la relation est initialement positive, comme observé dans le dispositif 4PMI ( $r = 0,81$ ), mais devient négative à plus long terme, notamment à ALSIA ( $r = -0,89$ ). Cette inversion montre que les génotypes fortement acquisitifs dégradent leur efficacité interne lorsque le phosphore n'est pas limitant, révélant un compromis physiologique entre exploration agressive du sol et conversion efficace du P absorbé en biomasse utile.

Les catégories APUE (ER, ENR, NER, NENR) permettent d'identifier des idéotypes adaptés aux différents contextes : les profils ER sont particulièrement performants dans les

milieux pauvres en P, comme CIMMYT15 ou Alessio, tandis que les profils ENR constituent des candidats intéressants pour les systèmes visant à limiter l'exportation de phosphore. La concordance entre plateformes, avec des corrélations Pearson et Lin autour de 0,43, démontre qu'un indicateur composite normalisé (P indicator) peut servir de critère robuste de présélection malgré la diversité des protocoles expérimentaux.

### ► Implications agronomiques et perspectives de sélection

Les convergences entre essais français, britanniques et conditions contrôlées montrent que la tolérance au déficit en phosphore repose sur une coordination efficace entre acquisition précoce et utilisation interne du P, ainsi que sur la capacité à maintenir le rendement sans augmenter la teneur en P du grain. Les signatures précoces du red edge, les profils racinaires ER en conditions carencées et les génotypes ENR adaptés à des systèmes à faible exportation constituent des leviers majeurs pour la sélection.

Ces résultats convergent vers une stratégie intégrée combinant un pré-criblage racinaire basé sur le P indicator, une sélection génomique centrée sur le rendement NP et la PUE, des validations champ sur sols  $\leq 15$  ppm P Olsen, et l'utilisation du CI\_red edge comme proxy standardisé des pertes de rendement.

## ► CONCLUSION GÉNÉRALE

Le projet FSOV PGEN BW constitue, à l'échelle européenne, l'un des premiers dispositifs intégrés visant à caractériser de manière conjointe la variabilité génétique, les réponses physiologiques et les déterminants racinaires de l'efficacité d'utilisation du phosphore (PUE) chez le blé tendre d'hiver. L'approche multi-échelle mobilisée — essais au champ en France et au Royaume Uni, phénotypage à haut débit, analyses génétiques pangénomiques, et phénotypage racinaire non destructif, a permis d'obtenir une vision cohérente et mécanistique des stratégies variétales impliquées dans la tolérance à la carence en P.

Les essais français ont mis en évidence une forte discrimination variétale, avec une contribution dominante du facteur génotype au rendement dans tous les environnements limitants en phosphore, et un effet phosphore détectable uniquement en présence d'une contrainte réelle et documentée du sol. Parallèlement, les analyses de télédétection ont montré que les indices issus de la bande red edge, notamment CI\_red edge, constituent les proxys les plus sensibles pour détecter la carence en phosphore et prédire les pertes de rendement, surpassant les indices tels que NDVI ou NDRE.

L'analyse génétique, basée sur un panel représentatif de 199 génotypes, a permis d'identifier 17 QTL sur 10 chromosomes, incluant un locus majeur sur 2D associé au gène Ppd D1, soulignant le rôle structurant de la phénologie dans l'expression de la PUE et de ses composantes. Les performances obtenues en prédiction génomique, avec des précisions allant jusqu'à  $r \approx 0,65$  pour GY en condition P et  $\approx 0,60$  pour la PUE, ouvrent la voie à une intégration opérationnelle de la sélection génomique dans les programmes d'amélioration variétale ciblant la sobriété en intrants.

Les essais conduits au Royaume Uni ont apporté une perspective complémentaire en caractérisant la courbe de réponse au P : un plateau de rendement dès -15 ppm P Olsen, et une stabilisation du P grain autour de -10 ppm. Ces valeurs constituent des repères agronomiques majeurs pour la gestion raisonnée du phosphore et confortent la pertinence des variétés combinant haut rendement et faible exportation de P.

L'apport le plus innovant du projet repose sur le phénotypage racinaire, qui révèle des stratégies contrastées d'exploration et d'utilisation du P. Sous carence, l'acquisition (PAE) et l'utilisation interne (PUE) sont coordonnées positivement, tandis qu'en conditions non limitantes, un trade-off émerge entre forte acquisition et efficacité interne, particulièrement marqué dans les essais de longue durée (ALSIA). La classification fonctionnelle des génotypes en catégories ER, ENR, NER, NENR, ainsi que la cohérence inter-plateformes obtenue avec l'indicateur composite P indicator, offrent un cadre robuste pour la pré-sélection racinaire.

Dans l'ensemble, les résultats convergent vers une vision opérationnelle cohérente : la tolérance à la carence en P repose sur une intégration dynamique entre l'architecture racinaire, la phénologie, la vigueur foliaire, la capacité à maintenir la biomasse sous stress, et une allocation raisonnée du phosphore dans les grains. Le projet montre que ces composantes peuvent être phénotypées, quantifiées et intégrées dans un schéma de sélection moderne reliant, pour la première fois, racines → canopée → rendement → génétique.

Ainsi, PGEN BW apporte non seulement des résultats scientifiques majeurs, mais propose aussi un itinéraire technologique complet pour développer des variétés plus efficaces et compatibles avec les enjeux actuels de réduction des intrants phosphatés. Ce pipeline — Les techniques de phénotypage racinaire → indices drone → GWAS → prédiction génomique → validation champ sur sols  $\leq 15$  ppm — offre une base solide pour accélérer l'amélioration génétique et orienter l'agronomie vers une utilisation plus durable et stratégique du phosphore, dans un contexte où cette ressource devient, plus que jamais, un facteur limitant de la résilience des systèmes céréaliers.

## Références bibliographiques

- Atanda, S. A., Steffes, J., Lan, Y., Al Bari, M. A., Kim, J., Morales, M., Johnson, J. P., Saldares, R., Worrall, H., Piche, L., Ross, A., Grusak, M., Coyne, C., McGee, R., Rao, J., & Bandillo, N.** (2022). Multi-trait genomic prediction improves selection accuracy for enhancing seed mineral concentrations in pea. *The Plant Genome*, 15(4), e20260. <https://doi.org/10.1002/tpg2.20260>
- Batten, G., Wardlaw, I., & Aston, M.** (1986). Growth and the distribution of phosphorus in wheat developed under various phosphorus and temperature regimes. *Australian Journal of Agricultural Research*, 37(5), 459. <https://doi.org/10.1071/ar9860459>
- Bélanger, G., Ziadi, N., Pageau, D., Grant, C., Högnäsbacka, M., Virkajärvi, P., & others.** (2015). A model of critical phosphorus concentration in the shoot biomass of wheat. *Agronomy Journal*, 107(3), 963-970. <https://doi.org/10.2134/agronj14.0451>
- Billen, G., Aguilera, E., Einarsson, R., & others.** (2021). Reshaping the European agro-food system and closing its nitrogen cycle. *One Earth*, 4, 839-850. <https://doi.org/10.1016/j.oneear.2021.05.008>
- Cadot, S., Bélanger, G., Ziadi, N., Morel, C., & Sinaj, S.** (2018). Critical plant and soil phosphorus for wheat, maize, and rapeseed after 44 years of P fertilization. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 112(3), 417-433. <https://doi.org/10.1007/s10705-018-9956-0>
- Cu, S. T., Guild, G., Nicolson, A., Velu, G., Singh, R. P., & Stangoulis, J.** (2020). Genetic dissection of zinc, iron, copper, manganese and phosphorus in wheat grain and rachis at two developmental stages. *Plant Science*, 291, 110338. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2019.110338>
- Dash, J., & Curran, P. J.** (2007). Evaluation of the MERIS terrestrial chlorophyll index (MTCI). *Advances in Space Research*, 39(1), 100-104. <https://doi.org/10.1016/j.asr.2006.02.034>
- European Commission.** (2021). Commission Regulation (EU) 2021/1323 of 10 August 2021 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels of contaminants in foodstuffs (L 288/13 (Journal officiel)). *Official Journal of the European Union*. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A32021R1323>
- Genchi, G., Sinicropi, M. S., Lauria, G., Carocci, A., & Catalano, A.** (2020). The Effects of Cadmium Toxicity. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(11), 3782. <https://doi.org/10.3390/ijerph17113782>
- George, T. S., Brown, L. K., Newton, A. C., Hallett, P. D., Sun, B. H., Thomas, W. T. B., & White, P. J.** (2011). Impact of soil tillage on the robustness of the genetic component of variation in phosphorus (P) use efficiency in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Plant and Soil*, 339(1-2), 113-123. <https://doi.org/10.1007/s1104-009-0209-5>
- Gitelson, A. A., Viña, A., Ciganda, V., Rundquist, D. C., & Arkebauer, T. J.** (2005). Remote estimation of canopy chlorophyll content in crops. *Geophysical Research Letters*, 32(8), 2005GL022688. <https://doi.org/10.1029/2005GL022688>
- Haboudane, D.** (2004). Hyperspectral vegetation indices and novel algorithms for predicting green LAI of crop canopies : Modeling and validation in the context of precision agriculture. *Remote Sensing of Environment*, 90(3), 337-352. <https://doi.org/10.1016/j.rse.2003.12.013>
- Heffer, P.** (2013). Assessment of Fertilizer Use by Crop at the Global Level 2010–2010/11. *International Fertilizer Association (IFA)*. <https://www.fertilizer.org/resource/assessment-of-fertilizer-use-by-crop-at-the-global-level-2010-2010-11/>
- Jeady, C., Adrian, M., Baussard, C., Bernard, C., Bernaud, E., Bourion, V., & others.** (2016). RhizoTubes as a new tool for high throughput imaging of plant root development and architecture : Test, comparison with pot grown plants and validation. *Plant Methods*, 12, 31. <https://doi.org/10.1186/s13007-016-0125-8>
- Kriegler, F. J., Malila, W. A., Nalepka, R. F., & Richardson, W.** (1969). Preprocessing transformations and their effects on multispectral recognition. *Proceedings of the Sixth International Symposium on Remote Sensing of Environment*.
- Li, B., Boiarkina, I., Young, B., Yu, W., & Singhal, N.** (2016). Prediction of Future Phosphate Rock : A Demand Based Model. *Journal of Environmental Informatics*. <https://doi.org/10.3808/jei.201700364>
- Mastrangelo, A. M., & Cattivelli, L.** (2021). What Makes Bread and Durum Wheat Different? *Trends in Plant Science*, 26(7), 677-684. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2021.01.004>
- Meuwissen, T. H. E., Hayes, B. J., & Goddard, M. E.** (2001). Prediction of Total Genetic Value Using Genome-Wide Dense Marker Maps. *Genetics*, 157(4), 1819-1829. <https://doi.org/10.1093/genetics/157.4.1819>
- Milner, M. J., Howells, R. M., Craze, M., Bowden, S., Graham, N., & Wallington, E. J.** (2018). A PSTOL-like gene, TaPSTOL, controls a number of agronomically important traits in wheat. *BMC Plant Biology*, 18(1), 115. <https://doi.org/10.1186/s12870-018-1331-4>
- Neto, A. P., Favarin, J. L., Hammond, J. P., Tezotto, T., & Couto, H. T. Z.** (2016). Analysis of Phosphorus Use Efficiency Traits in Coffea Genotypes Reveals Coffea arabica and Coffea canephora Have Contrasting Phosphorus Uptake and Utilization Efficiencies. *Frontiers in Plant Science*, 7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00408>
- Neumann, G., George, T. S., & Plassard, C.** (2009). Strategies and methods for studying the rhizosphere—The plant science toolbox. *Plant and Soil*, 321, 431-456. <https://doi.org/10.1007/s1104-009-9990-9>
- Ouyang, X., Hong, X., Zhao, X., Zhang, W., He, X., Ma, W., Teng, W., & Tong, Y.** (2016). Knock out of the PHOSPHATE 2 Gene TaPHO2-A1 Improves Phosphorus Uptake and Grain Yield under Low Phosphorus Conditions in Common Wheat. *Scientific Reports*, 6(1), 29850. <https://doi.org/10.1038/srep29850>
- Raboy, V.** (2020). Low phytic acid Crops : Observations Based on Four Decades of Research. *Plants*, 9(2), 140. <https://doi.org/10.3390/plants9020140>
- Richardson, A. E., Lynch, J. P., Ryan, P. R., Delhaize, E., Smith, F. A., Smith, S. E., Harvey, P. R., Ryan, M. H., Veneklaas, E. J., Lambers, H., Oberson, A., Culvenor, R. A., & Simpson, R. J.** (2011). Plant and microbial strategies to improve the phosphorus efficiency of agriculture. *Plant and Soil*, 349(1-2), 121-156. <https://doi.org/10.1007/s1104-011-0950-4>

- Rose, T. J., Pariasca-Tanaka, J., Rose, M. T., Fukuta, Y., & Wissuwa, M.** (2010). Genotypic variation in grain phosphorus concentration, and opportunities to improve P-use efficiency in rice. *Field Crops Research*, 119(1), 154-160. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2010.07.004>
- Rose, T. J., Rose, M. T., Pariasca-Tanaka, J., Heuer, S., & Wissuwa, M.** (2011). The Frustration with Utilization : Why Have Improvements in Internal Phosphorus Utilization Efficiency in Crops Remained so Elusive? *Frontiers in Plant Science*, 2. <https://doi.org/10.3389/fpls.2011.00073>
- Rose, T. J., & Wissuwa, M.** (2012). Rethinking Internal Phosphorus Utilization Efficiency. In *Advances in Agronomy* (Vol. 116, p. 185-217). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394277-7.00005-1>
- Rouse, J. W., Haas, R. H., Schell, J. A., & Deering, D. W.** (1974). Monitoring vegetation systems in the Great Plains with ERTS (NASA Special Publication 351). NASA Goddard Space Flight Center.
- Schoumans, O. F., Bouraoui, F., Kabbe, C., Oenema, O., & Van Dijk, K. C.** (2015). Phosphorus management in Europe in a changing world. *AMBIO*, 44(S2), 180-192. <https://doi.org/10.1007/s13280-014-0613-9>
- Sillo, F., Salon, C., Lamboeuf, M., Montesano, V., Summerer, S., Petrozza, A., Conte, A., Bergese, F., Degan, F., Balestrini, R., & Jeudy, C.** (2025). A novel P indicator to evaluate bread wheat (*Triticum aestivum*) genotypes to identify tolerance to phosphorus deficiency based on two distinct root phenotyping platforms. *Annals of Botany*, 136(5-6), 1203-1218. <https://doi.org/10.1093/aob/mcaf091>
- Soumya, P. R., BurrIDGE, A. J., Singh, N., Batra, R., Pandey, R., Kalia, S., Rai, V., & Edwards, K. J.** (2021). Population structure and genome-wide association studies in bread wheat for phosphorus efficiency traits using 35 K Wheat Breeder's Affymetrix array. *Scientific Reports*, 11(1), 7601. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-87182-2>
- Teng, W., Zhao, Y.-Y., Zhao, X.-Q., He, X., Ma, W.-Y., Deng, Y., Chen, X.-P., & Tong, Y.-P.** (2017). Genome-wide Identification, Characterization, and Expression Analysis of PHT1 Phosphate Transporters in Wheat. *Frontiers in Plant Science*, 8. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00543>
- Tucker, C. J.** (1979). Red and photographic infrared linear combinations for monitoring vegetation. *Remote Sensing of Environment*, 8(2), 127-150. [https://doi.org/10.1016/0034-4257\(79\)90013-0](https://doi.org/10.1016/0034-4257(79)90013-0)
- Uffemann, E., Huang, Q. Q., Munung, N. S., De Vries, J., Okada, Y., Martin, A. R., Martin, H. C., Lappalainen, T., & Posthuma, D.** (2021). Genome-wide association studies. *Nature Reviews Methods Primers*, 1(1), 59. <https://doi.org/10.1038/s43586-021-00056-9>
- Valkama, E., Uusitalo, R., Ylivainio, K., Virkajarvi, P., & Turtola, E.** (2009). Phosphorus fertilization : A meta-analysis of 80 years of research in Finland. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 130(3-4), 75-85. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2008.12.004>
- Wang, F., King, J. D. M., Rose, T., Kretzschmar, T., & Wissuwa, M.** (2017). Can natural variation in grain P concentrations be exploited in rice breeding to lower fertilizer requirements? *PLOS ONE*, 12(6), e0179484. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179484>
- Wang, F., Rose, T., Jeong, K., Kretzschmar, T., & Wissuwa, M.** (2016). The knowns and unknowns of phosphorus loading into grains, and implications for phosphorus efficiency in cropping systems. *Journal of Experimental Botany*, 67(5), 1221-1229. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv517>
- Wang, K., Cui, K., Liu, G., Xie, W., Yu, H., Pan, J., Huang, J., Nie, L., Shah, F., & Peng, S.** (2014). Identification of quantitative trait loci for phosphorus use efficiency traits in rice using a high density SNP map. *BMC Genetics*, 15(1), 155. <https://doi.org/10.1186/s12863-014-0155-y>
- Wissuwa, M., Mazzola, M., & Picard, C.** (2009). Novel approaches in plant breeding for rhizosphere-related traits. *Plant and Soil*, 321(1-2), 409-430. <https://doi.org/10.1007/s11104-008-9693-2>
- Xie, Q., Dash, J., Huang, W., Peng, D., Qin, Q., Mortimer, H., Casa, R., Pignatti, S., Laneve, G., Pascucci, S., Dong, Y., & Ye, H.** (2018). Vegetation Indices Combining the Red and Red-Edge Spectral Information for Leaf Area Index Retrieval. *IEEE Journal of Selected Topics in Applied Earth Observations and Remote Sensing*, 11(5), 1482-1493. <https://doi.org/10.1109/JSTARS.2018.2813281>
- Xu, C., Zhang, H., Sun, J., Guo, Z., Zou, C., Li, W.-X., Xie, C., Huang, C., Xu, R., Liao, H., Wang, J., Xu, X., Wang, S., & Xu, Y.** (2018). Genome-wide association study dissects yield components associated with low-phosphorus stress tolerance in maize. *Theoretical and Applied Genetics*, 131(8), 1699-1714. <https://doi.org/10.1007/s00122-018-3108-4>
- Zhang, H., & Wang, H.** (2015). QTL mapping for traits related to P-deficient tolerance using three related RIL populations in wheat. *Euphytica*, 203(3), 505-520. <https://doi.org/10.1007/s10681-014-1248-4>
- Zhao, D. N., Zheng, S. S., Naeem, M. K., Niu, J. Q., Wang, N., Li, Z. J., & others.** (2018). Screening wheat genotypes for better performance on reduced phosphorus supply by comparing glasshouse experiments with field trials. *Plant and Soil*, 430, 349-360. <https://doi.org/10.1007/s11104-018-3728-4>
- Ziadi, N., Bélanger, G., Cambouris, A. N., Tremblay, N., Nolin, M. C., & Claessens, A.** (2008). Relationship between phosphorus and nitrogen concentrations in spring wheat. *Agronomy Journal*, 100(1), 80-86. <https://doi.org/10.2134/agronj2007.0119>



# DUROSTRESS : Stratégie d'adaptation du blé dur aux stress hydriques et thermiques

Matthieu BOGARD<sup>1</sup>, Delphine HOURCADE<sup>1</sup>, Benoit PIQUEMAL<sup>2</sup>, Michaël COCHARD<sup>3</sup>, Rita COSTA<sup>4</sup>, Pasquale De VITA<sup>5</sup>, Antonin GRAU<sup>6</sup>, Frédéric MINARD<sup>7</sup>

1 - ARVALIS, 110 Chemin de la côte vieille, 31450 Baziège, FRANCE

2 - ARVALIS, 579 Route de la Jaillière, la Chapelle-Saint-Sauveur, 44370 Loireauxence, FRANCE

3 - Florimond Deprez, rue de l'artisanat, 32700 Lectoure, FRANCE

4 - INIAV, Estrada de Gil Vaz, Apartado 6, PORTUGAL

5 - CREA, SS673, 71122 Foggia FG, ITALIE

6 - INRAE, Chemin de Mezouls À Bosc-Viel, 34130 Mauguio, FRANCE

7 - RAGT2n, 920 Route de la Courtade Haute, 81600 Rivières, FRANCE

\*Coordinateurs du projet : Matthieu BOGARD, [m.bogard@arvalis.fr](mailto:m.bogard@arvalis.fr) - Delphine HOURCADE, [d.hourcade@arvalis.fr](mailto:d.hourcade@arvalis.fr)

## INTRODUCTION

Il est prédit un accroissement de l'occurrence et de l'intensité des périodes de déficit hydrique et de fortes chaleurs en Europe du fait du changement climatique. Le choix de variétés adaptées aux stress thermique (fortes chaleurs) et hydrique est un des leviers utilisables pour maintenir le potentiel agronomique des céréales comme le blé dur. Se mettre en capacité d'identifier ce type de ressources nécessite de caractériser la variabilité génétique disponible et d'identifier les caractères associés à la tolérance à ces stress. Les objectifs du projet étaient :

- De caractériser la réponse d'un panel de variétés et de lignées de sélection au stress hydrique et à la canicule en conditions agronomiques et en conditions contrôlées.
- De rechercher des caractères associés à la tolérance à ces stress.
- De tester des outils (modèles de prédiction génomique, modèle de culture) permettant de caractériser les variétés pour leur tolérance aux stress.

L'action 1 du projet a consisté à évaluer la variabilité de réponses au stress d'un set de génotypes d'origine génétique diverses (élites, sélection française et européenne) par la mise en place d'un réseau d'essais (France et Europe du Sud) en conditions irriguées et pluviales afin d'acquérir une large gamme de traits agronomiques au niveau plante et racines par notations manuelles et capteurs dans des conditions pédoclimatiques contrastées. La dynamique et l'intensité des stress hydriques et thermiques ont été caractérisées afin d'établir une classification des différents essais selon les scénarios de stress rencontrés dans le réseau.

L'action 2 a exploité les données acquises précédemment pour le développement et la validation d'un outil d'idéotypage du comportement des variétés à l'aide du modèle de culture CHN afin d'identifier les grands types d'adaptation aux stress au niveau phénologique et agronomique. Un travail sur l'analyse de la dynamique d'évolution de la surface foliaire et en particulier de la sénescence post-floraison et son association à la tolérance aux stress a été conduit à partir des données de l'action 1.

L'action 3 avait pour but la valorisation de données phénotypiques et génotypiques existantes sur un

panel de diversité génétique évalué dans le cadre d'un précédent projet (FSOV GPDur) par des approches de génétique d'association et de sélection génomique pour des variables liées à la plasticité du rendement et de ces composantes. L'objectif de ce travail était d'évaluer les capacités prédictives des modèles calibrés avec les données GPDur sur les données du projet DUROSTRESS.

Le projet a été conduit dans le cadre d'un partenariat rassemblant deux sélectionneurs français (RAGT, Florimond-Deprez), un sélectionneur Portugais (INIAV), le CREA en Italie, l'INRAE et Arvalis.

## MATÉRIEL ET MÉTHODE

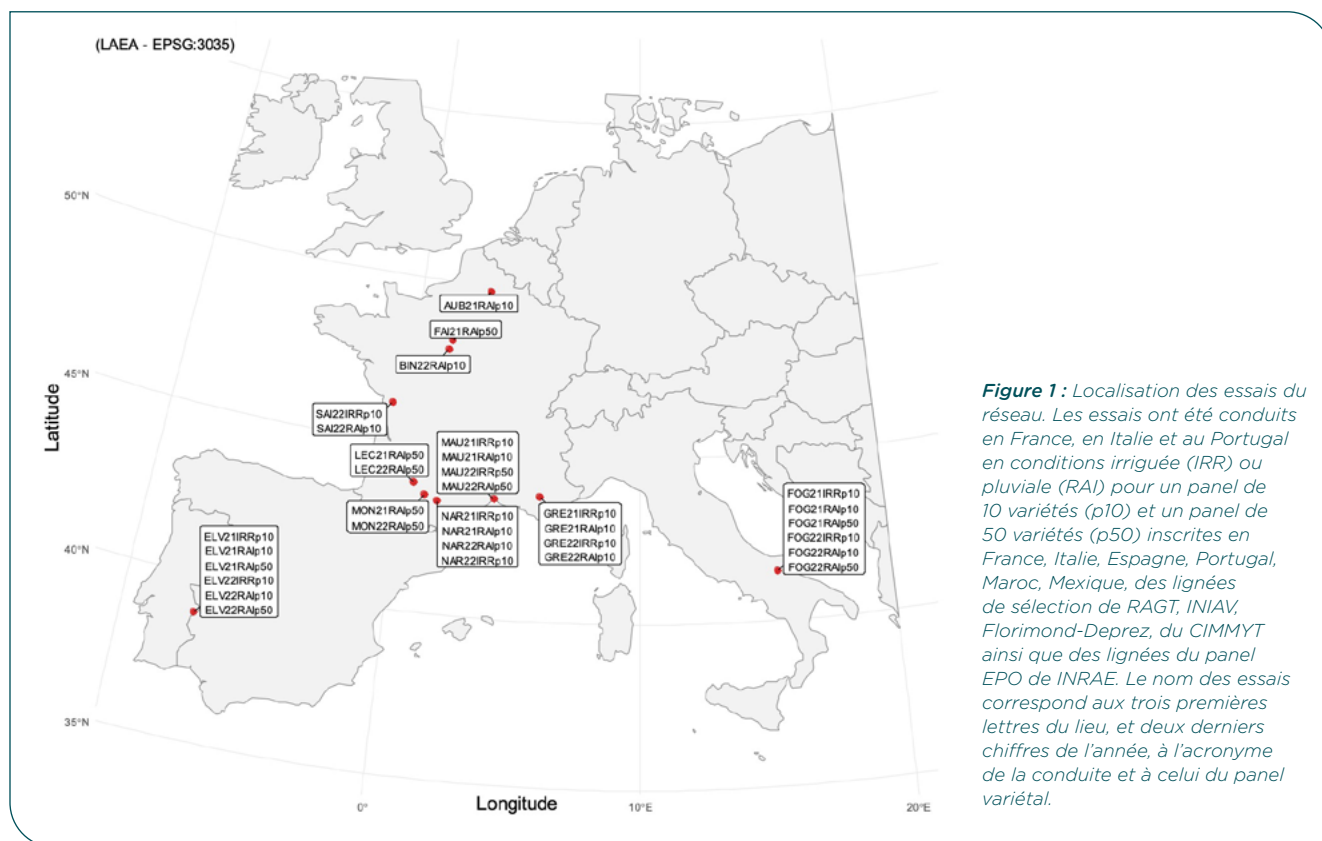
### ► Caractérisation phénotypique

Un panel de 53 variétés (« panel 50 ») constitué de 32 variétés inscrites en France, Italie, Espagne, Maroc et Portugal, six lignées EPO fournies par INRAE, neuf lignées fournies par INIAV, quatre lignées fournies par Florimond-Deprez, une lignée fournie par RAGT et une lignée CIMMYT a été testé dans le projet (Tableau 1). Ce panel a été testé dans 11 essais en France, Italie et Portugal en condition pluviale (Figure 1). Un essai réalisé à MAUGUIO en 2022 comprenait deux modalités d'irrigation (Irriguée *versus* pluviale). Les caractères mesurés sur ce panel comprenaient la densité de plantes sortie hiver, le rendement en grains, le poids de mille grains, le poids spécifique, la teneur en protéines des grains, la date d'épiaison, la hauteur de plante à floraison ainsi que des mesures d'opportunité si présence de verse ou de maladies. Dans chaque essai, des modèles linéaires mixtes adaptés au design expérimental (blocs complets randomisés ou alpha-lattice) ont été utilisés afin de calculer des BLUEs pour chaque variété avec le package *lme4* puis des moyennes ajustées avec le package *emmeans* dans R.

Un ensemble de 10 variétés (« panel 10 ») recoupant partiellement le panel 50 (à l'exception de NADIF et SVEVO) ont été testées dans des essais à deux modalités d'irrigation. Ce panel a été testé dans 22 essais (combinaisons lieu × année × conduite) en France, Italie et Portugal (Figure 1). La modalité pluviale de l'essai réalisé à MAUGUIO en 2021 a été détruite à la suite d'un orage et a donc été écartée réduisant ainsi le nombre d'essais à 21. La caractérisation phénotypique

Genotype.id	Type	Code.obtenteur	Breeder	Country	Panel 10	Panel 50
ANTALIS	Registered cultivar		Limagrain	2013 (IT)	X	X
ANVERGUR	Registered cultivar	SD 81516 B	RAGT	2013 (FR)	X	X
ATOUDUR	Registered cultivar	S5 F 79	Serasem	2011 (FR)		X
CELTA	Registered cultivar		INIAV	Portugal		X
CHAM1	Registered cultivar		ICARDA	1988 (JOR), 1984 (SYR), 1987 (SAU), 1990 (TUR)		X
CIMMYT 41	Breeding line		CIMMYT	Mexique		X
CLAUDIO	Registered cultivar	H 201	Semences de France	1998(ID)	X	X
EL4X_035	Breeding line EPO		INRAe	France		X
EL4X 120	Breeding line EPO		INRAe	France		X
EL4X 427	Breeding line EPO		INRAe	France		X
EL4X_428	Breeding line EPO		INRAe	France		X
EL4X_464	Breeding line EPO		INRAe	France		X
EL4X 504	Breeding line EPO		INRAe	France		X
FADO	Registered cultivar		INIAV	Portugal	X	X
JAMILOU	Breeding line	FDN16DW0729	Florimond Desprez	Espagne/Maroc		X
FDN16DW0758	Breeding line	FDN16DW0758	Florimond Desprez	Espagne/Maroc		X
VERTIGO	Breeding line	FDN17DWO765	Florimond Desprez	Espagne/Maroc		X
FURIO CAMILLO	Breeding line		Florimond Desprez	Espagne/Maroc		X
ICAVERVE	Registered cultivar		ICARDA	Maroc		X
IRIDE	Registered cultivar		Sem Partners	1996 (IT)		X
KANAKIS	Registered cultivar	01 DSM 25	Florimond Desprez	2008 (IT)		X
MAESTA	Registered cultivar		CGS	(IT)		X
MARCO AURELIO	Registered cultivar	508 GD 04/277	Sem Partners	2011 (IT)		X
MIRADOUX	Registered cultivar	BD 95145	Florimond Desprez	2007 (FR)		X
MONASTIR	Registered cultivar	02 DSM 12	RAGT	2009 (IT)		X
NADIF	Registered cultivar		CREA	(IT)	X	
NOBILIS	Registered cultivar	08 D 2450	LG	2014 (FR)		X
PLATONE	Registered cultivar	D20	Sem Partners	2016 (IT)		X
PT27_4.20	Breeding line		INIAV	Portugal		X
PT39_11_20	Breeding line		INIAV	Portugal		X
PT39_18.20	Breeding line		INIAV	Portugal		X
PT39_3_20	Breeding line		INIAV	Portugal		X
PT40 1 20	Breeding line		INIAV	Portugal		X
PT40 3 20	Breeding line		INIAV	Portugal		X
PT40_6 20	Breeding line		INIAV	Portugal		X
RD15436	Breeding line	RD15436	RAGT	Italy		X
RELIEF	Registered cultivar	CCB 10 D 598	Syngenta	2014 (FR).	X	X
RGT AVENTADUR	Registered cultivar	RD 11.142	RAGT	2016 (IT)		X
RGT BRIKODUR	Registered cultivar		RAGT	Italy		X
RGT ESTEDUR	Registered cultivar	RD 16411	RAGT	Italy		X
RGT FESTADUR	Registered cultivar	RD 16421	RAGT	Italy		X
RGT LEONDUR	Registered cultivar		RAGT	Italy		X
RGT SACRADUR	Registered cultivar	RD 16433	RAGT	Italy		X
RGT VOILUR	Registered cultivar	RD 10009	RAGT	2016 (FR)		X
SANTUR	Registered cultivar	D71116B	RAGT	2012 (IT)		X
SARAGOLLA	Registered cultivar		KWS Momont? SYNGENTA	Italy		X
SCULPTUR	Registered cultivar	RABD 03 G 8	RAGT	2008 (FR)	X	X
SEMIDOU	Registered cultivar		Florimond Desprez	Espagne/Maroc		X
SIMETO	Registered cultivar	D 90200	Syngenta	1998(I)		X
SVEVO	Registered cultivar		Società produttori sementi Bologna	1996 (IT)	X	
TE1203	Breeding line		INIAV	Portugal	X	X
TE1401	Breeding line		INIAV	Portugal	X	X
TIREX	Registered cultivar		APSOV	2007 (IT)		X
VADIO	Registered cultivar		INIAV	Portugal		X
ZAGHARIN2	Registered cultivar		ICARDA	Maroc		X

**Tableau 1 :** Liste variétale du « panel 10 » et du « panel 50 » utilisés durant le projet FSOV DUROSTRESS. Le nom de la variété, le type de matériel, le code obtenteur, l'obtenteur, le pays d'origine et la présence dans le panel10 et/ou le panel50 sont indiqués.



de ce panel comprenait des mesures de densité de plantes sortie hiver, rendement en grains, poids de mille grains, poids spécifique, teneur en protéines des grains, date des stades épi à 1cm et épiaison, hauteur de plante à floraison, biomasse et teneur en azote à floraison et à maturité ainsi que des mesures d'opportunité si présence de verse ou de maladies. En plus de cela, des outils de phénotypage par capteurs (phénomobile, drone, perche Litéral, greenseeker, mini-rhizotrons) ont été déployés sur ces essais à différentes dates au cours du cycle. Dans chaque essai, des modèles linéaires mixtes adaptés au design expérimental (blocs complets randomisés, alpha-lattice, split-plot, alpha plan) ont été utilisés afin de calculer des BLUEs pour chaque variété avec le package *lme4* puis des moyennes ajustées avec le package *emmeans* dans R.

### ► Caractérisation environnementale

Pour chaque essai du panel 10 et du panel 50, les informations relatives à la conduite culturale (date de semis, de récolte, date et volumes d'irrigation, de fertilisants azotés) ont été collectées. Les données météorologiques de station proches des essais ont été extraites. Une caractérisation du sol a été effectuée (informations de texture, profondeur d'enracinement estimée). Des tensiomètres ont été installés dans les essais afin de piloter l'irrigation. Les apports en fertilisation azoté ont été réalisés de manière à couvrir les besoins des cultures à l'optimum et une protection contre les maladies a été appliquée de sorte qu'il n'est pas attendu de stress liés à l'azote ou à des facteurs biotiques. L'ensemble de ces informations a permis de réaliser une caractérisation environnementale et de classer les essais selon la dynamique de stress hydrique et forte température apparue dans le réseau.

La dynamique de stress hydrique dans chaque essai a été estimée par simulation d'un bilan hydrique journalier à l'aide du modèle de culture CHN. Ce modèle permet de calculer un indice de stress hydrique journalier qui varie entre un (absence de stress) et zéro (stress maximal empêchant l'augmentation de la surface foliaire) en fonction de l'état de la réserve en eau du sol selon un modèle non linéaire.

La dynamique de stress thermique dans chaque essai a été estimée par le calcul de « killing degree days » (KDD) (Butler and Huybers, 2015). Les KDD ont été modifiés selon le niveau de stress hydrique de manière à refléter le fait qu'une augmentation des besoins en eau du fait de la température n'a pas le même impact selon l'état de la réserve en eau du sol :

$$\text{cumKDD-FhLAI} = \begin{cases} \text{cum}(T_{\max} - 30) & \text{if } T_{\max} \geq 30 \text{ if FhLAI} < 0.9 \\ \text{cum}(T_{\max} - 33) & \text{if } T_{\max} \geq 33 \text{ if FhLAI} \geq 0.9 \end{cases}$$

Avec  $T_{\max}$  la température maximale journalière et FhLAI la valeur journalière du frein hydrique sur le LAI simulé par CHN. Pour chaque type de stress les essais ont été regroupés en utilisant un algorithme de type *k-means*.

### ► Caractérisation des stress hydriques par analyse isotopique du carbone

L'air atmosphérique contient deux isotopes du carbone, l'un majoritaire (le  $^{12}\text{C}$ ) et l'autre minoritaire (le  $^{13}\text{C}$ ). La photosynthèse conduit à une assimilation préférentielle du  $^{12}\text{C}$  et donc à une discrimination du  $^{13}\text{C}$  en particulier chez les plantes en  $\text{C}_3$ . Il a été démontré qu'en présence de stress hydrique, du fait d'une conductance stomatique plus faible, cette discrimination du  $^{13}\text{C}$  est réduite augmentant ainsi le ratio  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  (Farquhar *et al.* 1989). Des grains de 5 à 10 variétés ont été collectés

dans 16 essais du réseau DUROSTRESS. Une analyse du ratio  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  a été réalisée en prestation de service par un laboratoire externe afin d'évaluer le niveau de stress hydrique dans les essais.

### ► **Caractérisation de la dynamique de croissance racinaire**

Dans les essais du panel 10 réalisés à Gréoux-les-Bains en 2021 et 2022 en conditions irriguée et pluviale, un mini-rhizotron a été mis en place dans une parcelle de chaque variété dans deux blocs afin de suivre de manière non-destructive la dynamique de la mise en place des racines à différentes profondeurs. Ce dispositif consiste en des tubes PVC transparents enfoncés dans le sol à 45° entre les rangs dans lesquels il est possible d'introduire une caméra pour effectuer des prises d'images entre 10 et 80cm de profondeur tous les 20cm environ à différentes dates au cours de la culture (<https://www.youtube.com/watch?v=O8GZOHfoTMs>). Les images RGB obtenues ont été analysées avec le logiciel ADMIRAL et la variable RLD (Root Length Density,  $\text{mm.cm}^{-2}$ ) qui représente la longueur totale des racines en fonction de la surface de sol a été calculée.

Deux approches d'analyse des données recueillies par mini-rhizotron ont été testées. Dans les deux cas, elles font intervenir le calcul d'AUC ( $\text{mm.jour.cm}^{-2}$ ) à chaque date d'acquisition des images. Ce calcul a été réalisé pour les images acquises entre -40 et -80cm de profondeur afin d'éviter l'horizon superficiel pour lequel les données peuvent être biaisées avec ce type de système. La première approche consistait à rechercher les corrélations entre les AUC, le rendement et ses composantes et la date d'épiaison dans chaque essai. La seconde approche consistait à calculer pour chaque lieu  $\times$  année un écart d'AUC entre la condition irriguée et la condition pluviale. Les corrélations entre écarts de rendement ou de ses composantes (indicateurs de tolérance au stress hydrique) et écarts d'AUC aux différentes dates ont ensuite été calculées.

### ► **Phénotypage en conditions contrôlées pour le stress thermique**

Une expérimentation en conditions contrôlées a été réalisée en serre sur la station Arvalis de Montardon afin d'évaluer la réponse des variétés du panel 10 à un stress thermique après floraison. Le dispositif était inspiré de travaux précédents sur blé tendre réalisés dans le cadre du projet FSOV HEATWHEAT. Il consistait à cultiver les variétés selon deux modalités : une modalité NS (« no stress ») et une modalité HS (« heat stress »). L'ensemble des variétés en modalité NS ont été cultivées dans une serre avec des températures de consignes de 21°C en phase diurne et 15°C en phase nocturne. En parallèle, les variétés de la modalité HS ont été cultivées avec des températures de consignes de 21°C en phase diurne et 15°C en phase nocturne jusqu'à floraison +7jours (idem modalité NS) puis elles ont été transférées durant 7 jours dans un compartiment de la serre avec des températures de consignes de 31°C en phase diurne et 23°C en phase nocturne. A l'issue de cette période, les plantes ont été transférées à nouveau dans le compartiment avec des températures de consignes de 21°C en phase diurne et 15°C en phase nocturne. Il est attendu que ce traitement conduise à une diminution du poids de mille grains sans affecter le

nombre de grains par épi (Prasad and Djanaguiraman, 2014). Pour chaque variété, 13 plantes ont été mises en place dans des pots de 16L contenant du terreau et constituant une unité expérimentale. Pour chaque modalité du facteur température (NS/HS), quatre pots de 16L ont été mis en place représentant quatre répétitions par modalité et un total de 80 unités expérimentales. Le design expérimental était arrangé selon un alpha plan latinisé. Les mesures suivantes ont été réalisées : date d'épiaison et de floraison (anthèse) moyenne à l'échelle de chaque unité expérimentale, suivi visuel de la sénescence tous les 3 à 5 jours sur l'antépénultième feuille sur trois plantes par unité expérimentale, fluorescence de la chlorophylle sur la feuille drapeau de trois plantes par unité expérimentale à floraison +1 jour (soit avant le transfert sous fortes températures pour les pots de la condition HS) puis à floraison +300°Cj jours (soit la veille du rapatriement des plantes en condition standard pour les pots de la condition HS) à l'aide du pocket PEA après adaptation à l'obscurité afin de déterminer le rapport Fv/Fm, prélèvement d'épis à floraison +100°C jours, +450°C jours et +750°C jours sur la talle primaire de quatre plantes par unité expérimentale. Lors de cet essai, les plantes de la variété SVEVO montraient une extrusion des anthères extrêmement réduite rendant très difficile de mesurer la date d'anthèse. Cette variété a donc finalement été écartée.

### ► **Caractérisation de la tolérance au stress hydrique par inversion d'un modèle de culture**

L'inversion d'un modèle de culture à l'aide de données de phénotypage devrait permettre d'estimer des variables caractérisant le fonctionnement du couvert qui ne sont pas mesurables directement. Les enjeux associés à ce type de méthode sont de compléter les traits utilisés en sélection variétale, de contribuer aux services de conseil en choix variétal et de permettre le paramétrage variétal des modèles de culture. Cette démarche a été appliquée au modèle de culture CHN.

Cette démarche préalablement développée sur des données indépendantes (Piquemal *et al.* 2018) a été appliquée dans le projet à cinq variétés du panel 10 pour lesquelles l'ensemble des données nécessaires au paramétrage étaient disponibles dans tous les essais (caractérisation fine du sol de chaque essai, dates du stade épi 1cm, mesures de l'indice foliaire vert (LAI) répétées à plusieurs dates tout au long du cycle de développement, et mesures de biomasse aérienne à proximité du stade floraison). L'inversion du modèle CHN consistait à ajuster les paramètres de CHN par variété et par essai de façon à minimiser les écarts entre les valeurs de LAI et de biomasse aérienne prédites et celles mesurées (Figure 2). Les paramètres ajustés sont alors considérés comme des traits variétaux présentant l'intérêt d'être interprétables d'un point de vue écophysologique et apportant une information sur le comportement des variétés complémentaire aux variables mesurées directement.

Les paramètres obtenus par inversion peuvent être classés suivant deux axes : le type de variable contrôlée (LAI ou biomasse aérienne), et le type de processus (atteinte du potentiel versus adaptation au stress hydrique). CHN simule une croissance journalière potentielle du LAI en fonction du temps thermique et

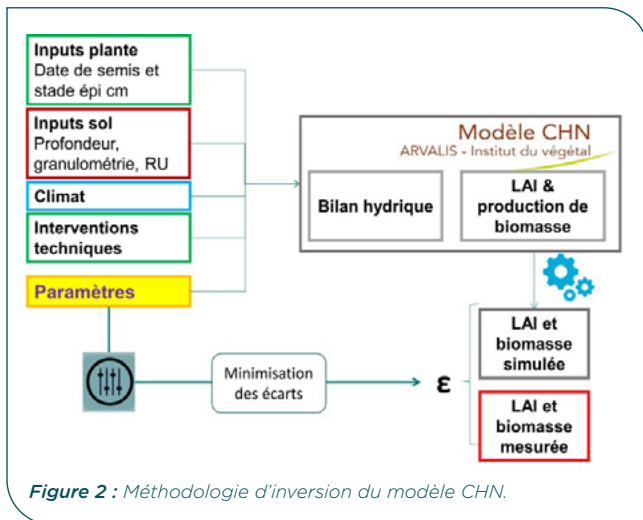


Figure 2 : Méthodologie d'inversion du modèle CHN.

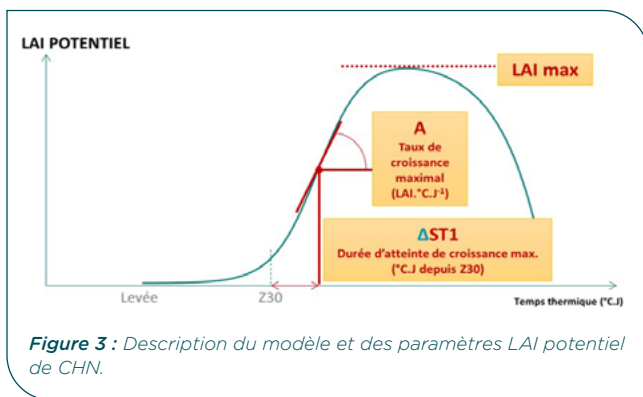


Figure 3 : Description du modèle et des paramètres LAI potentiel de CHN.

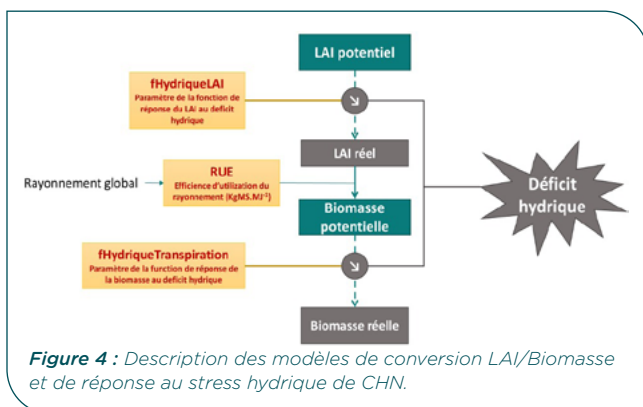


Figure 4 : Description des modèles de conversion LAI/Biomasse et de réponse au stress hydrique de CHN.

de plusieurs paramètres ( $\Delta ST1$ , A et LAImax ; Figure 3). En situation de stress hydrique, la croissance de LAI potentiel est réduite. L'intensité de cette réduction dépend d'un paramètre qui contrôle une fonction de réponse au déficit hydrique. En résulte une croissance de LAI « réel », c'est-à-dire réduite à cause du stress hydrique (Figure 4). Le LAI réel intercepte le rayonnement qui est ensuite convertit en biomasse potentielle via le paramètre multiplicateur **RUE** (radiation use efficiency, KgMS.Ha<sup>-1</sup>.MJ<sup>-1</sup>). En situation de stress hydrique, la production de biomasse potentielle est également réduite via un paramètre spécifique à cette variable qui contrôle une fonction de réponse au déficit hydrique. Il en résulte alors la biomasse dite « réelle » (Figure 4). Les paramètres énoncés précédemment ont été ajustés par microparcelle dans un sous-ensemble de cinq essais du panel 10. Néanmoins, les paramètres de réponse au stress hydrique n'ont pu être estimés

que dans quatre essais du fait de l'absence de modalité stressé dans un essai. La qualité d'ajustement du modèle aux mesures de LAI et biomasse a été validée en contrôlant la RMSE pour chacune de ces variables.

La précision des paramètres ajustés a été étudiée à l'aide d'une analyse de la variance :

$$Y \sim \text{Variété} + \text{bloc} + \epsilon$$

La variable à expliquer étant un paramètre obtenu par inversion du modèle CHN, le facteur « variété » (n=5) et le facteur « bloc » (n=3) ont servi de variables explicatives. La conduite hydrique n'est pas une variable explicative dans ce modèle, car ce dernier a été mis en œuvre par modalité hydrique. En effet, les paramètres du LAI potentiel et de la biomasse potentielle ont été estimés à l'aide des mesures de LAI et de biomasse obtenus sur la modalité irriguée, tandis que les paramètres de réponse au stress hydrique ont été estimés séparément et dans un second temps à l'aide des données obtenus sur la modalité stressée en eau.

La stabilité des paramètres estimés par inversion dans différents environnements a été évaluée par une analyse de variance à l'aide du modèle mixte :

$$Y \sim \text{Variété} + (1 | \text{Essai}) + \epsilon$$

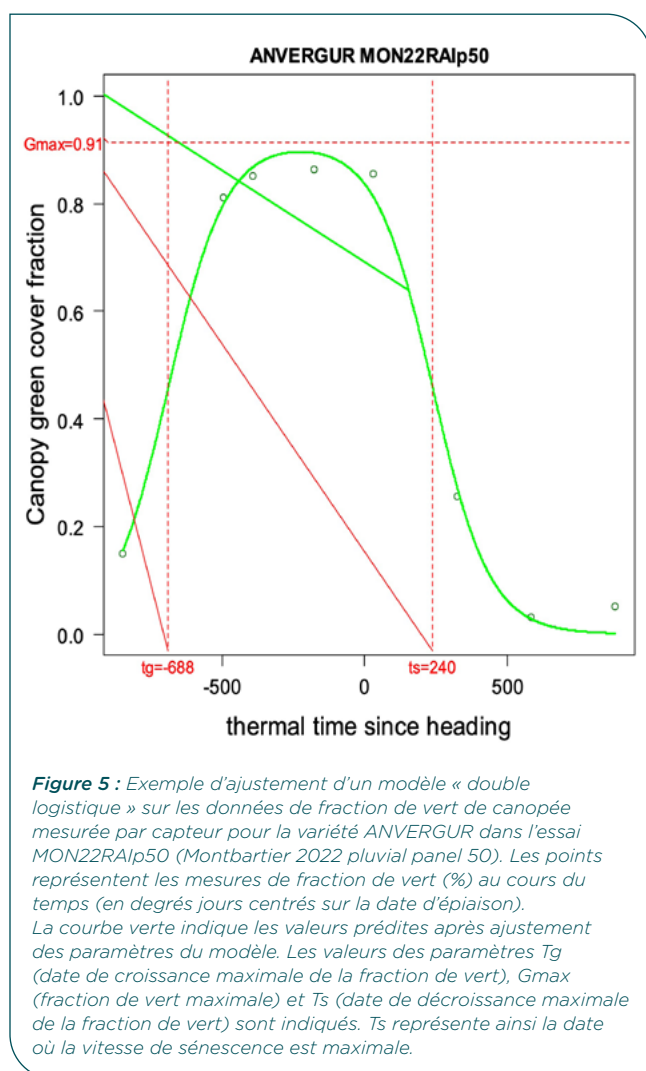
L'inversion du modèle CHN a ici été effectuée en utilisant les moyennes ajustées par variété de LAI et de biomasse au sein de chaque essai. Il est à noter que seuls quatre essais ont pu être utilisés car les moyennes ajustées de LAI n'ont pas pu être calculées dans un essai (ELV21). La variable à expliquer était un paramètre obtenu par inversion du modèle CHN. Le facteur « essai » était à effet aléatoire tandis que le facteur « variété » était à effet fixe.

Enfin, une étude visant à évaluer l'intérêt d'utiliser CHN avec des paramètres ajustés par variété par rapport à des paramètres ajustés pour l'espèce afin de réaliser des prédictions dans de nouveaux environnements a été réalisée. CHN-Blé dur désigne le modèle CHN paramétré pour l'espèce blé dur. Les paramètres ont été établis à l'aide d'une base de données massive constituée d'essais menés depuis plus de 20 ans par Arvalis et comportant une diversité d'environnements et de variétés. CHN-Anvergur désigne CHN paramétré pour la variété Anvergur à l'aide des essais du panel 10 du projet DUROSTRESS. Pour ce faire, les prédictions de biomasse ont été obtenues à partir du paramétrage CHN-Blé dur et du paramétrage CHN-Anvergur pour la variété ANVERGUR sur une base de données indépendantes. Celle-ci était constituée d'un réseau d'essais permettant d'établir des courbes de réponse des variétés de blé dur à la dose d'azote. Seules les modalités ayant reçu une dose totale minimale de 100 KgN/Ha et ayant un INN mesuré au stade floraison compris entre 0.7 et 1.2 ont été retenus. Cela permet de conserver des situations non-stressées en azote, facteur qui n'a pas été pris en compte pour ajuster les paramètres du modèle CHN avec les essais DUROSTRESS. La RMSE de la biomasse a servi d'indicateur pour comparer la qualité de prédiction obtenue avec CHN-Anvergur et CHN-Blé dur.

#### ► Impact de la dynamique de sénescence sur la tolérance au stress hydrique

Une analyse des données a été conduite afin d'évaluer si la dynamique de sénescence était associée à la

tolérance au stress. L'hypothèse sous-jacente était que les variétés capables de maintenir leur surface foliaire verte (« stay-green ») en conditions de stress hydrique (via un meilleur accès à l'eau ou une réduction de la transpiration) étaient associées à une meilleure tolérance au stress. Ce caractère physiologique a par ailleurs déjà été identifié chez d'autres espèces comme le maïs, le sorgho ou le blé tendre comme étant associé à la tolérance au stress hydrique. Deux approches ont été conduites. La première consistait à calculer l'écart de rendement et les écarts d'AUC pour la dynamique de sénescence à l'aide des mesures de fraction de vert de la canopée entre les modalités « irrigué » et « pluvial » d'un même essai. Les corrélations entre écarts de rendement et écarts de sénescence ont été calculées. Il était donc attendu une corrélation positive entre écarts d'AUC pour la dynamique de sénescence et pertes de rendement entre les conditions « irrigué » et « pluvial » (c-à-d que les variétés présentant une faible différence d'AUC pour la dynamique de sénescence entre les deux conditions étaient celles qui perdaient le moins de rendement). La seconde approche a consisté à ajuster un modèle « double logistique » décrivant l'évolution de la fraction de vert de chaque variété dans chaque essai sur l'ensemble du cycle cultural (Figure 5). Les paramètres du modèle ont été extraits et les corrélations entre les paramètres et le rendement et ses composantes ont été calculées.



## ► Synthèse bibliographique et analyse de gènes candidats

Une revue bibliographique a été réalisée afin de lister des QTLs associés à la tolérance au stress chez le blé dur à partir de 3 reviews d'environ 40 références. Une liste de gènes de tolérance aux stress hydrique et thermique caractérisés et clonés chez le blé tendre, le blé dur ou le riz a été établie à partir de deux reviews rassemblant environ 50 références. Les séquences ont été blastées sur le génome de référence du blé dur SVEVO afin de les cartographier. Enfin, une liste de gènes annotés « High confidence » sur le génome de référence SVEVO a été établie selon leur fonction en lien avec le stress hydrique (mot clé « water deprivation »).

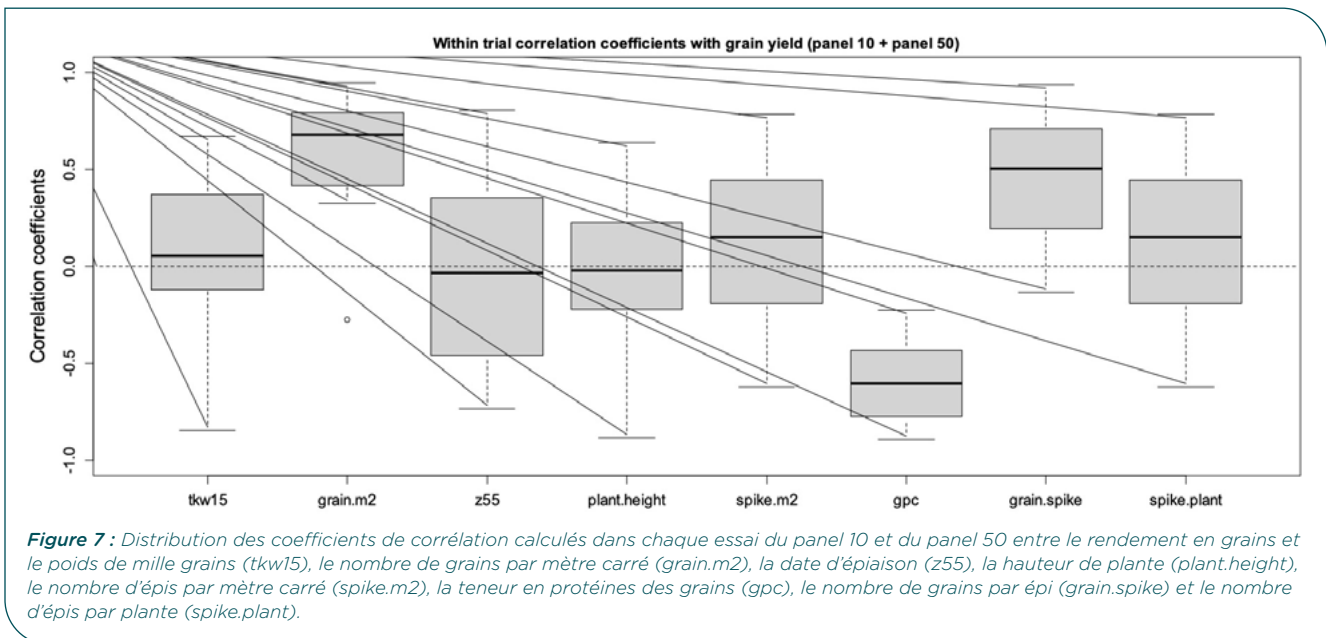
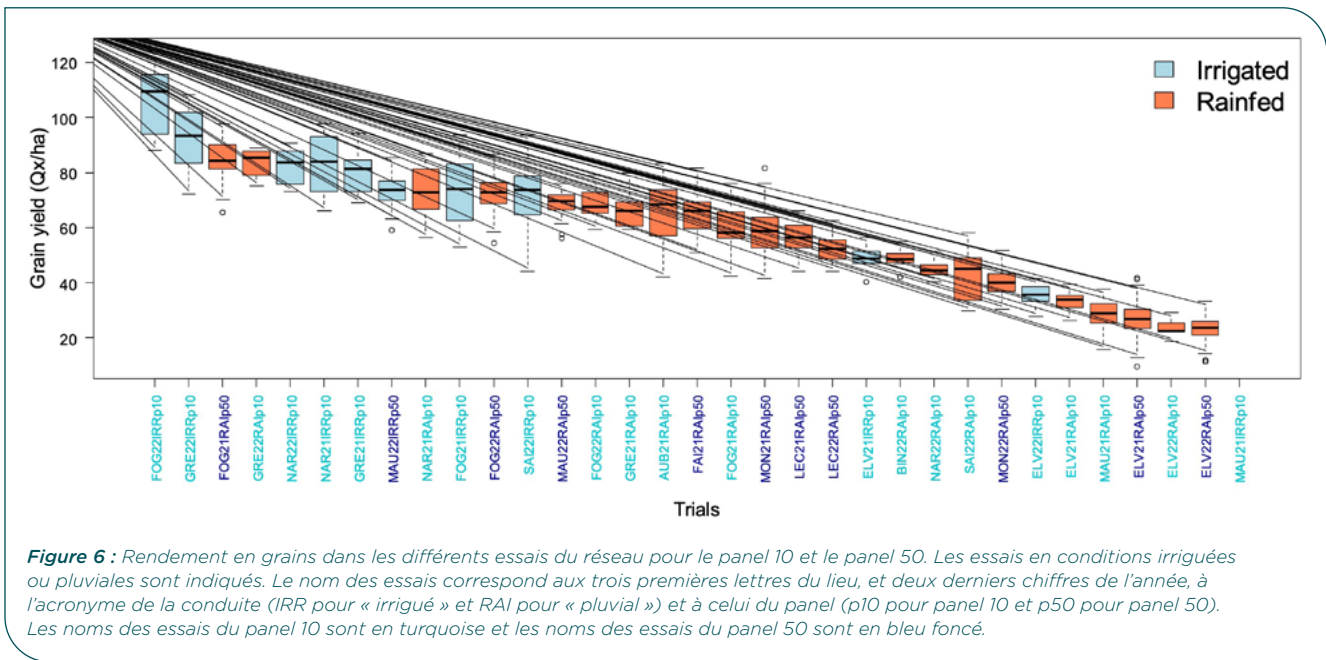
## ► Génétique d'association et prédiction génomique

Des travaux de génétique d'association et de prédiction génomique ont été réalisés à l'aide des données du projet FSOV GPDUR. Dans ce projet, un panel de 238 variétés issues de trois groupes génétiques (51 variétés inscrites en France, 77 ressources génétiques fournies par l'Université de Bologne et 110 lignées de la population EPO fournies par l'INRAE) a été testé dans 10 essais en France et en Italie en 2028 et 2019 en conditions irriguées et pluviales. Ce panel a été génotypé à l'aide de la puce TaBW280K et environ 100 000 marqueurs génétiques ont été retenus après contrôle qualité pour le calcul d'une matrice d'apparentement et pour les analyses de GWAS. Les données agronomiques et celles issues de phénotypage par capteurs ont été préalablement analysées par GWAS dans le cadre de GPDUR. Nous nous sommes concentrés ici sur l'analyse des pentes des « normes de réaction » selon la méthode de Finlay & Wilkinson (1963) pour le rendement en grains, le poids de mille grains et le nombre de grains par mètre carré. Des modèles de sélection génomique ont été calibrés pour le rendement en grains, le nombre de grains par mètre carré, le poids de mille grains et les pentes des normes de réaction correspondantes. Les capacités prédictives de ces modèles ont été testées sur les données du projet DUROSTRESS comprenant des variétés indépendantes testées dans de nouveaux environnements.

## ► RÉSULTATS

### ► Caractérisation phénotypique

Les rendements en grains du panel 50 mesurés dans les différents essais variaient de 9.6 à 97.8 quintaux par hectare avec une grande disparité selon les essais (Figure 6). Les rendements obtenus dans les essais menés au Portugal en 2021 et 2022 (ELV21RAI et ELV22RAI) étaient parmi les plus bas observés dans le réseau du panel 50. A l'inverse, les rendements en grains à FOG21RAI, FOG22RAI et MAU22IRR étaient parmi les plus élevés. Le poids de mille grains variait de 17.7 à 60.8g sur l'ensemble du réseau et le nombre de grains variaient de 3160 à 26866 grains par mètre carré. Les corrélations du rendement en grains entre essais variaient de -0.05 à 0.74 (moyenne 0.29) illustrant les fortes interactions génotype × environnement ( $G \times E$ ) pour cette variable. A l'inverse, les corrélations pour le poids de mille grains entre essais étaient bien plus élevées avec des valeurs variant de -0.13 à 0.85 et une moyenne de 0.47.



Les rendements en grains du panel 10 mesurés dans les différents essais variaient de 15.6 à 124.2 quintaux par hectare avec une grande disparité selon les essais (Figure 6). Comme attendu, pour l'ensemble des essais avec une modalité pluviale et une modalité irriguée, les rendements en grains dans la modalité pluviale étaient inférieurs à ceux de la modalité irriguée. Les rendements obtenus dans les essais menés au Portugal en 2021 et 2022 (ELV21RAI et ELV22RAI) et à MAUGUIO en 2021 (MAU21RAI) étaient parmi les plus bas observés dans le réseau. A l'inverse, les rendements en grains à FOGGIA 2022 en condition irriguée étaient particulièrement élevés avec une différence très importante entre la condition pluviale et la condition irriguée. La moyenne pour les modalités irriguées et pluviales étaient respectivement de 75 et 53 quintaux par hectare. Une analyse de variance a confirmé des effets significatifs pour les facteurs variétés, lieu et conduite avec des pourcentages de variances expliquées respectivement

estimés à 3, 57 et 16%. L'effet année en revanche est apparu non significatif (moyenne 2021 et 2022 respectivement égales à 61 et 64 quintaux par hectare). Les corrélations du rendement en grains entre essais variaient de -0.66 à 0.96 illustrant les fortes interactions GxE pour cette variable (Figure 7). A l'inverse, les corrélations pour le poids de mille grains entre essais étaient bien plus élevées avec des valeurs variant de 0.46 à 0.99 (Figure 8). Ces résultats sont en accord avec ce qui a été observé sur le panel 50. Pour chaque essai du panel 10 et du panel 50, les corrélations entre le rendement et ses composantes ainsi qu'avec la hauteur et la date d'épiaison ont été calculés (Figure 7). Les résultats font apparaître des corrélations positives avec le nombre de grains par mètre carré (moyenne 0.61), le nombre d'épis par mètre carré (moyenne 0.13), le nombre de grains par épi (moyenne 0.46) et des corrélations négatives avec la teneur en protéines (moyenne -0.59) et une moyenne

des corrélations avec le poids de mille grains de 0.05. Ceci indique que le nombre de grains est la variable la plus explicative du rendement en grains. On peut noter de grandes variations dans les corrélations entre rendement en grains et date d'épiaison en fonction des essais (Figure 7). Ainsi, les corrélations avec la précocité pouvaient être négatives ou positives selon les essais ( $r$  variant de -0.73 à 0.80). Ceci peut éventuellement s'expliquer par des différences de qualité d'environnement en lien avec l'apparition de stress de fin de cycle (fortes températures, déficit hydrique). De même, une forte variabilité des corrélations entre rendement en grains et poids de mille grains a été observée (-0.43 à 0.56 selon les essais).

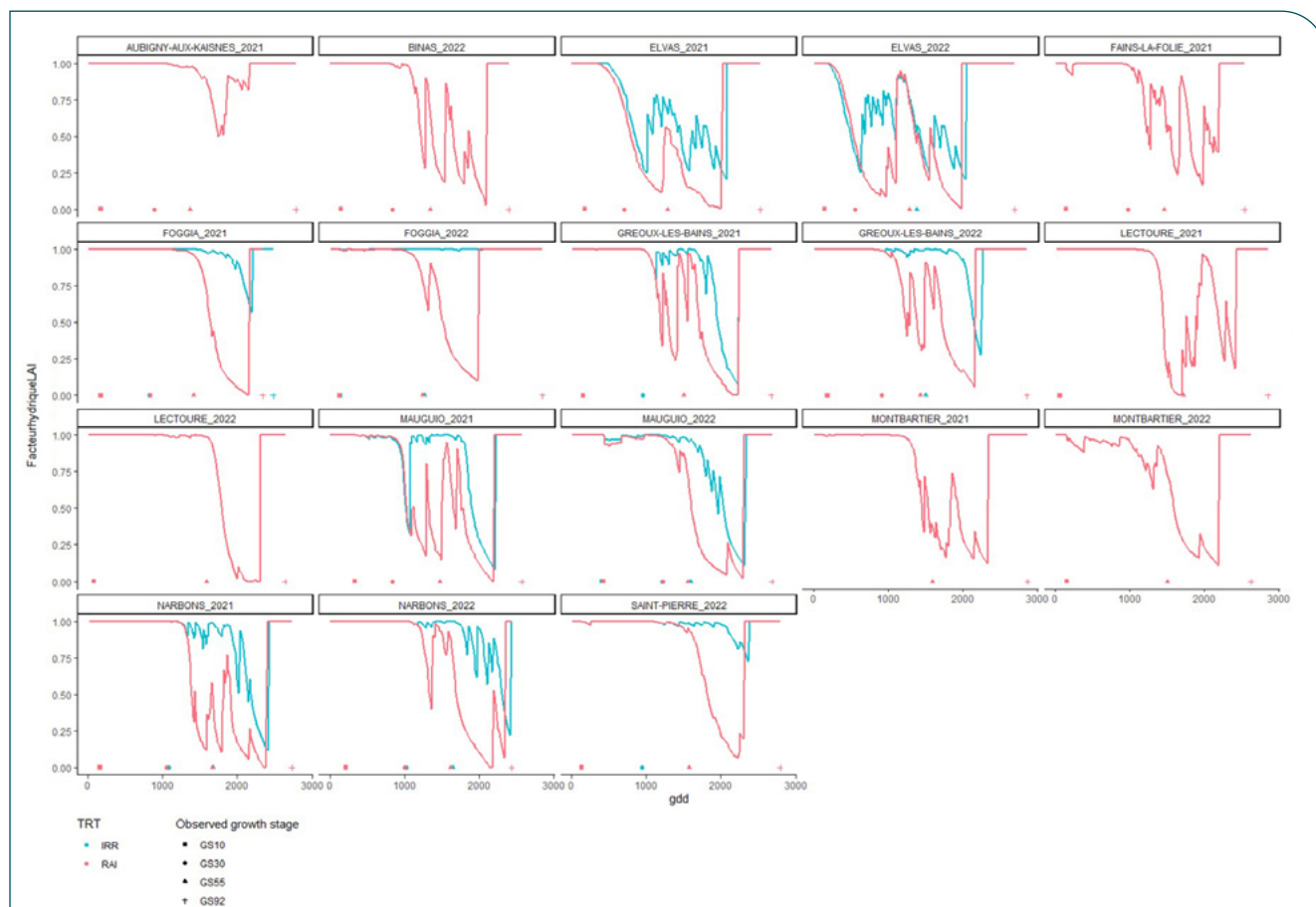
### ► Caractérisation environnementale

La dynamique de l'indice de stress hydrique calculé dans les différents essais est présentée Figure 8. On observe une grande variabilité tant dans la dynamique que dans l'intensité des stress hydriques apparus dans le réseau. Dans les essais pour lesquels étaient installés des tensiomètres, ces dynamiques estimés sur la base de simulation par le modèle CHN étaient très concordantes avec les profils de tensiométrie relevés au cours de la saison sauf à Elvas site pour lequel manifestement les simulations ne correspondaient pas aux observations. Pour ce site, les paramètres de simulation ont donc été modifiés (profondeur de sol

réduite) afin de faire correspondre la dynamique de l'indice de stress hydrique et les relevés de tensiométrie observés. Les essais ont été regroupés en quatre scénarios de stress hydriques différant à la fois pour leur dynamique et leur intensité :

- Groupe 1 : absence de stress hydrique (AUB21RAI, FOG21IRR, GRE22IRR, NAR22IRR, SAI22IRR, FOG22IRR),
- Groupe 2 : stress hydrique tardif en fin de remplissage (NAR21IRR, GRE21IRR, MAU21IRR, MAU22IRR),
- Groupe 3 : stress hydrique démarrant à floraison et s'intensifiant jusqu'à maturité (GRE21RAI, FOG21RAI, MON21RAI, FAI21RAI, BIN22RAI, GRE22RAI, NAR22RAI, SAI22RAI, FOG22RAI, MAU22RAI, ELV21IRR, MON22RAI, LEC22RAI),
- Groupe 4 : stress hydrique démarrant courant mai et s'intensifiant jusqu'à maturité (NAR21RAI, LEC21RAI, MAU21RAI, ELV22RAI, ELV21RAI).

Une régression linéaire entre le rendement en grains moyen par essai et le cumul de l'indice de stress hydrique journalier du semis à la récolte explique 55% de la variance du rendement en grains et il est estimé que pour chaque unité d'indice de stress cumulé, une baisse du rendement en grains de 0.81 quintaux par hectare est observée.



**Figure 8 :** Dynamique des indices de stress hydriques journaliers simulée à l'aide du modèle de culture CHN pour chaque essai (combinaison lieu × année × modalité d'irrigation). L'axe des abscisses représente le temps thermique depuis épiaison (base 0°C). L'axe des ordonnées représente l'indice de stress hydrique journalier du modèle CHN qui varie entre un (absence de stress) et zéro (arrêt de croissance de la surface foliaire). Pour chaque lieu × année, la courbe rouge représente la condition pluviale et la courbe bleue la condition irriguée. Les dates des stades observés sont indiquées (GS10 émergence ; GS30 épi à 1cm ; GS55 épiaison, GS92 maturité récolte).

Les essais ont été regroupés en cinq scénarios de stress thermique différant à la fois pour leur dynamique et leur intensité (Figure 9) :

- Groupe 1 : absence de stress thermique (AUB21RAI, FAI21RAI, LEC21RAI, MAU21IRR, MAU21RAI),
- Groupe 2 : léger stress en fin de remplissage (FOG21IRR, FOG21RAI, MON21RAI, SAI22IRR, SAI22RAI, MAU22IRR, MAU22RAI),
- Groupe 3 : léger stress démarrant à floraison (BIN22RAI, ELV21IRR, ELV21RAI, GRE21IRR, GRE21RAI, NAR21IRR, NAR21RAI, NAR22IRR, NAR22RAI),
- Groupe 4 : stress modéré démarrant après épiaison (ELV22IRR, ELV22RAI, GRE22IRR, GRE22RAI, LEC22RAI, MON22RAI, FOG22IRR),
- Groupe 5 : stress de forte intensité démarrant après épiaison (FOG22RAI).

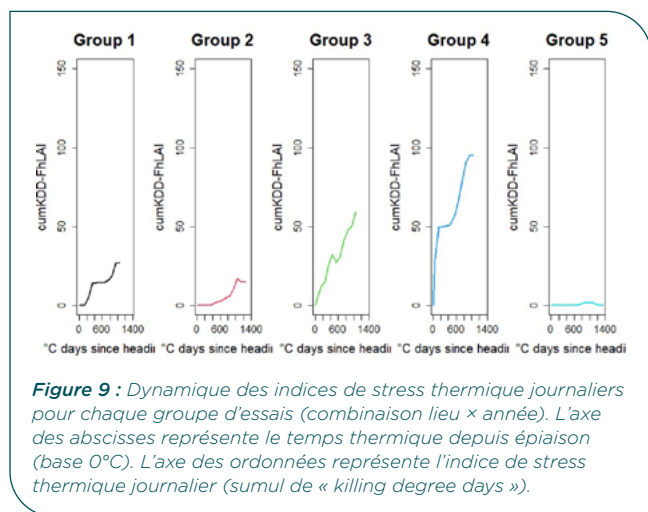


Figure 9 : Dynamique des indices de stress thermique journaliers pour chaque groupe d'essais (combinaison lieu x année). L'axe des abscisses représente le temps thermique depuis épiaison (base 0°C). L'axe des ordonnées représente l'indice de stress thermique journalier (sumul de « killing degree days »).

Une régression linéaire entre le rendement en grains moyen par essai et le cumul de l'indice de stress thermique journalier du semis à la récolte explique 27% de la variance du rendement en grains et il est estimé que pour chaque unité d'indice de stress cumulé, une baisse du rendement en grains de 0.57 quintaux par hectare est observée.

Le produit des classifications sur les stress hydriques et thermiques conduit théoriquement à 20 scénarios. Quinze d'entre eux sont représentés dans ce jeu de données avec des effectifs variables selon les scénarios (un à quatre essais par scénario, Figure 10).

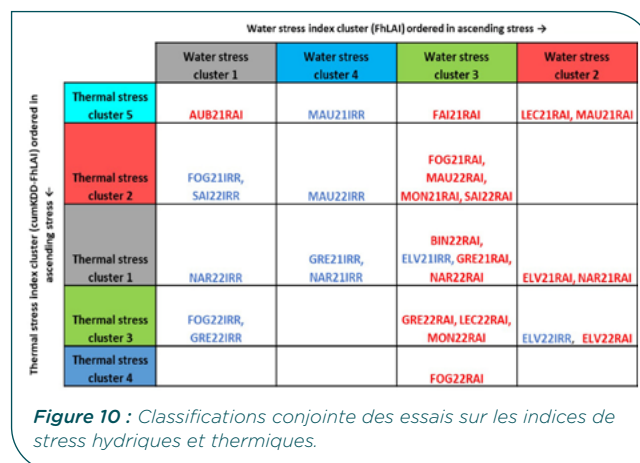


Figure 10 : Classifications conjointes des essais sur les indices de stress hydriques et thermiques.

### Caractérisation des stress hydriques par analyse isotopique du carbone

La corrélation entre rendement en grains et ratio  $^{13}C/^{12}C$  sur les grains de 5 à 10 variétés collectées dans 16 essais était de 0.91 ce qui montre que ce ratio permet de très bien caractériser l'effet environnement dans ce réseau (Figure 11). En dépit du faible nombre de variétés échantillonnées dans chaque essai (5 à 10 variétés selon les essais), nous avons regardé les corrélations intra-essais entre rendement en grains et ratio  $^{13}C/^{12}C$ . Celles-ci variaient de -0.88 à 0.66 et étaient significatives ou proches de la significativité à 5% dans seulement deux essais. Il semble donc que cette mesure ne permette pas de caractériser les différences variétales dans ces essais.

### Caractérisation de la dynamique de croissance racinaire

Si l'on considère l'ensemble des dates d'acquisition d'image, les AUC de la RLD moyens étaient supérieurs en 2021 comparé à 2022 (239 et 161 mm.jour.cm<sup>-2</sup> respectivement) et légèrement supérieurs en condition pluviale qu'en condition irriguée (244 contre 236 en 2021 et 165 contre 153 mm.jour.cm<sup>-2</sup> en 2022 respectivement).

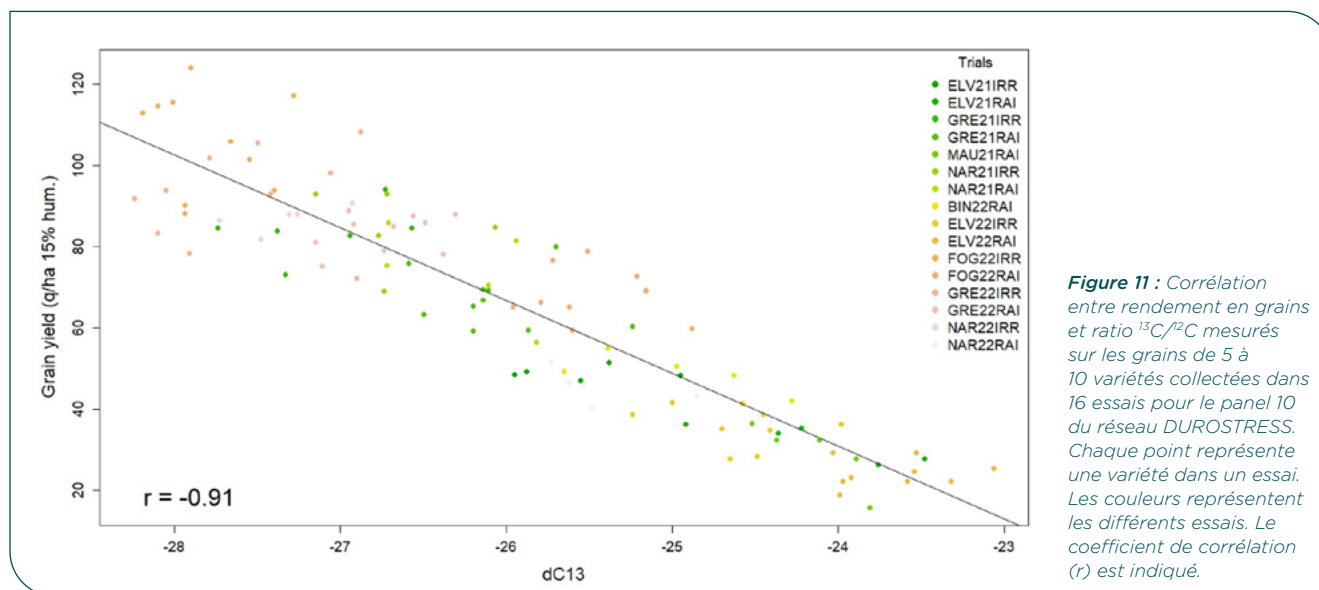


Figure 11 : Corrélation entre rendement en grains et ratio  $^{13}C/^{12}C$  mesurés sur les grains de 5 à 10 variétés collectées dans 16 essais pour le panel 10 du réseau DUROSTRESS. Chaque point représente une variété dans un essai. Les couleurs représentent les différents essais. Le coefficient de corrélation (r) est indiqué.

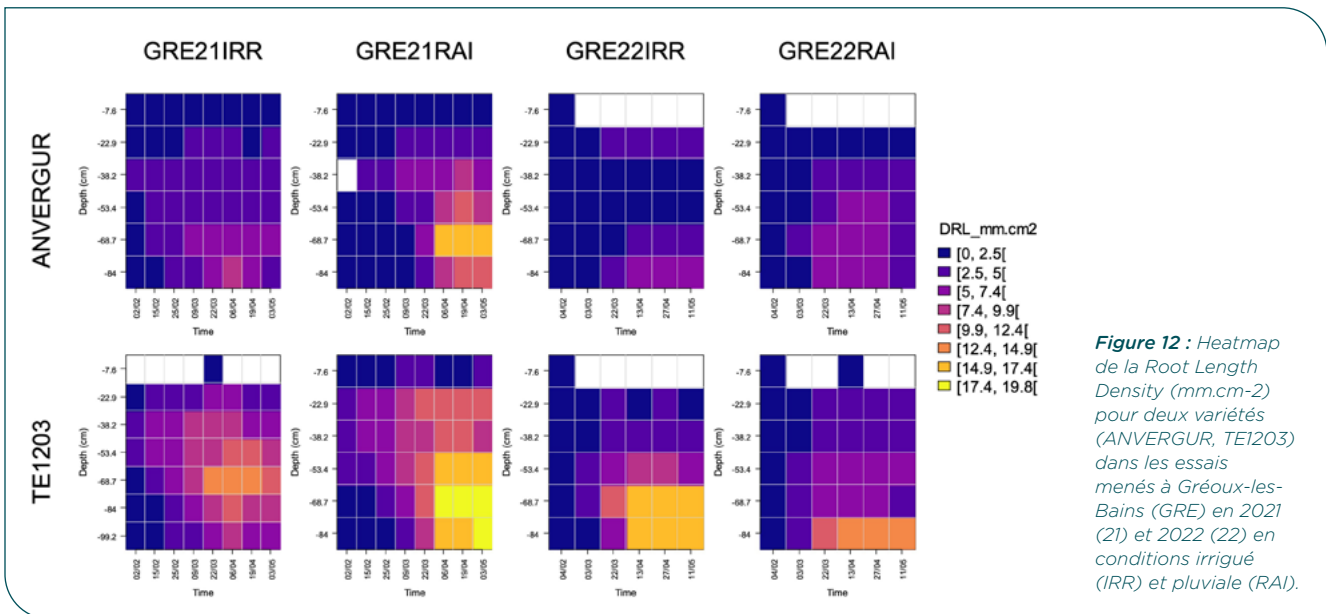


Figure 12 : Heatmap de la Root Length Density (mm.cm-2) pour deux variétés (ANVERGUR, TE1203) dans les essais menés à Gréoux-les-Bains (GRE) en 2021 (21) et 2022 (22) en conditions irriguée (IRR) et pluviale (RAI).

Les résultats font apparaître des comportements variables en condition irriguée et en condition pluviale selon les variétés et les essais (Figure 12). Par exemple, pour les dernières dates d'acquisition d'images par mini-rhizotron en 2021, la variété ANVERGUR présente une AUC de la RLD supérieure en condition pluviale comparée à la condition irriguée alors que cette différence est fortement atténuée en 2022 (Figure 12). En 2021, la variété TE1203 présente aussi une AUC de la RLD supérieure en condition pluviale comparée à la condition irriguée et l'AUC de la RLD de TE1203 semble supérieure à ANVERGUR (Figure 12). A l'inverse, en 2022 TE1203 montre plutôt une diminution de la RLD en profondeur dans la condition pluviale comparée à la condition irriguée (Figure 12). Il sera nécessaire d'approfondir l'analyse et de la conforter sur un plus grand nombre d'essais afin de tirer des conclusions robustes sur un éventuel comportement variétal contrasté.

Les corrélations entre AUC de la RLD et variables agronomiques montrent (Tableau 2) :

- Une corrélation négative significative avec le rendement en grains dans l'essai GRE21IRR pour l'AUC de la RLD ( $r=-0.69$ ) calculée à partir d'images acquises tôt dans le cycle (mi-février). Cette corrélation semble en grande partie expliquée par une corrélation avec la phénologie des variétés. En effet, à cette date, la RLD était plus élevée pour les variétés précoces que les variétés tardives et la phénologie est très associée au rendement dans cet essai ( $r=0.59$ ). Le même pattern est observé dans la condition pluviale de cet essai.
- Une corrélation négative encore plus forte avec le rendement en grains a été observée dans l'essai GRE22IRR ( $r=-0.99$ ) sur des dates comparables (début mars). Là aussi, la phénologie était associée à l'AUC de la RLD dans cet essai même si dans ce cas ce sont les variétés tardives qui présentaient une AUC de la RLD plus élevée que les variétés précoces à des dates ultérieures.

La seconde approche testée visait à rechercher des corrélations entre les écarts d'AUC et les écarts de

rendement en grains entre les conditions irriguée et pluviale dans chaque lieu  $\times$  année. Des corrélations négatives très significatives ont été observées pour GRE21 ( $r$  variant de  $-0.63$  à  $-0.80$  selon les dates) et proches de la significativité pour GRE22 avec les écarts de poids de mille grains ( $r$  égal à  $-0.70$ ). Néanmoins, le signe de la corrélation apparaît contre-intuitif. En effet, cela signifie que des variétés présentant des écarts d'AUC élevés (davantage de RLD en condition irriguée qu'en condition pluviale) montrent des écarts de rendement faibles alors que l'on attend que des variétés présentant une plasticité de la croissance racinaire en faveur d'une RLD plus importante en condition pluviale qu'en condition irriguée soient plus tolérantes au stress.

Essai	Variable	Date	r	p.value
GRE21IRR	gy15	15/02/2021	-0.64	0.06
GRE21IRR	gy15	25/02/2021	-0.69	0.04
GRE21RAI	gy15	02/02/2021	-0.73	0.04
GRE22IRR	grain.m2	04/02/2022	-0.69	0.09
GRE22IRR	z55.obs.doy	04/02/2022	-0.69	0.09
GRE22IRR	gy15	03/03/2022	-0.99	0.00
GRE22IRR	gy15	22/03/2022	-0.94	0.00
GRE22IRR	tkw15	22/03/2022	-0.69	0.09
GRE22IRR	gy15	13/04/2022	-0.86	0.01
GRE22IRR	tkw15	13/04/2022	-0.78	0.04
GRE22IRR	gy15	27/04/2022	-0.85	0.01
GRE22IRR	tkw15	27/04/2022	-0.80	0.03
GRE22IRR	gy15	11/05/2022	-0.88	0.01
GRE22IRR	tkw15	11/05/2022	-0.73	0.06

Tableau 2 : Corrélations entre l'AUC pour la densité de longueur racinaire, la date d'épiaison (z55.obs.doy), le rendement en grains (gy15), le poids de mille grains (tkw15) et le nombre de grains par mètre carré (grain.m2) pour les essais menés sur le panel 10 à Gréoux-les-Bains (GRE) en 2021 (21) et 2022 (22) en conditions irriguée (IRR) et pluviale (RAI). Les dates d'acquisitions des images par mini-rhizotron, les valeurs de corrélations ( $r$ ) et les p-values sont indiquées.

Essai	Variable	Date	r	p.value
GRE21	tkw15.abs	02/02/2021	-0.65	0.08
GRE21	grain.m2.abs	02/02/2021	0.65	0.08
GRE21	gy15.abs	22/03/2021	-0.63	0.10
GRE21	gy15.norm	22/03/2021	-0.64	0.08
GRE21	gy15.abs	06/04/2021	-0.83	0.01
GRE21	gy15.norm	06/04/2021	-0.77	0.03
GRE21	gy15.abs	19/04/2021	-0.80	0.02
GRE21	gy15.norm	19/04/2021	-0.72	0.04
GRE21	gy15.abs	03/05/2021	-0.80	0.02
GRE21	gy15.norm	03/05/2021	-0.70	0.05
GRE22	tkw15.abs	03/03/2022	-0.69	0.09
GRE22	tkw15.norm	03/03/2022	-0.68	0.09
GRE22	tkw15.norm	22/03/2022	-0.70	0.08

**Tableau 3 :** Corrélations entre les écarts d'AUC pour la densité de longueur racinaire et les écarts de rendement en grains (gy15), poids de mille grains (tkw15), nombre de grains par mètre carré (grain.m2) entre les conditions irrigué et pluvial dans les essais menés sur le panel 10 à Gréoux-les-Bains en 2021 (GRE21) et 2022 (GRE22) en valeur absolue (abs) ou en pourcentage de la condition irriguée (norm). Les dates d'acquisitions des images par mini-rhizotron, les valeurs de corrélations (r) et les p-values sont indiquées.

### ► Phénotypage en conditions contrôlées pour le stress thermique

Les résultats obtenus ont permis d'identifier des profils contrastés pour la dynamique de sénescence selon les variétés (Figure 13). Ainsi, les variétés RELIEF et TE1401 montraient une dynamique de sénescence similaire entre les modalités NS et HS tandis que les variétés ANVERGUR ou TE1203 montraient une sénescence accélérée en condition HS comparé à la condition NS (Figure 13). Néanmoins, ces observations ne sont pas accompagnées de tests statistiques permettant d'évaluer la significativité des résultats et devront donc être confirmés par une analyse plus poussée.

Les mesures de fluorescence de la chlorophylle réalisées à floraison et à floraison +300°C jours (soit

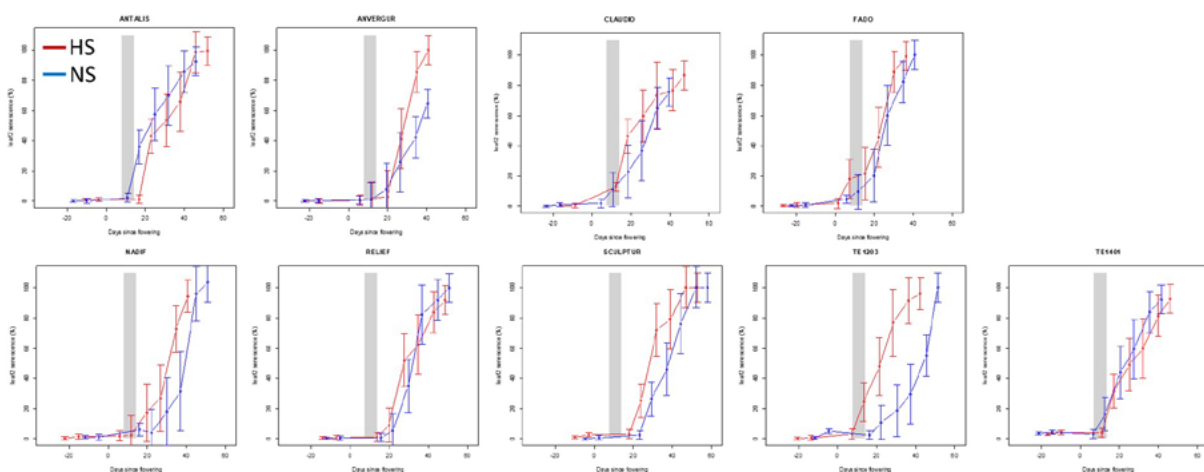
après le passage en condition de stress pour les plantes de la modalité HS) sont apparues incohérentes par rapport à l'attendu. En effet, la fluorescence aurait dû baisser davantage entre les deux dates de mesures pour les plantes de la modalité HS que pour celle de la modalité NS. Or, les résultats n'ont pas montré la variation attendue sans que l'on puisse en expliquer la raison. Seule la variété TE1203 montrait une variation conforme à l'attendu.

Les prélèvements d'épis ont permis de mesurer le nombre de grains et le poids total des grains. Le poids moyen d'un grain a ensuite été calculé. Une moyenne ajustée des effets blocs à chaque date de prélèvement et pour chaque combinaison variété x modalité du traitement température a été calculée à l'aide d'un modèle mixte avec l'effet bloc en aléatoire. Dans la plupart des cas, aucun effet du traitement « fortes température » n'a pu être observé. Au contraire, dans certains cas, l'effet inverse à l'effet attendu a été observé à savoir un poids des grains supérieur en condition HS comparé à la condition NS.

### ► Caractérisation de la tolérance au stress hydrique par inversion d'un modèle de culture

L'analyse de variance pour évaluer la précision des paramètres dans chaque essai montre que l'effet « variété » n'est jamais significatif au seuil de 5%, à l'exception du paramètre RUE dans l'essai NAR20 (Tableau 4 et 5). L'inversion du modèle CHN n'est donc pas une méthode suffisamment précise dans ce type d'essai pour estimer des variables permettant de distinguer des variétés, pourtant choisies pour leurs comportements et performances contrastées.

L'analyse de variance pour évaluer la stabilité des paramètres estimés dans les différents essais montre que l'effet variété n'est pas significatif pour aucun des paramètres (Tableau 6). Il n'est pas exclu que cette absence de significativité soit due au moins en partie à la variabilité environnementale du réseau d'essais, toutefois l'imprécision de la méthode d'estimation observée à l'échelle d'un essai ne permet pas de conclure formellement en ce sens.



**Figure 13 :** Suivi visuel de la sénescence sur l'antépénultième feuille d'une plante par unité expérimentale en fonction du nombre de jours après floraison. Pour chaque variété, la ligne rouge représente les plantes de la modalités HS (exposées à de fortes températures durant 7 jours à partir de floraison +7 jours), la ligne bleue les plantes de la modalité NS (condition contrôlée). Le rectangle gris représente la période de transfert des plantes de la modalité HS en condition de fortes températures. Les barres verticales représentent l'intervalle de confiance de la moyenne calculée sur trois plantes pour chaque modalité du facteur température.

Essai	LAI_DeltaT1	LAI_A	LAI_Max	RUE
ELV21	Bloc : 0.29 Variété : 0.24	Bloc : 0.35 Variété : 0.34	Bloc : 0.43 Variété : 0.12	Bloc : 0.61 Variété : 0.47
NAR21	Bloc : 0.43 Variété : 0.67	Bloc : 0.45 Variété : 0.11	Bloc : 0.44 Variété : 0.18	Bloc : 0.29 Variété : 0.75
AUB21	Bloc : 0.66 Variété : 0.42	Bloc : 0.88 Variété : 0.07	Bloc : 0.82 Variété : 0.11	Bloc : 0.48 Variété : 0.26
GRE22	Bloc : 0.71 Variété : 0.54	Bloc : 0.49 Variété : 0.77	Bloc : 0.42 Variété : 0.48	Bloc : 0.47 Variété : 0.86
NAR22	Bloc : 0.83 Variété : 0.11	Bloc : 0.47 Variété : 0.35	Bloc : 0.18 Variété : 0.87	Bloc : 0.07 Variété : 0.007

**Tableau 4 :** Probabilité critique pour l'effet Variété et l'effet Bloc sur les paramètres potentiels LAI et biomasse obtenus par inversion de CHN. N=3 blocs pour chaque analyse de variance.

Essai	F_hydrique_LAI	F_hydrique_transpiration
ELV21	Bloc : 0.49 Variété : 0.50	Bloc : 0.27 Variété : 0.06
NAR21	Bloc : 0.09 Variété : 0.89	Bloc : 0.003 Variété : 0.08
GRE22	Bloc : 0.30 Variété : 0.70	Bloc : 0.16 Variété : 0.61
NAR22	Bloc : 0.85 Variété : 0.81	Bloc : 0.63 Variété : 0.33

**Tableau 5 :** Probabilité critique pour l'effet Variété et l'effet Bloc sur les paramètres de réponse au stress pour le LAI et la biomasse obtenus par inversion de CHN. N=3 blocs pour chaque analyse de variance.

Type de processus	Paramètre	P-value du facteur Variété
Potentiel	LAI_DeltaT1	0.82
	LAI_A	0.29
	LAI_Max	0.53
	RUE	0.63
Réponse au stress hydrique	F_hydrique_LAI	0.29
	F_hydrique_transpiration	0.40

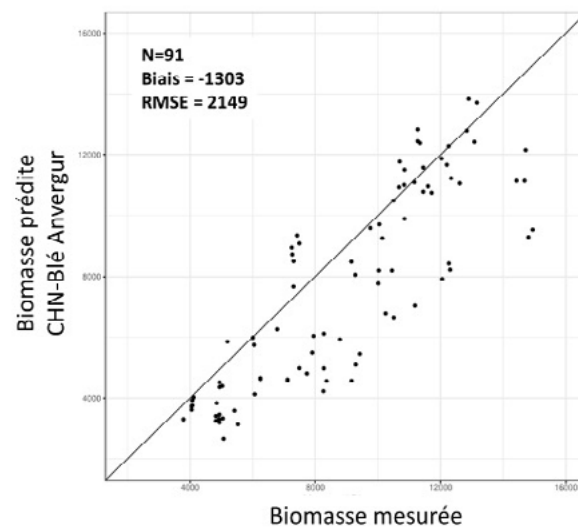
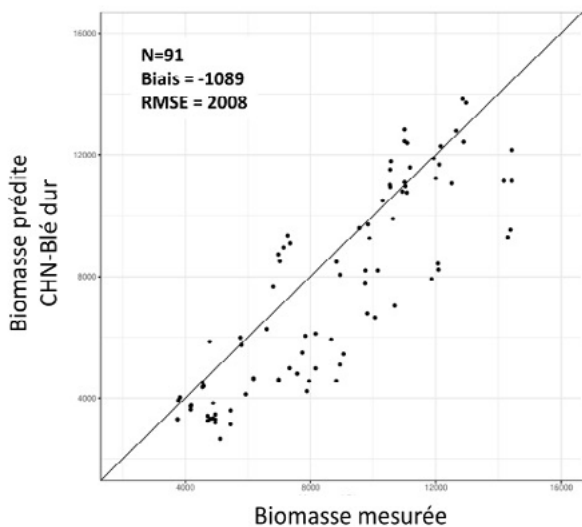
**Tableau 6 :** Probabilité critique pour l'effet « variété » sur les paramètres obtenus par inversion de CHN. N=4 essais pour chaque analyse de variance.

Essai	Vector	Correlation	p-value
ELV21	literal	-0.34	0.329
GRE21	phenomobile	-0.30	0.393
NAR21	literal	0.32	0.360
GRE22	phenomobile	0.79	0.007
NAR22	literal	-0.31	0.387
STP22	literal	-0.73	0.039

**Tableau 7 :** Corrélations entre écarts d'AUC pour la dynamique de sénescence estimée à partir de la fraction de vert de la canopée mesurée par à l'aide de la phénomobile ou de la perche littéral et écarts de rendement en grains entre les conditions irrigués et pluviales de différents essais en conditions agronomiques. Les coefficients de corrélation et les p-values associées sont présentés.

Essai	Variable	Ts.r	Ts.p	Gmax.r	Gmax.p	z55.r	z55.p
ELV21IRRp10	tkw15	0.81	0.00	-0.59	0.07	-0.82	0.00
ELV21IRRp10	grain.m2	-0.59	0.07	0.36	0.31	0.53	0.11
ELV21RAIp10	tkw15	0.66	0.04	-0.64	0.05	-0.83	0.00
GRE21IRRp10	tkw15	0.80	0.01	0.67	0.03	-0.08	0.82
GRE21IRRp10	grain.m2	-0.67	0.03	-0.79	0.01	0.54	0.11
GRE21RAIp10	tkw15	0.75	0.01	0.51	0.13	0.06	0.87
GRE21RAIp10	grain.m2	-0.88	0.00	-0.77	0.01	0.43	0.22
GRE22IRRp10	tkw15	0.77	0.01	-0.23	0.52	-0.37	0.29
NAR22IRRp10	tkw15	0.86	0.00	-0.02	0.97	-0.76	0.01
NAR22IRRp10	grain.m2	-0.93	0.00	-0.20	0.59	0.89	0.00
NAR22RAIp10	tkw15	0.63	0.05	-0.04	0.91	-0.63	0.05
NAR22RAIp10	gy15	0.65	0.04	-0.01	0.99	-0.56	0.09
SAI22IRRp10	gy15	-0.56	0.09	-0.04	0.92	0.59	0.07
ELV21RAIp50	tkw15	0.67	0.00	-0.10	0.46	-0.81	0.00
ELV21RAIp50	gy15	0.33	0.02	0.09	0.51	-0.55	0.00
LEC22RAIp50	grain.m2	-0.25	0.08	0.10	0.48	0.30	0.04

**Tableau 8 :** Corrélations entre le rendement en grains (gy15), le poids de mille grains (tkw15), le nombre de grains par mètre carré (grain.m2) et les paramètres Ts (date de sénescence maximale) et Gmax (fraction de vert maximale) après ajustement d'un modèle « double logistique » sur les données de fraction de vert de la canopée et la date d'épiaison (z55) pour différents essais du panel 10 (p10) ou du panel 50 (p50) en conditions agronomiques. Les coefficients de corrélation (r) et les p-values (p) associées sont présentés.



**Figure 14 :** Biomasse prédite - Biomasse mesurée. A gauche, les prédictions sont issues de CHN-Blé dur, à droite celles de CHN-Anvergur. Valeurs exprimées en KgMS.Ha-1.

L'erreur de prédiction de la biomasse d'ANVERGUR avec le paramétrage CHN-Anvergur était supérieure à celle obtenue avec le paramétrage CHN-Blé dur (Figure 14). L'utilisation de paramètres variétaux ne semble donc pas apporter d'amélioration significative voire une détérioration de la qualité de prédiction par rapport aux paramètres ajustés pour l'espèce.

#### ► Impact de la dynamique de sénescence sur la tolérance au stress hydrique

La première approche faisant intervenir le calcul d'AUC pour la dynamique de sénescence a montré des corrélations variant de -0.73 à 0.79 entre les différences d'AUC et les pertes de rendements entre les conditions irrigué et pluvial (Tableau 7). Ces corrélations étaient significatives dans seulement deux essais : GRE22 avec une corrélation de 0.79 et STP22 avec une corrélation de -0.73. Cette valeur négative est contraire à l'attendu et reste inexplicée. Il semble que cette approche ne permette pas d'établir de lien clair entre dynamique de sénescence et pertes de rendement dues au stress hydrique sur ce panel et dans ces environnements.

La seconde approche faisant intervenir l'ajustement d'un modèle « double logistique » pour la fraction de vert et le calcul des corrélations entre les paramètres du modèle et les composantes du rendement a permis de montrer des corrélations positives significatives entre le poids de mille grains et la date où la vitesse de sénescence maximale était atteinte dans sept essais sur treize (un essai supplémentaire était proche de la significativité avec une p-value = 0.051 ; Tableau 8). En revanche, les corrélations entre ce paramètre et le rendement en grains étaient significatives dans seulement deux essais (Tableau 8). Cela peut s'expliquer par l'importance du nombre de grains dans la détermination du rendement sur ce panel et dans ces environnements.

#### ► Synthèse bibliographique et analyse de gènes candidats

La revue bibliographique a permis de lister 714 QTLs identifiés pour la tolérance au stress chez le blé dur ainsi que 58 gènes de tolérance aux stress hydrique et thermique caractérisés et clonés chez le blé tendre, le blé dur ou le riz. Enfin, une liste de 150 gènes en lien avec le stress hydrique a été identifiée à partir de l'annotation du génome de SVEVO.

#### ► Génétique d'association et prédiction génomique

Les résultats de GWAS pour les normes de réaction font apparaître :

- Une absence de QTL pour la plasticité du rendement en grains.
- Deux QTLs sur les chromosomes 2A et 2B pour la plasticité du poids de mille grains.
- Trois QTLs sur les chromosomes 1A, 2A et 4A pour la plasticité du nombre de grains par mètre carré. Le QTL sur le 2A étant identique à celui pour le poids de mille grains avec un effet antagoniste.

Les résultats de sélection génomique font apparaître :

- Des capacités prédictives variant de 0 à 0.21 pour le rendement et ses composantes.
- Des capacités prédictives variant de 0 à 0.23 pour les pentes des normes de réaction du rendement et de ses composantes.

Ces faibles capacités prédictives sont à mettre en relation avec la faible représentativité de la diversité génétique du panel de test dans le panel GPDur (Figure 15).

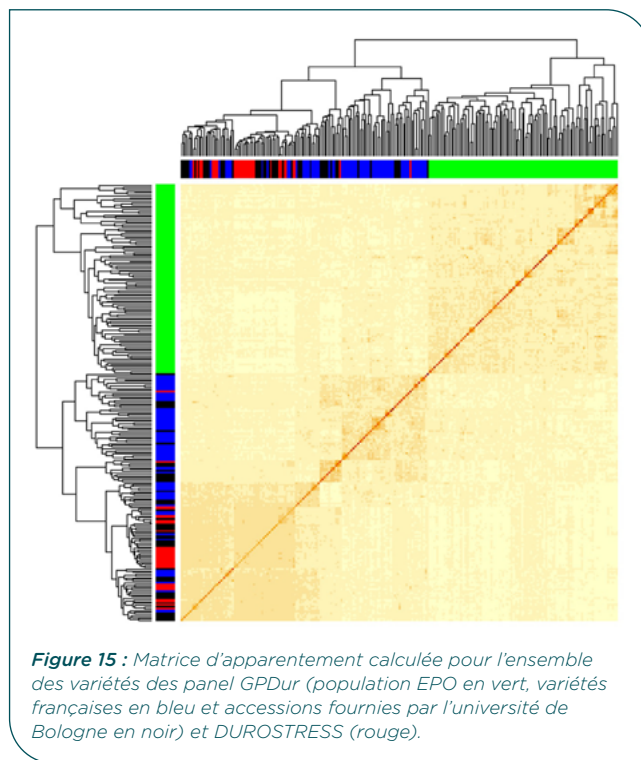


Figure 15 : Matrice d'apparement calculée pour l'ensemble des variétés des panel GPDur (population EPO en vert, variétés françaises en bleu et accessions fournies par l'université de Bologne en noir) et DUROSTRESS (rouge).

## DISCUSSION

### ► Caractérisation phénotypique dans un réseau d'essai contrastés pour les stress hydriques et thermique

Les essais réalisés dans le projet ont permis de recueillir des données dans des environnements très contrastés du fait notamment de l'étendue du réseau expérimental. La grande variabilité des rendements en grains observés en est le reflet. L'analyse des indicateurs de stress hydrique et thermique a permis de confirmer le poids de ces stress dans les effets environnements apparus dans le réseau et leur impact sur les rendements observés. L'utilisation d'analyses isotopiques du carbone dans des échantillons de grains a confirmé la classification des essais obtenus à partir des indices de stress hydriques calculés avec le modèle CHN. Néanmoins, le coût élevé de ces analyses ne permet pas d'envisager d'utiliser cette méthode en routine sur de larges réseaux expérimentaux.

De fortes interactions G×E ont également été mises en évidence sans doute dues en partie aux différences de précocité des variétés utilisées. Ce facteur précocité est susceptible d'avoir impacté fortement les réponses physiologiques en fonction des types d'environnements.

### ► Caractérisation de la dynamique de croissance racinaire

Les analyses réalisées à partir des données acquises à l'aide des mini-rhizotrons semblent montrer des comportements contrastés entre variétés et entre essais. A ce stade, il est difficile d'en tirer des conclusions robustes du fait du nombre réduit d'essai et de variétés mais également du faible échantillonnage intra-parcellaire (un seul tube avait été mis en place dans chaque parcelle). Par ailleurs, il semble difficile d'interpréter ces résultats sans tenir compte de l'effet de la précocité sur la croissance racinaire. Il apparaît donc nécessaire de mieux prendre en compte la phénologie mais aussi de tenir compte d'autres facteurs afin de mieux comprendre l'intérêt de ce type de

données pour étudier les caractères racinaires associés à la tolérance au stress hydrique dans ce contexte.

### ► **Caractérisation de la tolérance au stress hydrique par inversion d'un modèle de culture**

Les conditions de réalisation de l'inversion du modèle de culture CHN à l'aide d'essais menés au champ comprend une intensité en mesures plantes élevée par variété (mesures répétées de LAI, prélèvement pour mesure de biomasse, détermination du stade épi 1cm). Ce n'est donc pas une méthode qui pourrait être appliquée à de larges panels variétaux. D'ailleurs, 3 à 4 des 11 essais du panel 10 n'ont pas pu être utilisés pour réaliser l'inversion à cause d'un problème de données disponibles, ce qui est révélateur de l'exigence en mesures que cette méthode requiert.

Les résultats obtenus dans cette étude montrent que cette méthode, bien que prometteuse, est en l'état insuffisamment précise pour distinguer des variétés au comportement contrasté au sein d'un essai. Cela pourrait venir des nombreuses sources d'incertitudes auxquelles elle est liée : elle combine plusieurs types de mesures individuellement entachées d'erreur, à cela s'ajoute l'incertitude venant du modèle de culture lui-même, et enfin la variabilité environnementale intra-essai. Il faudra donc largement perfectionner cette méthode et un tel modèle de culture avant d'obtenir des résultats suffisamment précis. Etant donné l'imprécision actuelle de cette méthode, il n'est pas étonnant de ne pas pouvoir conclure quant à la stabilité des paramètres variétaux obtenus à l'échelle du réseau d'essai. Une perspective d'amélioration est la caractérisation environnementale fine des caractéristiques hydriques du sol, à l'échelle de la microparcelle, grâce à des méthodes de cartographie par résistivité mises en œuvre sur le site de Gréoux par exemple. Etant donnée qu'une partie de l'incertitude vient de la variabilité environnementale liée au sol au sein d'un essai, avoir la capacité de tenir compte de cette variabilité permettra sans doute un gain de précision.

L'intérêt d'un paramétrage variétal par rapport à un paramétrage de l'espèce afin de réaliser des prédictions à l'aide du modèle CHN dans de nouveaux environnements n'a pas pu être établi ici. Cependant, une des limites de cette étude vient du fait que seule la variété Anvergur est commune au réseau panel 10 et à la base de données indépendante utilisée pour comparer les deux modalités de paramétrage. Il aurait fallu pouvoir comparer les deux modalités de paramétrage avec d'autres variétés pour conclure plus largement. De plus, il se trouve que les paramètres établis pour l'espèce ont été obtenus sur une base de données beaucoup plus massive que celle du panel 10, et qu'elle comporte une majorité de situations avec la variété Anvergur : il faudrait pouvoir comparer un paramétrage variétal avec un paramétrage pour l'espèce obtenu avec une variété présente non-majoritairement dans la base de données utilisée pour paramétrer l'espèce.

### ► **Impact de la dynamique de sénescence sur la tolérance au stress hydrique**

Les résultats obtenus dans cette étude ne semblent pas totalement conclusifs. En effet, des corrélations positives entre sénescence retardée et poids de mille grains ont pu être observées dans un grand nombre

d'essais, aussi bien en condition irriguée qu'en condition pluvial. Néanmoins, ces corrélations se sont rarement traduites par des effets sur le rendement en grains. Dans ce réseau, il semble que la variable la plus importante pour l'explication des différences de rendement était le nombre de grains par mètre carré et que le poids de mille grains a joué un rôle marginal dans les variations de rendement observées. Par ailleurs, malgré un ajustement du modèle logistique sur des données converties en temps thermique depuis épiaison, des corrélations persistent entre phénologie et date de sénescence. Il semble donc nécessaire de mieux tenir compte de ces facteurs afin de mettre en évidence le poids du caractère « stay-green » dans la tolérance au stress et les performances des variétés.

### ► **Phénotypage en conditions contrôlées pour le stress thermique**

Rétrospectivement, cette expérimentation en conditions contrôlée présentait des biais majeurs qui peuvent expliquer au moins en partie le fait que l'on ne retrouve pas les effets attendus du stress forte températures :

- Des effets de bordure important ont été observés au sein d'un même pot, ces effets ne pouvant être contrôlés avec le plan expérimental mis en place
- L'utilisation d'une date de floraison moyenne sur 13 plants pour déterminer les dates de prélèvement. Cela a pu induire d'importantes différences de stade de développement entre les plantes prélevées à une même date

Pour de futures expérimentations de ce type et pour contrôler ces biais, il apparaît nécessaire

- De mettre en place des pots en bordure de l'essai pour réduire les effets de bordure.
- De mettre en place une plante par pot et de réaliser un suivi du développement pour chaque plante.

### ► **Génétique d'association et prédiction génomique**

Les résultats de génétique d'association ont montré quelques QTL potentiellement intéressants pour la stabilité du rendement et de ses composants. Ceux-ci restent à valider sur des données indépendantes. Les capacités prédictives des modèles de prédiction génomique pour les paramètres de stabilité du rendement et de ses composants se sont avérées décevantes. Il semble que ce type d'approche ne permette pas de prédire avec précision la stabilité des variétés. Néanmoins, ces résultats sont probablement biaisés du fait de la distance génétique entre le panel de calibration et le panel utilisés dans ce projet.

## ► **CONCLUSION**

Le projet DUROSTRESS a permis de générer une grande quantité de données de phénotypage dans des conditions très contrastées en termes de stress hydrique et thermique. La très grande variabilité des rendements en grains observés dans ce réseau d'essai témoigne de la grande variété de situations rencontrées. Les efforts d'envirotypage à l'aide d'indicateurs simulés et par l'analyse isotopique du carbone se sont avérés convergents et ont permis de classer les essais en scénarios de stress hydriques. Un indicateur basé sur les températures maximales journalières a également

permis dans une première approche de définir différents scénarios de stress thermique. Les résultats indiquent néanmoins que ces données ne permettent pas de paramétrer un modèle de culture de manière fiable afin de classer les variétés en fonction de leur tolérance au stress hydrique. Les résultats montrent un lien entre sénescence retardée et augmentation du poids de mille grains dans la moitié des essais environ mais peu de corrélations avec le rendement en grains. Des corrélations ont également été observées entre densité de longeur racinaire et rendement en grains mais nécessitent d'être confortées sur un plus grand nombre de situations. Les

confusions d'effet dus aux différences de phénologie des variétés nécessitent d'être mieux prises en compte dans l'analyse des données.

## REMERCIEMENTS

Nous remercions l'ensemble des collaborateurs de tous les partenaires qui ont contribué à ce projet dans l'acquisition des données expérimentales et dans l'analyse des résultats. Nous remercions vivement le FSOV et son comité d'engagement pour le financement du projet DURSOTRESS.

## Références bibliographiques

**Butler EE, Huybers P** (2015) Variations in the sensitivity of US maize yield to extreme temperatures by region and growth phase. *Environ Res Lett* 10:034009. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/10/3/034009>

**Finlay KW, Wilkinson GN** (1963) The analysis of adaptation in a plant-breeding programme. *Aust J Agric Res* 14:742-754. <https://doi.org/10.1071/ar9630742>

**Piquemal B, De Solan B, Jézéquel S, Moulin O, Camous M, Thomas S, Beauchêne K, Cohan J.P.** (2018) Crop Model

Inversion in Field High Throughput Phenotyping Tool: First Results and Perspectives in Breeding and Commercial Wheat Varieties Characterization, 5th International Plant Phenotyping Symposium, Adelaide, Australia.

**Prasad PVV, Djanaguiraman M, Prasad PVV, Djanaguiraman M** (2014) Response of floret fertility and individual grain weight of wheat to high temperature stress: sensitive stages and thresholds for temperature and duration. *Functional Plant Biol* 41:1261-1269. <https://doi.org/10.1071/FP14061>

## ANNEXES

## TÉLÉCHARGER LE POSTER

## PHEDRE : PHEnotypage de la Durée du REmplissage du grain

Jean-Charles DESWARTE<sup>1</sup>, Christine GIROUSSE<sup>2</sup>, Guillaume BARRAL-BARON<sup>3</sup>, Gemma MOLERO<sup>3</sup>, Sylvie DUTRIEZ<sup>4</sup>, Stéphanie THEPOT<sup>5</sup>, Guillaume MELOUX<sup>5</sup>, Julien RATET<sup>6</sup>, Sébastien CUVELIER<sup>6</sup>, Pascal GIRAUDEAU<sup>7</sup>, Romain LAMERAND<sup>7</sup>, Auberi AVALLE<sup>8</sup>, Guillaume ROULLET<sup>8</sup>, Pierrick VARENNE<sup>9</sup>, Anne-Valérie DUMAS<sup>9</sup>, Romain DELEMME<sup>10</sup>, Anne-Charlotte LOMBARD<sup>10</sup>, Thierry MOITTIE<sup>11</sup>

1 - ARVALIS - Station de Villiers-le-Bâcle - ZA des Graviers, Route de Châteaufort, 91190 Villiers-le-Bâcle

2 - INRAE UMR INRAE/UCA 1095 Génétique, Diversité et Ecophysiologie des Céréales- Site de Crouel, 5 chemin de Beaulieu, 63000 Clermont-Ferrand

3 - KWS-MOMONT - 7 Rue de Martinval, 59246 Mons-en-Pevele

4 - LIDEA - 24 Rue Saint-Pierre, 28150 Reclainville

5 - BASF France SAS - Ferme du Paly, 91490 Milly-la-Forêt

6 - DSV France - 34 Rue de Charette, 28140 Terminiers

7 - SECOBRA Recherches - Le Bois Henry, 78580 Maule

8 - UNISIGMA - 2 Rue du Petit Sorri, 60480 Froissy

9 - LIMAGRAIN Europe - Ferme de l'Étang, 77390 Verneuil-l'Étang

10 - LEMAIRE-DEFFONTAINES SAS - 180 Rue du Rossignol, 59310 Auchy-les-Orchies

11 - ASUR PLANT BREEDING - Pôle Végétal de la Plaine d'Estrées, 6 Rue du Jeu d'Arc, 60190 Estrees-Saint-Denis

\***Coordinateur du projet** : Jean-Charles DESWARTE, [jc.deswarte@arvalis.fr](mailto:jc.deswarte@arvalis.fr)

### INTRODUCTION

La phase de remplissage du grain correspond à la finalisation de la constitution du rendement : elle conditionne le poids final des grains et la quantité et la nature des protéines. Elle correspond essentiellement à une période de transfert d'assimilats des parties aériennes (assimilats néoformés ou remobilisation de réserves) vers les grains en formation. Cette accumulation dans les grains est influencée par la vitesse de transfert (en mg par unité de temps calendaire ou thermique), et la durée de ce transfert ; la combinaison des deux permet de définir le poids final d'un grain (Mou and Kronstad, 1994; Fischer, 2011). Ces deux variables sont impactées par des facteurs génétiques et environnementaux.

Les fortes températures causeraient une diminution de la durée de remplissage (Sofield *et al.*, 1977, Wiegand & Cuellar, 1981, Nasehzadeh & Ellis 2017, Baillot, 2019, Girusse *et al.*, 2021) et de l'accumulation de masse des grains (Ullah *et al.*, 2022). Une étude de Wiegand & Cuellar (1981) a démontré qu'une hausse de 1°C/jour pendant le remplissage pouvait causer jusqu'à une diminution de 3 jours de la durée de remplissage. Le manque d'eau peut également causer une diminution de la durée de remplissage comme l'ont mis en évidence Abdoli *et al.* (2016). Ces conditions climatiques peuvent provoquer en même temps une hausse de la vitesse de remplissage qui compense rarement la réduction de la durée (Baillot, 2019).

Les travaux qui ont porté sur ces paramètres mentionnent cependant l'existence d'une variabilité génétique (Robert *et al.*, 2002; Charmet *et al.*, 2005; Kamaluddin *et al.*, 2007; Clarke *et al.*, 2012), variabilité supérieure pour la vitesse de croissance que pour la durée.

Face aux stress climatiques de fin de cycle, des stratégies d'esquive doivent permettre de limiter les conséquences néfastes et de sécuriser le rendement (Slafer and Whitechurch, 2001). Ces stratégies sont le plus souvent élaborées autour du positionnement de la floraison, en cherchant à moduler la durée des

phases précédentes. La notation aisée de l'épiaison, et dans une moindre mesure de la floraison, ont permis de décrire finement le déterminisme de la phénologie des céréales à paille, jusqu'à l'établissement de modèles phénologiques prédictifs (Jamieson *et al.*, 1998; Brisson *et al.*, 2003), d'identification de QTLs et de gènes impliqués, et par la suite de prédictions génomiques qui conduisent à une réflexion totalement intégrée de la combinaison génomique permettant un calage du cycle minimisant les risques climatiques (Bogard *et al.*, 2021).

Il est néanmoins nécessaire de remarquer que la variabilité de durée de la dernière phase du cycle est assez peu exploitée.

L'enjeu en termes de jours d'activité de cette variabilité supplémentaire est relativement réduit, mais il intervient lors d'une période climatique présentant des forts rayonnements, mais aussi des aléas intenses et potentiellement préjudiciables. Il pourrait donc constituer un levier supplémentaire d'adaptation au milieu, soit en visant un arrêt rapide dans les situations à risque élevé de stress, ou à l'opposé en permettant un métabolisme prolongé lorsque les conditions sont favorables (Semenov and Stratonovitch, 2013). La dynamique de remplissage est d'ailleurs un argument régulièrement mis en avant par les acteurs du développement en faveur de certaines variétés, sans que les méthodes d'évaluation ne soient partagées entre acteurs de la filière, ni que les enjeux ne soient parfaitement quantifiés et objectivés.

La mesure des paramètres du remplissage des grains (vitesse de croissance et durée de remplissage) est fastidieuse et destructive : elle consiste à prélever à pas de temps régulier des grains pour en mesurer la masse sèche. La cinétique peut dès lors être décrite par une courbe en S (parfois simplifiée en relation linéaire + plateau) dont les paramètres de durée et de vitesse de remplissage peuvent être extraits (Darroch and Baker, 1990). D'autres indicateurs de la maturité physiologique sont indiqués dans la littérature : indicateurs de couleur des grains ou des pédoncules, ou de texture des grains (Tottman, 1987; Pask, 2012). Cependant, ils traduisent

dans les faits des mécanismes distincts dont les corrélations peuvent être dégradées par les conditions de milieu. Ainsi, l'analyse des paramètres de durée et de vitesse de remplissage est délicate sur de grands nombres de modalités.

Le maintien du métabolisme de la plante pendant le remplissage peut alternativement être monitoré par télédétection, en suivant la dynamique de sénescence des feuilles. Il est notamment avancé que certaines variétés s'avèrent plus aptes à retarder le début de la sénescence (dites « stay green », SG), se traduisant par un gain de rendement (Silva *et al.*, 2001; Farooq *et al.*, 2011; Christopher *et al.*, 2018). Cependant, le lien entre la sénescence du couvert et le remplissage des grains peut être questionné, tant du point de vue de la variabilité génétique que des effets de l'environnement.

De nombreuses études montrent que les variétés SG permettent d'obtenir un meilleur rendement que ce soit en conditions contrôlées sous serre ou en essai au champ, avec des stress abiotiques ou non (Spano, 2003; Luo *et al.*, 2006; Chen *et al.*, 2010; Christopher *et al.*, 2014, 2016; Pinto *et al.*, 2016; Moraga *et al.*, 2022).

En l'absence de stress, l'étude de Lopes and Reynolds (2012) montre une absence de différence de rendement entre des variétés SG et des variétés témoins alors que le rendement du SG était supérieur au témoin en présence de stress thermiques. Cette différence pourrait être due à une limitation de l'effet puits du grain (Fahy *et al.*, 2018).

Aujourd'hui, les avancées techniques de phénotypage au champ permettent de caractériser finement la dynamique de sénescence des couverts (Gouache *et al.*, 2016; Chapman *et al.*, 2018). Ces méthodes présentent deux intérêts principaux. Elles sont rapides et non destructives et donc permettent de suivre facilement une dynamique d'état du couvert. De plus, elles permettent d'obtenir différents indices multispectraux en fonction de la mesure réalisée. Les valeurs NDVI (Jiang *et al.*, 2003) sont modélisées pour obtenir des paramètres qui servent à étudier les différences variétales de cinétiques de la sénescence. La méthode de modélisation la plus courante consiste à utiliser une régression logistique (Christopher *et al.*, 2014). Cette méthode semble être la plus adaptée pour décrire les cinétiques de sénescence en présence ou absence de stress (Pinto *et al.*, 2016).

L'hypothèse portée dans ce projet est que la durée de remplissage (définie arbitrairement entre le début de la floraison Z61, ou plus simplement depuis la mi-épiaison Z55, et le stade de maturité physiologique Z89) impacte la performance de la variété (Dias and Lidon, 2009) en limitant l'exposition aux stress de fin de cycle, mais aussi en agissant sur sa capacité à étendre la durée du cycle et ainsi sur son aptitude à cumuler tardivement de la biomasse. Cependant, la détermination au champ du stade de maturité physiologique est longue et destructive (prélèvement séquentiel de grains pour mesurer leur masse) (Darroch and Baker, 1990; Panozzo and Eagles, 1999). Ainsi, l'existence d'une corrélation entre la cinétique de remplissage des grains et la cinétique de sénescence de la canopée permettrait d'explorer puis d'exploiter la variabilité génétique de la durée d'activité en fin de cycle afin d'aboutir à un calage phénologique optimal.

## MATÉRIEL ET MÉTHODE

4 ensembles expérimentaux distincts ont été mobilisés pour répondre aux questions soulevées dans le projet PHEDRE :

1. Un premier screening variétal de 30 variétés modernes, suivies par NDVI pour évaluer les différences variétales de cinétique de sénescence
2. Un réseau d'essais aux conditions environnementales contrastées pour établir un lien entre caractéristiques de remplissage des grains et cinétique de sénescence de la canopée
3. Un réseau-observatoire monovariétal de suivi des dynamiques de remplissage pour évaluer l'ampleur des effets environnementaux sur la dynamique de remplissage des grains
4. Un essai portant sur un panel variétal élargi (177 variétés), conduit en situations irriguée et pluviale, avec déploiement de phénotypage haut-débit de la canopée et mesure du rendement final, pour mesurer l'impact sur le rendement des variations de dynamique de sénescence.

### ► Screening variétal préliminaire

30 variétés commerciales récentes ont été mises en essais dans 9 sites expérimentaux, constitués de microparcelles (env. 5m<sup>2</sup>) répétées (2 blocs).

L'itinéraire technique appliqué était conforme aux pratiques expérimentales habituelles pour les dates et densités de semis, et pour la protection sanitaire. La fertilisation azotée a été conduite à un niveau sub-optimal (X-80 ou 2/3X) sur la fin de cycle de manière à exacerber la sénescence du couvert.

Les observations et mesures réalisées étaient : le stade Z55, le rendement final et des acquisitions successives du NDVI parcellaire (drone ou Greenseeker) entre floraison et maturité.

Les données de NDVI ont été utilisées pour ajuster un modèle de type logistique comme décrit par Moraga *et al.* (2022), à l'échelle de la parcelle, en fonction du temps thermique (°C, base 0°C) depuis l'épiaison.

$$NDVI = N_f + \frac{N_{max} - N_f}{1 + e^{-\left(\frac{t - TFN_{50}}{SR}\right)}}$$

Le paramètre TFN<sub>50</sub> (exprimé en °Cj depuis l'épiaison) est retenu comme un indicateur de précocité de la sénescence.

Les paramètres ajustés issus des dynamiques parcellaires ont été analysés pour identifier les facteurs (essai ou variété) significatifs.

Les effets variétaux ont ensuite fait l'objet d'une analyse de corrélation, et d'une classification ascendante hiérarchique basée sur les paramètres les plus significatifs et discriminants.

### ► Réseau d'essais de comparaison des cinétiques de remplissage des grains et de sénescence de la canopée

6 variétés issues du screening variétal préliminaire et contrastées pour leur cinétique de sénescence et leur précocité à épiaison ont été testées dans 11 environnements

distincts (4 sites mobilisés sur 1 à 2 années, regroupant éventuellement des conduites contrastées) : la date de semis, la fertilisation azotée ou l'alimentation hydrique ont été modulées pour générer des conditions optimales ou stressantes. Chaque essai était constitué de 3 blocs, et chaque microparcelle était dédoublée pour permettre des observations non destructives d'une part et des prélèvements destructifs d'autre part.

La cinétique de sénescence a été établie à partir de mesures NDVI obtenues par Greenseeker, drone ou arche de phénotypage ; les données mesurées ont été utilisées pour ajuster un modèle dynamique du NDVI en fonction du temps, de la variété et de l'environnement, comme indiqué en 2.1. Les effets variétaux et environnementaux sur les paramètres de cinétique ont été analysés par Anova.

Parallèlement, la dynamique de remplissage des grains a été établie de la manière suivante : à 5 dates entre Z55+550°C et Z55+1000°C environ, 3 placettes de 50 épis par parcelle ont été prélevés et battus. Les grains ont été comptés et pesés après séchage pour déterminer un Poids de Mille Grains à chaque date. La cinétique de remplissage des grains a été ensuite modélisée à partir des PMG mesurés à l'aide d'un modèle de type logistique proposé par Darroch and Baker (1990) :

$$PMG(t) = \frac{PMG_{final}}{1+e^{-(B-Ct)}}$$

Par convention, compte-tenu de la forme asymptotique de la cinétique, la date d'arrêt du remplissage des grains est estimée lorsque 95% du PMG final est atteint. Les effets variétaux et environnementaux sur les paramètres de cinétique ont été analysés par Anova.

Pour finir, des corrélations linéaires ont été recherchées entre paramètres de sénescence et de remplissage.

### ► Observatoire monovariétal pluriannuel : effets environnementaux sur les paramètres de remplissage des grains

Les données des observatoires Ecophysiologie d'Arvalis ont été mobilisées pour évaluer la variabilité environnementale des paramètres de remplissage des grains, et les facteurs explicatifs ou corrélatifs. La variété Rubisko a été expérimentée dans 172 situations entre 2014 et 2022 dans 34 sites distincts. Les mesures réalisées correspondaient à un suivi du développement (Z10, Z30 et Z55), de la biomasse aérienne (Z30, Z37, Z65 et Z89), du statut azoté INN (Z30, Z37, Z65, teneurs en azote grain et paille à Z89), de l'élaboration du rendement (tallage à Z30, densité d'épis, fertilité, PMG à la récolte, dynamique de PMG courant remplissage).

Les données de cinétique de remplissage des grains ont été modélisées selon Darroch et Baker (1990). Les paramètres moyens par situation ont été extraits et analysés (distribution) ; ils ont fait l'objet d'une classification ascendante hiérarchique pour identifier des trajectoires-types de remplissage des grains. Celles-ci ont été décrites à l'aide de variables environnementales (températures, rayonnements, etc) ou d'état (indice de récolte, état à floraison, etc). Les variables les plus discriminantes ont été identifiées par des tests de Kruskal-Wallis et de comparaison multiples entre classes.

### ► Essai de validation sur panel variétal élargi

Un essai issu du réseau Breedwheat conduit en 2016 sur le site de Gréoux-les-Bains (04) a été réanalysé pour les besoins du projet : les acquisitions de phénotypage à haut débit (Phénomobile® ; 8 acquisitions entre fin montaison et récolte) ont été réanalysées pour produire des valeurs de NDVI à la parcelle, pour un panel de 177 variétés commerciales, conduites en 2 conditions distinctes : irriguée et pluviale.

L'essai consistait en un dispositif en blocs incomplets avec des témoins répétés. Chaque variété était donc présente 2 à 3 fois dans chaque environnement. La conduite culturale était standard, à l'exception de l'alimentation hydrique : la modalité irriguée a été pilotée à l'aide de la méthode Irrinov® (5 apports de 35mm chacun, entre Z30 et Z69), tandis que la modalité pluviale n'a reçu aucun apport d'eau complémentaire.

Les données collectées à la parcelle étaient : la date d'épiaison, la valeur du NDVI, le rendement grain à la récolte (récolte mécanique). Les cinétiques de sénescence ont été ajustées à la parcelle comme indiqué en 2.1. En modalité pluviale, les paramètres estimés ont été corrigés des effets de sols à l'aide d'un bilan hydrique spatialisé. Les valeurs moyennes variétales (paramètres de sénescence, rendement) ont été estimées à l'aide d'un modèle mixte intégrant le dispositif expérimental incomplet. Les corrélations linéaires entre paramètres variétaux (paramètres de sénescence, précocité, rendement, sensibilité du rendement au stress hydrique) ont été établies. Deux variétés présentes dans ce panel (Rubisko, Arkeos) étaient également présentes dans la liste variétale de screening préliminaire, et dans le réseau d'essais de comparaison des cinétiques de remplissage des grains et de sénescence de la canopée.

## ► RÉSULTATS

### ► Screening variétal multisite

Parmi les 9 essais mobilisés pour réaliser un screening variétal, les périodes d'acquisitions de valeurs NDVI ont été contrastées. En particulier, certains suivis ont débuté tardivement, ou au contraire ont cessé trop tôt. En particulier, l'essai Lidéa de Reclainville a stoppé son suivi dès Z55+670°C (stade moyen sur l'essai), alors que le NDVI n'avait pas terminé sa décroissance. Ce suivi incomplet conduit à des estimations très imprécises et atypiques des paramètres de cinétique. Pour cette raison, cet essai a été écarté de l'analyse.

Sur la base des 8 essais retenus, un modèle emboîté permet de démontrer que les facteurs Essai, Bloc et Variété sont significatifs. Ce modèle présente de bonnes qualités d'ajustement aux données : Biais=-0.03, RMSE=0.11, Efficience=0.8. Les paramètres  $N_f$ ,  $TFN_{50}$  et SR présentent des différences variétales significatives, à la différence du paramètre  $N_{max}$  (le NDVI sature aisément sur des couverts denses observés autour de l'épiaison ou de la floraison). Cependant, le paramètre  $N_f$  semble mal estimé lorsque les suivis par capteur sont interrompus trop tôt (cas des essais KWS-Momont, Lemaire-Deffontaines, Secobra).

Les paramètres de sénescence de la canopée ne sont pas forcément bien corrélés. En particulier, le  $TFN_{50}$

et le SR ne sont pas corrélés entre eux ( $r=-0.1$ ), ce qui signifie que la précocité de la sénescence n'est pas forcément liée à la vitesse de sénescence. Par contre, ces 2 paramètres  $TFN_{50}$  et SR sont négativement corrélés à la précocité à épiaison : les variétés précoces à épiaison ont en tendance une sénescence retardée ( $r=-0.66$ ) et plus brutale ( $r=-0.54$ ).

Le panel variétal est étudié en réalisant une typologie (classification ascendante hiérarchique) sur la base des paramètres  $TFN_{50}$  et SR. 4 classes ont été ainsi définies. Ceci permet ainsi de catégoriser les 30 variétés selon une typologie décrivant conjointement la précocité ( $TFN_{50}$ ) et la vitesse (SR) de sénescence (fig 1).

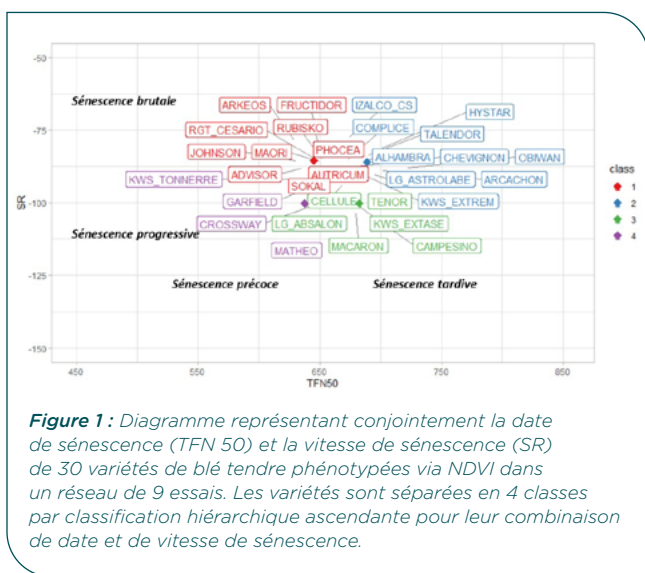


Figure 1 : Diagramme représentant conjointement la date de sénescence ( $TFN_{50}$ ) et la vitesse de sénescence (SR) de 30 variétés de blé tendre phénotypées via NDVI dans un réseau de 9 essais. Les variétés sont séparées en 4 classes par classification hiérarchique ascendante pour leur combinaison de date et de vitesse de sénescence.

Une analyse de sensibilité de l'estimation des paramètres de sénescence a été réalisée pour évaluer le nombre d'acquisitions requises et leur positionnement temporel. Compte-tenu du nombre de paramètres à estimer, de la forme asymptotique de la courbe, et de la variabilité phénologique entre variétés dans ces essais, 8 acquisitions de phénotypage haut-débit, réparties de manière homogène au cours de la sénescence semblent être nécessaires.

Les variétés Arkeos, Advisor, Rubisko, Chevignon, KWS Extase et Obiwan ont été retenues à la suite de cette tâche, pour fournir la typologie suivante (fig 2) :

► Réseau d'essais de comparaison des cinétiques de remplissage des grains et de sénescence de la canopée

Compte-tenu de conditions stressantes (stress hydrique) générant de l'hétérogénéité à l'échelle métrique, 2 environnements parmi les 11 n'ont pas pu être suivis pour la cinétique de remplissage des grains. Ainsi, au final, 9 environnements contrastés (rendements moyens s'échelonnant de 47 à 139 q/ha) ont pu être analysés pour les

	Précocité de Sénescence ( $TFN_{50}$ )		
Précocité épiaison	Précoce	Intermédiaire	Tardive
Plutôt précoce (7-7.5)	Arkeos		Obiwan
Intermédiaire (6.5)		Rubisko	
Plutôt tardive (6-6.5)	Advisor	Chevignon	KWS Extase

Figure 2 : tableau positionnant les variétés retenues en fonction de leur précocité à épiaison et leur précocité de sénescence.

cinétiques de remplissage et 11 pour les cinétiques de NDVI. L'analyse statistique des cinétiques de croissance des grains indique que l'estimation de la vitesse de remplissage est très bruitée, masquant tout effet variétal. Par contre, pour la durée de remplissage et le PMG final, l'analyse de variance indique un effet majeur de l'environnement, un effet variétal mineur mais significatif (fig 3), et une interaction G\*E forte pour la durée. Le classement s'avère en effet variable entre essais.

Concernant la cinétique de sénescence, l'effet environnemental est nettement dominant, et l'effet variétal est faible ( $TFN_{50}$ ) ou non significatif (SR,  $N_{max}$ ,  $N_{final}$ ). L'interaction G\*E est élevée pour SR. En analyse globale sur le réseau, le classement variétal observé pour le  $TFN_{50}$  (fig 4) est cohérent avec celui observé dans le réseau de screening initial. Les valeurs absolues des valeurs de  $TFN_{50}$  présentent également une amplitude plus forte dans ce réseau d'essais que lors du screening variétal, sans doute en lien avec des conditions de croissance très fortement extrémisées.

Les valeurs de  $TFN_{50}$  dans un environnement donné sont inférieures à celles de durée de remplissage, ce qui

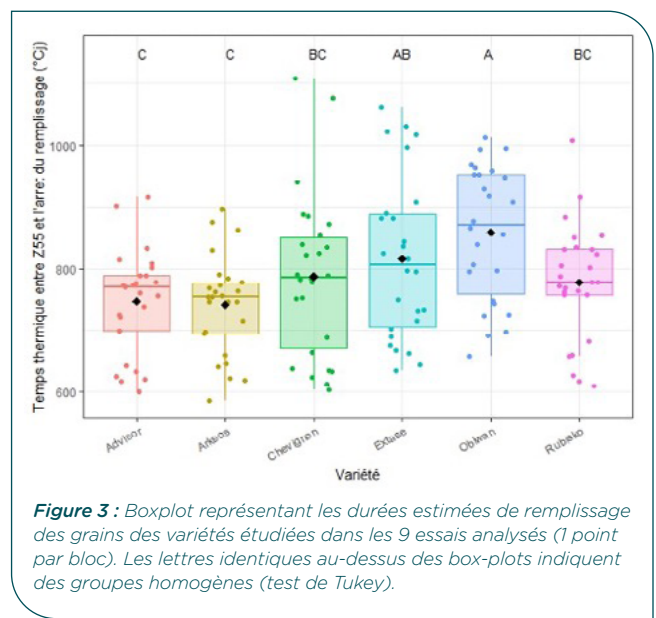


Figure 3 : Boxplot représentant les durées estimées de remplissage des grains des variétés étudiées dans les 9 essais analysés (1 point par bloc). Les lettres identiques au-dessus des box-plots indiquent des groupes homogènes (test de Tukey).

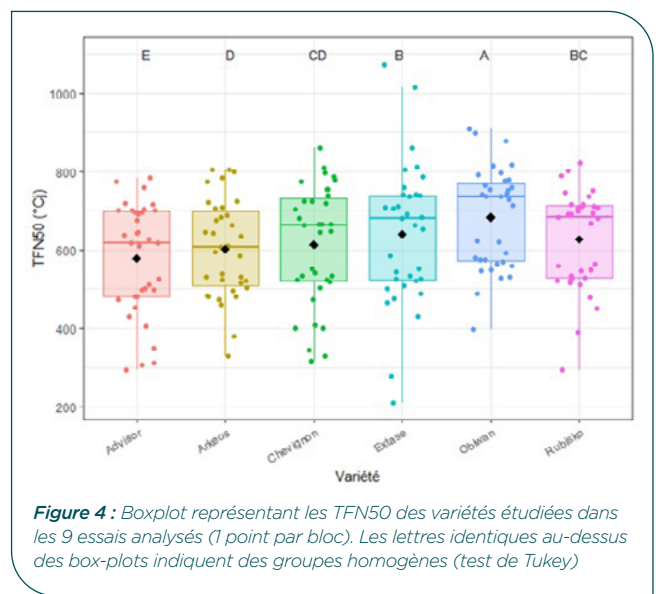
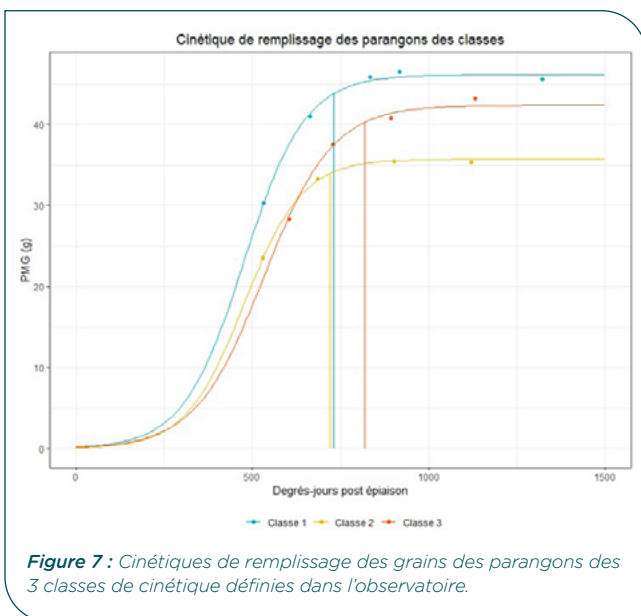
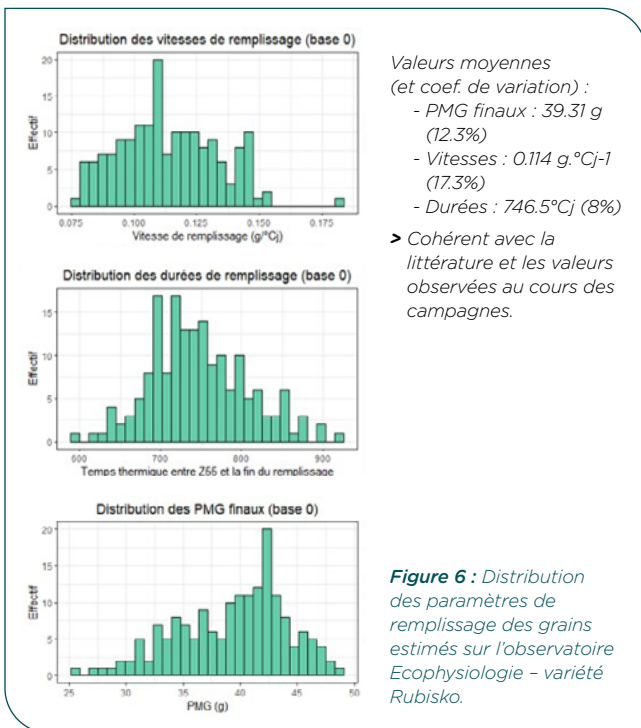
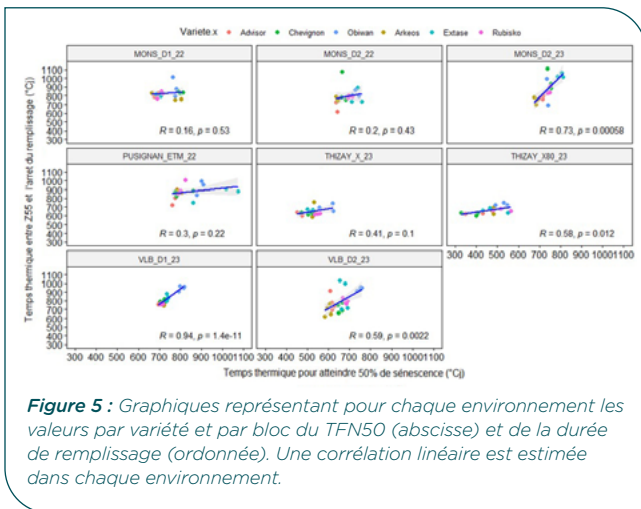


Figure 4 : Boxplot représentant les  $TFN_{50}$  des variétés étudiées dans les 9 essais analysés (1 point par bloc). Les lettres identiques au-dessus des box-plots indiquent des groupes homogènes (test de Tukey).



indique que la sénescence est bien antérieure à l'arrêt du remplissage.

Les moyennes variétales ajustées pour la date d'arrêt du remplissage et pour le TFN<sub>50</sub> sont fortement corrélées ( $r=0.94$ ). Par contre, à l'échelle de l'essai et des blocs, les corrélations ne s'avèrent pas systématiquement significatives (fig 5) ; en particulier, les essais de 2022 présentent plus de bruit sur l'estimation variétale de la date d'arrêt du remplissage.

L'effet variétal sur le rendement a été évalué dans le réseau d'essais : il est significatif ( $p$  value  $<0.01$ ) ; les effets Environnement et Variété\*Environnement sont encore plus marqués et significatifs ( $p$  value  $<0.001$ ). Cette forte interaction V\*E, concrétisée par des inversions complètes de classements variétaux entre essais, et des moyennes générales peu différenciées, ne permet pas d'établir un lien entre les caractéristiques de durée de remplissage ou de maintien de la surface verte et la performance d'une variété.

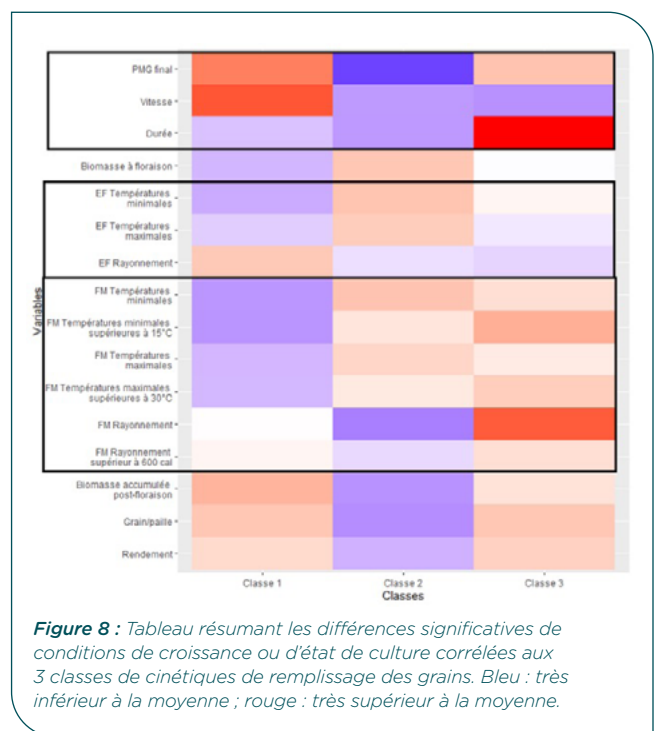
Enfin, il n'y a pas de lien évident entre la durée de remplissage et/ou l'inflexion de la sénescence et la précocité à épiaison des variétés : dans le cas de cette expérimentation, Obiwan (précoce à épiaison) tout comme KWS Extase (plutôt tardif à épiaison) présentent un remplissage long et une sénescence retardée.

► **Observatoire monovariétal pluriannuel : effets environnementaux sur les paramètres de remplissage des grains**

Les dynamiques de remplissage modélisées présentent une forte variabilité de paramètres, qu'il s'agisse de durée ou de vitesse de remplissage, aboutissant in fine à des PMG finaux très contrastés (fig 6).

L'étape de classification des cinétiques a conduit à définir 3 situations distinctes (fig 23) :

- Classe 1 (61 environnements) : PMG finaux et vitesses élevées, durées classiques.
- Classe 2 (66 environnements) : PMG finaux faibles, vitesses et durées classiques.
- Classe 3 (45 environnements) : PMG finaux plutôt élevés, vitesses classiques et longues durées de remplissage.



Le tableau ci-dessous (fig. 8) résume les caractéristiques discriminantes entre les classes de remplissage (seules les variables discriminantes sont référencées).

Ces analyses permettent donc de mettre en évidence l'effet de l'environnement sur le remplissage à variété constante : sa durée, sa vitesse, et au final le PMG. On constate notamment que l'effet de l'environnement est marqué, avec des variations sur les durées et/ou vitesses de remplissage, mais qu'il existe une diversité de scénarii pour établir le PMG final.

### ► Essai de validation sur panel variétal élargi

Dans un premier temps, les cinétiques de sénescence ont été établies uniquement sur la modalité irriguée, pour éviter tout biais potentiel lié aux hétérogénéités du terrain provoquant des niveaux de stress hydriques contrastés.

L'analyse met en évidence un effet variétal significatif au sein de l'environnement irrigué : on observe bien une variabilité pour  $N_{max}$ , SR comme pour  $TFN_{50}$ . Pour ces 3 paramètres, la gamme des valeurs observées dépasse les valeurs de nos variétés de référence Arkeos et Rubisko (Arkeos ayant des valeurs faibles, moyennes et faibles respectivement pour  $N_{max}$ , SR et  $TFN_{50}$ , alors qu'elles sont élevées/moyennes/élevées pour Rubisko, pour les 3 mêmes critères) (fig 9).

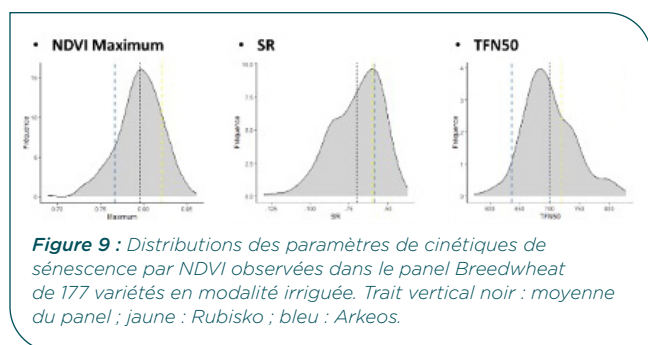


Figure 9 : Distributions des paramètres de cinétiques de sénescence par NDVI observées dans le panel Breedwheat de 177 variétés en modalité irriguée. Trait vertical noir : moyenne du panel ; jaune : Rubisko ; bleu : Arkeos.

On peut noter une corrélation significative ( $r=-0.50$ ) entre la date d'épiaison et la vitesse de sénescence (SR), tout comme entre la précocité de sénescence ( $TFN_{50}$ ) et la vitesse de sénescence SR ( $r=-0.42$ ) ; par contre, il n'y a pas de corrélation entre la date d'épiaison et  $TFN_{50}$  ( $r=-0.12$ ).

Le stress hydrique s'est effectivement exprimé sur l'essai en conduite non irriguée, avec une intensité modérée : la perte de rendement est de l'ordre de 20 q/ha (97 q/ha en conduite irriguée, 78 en pluviale). Ce stress hydrique, exprimé dès la fin de la montaison, affecte la dynamique de sénescence (fig 10) :  $N_{max}$  moins élevé, SR plus faible,  $TFN_{50}$  plus précoce, ce qui est conforme à l'effet attendu d'un stress hydrique sur la canopée.

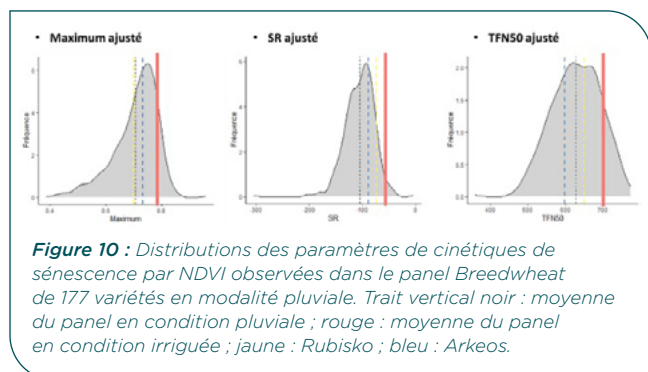


Figure 10 : Distributions des paramètres de cinétiques de sénescence par NDVI observées dans le panel Breedwheat de 177 variétés en modalité pluviale. Trait vertical noir : moyenne du panel en condition pluviale ; rouge : moyenne du panel en condition irriguée ; jaune : Rubisko ; bleu : Arkeos.

L'analyse des corrélations entre moyennes variétales pour le rendement et les critères de sénescence (en distinguant les environnements Pluvial et Irrigué) indiquent des relations significatives entre performance et sénescence de la canopée (fig 11) : les rendements élevés (en pluvial comme en irrigué) correspondent à des couverts denses ( $N_{max}$  élevé), avec une sénescence tardive ( $TFN_{50}$  élevé) et progressive (SR faible).

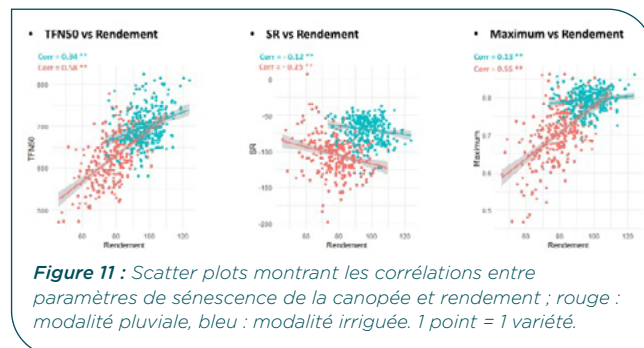


Figure 11 : Scatter plots montrant les corrélations entre paramètres de sénescence de la canopée et rendement ; rouge : modalité pluviale, bleu : modalité irriguée. 1 point = 1 variété.

## ► DISCUSSION

### ► Des différentes variétales significatives observées pour la cinétique de sénescence de la canopée

Un réseau d'essais multisite (9 essais) comparant 30 variétés a validé un effet variétal significatif sur les paramètres de sénescence ( $N_f$  : NDVI en fin de sénescence ;  $TFN_{50}$  : moment d'inflexion de la dynamique de NDVI ; SR : vitesse de sénescence au moment de l'inflexion). La gamme de valeurs (moyennes ajustées) pour  $TFN_{50}$  varie de 630 à 720°Cj entre variétés extrêmes : ceci correspond à un différentiel de durée d'activité potentielle de la canopée de 4 à 6 jours dans les conditions françaises.  $TFN_{50}$  et SR ne semblent pas significativement corrélés, ce qui a permis de distinguer des typologies variétales contrastées, combinant des durées de maintien de la surface verte avec des vitesses de sénescence.

Ces résultats s'avèrent concordant avec des précédentes publications sur blé tendre adossées à la caractérisation de la cinétique de sénescence à partir de NDVI : il existe une variabilité génétique avérée (Christopher *et al.*, 2014, 2016; Ali *et al.*, 2023). Certains travaux analogues valorisent d'autres indices de végétation pour décrire la sénescence du couvert (Brunner *et al.*, 2024; Treier *et al.*, 2025) ; cependant, le recours à l'indice NDVI et à des outils commerciaux tels que le Greenseeker nous ont semblé être une solution technologique limitant les biais liés aux spécifications des capteurs (Bancal *et al.*, 2025).

Le réseau d'essais a notamment permis d'identifier un ensemble de recommandations concernant l'acquisition des cinétiques de sénescence par NDVI :

- une succession de mesures s'étalant de floraison/début remplissage à sénescence terminée
- 8 mesures bien positionnées sont requises pour convenablement décrire l'ensemble des variétés dans un essai, en tenant compte des différences de précocité présentes
- plusieurs essais pour consolider les classements variétaux et estimer l'interaction G\*E sur la dynamique de sénescence.

### ► Des durées de remplissage des grains variables entre variétés

La durée de remplissage a été estimée sur 6 variétés à cinétiques de sénescence contrastées à l'aide de mesures successives de Poids Moyen des Grains au cours de la phase de remplissage. En échantillonnant 150 épis par parcelle à 5 dates courant remplissage, un modèle logistique a pu être ajusté aux données (Darroch and Baker, 1990) et des différences significatives ont été observées entre variétés ; l'enjeu de la durée de remplissage entre variétés extrêmes suivies est de l'ordre de 100°Cj, base 0°C à environnement identique. Ceci correspond à une différence de 4 à 5 jours d'activité ; ramené à une durée moyenne de remplissage (intervalle floraison-maturité d'environ), ceci représente un écart de [-7% ;+7%]. Ces résultats sont cohérents avec de précédents travaux menés de manière préalable au projet Phedre. Ces différences variétales significatives sont néanmoins associées à une interaction GxE significative, et le classement variétal peut être partiellement modifié dans certains essais. La gamme de variation de durée de remplissage des grains entre variétés dans un même environnement est du même ordre de grandeur que de précédentes études (Darroch and Baker, 1990; Robert *et al.*, 2001; Dias and Lidon, 2009) ; le formalisme descriptif de la cinétique de PMG n'est cependant pas identique dans toutes ces publications, et il a été démontré que le choix du formalisme peut influencer les paramètres de durée et de vitesse estimés (Robert *et al.*, 1999).

La durée de remplissage ne semble cependant pas corrélée à la précocité à épiaison : il s'agirait donc bien de 2 paramètres phénologiques distincts, et donc potentiellement combinables.

Le choix de la méthode utilisée ici se démarque nettement de travaux antérieurs, qui utilisent la texture du grain (TG)(Clarke *et al.*, 2012), la couleur du pédoncule (CP)(Chapman *et al.*, 2021) ou la teneur en eau des épis (TEE)(Clarke *et al.*, 2012) ; en effet, ces méthodes ont été testées en amont ou pendant le projet, et ont toutes été écartées pour une ou plusieurs des raisons suivantes :

- La faiblesse de l'échantillonnage (TG, CP, TEE) (quelques grains ou tiges pour représenter un couvert)
- La soudaineté du changement (TG, CP) (couleur du pédoncule, modification de texture) qui impose une fréquence élevée de revisite sur l'essai
- La subjectivité des mesures (TG, CP), qui implique un potentiel effet notateur.

Les approches utilisées par ces auteurs restent cependant pertinentes lors que les effectifs de plantes sont faibles et que les mesures destructives ne sont pas envisageables.

### ► Une corrélation entre durée de remplissage des grains et date de sénescence de la canopée

Dans un réseau d'essais combinant 6 variétés contrastées et 11 environnements, le double suivi de la cinétique de remplissage des grains et de la sénescence a été réalisé pour valider la corrélation entre l'arrêt du remplissage et l'inflexion de la sénescence (TFN<sub>50</sub>) monitorée par NDVI. En valeurs moyennes ajustées sur l'ensemble du réseau, il y a bien une cohérence

de classement variétal pour les 2 paramètres, et une corrélation significative ( $r=0.94$ ). A l'échelle de chaque essai indépendamment : 4 situations présentent une corrélation positive significative ( $p$  value<0.05), 1 une corrélation positive faiblement significative ( $p$  value<0.1) et 3 situations une corrélation positive non significative.

Il est à noter que si la date de maturité des grains et la date d'inflexion de la sénescence sont corrélées, elles ne sont cependant pas synchrones : l'inflexion de la sénescence (TFN<sub>50</sub>) intervient 100 à 150°Cj avant l'arrêt du remplissage des grains.

Même s'il est fréquemment considéré que le maintien de la surface verte est corrélé au remplissage des grains (Brunner *et al.*, 2024), nous n'avons pas connaissance d'étude à la méthodologie équivalente établissant une corrélation entre la durée effective de remplissage des grains et la sénescence décrite via NDVI.

### ► Impact des paramètres de sénescence sur le rendement

Un jeu de données historique (projet Breedwheat) a permis de mieux explorer la diversité variétale pour la cinétique de sénescence présente dans les variétés françaises récemment commercialisées, en situation stressante comme irriguée. Les acquisitions de phénotypage à haut débit ont été réanalysées pour extraire des valeurs de NDVI parcellaires ; ces données acquises à 8 dates successives ont permis de décrire la cinétique de sénescence d'un large panel de variétés commerciales. Il a confirmé des différences significatives entre variétés, avec une diversité sans doute encore supérieure à celle évaluée dans un panel indépendant de 30 variétés (>100°Cj d'écart entre variétés des centiles 5 et 95, >80°Cj entre décile 1 et décile 9). Il n'y a pas de corrélation entre le TFN<sub>50</sub> et la précocité à épiaison ( $r=-0.12$ ), mais il y en a une entre TFN<sub>50</sub> et SR ( $r=-0.42$ ). Il est également observé que les variétés présentant les meilleurs rendements en conditions irriguées comme en conditions sèches sont celles présentant les TFN<sub>50</sub> les plus élevées (corrélations de 0.34 en conditions irriguées et 0.58 en conditions sèches). On peut aussi noter une corrélation positive et significative entre la valeur de N<sub>max</sub> et le rendement, en conditions stressées. Les variétés les plus performantes dans cette expérimentation sont donc celles qui présentent une sénescence retardée (TFN<sub>50</sub> élevé), qu'il s'agisse de conditions favorables ou modérément stressées ; en transposant l'analyse reliant la durée de remplissage et la date de sénescence, il est donc probable que les variétés présentant un remplissage plus long aient été favorisées.

Cette corrélation positive entre maintien de la surface verte et rendement est régulièrement mentionnée dans la bibliographie (Silva *et al.*, 2003; Foulkes *et al.*, 2007; Christopher *et al.*, 2014, 2016; Brunner *et al.*, 2024) ; un résultat similaire a d'ailleurs été observé sur blé dur en France (M. Marguerie, pers. Comm.). Pour cette raison, la prise en compte d'une durée de canopée verte étendue est mise en avant comme une piste d'adaptation variétale, en particulier vis-à-vis du stress hydrique (Senapati *et al.*, 2019; Antonietta *et al.*, 2024; Wingler and Souliou, 2025).

Par ailleurs, une corrélation positive a été observée entre le rendement et la valeur de NDVI<sub>max</sub>, notamment

en conditions stressantes, ce qui est cohérent avec des travaux australiens. Cette observation ne renvoie pas explicitement à un aspect phénologique de prolongation de la durée d'activité post-floraison, mais présente une nette facilitation méthodologique : une ou deux acquisitions autour de floraison seraient suffisantes pour accéder à une estimation de  $NDVI_{max}$ , à la différence d'une estimation du  $TFN_{50}$  ou du SR qui requiert l'obtention d'une cinétique complète. Les différences variétales peuvent cependant être difficiles à mettre en évidence en conditions pédo-climatiques favorables (saturation du NDVI face à de forts indices foliaires)

Pour finir, ces conclusions peuvent sembler contradictoires avec des conceptions a priori sur la nécessité de privilégier des variétés « qui finissent vite » dans des milieux stressants. Les conditions observées en pluvial à Gréoux en 2016 doivent être considérées comme suffisamment stressantes pour être représentatives de situations à faible disponibilités

hydriques fréquemment rencontrées en France, sans pour autant être extrêmes ; les conclusions présentées ci-dessus mériteraient donc d'être consolidées, notamment dans des scénarios de stress de fin de cycle (hydrique et thermique) plus intenses. D'autre part, la sénescence du couvert a été surtout décrite via le  $TFN_{50}$  qui indique une durée de maintien de la surface vert, mais le critère SR correspond davantage à la « soudaineté » de la sénescence. Il serait donc nécessaire d'avoir recours à des descripteurs similaires entre phénotypage à haut-débit et estimations visuelles de terrain pour clarifier la définition des idéotypes pertinents.

Les caractéristiques de fin de cycle (sénescence ou durée de remplissage) ne sont apparemment pas corrélées à la précocité à épiaison. Il est donc envisageable de combiner la meilleure stratégie de précocité à épiaison avec une durée d'activité courant remplissage allongée pour assumer la meilleure performance des variétés.

## Références bibliographiques

**Abdoli, M., Saeidi, M., Jalali-Honarmand, S., Mansourifar, S., and Ghobad, M. E.** (2016). Effects of photosynthetic source limitation and post-anthesis water deficiency on grain filling rate, photosynthesis and gas exchange in bread wheat cultivars. *Environ. Stress. Crop Sci.* 8, 131-147. doi: 10.22077/escs.2016.210

**Ali, A., Ullah, Z., Sher, H., Abbas, Z., and Rasheed, A.** (2023). Water stress effects on stay green and chlorophyll fluorescence with focus on yield characteristics of diverse bread wheats. *Planta* 257, 104. doi: 10.1007/s00425-023-04140-0

**Antonietta, M., Martinez, D., and Guamet, J. J.** (2024). Delayed senescence and crop performance under stress: always a functional couple? *J. Exp. Bot.* 75, 4244-4257. doi: 10.1093/jxb/erae174

**Baillet, N.** (2019). Distribution de la masse individuelle du grain de blé tendre: analyse de la variabilité de la masse en fonction de la position au sein de l'épi.

**Bancal, P., Bancal, M.-O., Heers, M., and Deswartes, J. C.** (2025). Using Virtual Drones to Mitigate the Bias Introduced by Sensor Wavelength Approximations in Crop Monitoring with Drones. *Agronomy* 15, 2665. doi: 10.3390/agronomy15112665

**Bogard, M., Hourcade, D., Piquemal, B., Gouache, D., Deswartes, J.-C., Throude, M., et al.** (2021). Marker-based crop model-assisted ideotype design to improve avoidance of abiotic stress in bread wheat. *J. Exp. Bot.* 72, 1085-1103. doi: 10.1093/jxb/eraa477

**Brisson, N., Gary, C., Justes, E., Roche, R., Mary, B., Ripoche, D., et al.** (2003). An overview of the crop model. *Eur. J. Agron.* 18, 309-332.

**Brunner, S. M., Dinglasan, E., Baraibar, S., Alahmad, S., Katsikis, C., Van Der Meer, S., et al.** (2024). Characterizing stay-green in barley across diverse environments: unveiling novel haplotypes. *Theor. Appl. Genet.* 137, 120. doi: 10.1007/s00122-024-04612-1

**Chapman, E. A., Orford, S., Lage, J., and Griffiths, S.** (2021). Delaying or delivering: identification of novel NAM-1 alleles that delay senescence to extend wheat grain fill duration. *J. Exp. Bot.* 72, 7710-7728. doi: 10.1093/jxb/erab368

**Chapman, S. C., Zheng, B., Potgieter, A. B., Guo, W., Baret, F., Liu, S., et al.** (2018). "Visible, Near Infrared, and Thermal Spectral Radiance On-Board UAVs for High-Throughput Phenotyping of Plant Breeding Trials," in *Biophysical and Biochemical Characterization and Plant Species Studies*, eds. P. S. Thenkabail, J. G. Lyon, and A. Huete (CRC Press), 275-299. doi: 10.1201/9780429431180-10

**Charmet, G., Robert, N., Branlard, G., Linossier, L., Martre, P., and Triboï, E.** (2005). Genetic analysis of dry matter and nitrogen accumulation and protein composition in wheat kernels. *Theor. Appl. Genet.* 111, 540-550. doi: 10.1007/s00122-005-2045-1

**Chen, J., Liang, Y., Hu, X., Wang, X., Tan, F., Zhang, H., et al.** (2010). Physiological characterization of 'stay green' wheat cultivars during the grain filling stage under field growing conditions. *Acta Physiol. Plant.* 32, 875-882. doi: 10.1007/s11738-010-0475-0

**Christopher, J. T., Christopher, M. J., Borrell, A. K., Fletcher, S., and Chenu, K.** (2016). Stay-green traits to improve wheat adaptation in well-watered and water-limited environments. *J. Exp. Bot.* 67, 5159-5172. doi: 10.1093/jxb/erw276

**Christopher, J. T., Veyradier, M., Borrell, A. K., Harvey, G., Fletcher, S., and Chenu, K.** (2014). Phenotyping novel stay-green traits to capture genetic variation in senescence dynamics. *Funct. Plant Biol.* 41, 1035-1048. doi: 10.1071/FP14052

**Christopher, M., Chenu, K., Jennings, R., Fletcher, S., Butler, D., Borrell, A., et al.** (2018). QTL for stay-green traits in wheat in well-watered and water-limited environments. *Field Crops Res.* 217, 32-44. doi: 10.1016/j.fcr.2017.11.003

**Clarke, Sarah, Sylvester-Bradley, R., Foulkes, M. J., Ginsburg, D., Gaju, O., Wemer, P., et al.** (2012). Adapting wheat to global warming: 'ERYCC' - Earliness and Resilience for Yield in a Changing Climate. HGCA.

**Darroch, B. A., and Baker, R. J.** (1990). Grain Filling in Three Spring Wheat Genotypes: Statistical Analysis. *Crop Sci.* 30, 525-529. doi: 10.2135/cropsci1990.0011183X003000030009x

- Dias, A. S., and Lidon, F. C.** (2009). Evaluation of Grain Filling Rate and Duration in Bread and Durum Wheat, under Heat Stress after Anthesis. *J. Agron. Crop Sci.* 195, 137–147. doi: 10.1111/j.1439-037X.2008.00347.x
- Fahy, B., Siddiqui, H., David, L. C., Powers, S. J., Borrill, P., Uauy, C., et al.** (2018). Final grain weight is not limited by the activity of key starch-synthesising enzymes during grain filling in wheat. *J. Exp. Bot.* 69, 5461–5475. doi: 10.1093/jxb/ery314
- Farooq, M., Bramley, H., Palta, J. A., and Siddique, K. H. M.** (2011). Heat Stress in Wheat during Reproductive and Grain-Filling Phases. *Crit. Rev. Plant Sci.* 30, 491–507. doi: 10.1080/07352689.2011.615687
- Fischer, R. A.** (2011). Wheat physiology: a review of recent developments. *Crop Pasture Sci.* 62, 95. doi: 10.1071/CP10344
- Foulkes, M. J., Sylvester-Bradley, R., Weightman, R., and Snape, J. W.** (2007). Identifying physiological traits associated with improved drought resistance in winter wheat. *Field Crops Res.* 103, 11–24. doi: 10.1016/j.fcr.2007.04.007
- Girousse, C., Inchboard, L., Deswarte, J.-C., and Chenu, K.** (2021). How does post-flowering heat impact grain growth and its determining processes in wheat? *J. Exp. Bot.* 72, 6596–6610. doi: 10.1093/jxb/erab282
- Gouache, D., de Solan, B., Fournier, A., Comar, A., Frederic, B., Cormier, F., et al.** (2016). High throughput phenotyping for complex traits : case study for nitrogen response in wheat based on the PhénoBlé project., (San Diego, USA).
- Jamieson, P. D., Semenov, M. A., Brooking, I. R., and Francis, G. S.** (1998). Sirius: a mechanistic model of wheat response to environmental variation. *Eur. J. Agron.* 8, 161–179. doi: 10.1016/S1161-0301(98)00020-3
- Jiang, D., Wang, N., Yang, X., and Wang, J.** (2003). Study on the interaction between NDVI profile and the growing status of crops. *Chin. Geogr. Sci.* 13, 62–65. doi: 10.1007/s11769-003-0086-4
- Kamaluddin, Singh, R. M., Abdin, M. Z., Khan, M. A., Alam, T., Khan, S., et al.** (2007). Inheritance of grain filling duration in spring wheat (*Triticum aestivum* L. em thell). *J. Plant Biol.* 50, 504–507. doi: 10.1007/BF03030690
- Lopes, M. S., and Reynolds, M. P.** (2012). Stay-green in spring wheat can be determined by spectral reflectance measurements (normalized difference vegetation index) independently from phenology. *J. Exp. Bot.* 63, 3789–3798. doi: 10.1093/jxb/ers071
- Luo, P., Ren, Z., Wu, X., Zhang, H., Zhang, H., and Feng, J.** (2006). Structural and biochemical mechanism responsible for the stay-green phenotype in common wheat. *Chin. Sci. Bull.* 51, 2595–2603. doi: 10.1007/s11434-006-2175-0
- Moraga, F., Alcaíno, M., Matus, I., Castillo, D., and del Pozo, A.** (2022). Leaf and Canopy Traits Associated with Stay-Green Expression Are Closely Related to Yield Components of Wheat Genotypes with Contrasting Tolerance to Water Stress. *Plants* 11, 292. doi: 10.3390/plants11030292
- Mou, B., and Kronstad, W. E.** (1994). Duration and Rate of Grain Filling in Selected Winter Wheat Populations: I. Inheritance. *Crop Sci.* 34, 833–837. doi: 10.2135/cropsci1994.0011183X003400040003x
- Nasehzadeh, M., and Ellis, R. H.** (2017). Wheat seed weight and quality differ temporally in sensitivity to warm or cool conditions during seed development and maturation. *Ann. Bot.* 120, 479–493. doi: 10.1093/aob/mcx074
- Panozzo, J. F., and Eagles, H. A.** (1999). Rate and duration of grain filling and grain nitrogen accumulation of wheat cultivars grown in different environments. *Aust. J. Agric. Res.* 50, 1007. doi: 10.1071/AR98146
- Pask, A. J. D.** (2012). “Determining key developmental stages,” in *Physiological Breeding II: a field guide to wheat phenotyping*, eds. A. J. D. Pask, J. Pietragalla, D. M. Mullan, and M. Reynolds (Mexico, D.F.), 72–77.
- Pinto, R. S., Lopes, M. S., Collins, N. C., and Reynolds, M. P.** (2016). Modelling and genetic dissection of staygreen under heat stress. *Theor. Appl. Genet.* 129, 2055–2074. doi: 10.1007/s00122-016-2757-4
- Robert, N., Berard, P., and Hennequet, C.** (2001). Dry matter and nitrogen accumulation in wheat kernel. Genetic variation in rate and duration of grain filling [*Triticum aestivum* L.]. *J. Genet. Breed. Italy*. Available at: [https://scholar.google.com/scholar\\_okup?title=Dry+matter+and+nitrogen+accumulation+in+wheat+kernel.+Genetic+variation+in+rate+and+duration+of+grain+filling+%5BTriticum+aestivum+L.%5D&author=Robert%2C+N.&publication\\_year=2001](https://scholar.google.com/scholar_okup?title=Dry+matter+and+nitrogen+accumulation+in+wheat+kernel.+Genetic+variation+in+rate+and+duration+of+grain+filling+%5BTriticum+aestivum+L.%5D&author=Robert%2C+N.&publication_year=2001) (Accessed March 22, 2023).
- Robert, N., Berard, P., and Hennequet, C.** (2002). Dry matter and nitrogen accumulation in wheat kernel. Genetic variation in rate and duration of grain filling [*Triticum aestivum* L.]. *J. Genet. Breed.* 55, 297–305.
- Robert, N., Huet, S., Hennequet, C., and Bouvier, A.** (1999). Methodology for choosing a model for wheat kernel growth. *Agronomie* 19, 405–417. doi: 10.1051/agro:19990507
- Semenov, M. A., and Stratonovitch, P.** (2013). Designing high-yielding wheat ideotypes for a changing climate. *Food Energy Secur.* 2, 185–196. doi: 10.1002/fes3.34
- Senapati, N., Stratonovitch, P., Paul, M. J., and Semenov, M. A.** (2019). Drought tolerance during reproductive development is important for increasing wheat yield potential under climate change in Europe. *J. Exp. Bot.* 70, 2549–2560. doi: 10.1093/jxb/ery226
- Silva, S. A., Carvalho, F. I. F. D., Nedel, J. L., Cruz, P. J., Peske, S. T., Simioni, D., et al.** (2003). Seed filling in near-isogenic lines of wheat with presence and absence of the stay-green trait. *Pesqui. Agropecuária Bras.* 38, 613–618. doi: 10.1590/S0100-204X2003000500009
- Silva, S. A., de Carvalho, F. I. F., da R. Caetano, V., de Oliveira, A. C., de Coimbra, J. L. M., de Vasconcellos, N. J. S., et al.** (2001). Genetic Basis of Stay-Green Trait in Bread Wheat. *J. New Seeds* 2, 55–68. doi: 10.1300/J153v02n02\_05
- Slafer, G. A., and Whitechurch, E. M.** (2001). “Manipulating wheat development to improve adaptation.” in *Application of physiology in wheat breeding*, eds. M. P. Reynolds, J. I. Ortiz-Monasterio, and A. McNab (CIMMYT), 160–170.
- Sofield, I., Evans, L., Cook, M., and Wardlaw, I.** (1977). Factors Influencing the Rate and Duration of Grain Filling in Wheat. *Funct. Plant Biol.* 4, 785. doi: 10.1071/PP9770785
- Spano, G.** (2003). Physiological characterization of “stay green” mutants in durum wheat. *J. Exp. Bot.* 54, 1415–1420. doi: 10.1093/jxb/erg150
- Tottman, D. R.** (1987). The decimal code for the growth stages of cereals, with illustrations. *Ann. Appl. Biol.* 110, 441–454. doi: 10.1111/j.1744-7348.1987.tb03275.x
- Treier, S., Vuille-dit-Bille, N., Visse-Mansiaux, M., Liebisch, F., Aasen, H., Roth, L., et al.** (2025). Comparison of PhenoCams and drones for lean phenotyping of phenology and senescence of wheat genotypes in variety testing. *Plant Phenome J.* 8, e70039. doi: 10.1002/ppj2.70039

Ullah, A., Nadeem, F., Nawaz, A., Siddiqi, K. H. M., and Farooq, M. (2022). Heat stress effects on the reproductive physiology and yield of wheat. 208, i-iv, 1-126. doi: 10.1111/jac.12572

Wiegand, C. L., and Cuellar, J. A. (1981). Duration of Grain Filling and Kernel Weight of Wheat as Affected by Temperature.

Wingler, A., and Souliou, S. (2025). Overcoming physiological trade-offs between flowering time and crop yield: strategies for a changing climate. *J. Exp. Bot.* 76, 2646–2658. doi: 10.1093/jxb/eraf110

## ANNEXES

**PHEDRE**  
**Phénotypage de la Durée du Remplissage du grain**

Jean-Charles DESHAYE\*, Christine GIROUSE\*, Guillaume BARRAL-BARON\*, Gemma HÖLERO\*, Pascal SPINA-DUTREZ\*, Sébastien THEPOT\*, Aurélien MELOU\*, Guillaume ROULET\*, Pierre VARENE\*, Anne-GRAUDEAU\*, Román LAMERINO\*, Audrey ANALLE\*, Guillaume COHARD\*, Thierry MOTTIE\*, Valérie DUMAS\*, Román DELEMME\*, Anne-Charlotte COMBARD\*, Thierry MOTTIE\*

1. ANALLE - Station de Recherche Agricole - 24, rue Croivars, Route de Chababou, 69100 Saint-Jean-de-Maurienne  
 2. IRIE - Institut National de la Recherche Agronomique - 1005 Saint-Jean-de-Maurienne  
 3. IRIE - Institut National de la Recherche Agronomique - 1005 Saint-Jean-de-Maurienne  
 4. IRIE - Institut National de la Recherche Agronomique - 1005 Saint-Jean-de-Maurienne  
 5. IRIE - Institut National de la Recherche Agronomique - 1005 Saint-Jean-de-Maurienne  
 6. IRIE - Institut National de la Recherche Agronomique - 1005 Saint-Jean-de-Maurienne  
 7. IRIE - Institut National de la Recherche Agronomique - 1005 Saint-Jean-de-Maurienne  
 8. IRIE - Institut National de la Recherche Agronomique - 1005 Saint-Jean-de-Maurienne  
 9. IRIE - Institut National de la Recherche Agronomique - 1005 Saint-Jean-de-Maurienne  
 10. IRIE - Institut National de la Recherche Agronomique - 1005 Saint-Jean-de-Maurienne  
 11. IRIE - Institut National de la Recherche Agronomique - 1005 Saint-Jean-de-Maurienne

**CONTEXTE**

- Le changement climatique va exposer les céréales à des stress thermiques et hydriques accrus en fin de cycle.
- Le stage du cycle végétatif est donc identifié comme une réponse à ces contraintes climatiques. La variabilité génétique pour les stades Est, l'om et l'om est bien connue et valorisée pour limiter l'exposition aux stress.
- Le phénotypage pour les stades Est, l'om et l'om est bien connu et valorisée pour limiter l'exposition aux stress.
- Le phénotypage pour les stades Est, l'om et l'om est bien connu et valorisée pour limiter l'exposition aux stress.

**MATÉRIEL - MÉTHODES**

- 9 essais au champ ont été conduits en 2021, 3D variétés commerciales modernes de blé tendre ont été phénotypées pendant la phase de remplissage des grains, avec un suivi de la dynamique NDVI (indice de végétation par différence normalisée) et de remplissage des grains.
- Les données de rendement et de phénotypage ont été analysées pour évaluer la diversité génétique de la durée de sénescence et la corrélation entre paramètres de sénescence et de rendement. Les critiques de sénescence ont été modélisées comme indiqué ci-dessus.



**L'analyse d'un panel de 177 variétés de blé tendre a confirmé la variabilité génétique pour 3 paramètres de sénescence: TSN, DR et NDVI. Ces paramètres ont été phénotypés dans 9 essais au champ de 3 ans, dans le but de confirmer la variabilité génétique de ces paramètres et d'établir une corrélation entre TSN, DR et NDVI. Ces paramètres ont été phénotypés dans 9 essais au champ de 3 ans, dans le but de confirmer la variabilité génétique de ces paramètres et d'établir une corrélation entre TSN, DR et NDVI.**

**Les rendements variétés sont corrélés à la date de sénescence TSN, exprimée en jours thermiques depuis l'initiation.**

Figure 4: Diagramme montrant la date de sénescence (TSN) et la date de récolte (DR) de 30 variétés de blé tendre phénotypées via NDVI dans 9 essais au champ de 3 ans. Les variétés sont classées en fonction de leur combinaison de date et de vitesse de sénescence.

Figure 5: Diagramme montrant la date de sénescence (TSN) et la date de récolte (DR) de 30 variétés de blé tendre phénotypées via NDVI dans 9 essais au champ de 3 ans. Les variétés sont classées en fonction de leur combinaison de date et de vitesse de sénescence.

Figure 6: Diagramme montrant la date de sénescence (TSN) et la date de récolte (DR) de 30 variétés de blé tendre phénotypées via NDVI dans 9 essais au champ de 3 ans. Les variétés sont classées en fonction de leur combinaison de date et de vitesse de sénescence.

**TÉLÉCHARGER LE POSTER**

# Blé-Adventices-III : Amélioration de la compétitivité des variétés de blé tendre vis-à-vis des adventices pour l'agriculture biologique

Rémi PERRONNE<sup>1\*</sup>, Laëtitia LEVER<sup>1</sup>, Frédéric HENRY<sup>1</sup>, Patrice SENELLART<sup>2</sup>, Pascal GIRAUDEAU<sup>2</sup>, Romain DELEMME<sup>2</sup>, Sylvie DUTRIEZ<sup>2</sup>, Sébastien CUVELIER<sup>2</sup>, Edouard PENEZ<sup>2</sup>, Bruno CHAUVEL<sup>3</sup>, Nathalie COLBACH<sup>3</sup>, Delphine MOREAU<sup>3</sup>, Stéphane CORDEAU<sup>3</sup>, Pierre LEBRETON<sup>3</sup>, Arnaud GAUFFRETEAU<sup>4</sup>, Julie GUGUIN<sup>4</sup>, Clotilde BLANCFENE<sup>5</sup>, Laure DUCHALAIS<sup>6</sup>, Philippe Du CHEYRON<sup>7</sup>, Julie GOMBERT<sup>7</sup>, Bernard ROLLAND<sup>1</sup>

1 - IGEPP, INRAE, Institut Agro, Univ Rennes, 35653, Le Rheu, FRANCE

2 - CETAC, 7 rue Coq Heron, 75030, Paris, FRANCE

3 - Agroécologie, INRAE, Institut Agro, Univ. Bourgogne, Univ. Bourgogne Franche-Comté, F-21000 Dijon, FRANCE

4 - UMR Agronomie, Université Paris-Saclay - AgroParisTech - INRAE, 91120, Palaiseau, FRANCE

5 - Unité Expérimentale de La Motte, La Motte, 35653, Le Rheu, FRANCE

6 - Agri-Obtentions, 78660 Orsonville, FRANCE

7 - Arvalis-Institut du Végétal, Villiers-le-Bâcle, FRANCE

8 - GEVES, Domaine de l'Anjouère, La Pouëze, 49370, Erdre-en-Anjou, FRANCE

\*Coordinateur du projet : Rémi PERRONNE, remi.perronne@inrae.fr

## INTRODUCTION

La gestion des adventices est une problématique majeure en céréales à paille où elles peuvent engendrer des pertes de rendement importantes. Les herbicides de synthèse sont actuellement le levier le plus utilisé à travers le monde, permettant une gestion efficace et peu coûteuse des adventices avec des interventions possibles en pré-levée et en post-levée de la culture. Cependant, le développement de résistances aux herbicides chez de nombreuses espèces adventices (273 recensées à ce jour au niveau mondial) a mis en avant la limite de la gestion de la flore via ce levier. La réduction importante des autorisations de mises en marché de nouvelles molécules depuis plusieurs décennies (Chauvel *et al.*, 2022) a conduit à réduire le nombre de substances actives disponibles et a abouti à des impasses techniques et à la sélection de résistances au sein des populations d'adventices liée à l'application répétée des mêmes programmes herbicides. Par ailleurs, le modèle de production agricole intensif basé sur un usage important et récurrent d'intrants de synthèse et une simplification des rotations est actuellement mis en débat concernant ses effets sur la qualité de l'eau, la santé publique et l'environnement, ainsi que sa durabilité agronomique et socio-économique. Dans ce contexte de recherche de solutions pour réduire l'usage des herbicides, le choix de variétés ayant une capacité compétitive ou/et de tolérance plus élevée vis-à-vis des adventices constitue l'une des pistes n'induisant pas de coût supplémentaire pour l'agriculteur dans la gestion des adventices.

Dans le cadre de cette démarche, nous caractérisons le comportement d'une variété vis-à-vis des adventices par sa compétitivité et sa tolérance. La compétitivité correspond à la capacité de la variété à réduire, voire arrêter, la croissance et le développement des adventices, se traduisant par une réduction de leur biomasse et/ou de leur production de graines. La tolérance correspond à la capacité de la variété à limiter les pertes induites par la présence d'adventices, voire à maintenir son rendement. L'objectif principal du projet FSOV Blé-Adventices-III était d'explorer des voies

d'amélioration de la compétitivité des variétés de blé tendre vis-à-vis des adventices. Pour ce faire, le projet a été structuré en deux volets (Figure 1).

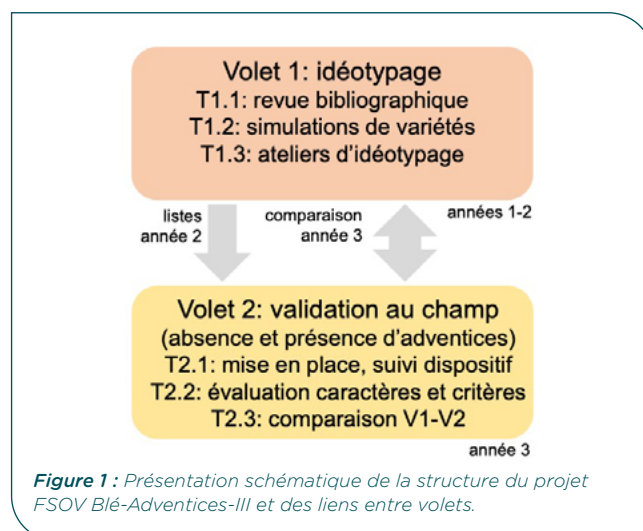


Figure 1 : Présentation schématique de la structure du projet FSOV Blé-Adventices-III et des liens entre volets.

Dans cette partie introductive, nous précisons d'abord les principaux messages de la revue bibliographique réalisée dans le cadre du projet (Lever *et al.*, 2022a) avant de développer les autres travaux conduits dans le projet.

### ► Revue bibliographique

La revue avait pour objectif d'identifier les différents caractères d'intérêt pouvant améliorer la capacité de compétition des variétés de céréales à paille et s'est basée sur un corpus de 45 publications.

### ► Liste des caractères d'intérêt

Dans un premier temps, nous avons synthétisé les résultats portant sur les différents caractères d'intérêt identifiés dans la littérature. L'étude de la capacité de compétition d'une variété s'est focalisée sur la hauteur en fin de cycle, généralement corrélée positivement à la compétitivité. Une croissance rapide en hauteur procure généralement un avantage compétitif important. La hauteur en fin de cycle présente cependant une variabilité inter-variétale relativement réduite parmi les variétés de blé tendre

disponibles. Différentes mesures ont également été proposées afin d'approximer la vigueur des variétés en début de cycle, une vigueur élevée pouvant permettre d'améliorer la compétitivité des variétés et présentant par ailleurs une variabilité inter-variétale élevée. Différentes études suggèrent qu'une hauteur élevée en fin de cycle combinée à une vigueur élevée en début de cycle pourraient constituer les principaux caractères influençant la compétitivité des variétés de céréales à paille vis-à-vis des adventices. D'autres caractères ont été moins étudiés dans la littérature, mais présentent également des résultats intéressants, à savoir (1) la capacité de tallage (qui favorise la compétitivité mais est fortement dépendante de l'environnement), (2) les caractéristiques foliaires (les génotypes caractérisés par une surface foliaire individuelle élevée et un port semi-érigé à horizontal semblent présenter une meilleure compétitivité vis-à-vis des adventices), (3) la capacité de couverture du sol (augmentant l'interception lumineuse par la canopée de la plante cultivée, pouvant être approximée par l'indice foliaire ou LAI en anglais) et (4) la phénologie (une date d'épiaison ou de maturité plus précoce semblait plus fréquemment réduire la biomasse adventice sur la base du corpus de textes étudié). Les caractères racinaires n'ont pas été étudiés, et les mécanismes d'allélopathie ont fait l'objet d'autres synthèses (voir Mahé *et al.*, 2022 pour des propositions afin d'évaluer la capacité allélopathique d'un génotype au champ). Enfin, différents travaux ont mis en évidence l'importance de la biomasse végétale pour améliorer la compétitivité, celle-ci présentant une forte variabilité génotypique et environnementale à différents stades du cycle cultural. La littérature a ainsi identifié différentes pistes d'amélioration de la compétitivité des variétés de céréales à paille.

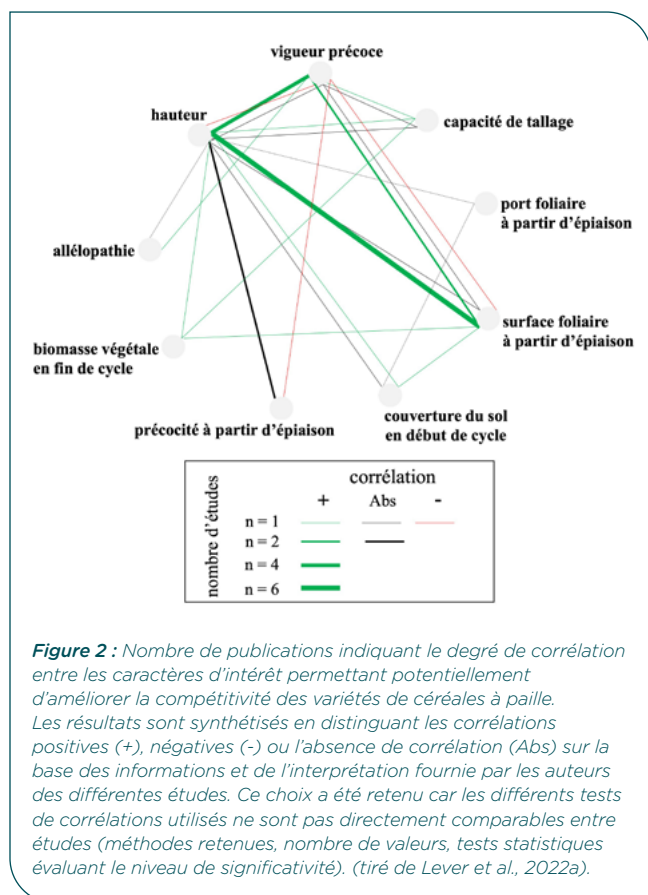
### ► Corrélations entre caractères d'intérêt

Dans un second temps, les principales corrélations deux à deux entre caractères ou groupes de caractères ont été recherchées afin d'identifier les caractères potentiellement complémentaires (Figure 2). Ces informations sont cependant disponibles uniquement dans 25 % des publications du corpus, limitant l'interprétation de ces résultats. Les principales tendances montrent (1) que la hauteur en fin de cycle semble être corrélée positivement à la vigueur en début de cycle dans la plupart des études ayant testé cette corrélation, même si de récents travaux (Aharon *et al.*, 2021) mettent en évidence qu'il est possible de sélectionner des génotypes courts présentant une vigueur précoce élevée et (2) qu'il existe une relation importante entre la mesure dynamique de la hauteur (à partir de l'élongation de la tige jusqu'à la fin du cycle) et la mesure du LAI au stade épiaison. Les autres corrélations n'ont été étudiées que sur un nombre très restreint de publications, limitant leur pertinence.

### ► Propositions pour les sélectionneurs

Dans un troisième temps, sur la base de ces résultats, des propositions ont été développées afin d'intégrer cet objectif d'amélioration de la compétitivité des variétés de céréales à paille dans de futurs schémas de sélection. L'article de Lever *et al.*, (2022a) précise d'abord les limites de nombreux travaux antérieurs et propose une méthodologie pour mieux caractériser la compétitivité et la tolérance des variétés vis-à-vis des adventices. Dans la suite, nous nous focaliserons plutôt sur les pistes d'amélioration des schémas de sélection. Cette revue a permis de préciser qu'à court terme (1) il est préférable de se focaliser sur la compétitivité plutôt que la tolérance et l'allélopathie, (2) il est utile de distinguer deux ensembles de caractères durant le cycle cultural : (a) les caractères pré-épiaison, évalués entre l'émergence de la culture et le début de l'épiaison, et (b) les caractères post-épiaison, évalués à partir de l'épiaison et jusqu'à la fin du cycle cultural, et de se focaliser sur l'amélioration des caractères pré-épiaison, ceux-ci pouvant être évalués via des démarches pour partie automatisables (notamment via l'analyse d'images obtenues par drone), (3) il est utile de mesurer les différents caractères séparément et non dans le cadre d'un indicateur synthétique, car chaque caractère apporte une information non strictement redondante. Cette revue a également proposé de premiers idéotypes variétaux (qui seront abordés par la suite), notamment en agriculture biologique (AB) en fonction des pratiques culturales et de la valorisation de la culture (ex. élevage ou culture de vente).

En conclusion de cette étude, afin d'améliorer la compétitivité des variétés de blé tendre vis-à-vis des adventices, il apparaissait important d'adapter les schémas de sélection actuels qui, pour la plupart, n'intègrent pas ou peu les mesures de caractères pré-épiaison. Un autre article synthétique sur la base de cette revue a été publié dans la revue *Phytoma* (Lever *et al.*, 2022b).



**Figure 2 :** Nombre de publications indiquant le degré de corrélation entre les caractères d'intérêt permettant potentiellement d'améliorer la compétitivité des variétés de céréales à paille. Les résultats sont synthétisés en distinguant les corrélations positives (+), négatives (-) ou l'absence de corrélation (Abs) sur la base des informations et de l'interprétation fournie par les auteurs des différentes études. Ce choix a été retenu car les différents tests de corrélations utilisés ne sont pas directement comparables entre études (méthodes retenues, nombre de valeurs, tests statistiques évaluant le niveau de significativité). (tiré de Lever *et al.*, 2022a).

## ► MATÉRIEL ET MÉTHODE

Sur la base des résultats de la revue bibliographique, deux démarches ont été conduites en parallèle afin d'identifier des idéotypes adaptés de variétés de blé

tendre : (1) des simulations via le modèle mécaniste FLORSYS et (2) des ateliers d'idéotypage en présence de malherbologues et de sélectionneurs.

Une expérimentation au champ a ensuite été mise en place durant la dernière année du projet dans le but de comparer les résultats obtenus au champ aux résultats des travaux d'idéotypage.

### ► Simulations à l'aide du modèle mécaniste FLORSYS

Des simulations ont été réalisées avec le modèle mécaniste FLORSYS (Colbach *et al.*, 2021) afin d'évaluer des variétés de blé tendre existantes et virtuelles in silico. FLORSYS simule la levée, la croissance et la reproduction des cultures et des adventices dans les systèmes de culture, et les conséquences pour la production agricole et la biodiversité. L'approche se base sur la méthodologie développée pour identifier des idéotypes de variétés de pois pour la gestion agroécologique des adventices (Colbach *et al.*, 2022). Les simulations ont nécessité le paramétrage de trois variétés réelles (Caphorn, Cézanne, Orvantis, ce paramétrage avait été réalisé en amont du projet FSOV), la création de 20 variétés virtuelles, la définition de contextes de production et de systèmes de culture pour chaque contexte de production, conduisant à la simulation de 3600 systèmes de culture sur 30 ans et pour 10 séries météorologiques bourguignonnes différentes. L'importante quantité de données a été synthétisée grâce à des analyses statistiques, notamment de fouille de données. Compte tenu de la complexité de la démarche, il est pertinent de se référer à l'article qui a été publié sur ce travail réalisé dans le cadre du projet (Lebreton *et al.*, 2025).

### ► Ateliers d'idéotypage

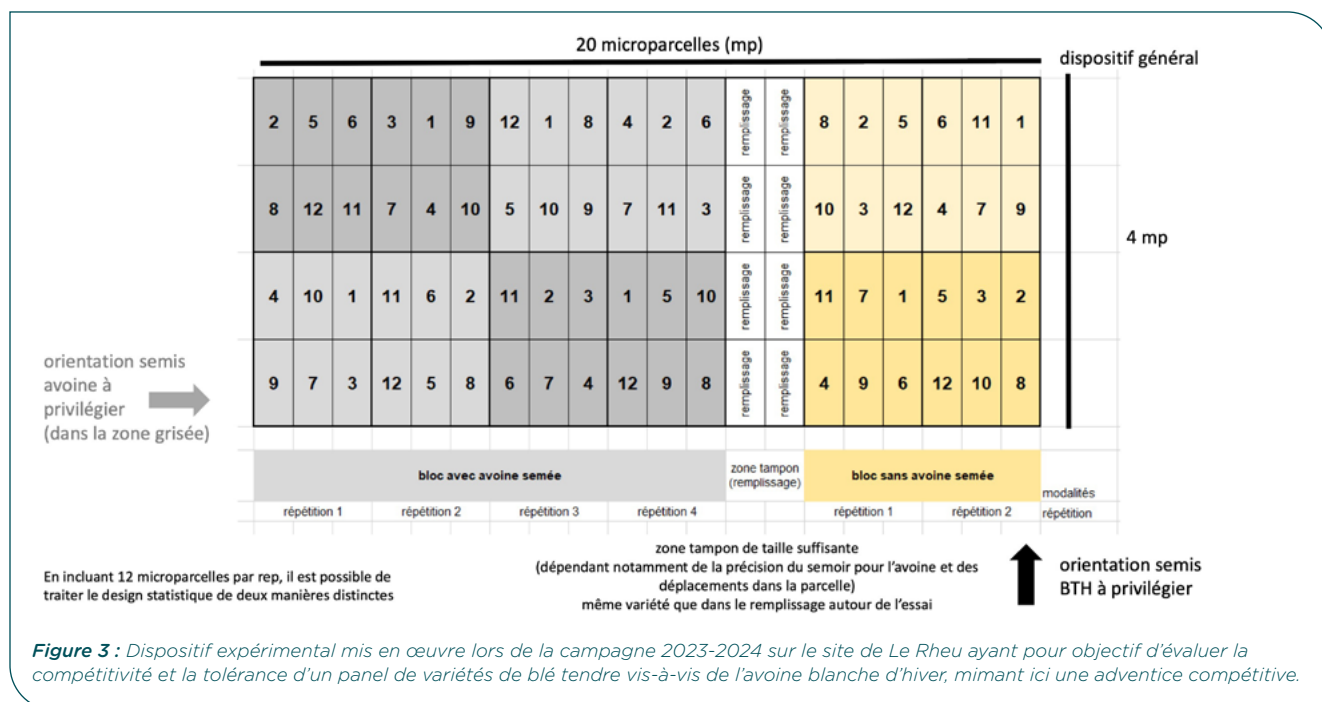
L'objectif général de cette démarche était de proposer des idéotypes variétaux visant à une meilleure gestion des adventices dans les SdC en AB. Nous nous sommes basés sur la définition proposée par Debaeke et Quilot-Turion (2014), qui définissent un idéotype variétal comme

une combinaison optimale de caractères (ou traits) morphologiques, phénologiques et physiologiques ou de leurs déterminants génétiques conférant à un matériel végétal une adéquation satisfaisante à un environnement, à un mode de production et d'utilisation donnés. Nous avons réfléchi cette gestion des adventices à l'échelle du SdC et cherché à définir des stratégies de gestion des adventices combinant pratiques culturales et caractéristiques variétales d'intérêt. Pour concevoir un idéotype, Durel et Gauffreteau (2014) proposent une démarche en 3 étapes, à savoir (1) la définition d'un cahier des charges (objectifs hiérarchisés correspondant aux attentes des utilisateurs et aux contraintes de production et d'utilisation des variétés), (2) la conception d'idéotypes de plantes (combinaisons de caractères permettant de répondre aux objectifs du cahier des charges) et (3) l'évaluation des idéotypes produits. Dans le cadre de cette tâche nous avons travaillé principalement à la réalisation des deux premières étapes de cette méthode. Ce travail a été réalisé en 2023 avec l'organisation de deux ateliers et d'une enquête auprès de malherbologues et d'agronomes experts dans la gestion des adventices en AB. Sur cette base, les sélectionneurs ont proposé des stratégies et des idéotypes en réponse à différents scénarios.

### ► Expérimentation au champ

Une expérimentation au champ a été réalisée lors de la campagne 2023-2024 sur quatre sites (Le Rheu, Allonnes, Maule et Orsonville).

Sur la base des connaissances associées à ce type d'expérimentation, une des contraintes majeures de l'évaluation expérimentale de différents caractères morphologiques et phénologiques, en absence et présence d'adventices, porte sur la mise en place (semis, levée) et le maintien (désherbage localisé) d'une densité homogène d'adventices. Dans ce projet, comme dans d'autres travaux antérieurs, tenant compte de cette contrainte, nous avons retenu l'avoine blanche d'hiver (*Avena sativa* L.) semée à 20 grains/m<sup>2</sup> afin de mimer



la compétition adventice. Une parcelle à faible densité d'adventices de la flore spontanée a été privilégiée. Un objectif de 20% de perte de rendement a été recherché sur la base des connaissances de la littérature et d'avis d'experts. La procédure de semis a varié selon les sites suivant le matériel disponible. La Figure 3 présente l'option mise en œuvre sur le site de Le Rheu. Suite à cette campagne, deux limites sont apparues concernant la mise en place du dispositif : (1) compte tenu des conditions météorologiques automnales, l'avoine a été semée trop tardivement (courant novembre) et sa levée a été retardée par rapport au blé tendre, (2) cette levée tardive a compliqué son identification dans les microparcelles en début de cycle cultural du blé tendre. Au cours de la campagne culturale, une conduite faibles intrants, incluant absence de fongicides, absence d'insecticides, absence de raccourcisseurs de croissance, réduction de la dose d'azote minéral (suppression de l'apport sortie d'hiver, ½ apport à épi 1cm, ½ apport entre 2 nœuds et épiaison avec un objectif de réduire de 60 unités d'azote sur l'ensemble du cycle) et absence de désherbage si la flore adventice spontanée était limitée, a été privilégiée. L'interprétation des variables observées a été affectée par les conditions de la campagne culturale 2023-2024 qui présentait une très forte pression des maladies foliaires, par ailleurs différente entre sites. Le dispositif mis en œuvre incluait 12 variétés et 2 modalités (avec et sans avoine, incluant 2 répétitions sans avoine et 4 répétitions avec avoine). La liste des variétés incluait des variétés jugées compétitives par les sélectionneurs et d'autres non compétitives. Les variétés présentaient une variabilité en termes de précocité, de pouvoir couvrant et de hauteur en fin de cycle. Une variété a été exclue des analyses du fait d'une faible faculté germinative constatée après semis. De nombreux caractères ont été mesurés au cours du cycle, incluant (1) la précocité à épi 1cm et à épiaison, (2) le taux de couverture du sol, (3) la hauteur, (4) la surface foliaire individuelle, (5) le port foliaire, (6) l'indice de végétation par différence normalisée (NDVI en anglais) à épi 1cm, 2 nœuds et épiaison de la variété témoin KWS Eternel, (7) la biomasse sèche des adventices, de l'avoine et de la culture à floraison, (8) le nombre d'inflorescences d'avoine avant récolte, (9) un relevé de flore adventice, ainsi que différentes notations standard du schéma de sélection (pression maladie, verse, rendement, caractères post-récolte). Certaines notations n'ont pas pu être réalisées sur certains sites et modalités du fait d'une levée faible et hétérogène sur le site d'Orsonville. Concernant la liste des notations à réaliser, le déclenchement d'une série de notations à un stade donné d'une variété témoin a permis de capter différentes composantes de la compétitivité en une journée par le notateur présent sur site. Concernant les protocoles associés aux notations, certains se sont avérés trop peu précis. C'est le cas pour la notation de port foliaire et la notation de surface foliaire individuelle. Selon les stades, il apparaissait très difficile de discriminer les géotypes sur certains sites. Des mises à jour ont été réfléchies suite à cette campagne. Différentes analyses statistiques ont été conduites, mais certaines présentent des limites inhérentes aux contraintes expérimentales de la campagne 2023-2024. Dans la suite, nous ne présenterons qu'une partie des résultats, considérés comme les plus fiables statistiquement.

## ➤ RÉSULTATS

### ► Simulations à l'aide du modèle mécaniste FLORSYS

Les résultats obtenus sur la base des simulations FLORSYS sont très riches. Nous nous focaliserons sur l'usage direct des résultats dans la démarche de sélection. L'ensemble des résultats sont disponibles dans Lebreton *et al.* (2025).

Les simulations ont comparé 4 objectifs de sélection (1) maximisation du rendement potentiel (en absence d'adventices), (2) maximisation du rendement réel (en présence d'une forte pression d'adventices), (3) maximisation de la tolérance vis-à-vis des adventices ou (4) maximisation de la compétitivité vis-à-vis des adventices (évaluation de la suppression de celles-ci). L'objectif de maximisation du rendement réel a donné les meilleurs résultats également pour maximiser la tolérance et la compétitivité vis-à-vis des adventices.

Deux idéotypes distincts maximisent le rendement en présence d'une forte pression d'adventices. Ils se distinguent des 3 variétés existantes notamment par un faible taux de perte en pré-levée, une couverture du sol post-levée rapide, une floraison tardive et une taille plus réduite. Mais ces deux idéotypes conduisent à des objectifs de sélection antagonistes sur d'autres paramètres. Le premier idéotype est par exemple très tolérant au froid mais avec une photosynthèse limitée en cas de forte chaleur, le deuxième présente les caractéristiques opposées. Ces paramètres sont discutés dans l'article, mais ne seront pas abordés dans ce document. Cependant, la plupart des paramètres du modèle FLORSYS sont trop compliqués à mesurer en routine dans les essais variétaux et il reste à développer des indicateurs de ces paramètres mesurables au champ.

Nous nous focalisons ici sur deux paramètres importants et accessibles en sélection (1) la vitesse de couverture du sol post-émergence (une rapidité de couverture étant à privilégier) et (2) la hauteur à floraison (une hauteur faible à moyenne étant à privilégier, Figure 4). Concernant la vitesse de couverture du sol en début de cycle, deux récents travaux ont montré l'intérêt de sélectionner sur la vigueur en début de cycle (notamment caractérisée par la couverture du sol, Aharon *et al.*, 2011 ; Hendriks *et al.*, 2022), ceci étant cohérent avec notre étude (Lebreton *et al.*, 2025). Cette cible permettrait en effet, en présence d'adventices, de réduire la biomasse adventice et d'augmenter le rendement, tout en ne pénalisant pas le rendement en absence d'adventices. Concernant la hauteur à floraison, largement corrélée à la hauteur finale, les résultats des simulations sont moins cohérents, la hauteur en fin de cycle étant souvent un caractère associé à une meilleure compétitivité sur le terrain. Cependant, le lien avec le rendement est plus indirect, et l'objectif de sélection visant à obtenir des variétés de blé tendre hautes est antagoniste à d'autres objectifs (indice de récolte, tolérance à la verse).

Il est à noter que dans les simulations, aucune des variétés paramétrées (Caphorn, Cézanne, Orvantis) ne répond de manière optimale à aucun des objectifs de sélection, qu'il s'agisse de rendement en absence ou en présence d'adventices, de tolérance ou de compétitivité vis-à-vis des adventices.

## Résultats basés sur les simulations FLORSYS

Paramètres du blé associés avec... le meilleur rendement en condition avec adventices	Idéotypes	Résultats de la littérature portant sur le rendement en condition avec adventices
<b>Germination et émergence</b>		
<b>Couverture du sol post-émergence (début de cycle cultural)</b>	<b>rapide</b>	iY1 iY2 iY3 iC2 iN1 iN2 iN3 iH1 iH2
	<b>lente</b>	iC3
<b>Architecture aérienne</b>		
<b>Hauteur (floraison)</b>	<b>petite à moyenne</b>	iY1 iY2 iY3 iN1 iN2 iH1 iH2 iH3
	<b>haute</b>	iN3

**Figure 4 :** Deux paramètres du blé tendre associés à l'objectif de maximisation du rendement réel (forte pression d'adventices), les idéotypes retenus selon l'orientation de la sélection, ainsi que la cohérence avec les informations disponibles dans la littérature. Les informations disponibles sur la tolérance et la compétitivité des vis-à-vis des adventices sont basées sur une revue de la littérature sur les céréales à paille semées en hiver et au printemps dans le monde entier (Lever *et al.*, 2022a). Idéotypes de blé : iY1 iY2 iY3 = agriculture biologique incluant l'usage du labour, iN1 iN2 iN3 = agriculture biologique en semis direct, iH1 iH2 iH3 = agriculture conventionnelle incluant l'usage des herbicides, iC1 iC2 iC3 = agriculture biologique avec le blé tendre semé dans un couvert de trèfle, iT1 iT2 iT3 = objectifs de tolérance aux adventices (faible perte de rendement en présence d'adventices), iS1 iS2 iS3 = objectifs de compétitivité vis-à-vis des adventices (faible biomasse d'adventices au champ). (tiré de Lebreton *et al.*, 2025).

Par ailleurs, Lebreton *et al.* (2025) présentent les résultats pour des systèmes de culture distincts, chacun s'appuyant sur différents leviers de gestion des adventices, et pas uniquement la variété, qui ne présente ici qu'un poids limité dans leur gestion. Dans ces systèmes, les leviers de gestion les plus influents incluent le travail du sol (fréquence, type, date), le semis (date, densité, taille de l'inter-rang), le désherbage mécanique (fréquence, date, vitesse, taille de l'inter-rang désherbé), l'usage des herbicides s'il est autorisé dans le système. Les relations ne sont pas toujours directes, ces choix affectant également l'objectif de rendement visé, les levées d'adventices et le stock semencier du sol, les simulations étant effectuées sur 30 ans.

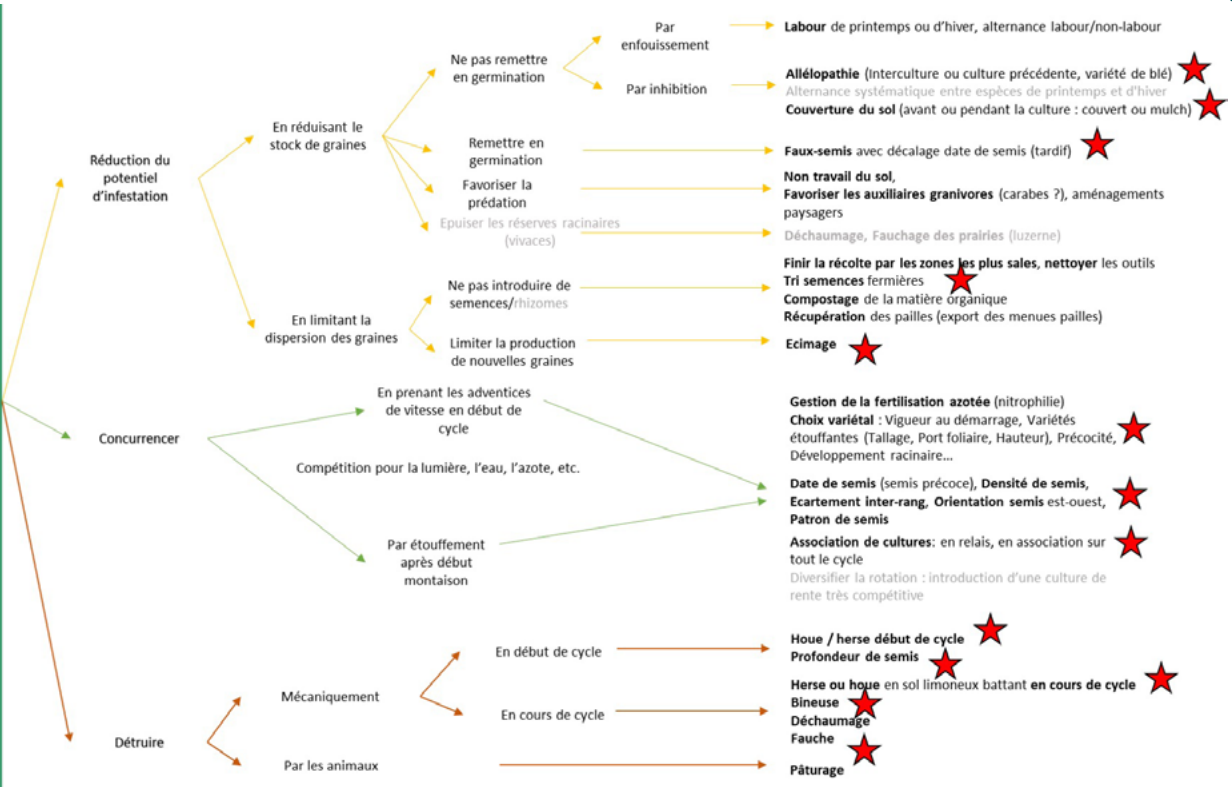
### ► Ateliers d'idéotypage

Le premier atelier a permis de mieux comprendre l'importance de la gestion des adventices en AB, une problématique prioritaire à l'échelle du SdC. Ceci a justifié la définition de scénarios contrastés, incluant des scénarios plus ou moins éloignés des pratiques majoritaires mises en œuvre. Le constat partagé par ailleurs est que la compétitivité n'est pas le critère prioritaire d'un agriculteur pour choisir sa variété, celui-ci priorisant le rendement, la précocité adaptée à sa zone de production, la qualité et la tolérance aux maladies. Il est donc nécessaire de définir des idéotypes tenant compte des autres pratiques de gestion des adventices mises en œuvre en AB, ainsi que des objectifs prioritaires

de l'agriculteur pour sa culture de blé tendre d'hiver. En se basant sur un schéma résumant les principaux leviers de gestion des adventices en AB (Figure 5, issue d'un précédent projet CASABIO 2017-2019), nous avons détaillé les leviers pouvant avoir un lien avec la variété, et donc la définition de nouveaux idéotypes plus adaptés.

Sur cette base, 3 scénarios contrastés ont été définis, à savoir (1) mécanisation durant tout le cycle (labour, faux semis, semis tardif, herse-étrille, écimage), (2) mécanisation avant l'hiver (semis précoce et régulier, désherbage mécanique avant levée, herse-étrille uniquement avant l'hiver), (3) semis dans une luzerne fauchée en phase dormante (semis tardif en rangs espacés pour fauche de la luzerne, tri après récolte). La définition des idéotypes s'est centrée sur les caractères de début de cycle, la gestion de la flore adventice devant être réalisée tôt dans le cycle du blé tendre d'hiver. Cependant, certains objectifs de sélection peuvent s'opposer en partiellement à la maximisation de l'indice de récolte et à la limitation d'un microclimat favorable aux maladies. Pour chacun des scénarios ci-dessus, différents caractères ont été identifiés. Certains objectifs sont communs aux différents scénarios. Ainsi, avant le stade épi 1cm, il serait intéressant de rechercher une croissance précoce en biomasse et une couverture rapide de l'espace, ceci pouvant être associé à des caractères de (1) vitesse de croissance à la levée, (2) capacité de tallage, (3) surface foliaire élevée, (4) précocité à épi 1cm, (5) dynamique de hauteur, (6) production importante de biomasse en début de cycle. D'autres objectifs sont antagonistes, notamment entre les

**GESTION DES ADVENTICES DANS LE BLÉ TENDRE EN AB**



**Figure 5 :** Classification des grandes pratiques de gestion des adventices. Ce schéma est inspiré de travaux menés dans le cadre du projet CASABIO (2017-2019) et d'un groupe de travail de l'Association pour la Promotion d'une Agriculture Durable (APAD) sur les adventices. Les pratiques qui ne s'appliquent pas sur blé sont grisées, les pratiques pouvant être impactées de manière plus ou moins importante par le choix de la variété sont repérées par une étoile rouge à droite.

Allonnes - avec avoine							
	% couv épi 1cm	hauteur épi 1cm	% couv épiaison	hauteur épiaison	nb inflo avoine	MS avoine	MS adventice
épiaison	-0.110	-0.686	0.013	-0.376	-0.194	0.167	-0.312
% couv épi 1cm		-0.285	0.653	-0.255	0.066	0.035	-0.300
hauteur épi 1cm			0.105	0.565	-0.035	0.073	0.498
% couv épiaison				0.293	-0.525	-0.191	-0.172
hauteur épiaison					-0.533	-0.428	0.256
nb inflo avoine						0.436	0.243
MS avoine							0.043

Maule - avec avoine							
	% couv épi 1cm	hauteur épi 1cm	% couv épiaison	hauteur épiaison	nb inflo avoine	MS avoine	MS adventice
épiaison	-0.247	-0.715	0.096	-0.365	0.633	0.516	0.180
% couv épi 1cm		0.050	0.507	-0.133	-0.712	-0.438	0.117
hauteur épi 1cm			0.297	0.731	-0.450	-0.497	-0.089
% couv épiaison				0.420	-0.240	-0.131	0.122
hauteur épiaison					-0.320	-0.493	-0.025
nb inflo avoine						0.882	-0.100
MS avoine							-0.258

Le Rheu - avec avoine							
	% couv épi 1cm	hauteur épi 1cm	% couv épiaison	hauteur épiaison	nb inflo avoine	MS avoine	MS adventice
épiaison	0.423	-0.841	-0.101	-0.469	-0.092	-0.015	0.028
% couv épi 1cm		-0.456	0.539	-0.439	-0.334	-0.287	-0.070
hauteur épi 1cm			0.328	0.692	0.261	0.069	0.061
% couv épiaison				0.388	-0.181	-0.043	0.119
hauteur épiaison					-0.200	-0.055	0.177
nb inflo avoine						0.672	-0.341
MS avoine							-0.308

**Figure 6 :** Analyses de corrélations réalisées site par site pour la modalité en présence d'avoine sur la base des valeurs moyennes de cette modalité via un test de Pearson. Les résultats sont comparables pour la modalité sans avoine, et confirmés via un test de rang de Kendall. En vert, corrélation élevée (> 0.7 ou < -0.7). épiaison : date d'épiaison, % couv épi 1cm : taux de couverture au stade épi 1cm de la variété témoin (idem pour le stade épiaison), hauteur épi 1cm : hauteur en cm au stade épi 1cm de la variété témoin (idem pour le stade épiaison), nb inflo avoine : nombre d'inflorescences d'avoine avant récolte, MS avoine : biomasse sèche d'avoine à floraison, MS adventice : biomasse sèche d'adventices de la flore spontanée à floraison. A noter, la biomasse sèche d'adventices de la flore spontanée à floraison est très réduite par rapport à la biomasse d'avoine, n'induisant pas de biais dans l'interprétation de la compétition blé - avoine.

stades épi 1cm et 2 nœuds, tels que le port foliaire et la capacité de couverture de l'inter-rang (à limiter pour le scénario privilégiant la mécanisation durant tout le cycle, tandis que les autres scénarios visent à une fermeture du couvert la plus rapide possible incluant hauteur importante et port foliaire étalé). L'exercice a permis de définir des priorités parmi l'ensemble des caractères discutés.

### ► Expérimentation au champ

Pour rappel, les résultats ne se basent que sur la campagne 2023-2024, principalement trois sites et 11 variétés, limitant de fait la portée de certaines conclusions.

L'analyse des corrélations de différentes mesures a été réalisée site par site et modalité par modalité via un test de Pearson, et confirmé par un test de rang de Kendall (résultats non détaillés dans cet article). Pour la hauteur, en comparant entre les stades phénologiques, le résultat est proche entre les modalités, et il est possible de conclure que deux mesures de hauteur (à épi 1cm et fin de cycle) apporteraient des informations complémentaires et que ces mesures sont à conduire dans un dispositif expérimental standard (en absence d'avoine). Pour le taux de couverture et le NDVI, il est possible de conclure qu'il n'est pas nécessaire de mesurer à la fois le taux de couverture et le NDVI à un même stade (et qu'à partir d'épiaison la mesure de NDVI présente un biais lié au niveau de pression de maladies et n'est donc pas conseillée), que deux mesures de taux de couverture (à épi 1cm et à épiaison) apporteraient des informations complémentaires et que ces mesures sont à conduire dans un dispositif expérimental en absence d'avoine. Les caractéristiques

de port foliaire et de surface foliaire apparaissent peu discriminantes.

L'analyse des corrélations a également été réalisée ensuite en incluant un sous-ensemble de caractères peu corrélés entre eux (résultats présentés plus haut) et d'autres variables, notamment associées à la production, afin d'identifier des tendances entre sites. Ces analyses de corrélations ont également été réalisées site par site et modalité par modalité sur la base des valeurs moyennes par modalité via un test de Pearson (Figure 6). Les résultats suggèrent que le protocole de notations pourrait être simplifié au stade épiaison pour au moins certains caractères, l'importance des notations en début de cycle pour bien caractériser les variétés (notamment au stade épi 1cm), la pertinence du comptage du nombre d'inflorescences en fin de cycle pour traduire le degré de compétition avec l'avoine et que la hauteur à épi 1cm capte partiellement la précocité à épiaison. On notera que la corrélation est encore plus forte entre la précocité à épi 1cm et la hauteur à épi 1cm (Allonnes = -0.736, Maule = -0.683, Le Rheu = -0.606), la hauteur traduisant pour partie la précocité à montaison du génotype, suggérant que cette notation de hauteur pourrait être un bon proxy de la notation de la date épi 1cm pour suivre cette information sur des panels variétaux plus larges. Des mesures complémentaires conduites après la fin du projet ont observé, sur des panels différents et plus larges, une tendance similaire.

Les effets du génotype (G), de la modalité (M), ainsi que de l'interaction G x M ont été testés sur un ensemble de variables via un modèle linéaire mixte (effet

variables	génotype			modalité (effet de l'avoine)			interaction G x M		
	Le Rheu	Allonnes	Maule	Le Rheu	Allonnes	Maule	Le Rheu	Allonnes	Maule
rendement (qtx/ha)	OUI	OUI	OUI	-	-	NON	NON	NON	NON
taux de protéines (%)	OUI	OUI	OUI	-	+	+	OUI	NON	NON
PS (kg/hL)	OUI	OUI	OUI	-	-	-	OUI	NON	OUI
hauteur mi-tallage	OUI	OUI	OUI	-	NON	-	OUI	NON	NON
hauteur épi 1cm	OUI	OUI	OUI	-	+	-	OUI	NON	NON
hauteur 2 nœuds	OUI	OUI	OUI	-	NON	-	NON	NON	NON
hauteur épiaison	OUI	OUI	OUI	-	-	-	OUI	NON	NON
hauteur maturité	OUI	OUI	OUI	-	+	-	OUI	OUI	OUI
NDVI épi 1cm	OUI	OUI		-	+		NON	NON	
NDVI 2 nœuds	OUI	OUI		-	+		OUI	NON	
NDVI épiaison	OUI	OUI		-	+		NON	NON	
NDVI floraison	OUI	OUI		-	+		OUI	OUI	
% couv mi-tallage	OUI	OUI	OUI	-	NON	-	NON	OUI	NON
% couv épi 1cm	OUI	OUI	OUI	-	+	-	NON	NON	NON
% couv 2 nœuds	OUI	OUI	OUI	-	NON	-	OUI	NON	NON
% couv épiaison	OUI	OUI	OUI	-	+	NON	NON	NON	NON
epiaison	OUI	OUI	OUI	-	NON	-	NON	NON	OUI

Figure 7 : Synthèse des résultats de l'ensemble des modèles testés. Pour chaque variable, les effets du génotype (G), de la modalité (M, c.à.d. présence-absence de l'avoine), et de l'interaction G x M ont été testés via un modèle linéaire mixte (l'effet répétition était considéré comme une variable aléatoire) puis une ANOVA de Type II. OUI : effet statistiquement significatif, NON : effet non significatif, - : effet significatif et négatif de la présence de l'avoine sur la valeur de la variable, + : effet significatif et positif de la présence d'avoine sur la valeur de la variable. Le NDVI n'a pas pu être mesuré sur le site de Maule.

répétition comme variable aléatoire) puis une ANOVA de Type II. La synthèse de l'ensemble des résultats est présentée en Figure 7. Il est possible de conclure (1) quel que soit la variable ou le site considéré, que l'effet génotype est toujours statistiquement significatif, (2) que la présence de l'avoine affecte négativement l'ensemble des variables sur le site de Le Rheu et la plupart des variables sur le site de Maule (à l'exception du taux de protéines) mais que la présence d'avoine affecte positivement de nombreuses variables sur le site d'Allonnes, dont le taux de protéines et de nombreuses variables associées à la compétitivité, (3) que l'interaction est souvent non significative, et rarement très significative. Ces résultats confirment la possibilité de sélectionner pour les caractères associés à la compétitivité. Par ailleurs, ils mettent en lumière la difficulté d'interprétation de l'effet de la présence de l'avoine sur les variables associées à la production.

Sur ce dernier point, l'hypothèse privilégiée est que l'ordre des facteurs affectant le cycle cultural du blé différerait entre les sites, et que ces différences ont partiellement affecté la compétitivité des génotypes vis-à-vis de l'avoine. A Le Rheu, l'hydromorphie en début de cycle associée à une ressource lumineuse peu limitante, puis une campagne marquée par différentes maladies se succédant, affectant les génotypes dans un ordre précis, pourrait justifier des nutriments potentiellement plus limitants que la lumière dans un premier temps, puis la réduction de la capacité photosynthétique. A Maule, la ressource lumineuse semblait également peu limitante, la campagne a été marquée par une forte pression de rouille brune puis de septoriose. A Allonnes, la ressource lumineuse semblait plus limitante, la campagne a été marquée par une très forte pression de septoriose, suggérant que la lumière a d'abord été le facteur limitant, puis la réduction de la capacité photosynthétique, et enfin la verse. Ceci expliquerait le classement différent des variétés sur les variables associées à la production. Des pistes ont été identifiées afin d'affiner les protocoles de mesure de certains caractères et de modifier le dispositif expérimental pour réduire l'effet des facteurs confondants.

## DISCUSSION

L'objectif principal du projet Blé-Adventices-III était d'explorer des voies d'amélioration de la compétitivité des variétés de blé tendre vis-à-vis des adventices pour l'agriculture biologique. Pour y parvenir, le projet s'est focalisé largement sur les cibles de sélection à prioriser via des démarches complémentaires basées sur une revue exhaustive de la littérature, des simulations avec le modèle FLORSYS et des ateliers d'idéotypage à dire d'experts. Ces trois démarches, de natures différentes, ont présenté différents résultats contradictoires, mais également quelques tendances communes sur lesquelles nous nous focaliserons dans cette discussion. En effet, tous les travaux du Volet 1 ont confirmé l'importance des caractères associés à la compétitivité en début de cycle pour améliorer la capacité compétitive globale du blé tendre d'hiver. Ces résultats sont cohérents avec de récents travaux suggérant que cette piste d'amélioration n'affecterait

pas le rendement, même en absence d'adventices (Aharon *et al.*, 2011 ; Hendriks *et al.*, 2022), ce qui n'est pas nécessairement le cas pour d'autres caractères, davantage étudiés dans la littérature, comme la hauteur en fin de cycle, pour laquelle les résultats ne concordent pas. Cette piste nous semble par ailleurs cohérente avec une stratégie globale de gestion des adventices, et n'a été que peu travaillée encore par les sélectionneurs de blé tendre d'hiver.

L'année d'expérimentation 2023-2024, malgré des limitations précisées plus haut, permet de confirmer l'intérêt des caractères de début de cycle, notamment les notations effectuées à épi 1cm. Elle a permis, entre autres, de confirmer qu'il existe une variabilité inter-variétale élevée pour les différents caractères de début de cycle (précocité à épi 1cm, hauteur, port et surface foliaire individuelle, taux de couverture à épi 1cm d'une variété témoin), un effet du génotype significatif, des corrélations assez marquées entre stades précoces (ne justifiant pas nécessairement de mesures répétées entre épi 1cm et 2 nœuds) et deux axes potentiellement complémentaires de sélection à un stade précoce. En effet, si la précocité à épi 1cm apparaît fortement corrélée à la hauteur en début de cycle et au port foliaire (souvent plus redressé pour des variétés plus précoces à montaison), le taux de couverture et, dans une moindre mesure, la surface foliaire individuelle semble relativement indépendants de la précocité. Ces deux axes, associés (1) à la vitesse de développement et (2) à la capacité de couverture du sol, pourraient ainsi être sélectionnés séparément. Parmi le panel étudié, aucune variété ne présentait en effet une combinaison optimale sur ces deux axes, permettant une marge d'amélioration. De plus, sélectionner séparément sur ces deux axes permettra de répondre aux demandes distinctes des agriculteurs, les scénarios discutés dans le cadre des ateliers d'idéotypage ne nécessitant pas tous une capacité de couverture du sol maximale à épi 1cm. Le projet ne conclut pas à l'inintérêt d'une sélection sur des caractères de fin de cycle, mais le gain sera potentiellement moindre et les compromis avec d'autres caractères sous sélection plus fréquents. De même, le projet ne conclut pas à l'inintérêt des caractères entre la levée et le stade épi 1cm, mais ceux-ci sont plus difficilement quantifiables au champ, et souvent plus dépendants de l'environnement. Pour information, des mesures ont été effectuées à épi 1cm de la variété la plus précoce du panel, soit au moins deux semaines avant le stade épi 1cm de la variété témoin, mais elles s'avéraient fortement corrélées et moins à même de distinguer entre les génotypes.

Plusieurs limitations ont été identifiées dans les deux volets du projet et ont été discutées dans les articles publiés (Lever *et al.*, 2022a, Lever *et al.*, 2022b, Lebreton *et al.*, 2025), les rapports annuels, ainsi que le présent document. Des mises à jour sont prévues dans le cadre d'un projet complémentaire PARSADA PARAD (2025-2030) concernant notamment la revue bibliographique, le dispositif expérimental et les protocoles de notations, en s'appuyant sur les acquis de ce projet FSOV. Une synthèse récente multi-espèces a par ailleurs été réalisée concernant les traits à cibler en sélection pour gérer les adventices en absence d'usage d'herbicides (Debaeke *et al.*, 2024).

# REMERCIEMENTS

Les rédacteurs du document tiennent à remercier chaleureusement l'ensemble des collègues INRAE, d'Agri-Obtentions et du CETAC pour leurs implications

dans les différents travaux réalisés, ainsi que les nombreux collègues non permanents impliqués dans le projet (CDD, stagiaires, mains-d'œuvre occasionnelles), et les collègues du GEVES et d'Arvalis - Institut du Végétal pour leurs participations à des discussions constructives.

## Références bibliographiques

Aharon, S., Fadida-Myers, A., Nashef, K., Ben-David, R., Lati, R.N., Peleg, Z. (2021) Genetic improvement of wheat early vigor promote weed-competitiveness under Mediterranean climate. *Plant Science*, 303, 110785.

Chauvel, B., Gauvrit, C., Guillemain, J.-P. (2022) From sea salt to glyphosate salt: a history of herbicide use in France. *Advances in Weed Science*. 40: e02022001.

Colbach, N., Felten, E., Gée, C., Klein, A., Lannuzel, L., Lecomte, C., Maillot, T., Strbik, F., Villerd, J., Moreau, D. (2022) Tracking ideal varieties and cropping techniques for agroecological weed management: a simulation-based study on pea. *Frontiers in Plant Science* 13, 809056.

Colbach, N., Colas, F., Cordeau, S., Maillot, T., Queyrel, W., Villerd, J., Moreau, D. (2021) The FLORSYS crop-weed canopy model, a tool to investigate and promote agroecological weed management. *Field Crops Research* 261, 108006.

Debaeke, P. & Quilot-Turion, B. (2014) Conception d'idéotypes de plantes pour une agriculture durable. Collection Ecole-chercheurs INRA, FormaSciences, FPN, INRA-CIRAD.

Durel C.E., Gauffreteau A. (2014) Une démarche théorique de conception d'idéotypes. In Debaeke P. & Quilot-Turion,

B. (eds). Conception d'idéotypes de plantes pour une agriculture durable. Collection Ecole-chercheurs INRA, FormaSciences, FPN, INRA-CIRAD, pp 73-79.

Hendriks, P.W., Gusinginghe, S., Ryan, P.R., Rebetzke, G.J., Weston, L.A. (2022) Competitiveness of early vigor wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes is established at early growth stages. *Agronomy*, 12(2): 377.

Lebreton, P., Moreau, D., Perronne, R., Colbach, N. (2025) Tracking ideal varieties for agroecological weed management in organic wheat. A simulation study. *European Journal of Agronomy*. 164: 127501.

Lever, L., Rolland, B., Chauvel, B., Cordeau, S., Perronne, R. (2022a) Caractères variétaux associés à la compétition des génotypes de céréales à paille vis-à-vis des adventices et pistes pour leur sélection : une revue bibliographique. *Agronomie, Environnement & Sociétés* 12-1: 1-16.

Lever, L., Rolland, B., Chauvel, B., Cordeau, S., Perronne, R. (2022b) Des céréales à paille compétitives vis-à-vis des adventices. *Phytoma* 757: 48-51.

Mahé, I., Chauvel, B., Colbach, N., Cordeau, S., Gfeller, A., Reiss, A., Moreau, D. (2022) Deciphering field-based evidences for crop allelopathy in weed regulation. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 42, 1-20.

# ANNEXES

**Blé-Adventices-III**  
Amélioration de la compétitivité des variétés de blé tendre vis-à-vis des adventices pour l'agriculture biologique

**CONTEXTE GÉNÉRAL**  
La gestion des adventices, une problématique majeure :  
• les variétés de blé tendre ont une capacité de sélection des variétés de blé tendre vis-à-vis des adventices en baisse  
• résistances réduites chez 273 espèces adventices au niveau mondial  
• réduction des apports de produits phytosanitaires (impacts sur la biodiversité, la santé humaine, l'environnement)  
• questionnements concernant la santé publique, l'impact économique et la sécurité alimentaire

**Le levier variétal, une piste à explorer :**  
• un levier à effet limité mais :  
• peu travaillé jusqu'à présent par le sélectionneur  
• a priori plus sûr pour l'agriculture  
• pourrait améliorer l'efficacité de gestion d'autres leviers

**CONNAISSANCES PRÉALABLES**  
Actualisation d'une revue bibliographique (Lever et al., 2022) :  
• objectif : identifier les différents caractères d'idéotype pouvant améliorer la capacité de compétition des variétés de blé tendre à paille  
• un corpus de 45 publications  
• une liste des caractères d'idéotype associés à la capacité de compétition  
• une étude des corrélations entre caractères (Figure 1)  
• évaluer l'impact de la gestion d'autres leviers

**Principales conclusions de la revue :**  
• se focaliser sur la compétitivité plutôt que la tolérance et l'allelopathie  
• distinguer deux sous-ensembles de caractères :  
• durant le cycle cultural  
• les caractères post-épisson  
• mesurer les différents caractères séparément et dans le cadre d'un indicateur synthétique (pas de redondance stricte entre caractères)  
• adapter les critères de sélection actuels qui intègrent pas ou peu les mesures de caractères pré-épisson

**EXPERIMENTATION AU CHAMP**  
Dispositif expérimental (Photographie 1) :  
• 2 variétés, 2 modalités (sans et sans arachide) et 4 répétitions avec arachide  
• 2 sites expérimentaux (Allennes, Maulé, Le Rhin)

**REMERCIEMENTS**  
Ce projet a été financé par le programme de recherche de l'INRAE (PDR) et par le programme de recherche de l'INRAE (PDR) et par le programme de recherche de l'INRAE (PDR).

TÉLÉCHARGER LE POSTER

# 9<sup>ème</sup> RENCONTRE SCIENTIFIQUE



*Fonds de soutien à l'Obtention Végétale*

## Synthèse des programmes de recherche 2020

Retrouvez l'ensemble des informations  
sur les programmes de recherche sur le site :

**[www.fsov.org](http://www.fsov.org)**



**semae**

Toutes les semences pour demain

**Section Semences de Céréales à paille & Protéagineux**

44 rue du Louvre - 75001 Paris

Tél. : 01 42 33 85 05 - E-mail : [fsov@gnis.fr](mailto:fsov@gnis.fr)

[www.fsov.org](http://www.fsov.org)

Mars 2026 - D1926