Recherche de résistances quantitatives à deux maladies foliaires chez le blé dur : la septoriose et la rouille brune

David Milliot-Stoclin

▶ **To cite this version:**

David Milliot-Stoclin. Recherche de résistances quantitatives à deux maladies foliaires chez le blé dur : la septoriose et la rouille brune. Sciences du Vivant [q-bio]. 2018. dumas-01963576

HAL Id: dumas-01963576

https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01963576

Submitted on 21 Dec 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

AGROCAMPUS OUEST

☐ **CFR Angers**

☑ **CFR Rennes**

Année universitaire : 2017-2018 Master Biologie, Agrosciences Parcours Amélioration, Production, Valorisation du végétal Option : Génétique, Génomique et Amélioration des plantes	**Mémoire de fin d'études** ☐ d'Ingénieur de l'Institut Supérieur des Sciences agronomiques, agroalimentaires, horticoles et du paysage ☑ de Master de l'Institut Supérieur des Sciences agronomiques, agroalimentaires, horticoles et du paysage ☐ d'un autre établissement (étudiant arrivé en M2)

Recherche de résistances quantitatives à deux maladies foliaires chez le blé dur : la septoriose et la rouille brune

Par : David MILLIOT-STOCLIN

Photo : B. Pariaud

Photo : F. Suffert

Soutenu à Rennes, le 27 juin 2018

Devant le jury composé de :

Président : Jubault M.

Maîtres de stage : Goyeau H. et Marcel T.

Enseignant référent : Jubault M.

Autres membres du jury (Nom, Qualité)

Manzanares-Dauleux M., Examinateur

Delourme R., Rapporteur

Les analyses et les conclusions de ce travail d'étudiant n'engagent que la responsabilité de son auteur et non celles d'AGROCAMPUS OUEST et l'université de Rennes 1

Ce document est soumis aux conditions d'utilisation «Paternité-Pas d'Utilisation Commerciale-Pas de Modification 4.0 France» disponible en ligne http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.fr

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier mes maîtres de stage, Henriette et Thierry, pour leur encadrement, leurs conseils, et leur disponibilité. J'ai beaucoup appris durant ce stage.

Je remercie également Martin pour son aide précieuse au cours des semis et des inoculations.

J'adresse aussi mes remerciements à Abraham Korol pour sa pédagogie et le temps qu'il a pu m'accorder afin de mieux comprendre le logiciel Multipoint.

Merci à mes colocataires de bureau, pour leur aide, leur bonne humeur et leurs encouragements. Ce stage n'aurait pas été pareil sans vous.

J'adresse finalement un grand merci à l'ensemble des membres de l'unité Bioger pour leur accueil chaleureux et leur sympathie.

TABLE DES MATIERES

Introduction 1

1. Synthèse bibliographique 2

1.1 Le blé dur, une plante d'intérêt agronomique et économique 2

1.1.1 Contexte socio-économique de la filière blé dur 2

1.1.2 Situation du blé dur en France 2

1.1.3 Origine du blé dur 3

1.1.4 Sélection du blé dur 3

1.2 Deux principales maladies foliaires, deux champignons, deux menaces pour le blé dur 4

1.2.1 *Zymoseptoria tritici*, principal agent pathogène de la septoriose chez le blé dur 4

1.2.2 *Puccinia triticina*, principal agent pathogène de la rouille brune chez le blé dur 5

1.2.3 Méthodes de lutte contre la septoriose et la rouille brune 5

1.3 Généralités sur les résistances chez les plantes 6

1.3.1 Les résistances qualitatives 6

1.3.2 Les résistances quantitatives 7

1.3.3 Résistances connues à la rouille brune chez le blé dur 8

1.3.4 Résistances connues à la septoriose chez le blé dur 8

1.4 Généralités sur les cartes génétiques 9

1.4.1 Etapes de construction d'une carte génétique 9

1.4.2 Les cartes génétiques chez le blé dur 10

1.5 Présentation du projet Duromal 10

2. Objectifs de l'étude et stratégie mise en œuvre 11

3. Matériels et méthodes 12

3.1 Matériels et données disponibles 12

3.1.1 Cinq populations d'étude 12

3.1.2 Inoculation et phénotypage 12

3.1.2.1 Phénotypage sur plantes adultes au champ 12

3.1.2.2 Phénotypage sur plantules en conditions contrôlées 13

3.1.3 Séquençage et génotypage 14

3.2 Démarche adoptée 15

3.2.1 Construction de cartes génétiques individuelles des cinq populations 15

3.2.2 Construction d'une carte génétique intégrée 16

3.2.3 Etude statistique des phénotypes 16

3.2.4 Recherches de QTL par analyse de liaison et cartographie 17

4. Résultats 17
4.1 Cartes génétiques individuelles des cinq populations 17
4.2 Carte génétique intégrée 18
4.3 Traitements statistiques des données de phénotypage 19
4.4 Résultats et cartographie des QTL identifiés en analyse de liaison 20
5. Discussions 21
5.1 Analyse des cartes génétiques obtenues 21
5.2 Analyse des QTL de résistance identifiés 22
5.2.1 QTL identifiés pour la rouille brune 22
5.2.2 QTL identifiés pour la septoriose 23
5.3 Perspectives 24
Conclusion 25
Bibliographie 26
Sitographie 30
Annexes I

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figure 1 : Principales zones de production du blé dur en France et évolution de l'assolement

Figure 2 : Charges opérationnelles en blé tendre et en blé dur (€/ha) en 2011/2012

Figure 3 : Histoire évolutive du blé dur et du blé tendre

Figure 4 : Représentation schématique de la dynamique annuelle d'une épidémie de septoriose

Figure 5 : Principaux symptômes de la septoriose

Figure 6 : Principaux symptômes de la rouille brune

Figure 7 : Les cinq types de spores de *Puccinia triticina*

Figure 8 : Interaction plante-pathogène et développement des résistances aux maladies chez les plantes

Figure 9 : Classes principales des gènes R de résistance chez les plantes

Figure 10 : Carte génétique intégrée du génome du blé dur obtenue par l'association de deux cartes génétiques de deux populations : Kofa x Svevo (Maccaferri *et al.* 2008a) et Colosseo x Lloyd (Mantovani *et al.*, 2008) ; utilisation de marqueurs SSR

Figure 11 : Principaux types de populations en ségrégation

Figure 12 : Organisation de la campagne de phénotypage en 2017

Figure 13 : Echelle de notation utilisée lors du phénotypage pour la septoriose

Figure 14 : Protocole de la méthode de séquençage à l'aide du Genetitan Affymetrix

Figure 15 : Nombre de marqueurs SNP par chromosome pour la puce TaBW35K SNP

Figure 16 : Fonctionnement du « twin algorithm »

Figure 17 : Equivariance et indépendance des résidus e_i

Figure 18 : Répartition des marqueurs cartographiés selon les différents chromosomes du blé dur pour les cinq populations biparentales

Figure 19 : Exemples de résultats de comparaison avec Chinese Spring x Renan (CR)

Figure 20 : Distribution du nombre de marqueurs polymorphes communs entre les différentes populations pour chacun des chromosomes de la carte consensus avec la population NL

Figure 21 : Comparaison des cartes consensus avec et sans la population Nautilur x Liberdur

Figure 22 : Cartographie sur la carte consensus des cinq populations biparentales des différents QTL de résistance identifiés en analyse de liaison

TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Synthèse des différentes sources de résistance à la septoriose identifiées ou en cours d'indentification chez le blé dur

Tableau 2 : Note de résistance à la rouille et à la septoriose des cultivars choisis

Tableau 3 : Récapitulatif des différentes dates de notation

Tableau 4 : Différents type d'infection pour la rouille brune

Tableau 5 : Caractères retenus pour l'analyse de QTL

Tableau 6 : Informations liés aux marqueurs utilisés pour la cartographie

Tableau 7 : Comparaison du nombre de marqueurs polymorphes des populations d'étude entre les puces 35 et 90 K

LISTE DES ABRÉVIATIONS

AFLP : Amplification Fragment Length Polymorphism

AUDPC : Area Under the Disease-Progress Curve

BF : Babylone x Fabulis

CG : Sy Carma x Gainsur

CIM : Composite Interval Mapping

CIMMYT : International Maize and Wheat Improvement Center

GDEC : Génétique Diversité et Ecophysiologie des Céréales

GIE : Groupement d'Intérêt Economique

INRA : Institut National de la Recherche Agronomique

NF : Nobilis x Fabulis

NL : Nautlilur x Liberdur

PCR : Polymerase Chain Reaction

PDA : Potato dextrose agar

PM : Pastadou x Miradoux

QTL : Quantitative Trait Loci

RFLP : Restriction Fragment Length Polymorphism

RMSE : Root Mean Standart Error

SAM : Sélection Assistée par marqueurs

SIM : Simple Interval Mapping

SNP : Single Nucleotide Polymorphisme

SSR : Simple Sequence Repeats

YPD : Yeast Extract-Peptone-Dextrose

INTRODUCTION

De nouvelles demandes sociétales en termes de qualité nutritionnelle, organoleptique et environnementale des productions alimentaires émergent. En effet, la réduction des résidus chimiques et des fertilisants ainsi que l'augmentation de la qualité des denrées alimentaires sont aujourd'hui des enjeux majeurs. Le gain génétique obtenu au siècle dernier n'a pas permis d'atteindre la sécurité alimentaire et une augmentation de la production est donc nécessaire. De plus, les cultures sont exposées à des contraintes diverses et évolutives : aléas climatiques, attaques de pathogènes, etc. Il apparaît alors nécessaire de concevoir, pour répondre à ces nouvelles attentes, les meilleures combinaisons entre les ressources génétiques et des pratiques culturales respectueuses de l'environnement et adaptées à des contextes spécifiques. La question de la durabilité des résistances apparaît alors incontournable dans l'amélioration des plantes. Cet enjeu est d'une importance primordiale pour de nombreuses plantes, et notamment pour les espèces de grandes cultures.

Cultivé depuis la préhistoire, le blé dur, *Triticum turgidum ssp. durum*, représente une filière importante et dynamique à l'échelle mondiale. De nombreuses maladies impactent cette culture : la mosaïque causée par le virus *Polymyxa graminis*, la fusariose de l'épi, des maladies foliaires dont la rouille jaune, la rouille brune et la septoriose. Dans le cadre de cette étude, nous nous intéresserons principalement à la rouille brune causée par *Puccinia triticina* et la septoriose causée par *Zymoseptoria tritici.* La gestion de ces deux maladies repose principalement sur le recours à des traitements fongicides (Maufras, 2016 et 2017). Toutefois, l'application de ce type de produit est devenue de plus en plus réglementée par les pouvoirs publics (lois Grenelles, Ecophyto, etc.) à cause de leur effet néfaste sur l'environnement. L'utilisation de variétés durablement résistantes continue ainsi à être un enjeu important pour la lutte contre ces deux maladies. Cependant, chez le blé dur, les connaissances actuelles sur les sources de résistances à la septoriose et à la rouille brune sont limitées (Marone *et al.*, 2009 ; Berraies *et al.*, 2013). De plus, ces pathogènes possèdent un potentiel évolutif très important lorsqu'ils sont soumis à de fortes pressions de sélection. C'est notamment la raison pour laquelle les résistances qualitatives sont fréquemment contournées.

Le travail présenté dans ce rapport s'appuie sur l'hypothèse de l'existence de résistances polygéniques, quantitatives et durables à *Puccinia triticina* et/ou à *Zymoseptoria tritici* chez *Triticum turgidum* ssp. *durum.* L'objectif en était l'identification et la cartographie génétique des QTL de résistance à ces deux maladies dans cinq populations biparentales de blé dur. Le recours à des méthodes de cartographie génétique pour la détection des QTL permet l'identification de marqueurs moléculaires associés aux résistances quantitatives qui peuvent ensuite être utilisés en SAM (Sélection Assistée par Marqueurs).

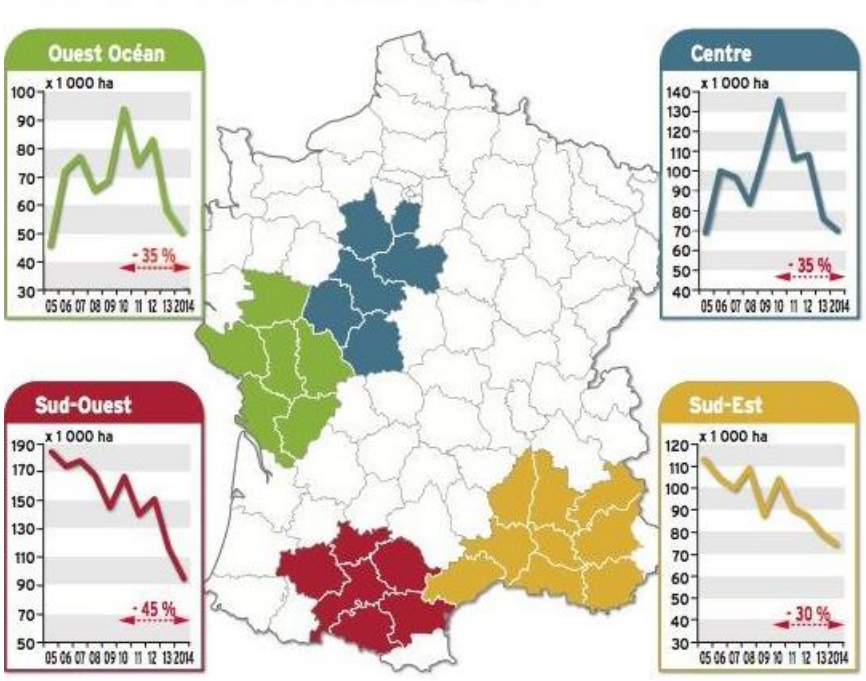


Figure 1 : Principales zones de production du blé dur en France et évolution de l'assolement (Ouvrard, 2014 d'après Arvalis)

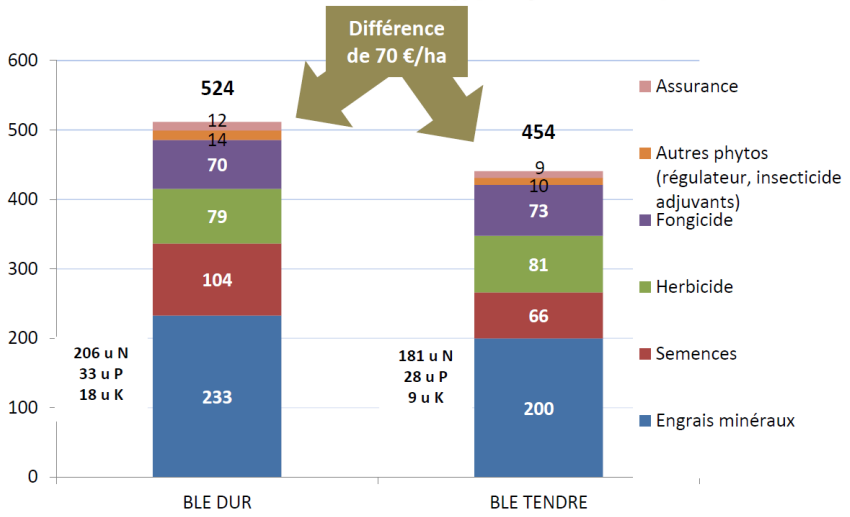


Figure 2 : Charges opérationnelles en blé tendre et en blé dur (€/ha) en 2011/2012 (Chambre d'agriculture d'Eure-et-Loir, 2014)

Données issues des groupes marges brutes de la chambre d'agriculture d'Eure-et-Loir en zone traditionnelle du blé dur

1. SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1 Le blé dur, une plante d'intérêt agronomique et économique

1.1.1 Contexte socio-économique de la filière blé dur

Cultivé depuis la préhistoire, le blé est une céréale de la famille des Graminées et du genre *Triticum*. Cette monocotylédone fait partie des trois céréales les plus cultivées dans le monde avec le riz et le maïs (Feldman *et al.*, 1995) et constitue l'aliment de base dans plus de 40 pays et pour plus de 35 % de la population mondiale (Williams, 1993, Nevo *et al.*, 2002).

Il existe de nombreuses espèces appartenant au genre *Triticum* mais deux principales composent la plupart des cultivars de blé modernes : l'hexaploïde *Triticum aestivum* (2n = 42 chromosomes) et le tétraploïde *Triticum turgidum* (2n = 28 chromosomes) dont la sous-espèce *durum* fait partie (Nevo *et al.*, 2002).

Le blé dur, *Triticum turgidum ssp. durum*, est une espèce annuelle autogame principalement cléistogame. Elle peut être conduite sous deux formes de production impliquant des choix variétaux différents et dépendant de la durée du cycle végétatif des plantes :

- Le blé d'hiver est généralement semé à l'automne. Il connait une phase de repos végétatif en jeune plant et a besoin d'une période vernalisante afin d'entamer son stade de montaison.
- Le blé de printemps, plus sensible au gel hivernal, est principalement semé en sortie d'hiver et réalise son cycle de développement plus rapidement.

Le blé dur est principalement cultivé dans les régions du bassin méditerranéen, du Nord de l'Amérique et du Sud-ouest de l'Asie (Maccaferri *et al.*, 2014). Les principaux producteurs se répartissent entre l'Union Européenne (9,1 millions de tonnes en 2017), le Canada (4,2 millions de tonnes), la Turquie (4 millions de tonnes) et les Etats-Unis (1,5 millions de tonnes) pour une superficie mondiale d'assolement comprise entre 15 et 20 millions d'hectares (FranceAgrimer, 2018a, ***annexe 1***).

En Europe, l'Italie est le premier producteur de blé dur avec 4,3 millions de tonnes en 2017, la France se positionne en seconde position (2,1 millions de tonnes) suivie de la Grèce et de l'Espagne (1,1 millions de tonnes) (FranceAgrimer, 2018a, ***annexe 1***).

Contrairement au blé tendre possédant des grains dont la texture est généralement farineuse, le blé dur est composé de grains dont l'amande est vitreuse et dure. Cette caractéristique impacte directement les débouchés de cette culture. En effet, le blé tendre sera préférentiellement broyé en farine (< à 200 µm) et utilisé en panification ou biscuiterie, le blé dur, quant à lui, sera principalement broyé en semoule (150 – 500 µm) et réservé à la fabrication de pâte, semoule, pilpil, boulgour ou blé concassé (Passion Céréale, 2009).

1.1.2 Situation du blé dur en France

En France, après avoir atteint plus de 500 000 Ha en 2011, la sole dédiée au blé a diminué ces dernières années (***annexe 1 et figure 1***). Ce phénomène peut en partie s'expliquer par la rentabilité accrue de l'utilisation du blé tendre par rapport au blé dur, notamment en Beauce comme le montre les résultats de l'étude menée par la chambre d'agriculture d'Eure-et-Loir en 2011 et 2012 (***figure 2***).

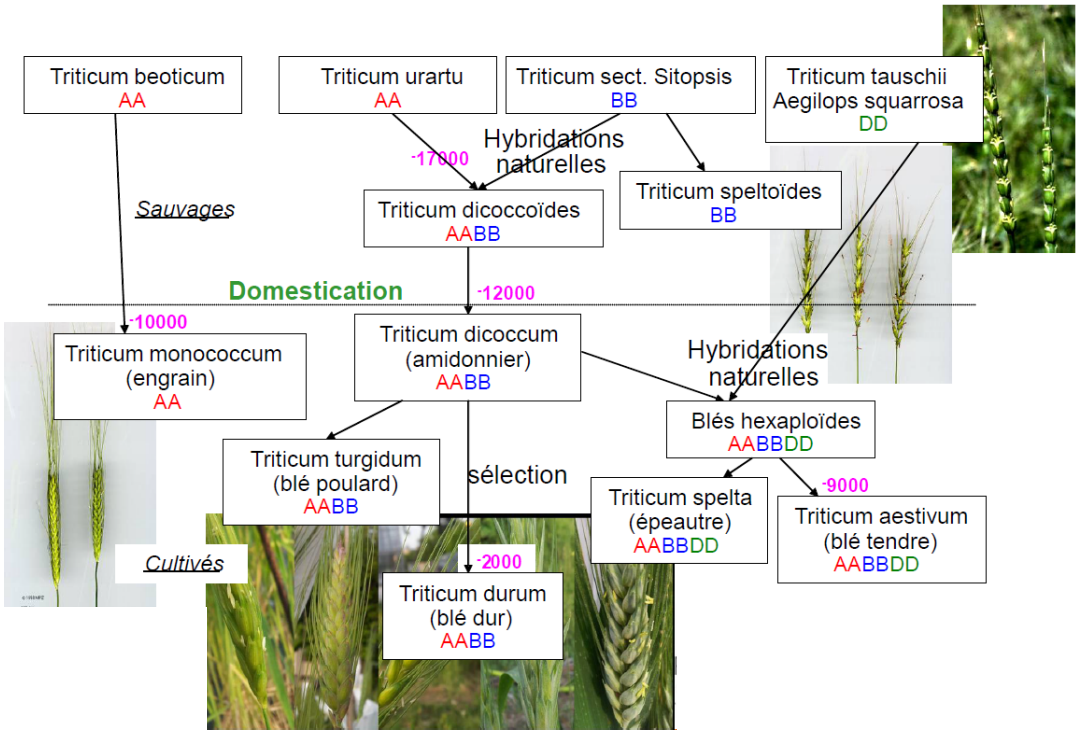


Figure 3 : Histoire évolutive du blé dur et du blé tendre (Goldringer *et al.*, 2013, *s.d.)*

Cette céréale est principalement cultivée dans quatre régions : le Sud-est, le Sud-ouest, le Centre et l'Ouest Océan (**figure 1**). Jusqu'à récemment, quatre entreprises de sélection possédaient un programme dédié au blé dur en France : RAGT R2N, Syngenta, Limagrain et Florimond Desprez. Toutefois, Syngenta et Limagrain ont décidé d'arrêter leur programme de sélection blé dur en 2017.

1.1.3 Origine du blé dur

La domestication du blé prend ses origines il y a environ 12 000 ans dans la région anciennement appelée le « Croissant fertile » au Proche Orient (Thuillet *et al*., 2004, Bonjean, 2011). Cette première forme de blé domestiqué correspond à *Triticum turgidum ssp. dicoccum* et dérive de l'espèce sauvage *Triticum turgidum ssp. dicoccoides* (Zohary *et al.,* 2000). Cette dernière est tétraploïde (génome AABB) et résulte d'un évènement de polyploïdisation issu de l'hybridation entre le blé sauvage *Triticum urartu* (génome AA) et un diploïde inconnu (génome BB) (Haudry *et al*., 2007). Différentes espèces diploïdes ont été identifiées comme potentielle source de ce génome B. Toutefois, les blés sauvages *Triticum* de la section *Sitopsis* sembleraient être les candidats les plus probables (Goldringer *et al*., 2013) (***figure 3***).

Environ 2000 ans après cet évènement, le développement de l'agriculture et son expansion dans le monde (principalement en Europe) conduisent à la propagation de *Triticum turgidum ssp. dicoccum*. En parallèle, une nouvelle espèce, issue d'une mutation et possédant des graines nues (non vêtues), voit le jour au Proche Orient. Il s'agit du blé dur, *Triticum turgidum ssp. durum*, espèce allotétraploïde à 2n = 28 chromosomes. Cette espèce va rapidement remplacer *Triticum turgidum ssp. dicoccum* pour devenir l'espèce allotétaploïde de blé la plus cultivée de ce second millénaire (Thuillet *et al*., 2004). Un autre évènement de polyploïdisation a également donné naissance au blé tendre hexaploïde : *Aegilops squarrosa (DD)* se serait notamment hybridé avec *Triticum. turgidum ssp. dicoccum* (AABB) (Boudreau *et al.*, 1992).

1.1.4 Sélection du blé dur

Tout au long de sa domestication et de son utilisation, le blé dur a connu de nombreux événements de sélection. En 2006, une étude a montré que le rendement des variétés de blé aurait triplé en 50 ans (Doré *et al.*, 2006). De nos jours, les principaux types variétaux utilisés en sélection pour cette céréale sont des lignées pures, quelques variétés hybrides et population. La sélection variétale moderne du blé doit répondre aux attentes de la filière de transformation ainsi qu'aux agriculteurs. Ainsi des critères de rendement (productivité, poids des grains), de bonne valorisation de l'azote, de résistance à la verse sont particulièrement recherchés. Les critères de qualité des grains sont également très importants : résistance au mitadinage (anomalies de couleur et de texture qui affectent la qualité), teneur en protéine etc. (Semencemag, *s.d.).*

De plus, les cultures sont exposées à des contraintes diverses et évolutives: aléas climatiques, attaques de pathogènes, etc. C'est pourquoi il est nécessaire de concevoir des stratégies adaptées à ces contraintes en combinant ressources génétiques et pratiques culturales respectueuses de l'environnement.

Les variétés les plus cultivées en France depuis 2007 sont Miradoux, Fabulis, Isildur, Sculptur, Tablur, Pescadou, Babylone, Dakter, etc. Ces variétés présentent des caractéristiques spécifiques de résistance aux stress biotiques ou abiotiques rencontrés en France (exemple fiche variété de Babylone en ***annexe 2***).

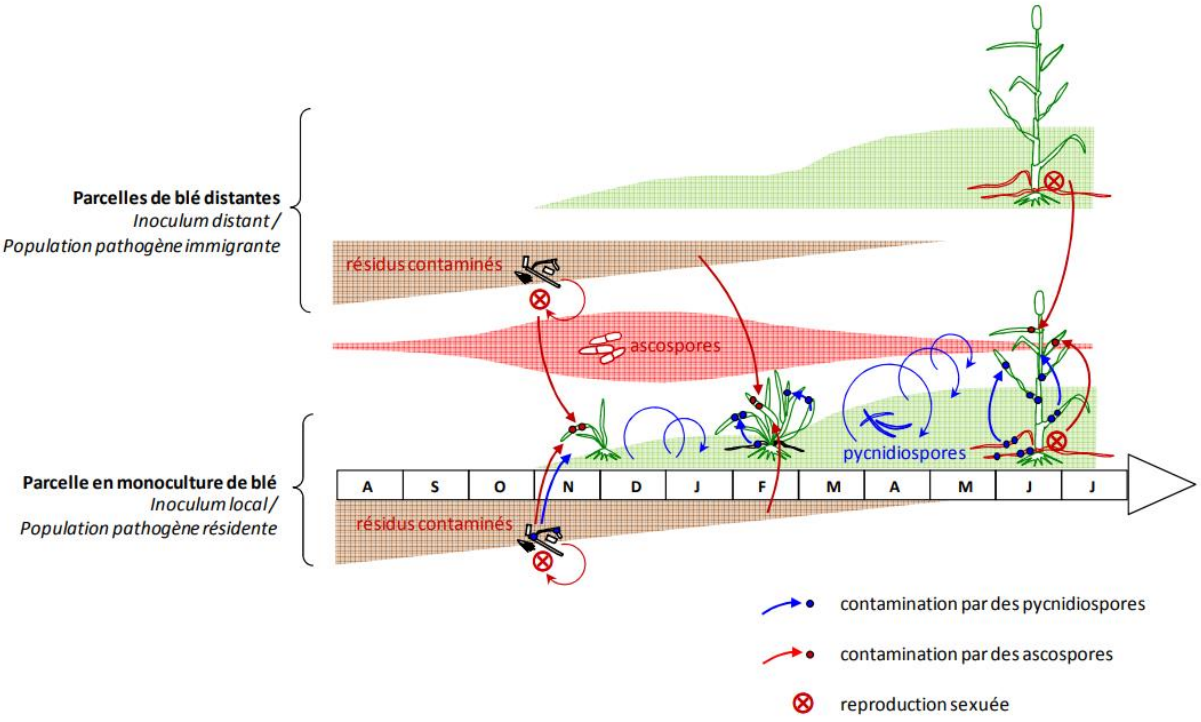


Figure 4 : Représentation schématique de la dynamique annuelle d'une épidémie de septoriose (Suffert, 2015)

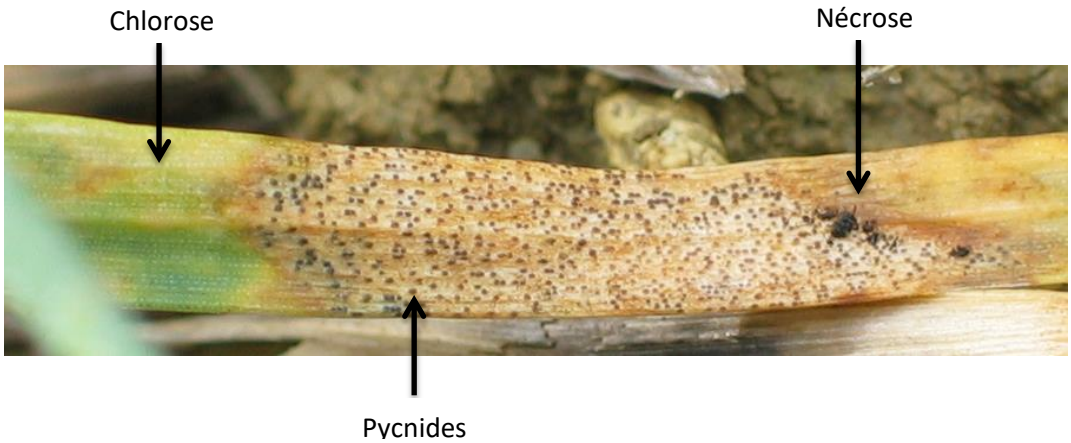


Figure 5 : Principaux symptômes de la septoriose (photo : F. Suffert)

1.2 Deux principales maladies foliaires, deux champignons, deux menaces pour le blé dur

La résistance aux maladies est un des principaux facteurs de régularité du rendement. Les deux principales maladies foliaires du blé dur sont la septoriose et la rouille brune. Celles-ci provoquent une diminution de la surface foliaire verte et ainsi une réduction de la photosynthèse, entraînant une diminution du poids de mille grains et donc une perte de rendement.

1.2.1 *Zymoseptoria tritici*, principal agent pathogène de la septoriose chez le blé dur

Largement répandue dans le monde, principalement en Europe de l'Ouest où les conditions climatiques sont favorables à son développement, la septoriose est l'une des maladie les plus importantes chez le blé (Dean *et al.*, 2012; Gurr *et al.*, 2015) et peut provoquer des pertes de rendement pouvant aller jusqu'à 40 % (HGCA, 2012). Chez le blé dur, elle est causée principalement par le champignon ascomycète *Zymoseptoria tritici* de la famille des *Mycosphaerellaceae*. Les épidémies de septoriose sont en général marquées par deux modes de reproduction de l'agent pathogène, une sexuée et une asexuée, intervenant à différentes phases de l'infection (Ponomarenko *et al.*, 2011).

Principalement à la fin de l'automne, l'infection primaire est généralement initiée par les ascospores présentes sur les résidus de culture de l'année précédente (***figure 4***). Ces ascospores sont libérées par des périthèces (fructifications) issus de la reproduction sexuée et sont propagées par le vent sur de très longues distances (Suffert, 2015). En condition humide, les ascospores germent et le champignon infecte les tissus foliaires de la jeune plante en pénétrant par les stomates (Palmer *et al.*, 2002). Les populations de *Z. tritici* présentent une grande diversité génétique en raison de ces évènements de reproduction sexuée au cours de leur cycle de développement provoquant ainsi un brassage génétique important (Perez-Nadales *et al.*, 2014).

Z. tritici est hémibiotrophe, car la première phase de son cycle infectieux est biotrophe, il vit aux dépends de la plante, et la seconde phase est nécrotrophe, il tue les tissus de la plante suite à la production de toxines puis consomme les tissus morts. Le passage de la phase biotrophe à nécrotrophe s'effectue environ dix jours après la pénétration du champignon et sous des conditions optimales de température (20 à 25 °C) et d'humidité (Dancer *et al.*, 1999; Kema *et al.*, 1996). Des nécroses foliaires, de couleur brun-noir, apparaissent alors. Ces dernières comportent des fructifications asexuées appelées pycnides (Suffert, 2015) et sont capables de produire plusieurs milliers de pycnidiospores favorisant la propagation de l'infection lors de la phase secondaire (Eyal, 1971 ; Suffert *et al.*, 2013) (***figure 5***).

L'infection secondaire débute lors de la saison culturale (au printemps et en été) et principalement lors de conditions humides. Les pycnides devenues matures libèrent leurs pycnidiospores entourées d'un gel mucilagineux formant un cirrhe. Les gouttes de pluie, notamment par le bais d'éclaboussures, permettent une dispersion de ces spores de manière verticale (du bas de la plante vers les étages foliaires supérieurs) et de manière horizontale (aux plantes voisines) sur des courtes distances (Palmer *et al.*, 2002).

Le champignon passe ensuite l'hiver sur les débris de culture ou sur les cultures nouvellement semées en automne avant de recommencer un nouveau cycle d'infection.

Lésions de *Puccinia triticina*
(loupe binoculaire, x40) (Pariaud, 2008)

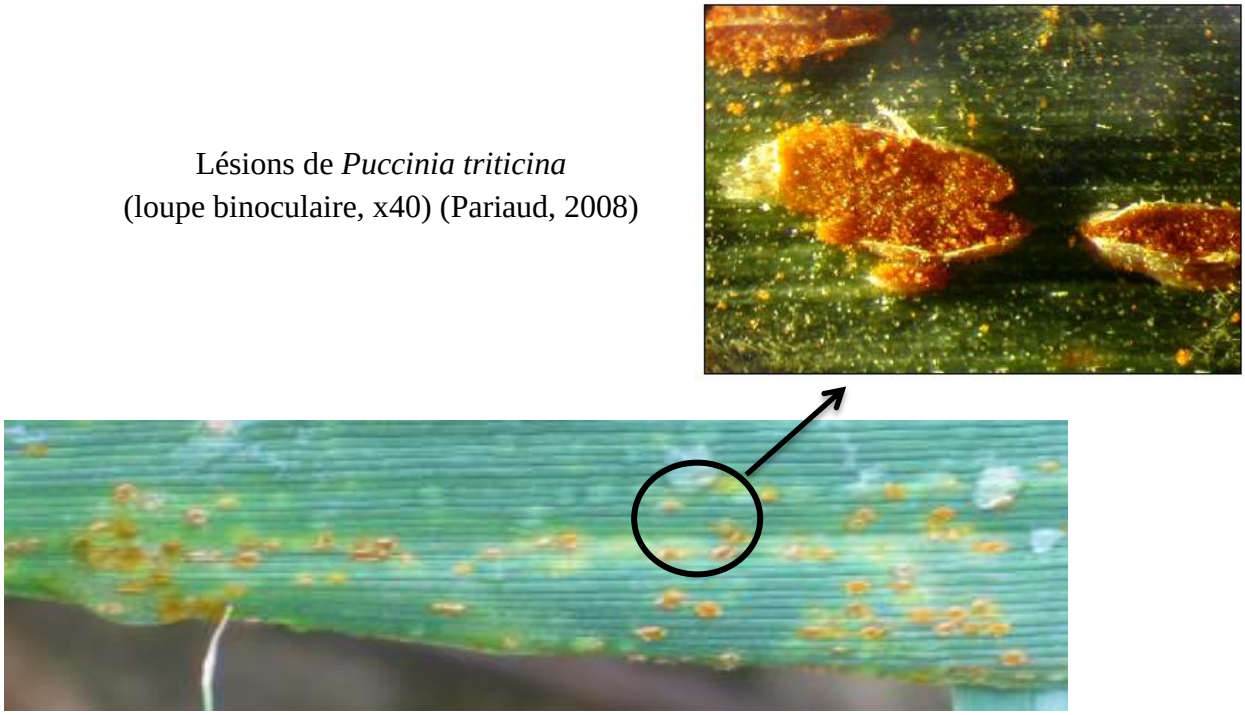


Figure 6 : Principaux symptômes de la rouille brune (photo : F. Suffert)

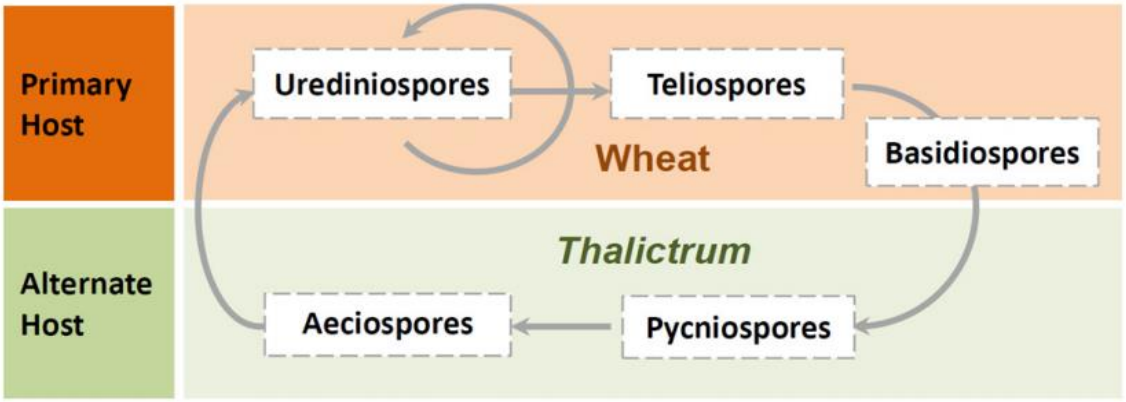


Figure 7 : Les cinq types de spores de *Puccinia triticina*
(Chai *et al.*, 2016 d'après UDSA-ARS cereal rust image gallery)

1.2.2 *Puccinia triticina*, principal agent pathogène de la rouille brune chez le blé dur

La rouille brune est l'une des maladies foliaires principales du blé. Elle est répandue à l'échelle mondiale et entraine, en moyenne, des pertes de rendement de 15 % (Rampitsch *et al.*, 2006). En France, les régions les plus touchées sont le Sud-Est et le Sud-Ouest. Cette maladie est causée par *Puccinia triticina*, un champignon basidiomycète de la famille des *Pucciniaceae*. Elle infecte les feuilles provoquant l'apparition de pustules rouge-orange sur les limbes contenant des milliers de spores qui sont ensuite dispersées par le vent et peuvent ainsi infecter d'autres plantes (Chai *et al.*, 2016) (***figure 6***).

Puccinia triticina est strictement biotrophe et possède un cycle de vie complexe avec 5 types de spores différents et deux catégories d'hôtes (***figure 7***) (Chai *et al.*, 2016). La présence d'hôtes écidiens infectés n'a été mise en évidence que rarement, et dans des zones géographiques limitées (Espagne, Portugal, Sud de l'Italie, Maroc) (Kolmer *et al.*, 2012). La reproduction sexuée de *P. triticina* est donc considérée comme n'ayant aucune influence épidémiologique (Pariaud, 2008). Les études génétiques ont confirmé que les populations sont clonales en Europe (Goyeau *et al.*, 2007, Kolmer *et al.*, 2012).

Le cycle de contamination se déroule de la manière suivante chez le blé : après son dépôt sur la surface foliaire, l'urédospore germe et pénètre dans les tissus par le biais des stomates. L'haustorium, structure permettant l'exploitation des ressources de l'individu hôte, est ensuite mis en place. L'haustorium forme une interface d'échange entre le champignon et la paroi membranaire des cellules de l'hôte : le champignon délivre des effecteurs dans la cellule permettant la pathogénèse et se nourrit de nutriments provenant de la cellule végétale. Enfin, l'épiderme de la feuille est rompu localement formant des lésions appelées urédinia qui permettent la libération des spores et leur dissémination (Pariaud, 2008). Dans des conditions humides et chaudes, le cycle de la maladie peut progresser de l'infection initiale à la sporulation en 10 jours (Hu *et al.*, 2007). Les repousses de blé à l'automne dues aux graines tombées lors de la moisson ou les semis précoces permettent la survie du champignon d'une année à l'autre.

1.2.3 Méthodes de lutte contre la septoriose et la rouille brune

Les pertes les plus importantes de rendement sont majoritairement constatées lorsque les trois dernières feuilles (la feuille drapeau et les deux sous-jacentes) responsables de l'apport des produits de la photosynthèse pour le remplissage des grains sont atteintes par la maladie (Palmer *et al.*, 2002, Paveley, 1999; Shaw *et al.*, 1989; Thomas *et al.*, 1989). Les méthodes de contrôle contre ces deux maladies ont alors principalement pour but de garder ces feuilles saines et se décomposent en deux catégories principales : une lutte agronomique et une lutte phytosanitaire.

La lutte agronomique est principalement basée sur l'utilisation de variétés résistantes. Il s'agit d'une méthode efficace. Toutefois, elle repose en général sur des résistances de type qualitatif plus facilement contournables par le pathogène dû au fait de la pression de sélection très forte qu'elles lui imposent. De plus, le niveau de résistance d'un cultivar peut varier en fonction des conditions climatiques et de la composition de la population pathogène à laquelle il est confronté (Palmer *et al.*, 2002).

En complément du choix variétal, il est également possible de jouer sur la densité et la date de semis. En effet, des blés semés plus tardivement seraient moins sensibles aux épidémies de ces deux maladies. Des semis précoces sont favorables à la multiplication de ces champignons qui pourront trouver pendant l'automne les conditions idéales à leur développement. De

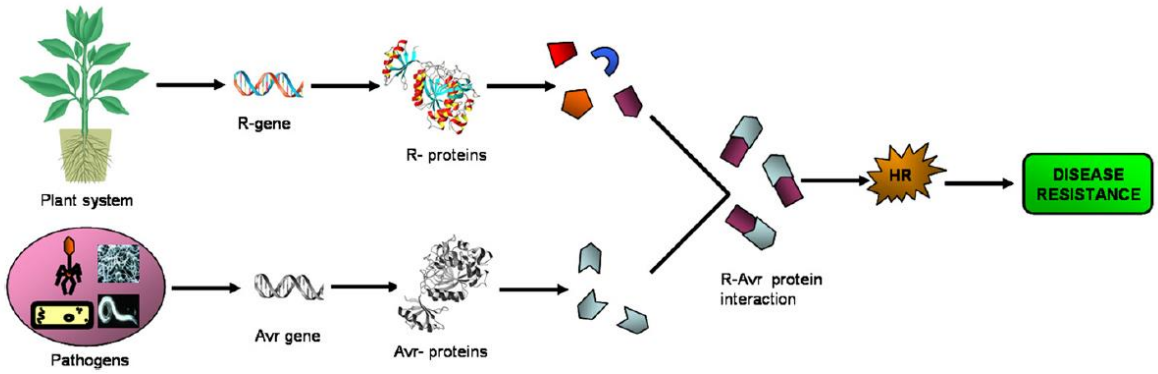
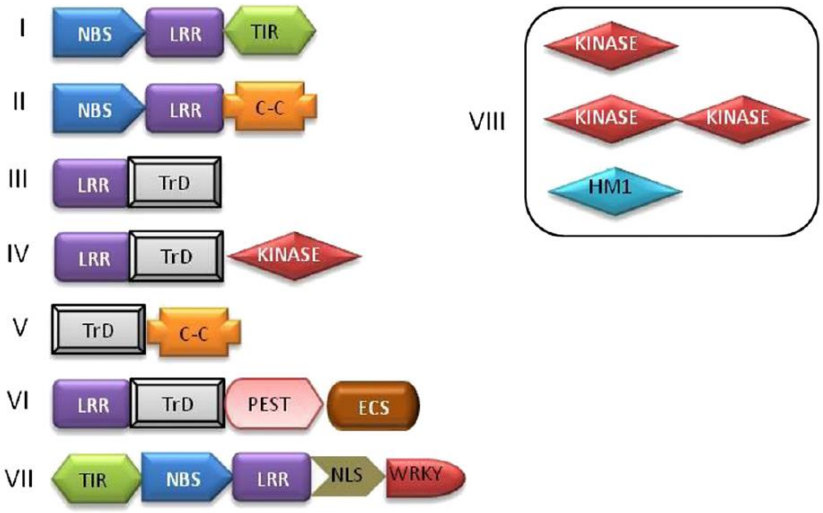


Figure 8 : Interaction plante-pathogène et développement des résistances aux maladies chez les plantes (Gururani *et al.*, 2012)



LRR : Leucine rich repeats ; NBS : Nucleotide-binding site ; TIR : Toll/Interleukin-1-receptors ; C-C : Coiled coil ; TrD : Transmembrane domain ; PEST : Protein degradation domain (proline-glycine-serine-threonine) ; ECS : Endocytosis cell signaling domain ; NLS : Nuclear localization signal ; WRKY : Amino acid domain ; HM1 : *Helminthosporium carbonum* toxin reductase enzyme

Figure 9 : Classes principales des gènes R de résistance chez les plantes (Gururani *et al.*, 2012)

même, des faibles densités de semis limiteraient la propagation de ces maladies (Maufras, 2016-2017). Une gestion des résidus de culture et des adventices peut également être une solution qui limiterait les possibilités de multiplication du champignon. En effet, un travail du sol empêchant les repousses permettrait d'éviter la survie du pathogène entre deux cultures successives et donc de réduire l'inoculum primaire sur la parcelle (Maufras, 2016-2017).

Concernant la lutte phytosanitaire pour la septoriose, la lutte préventive ou en début de contamination semblerait toujours la plus efficace. Il est également conseillé de limiter autant que possible le nombre de traitements et de diversifier les modes d'actions et les substances actives afin de réduire la pression de sélection et ainsi éviter l'apparition de nouvelles populations résistantes (Maufras, 2017). Actuellement, la lutte contre la septoriose reste largement assurée par des traitements fongicides mais cette lutte chimique devient plus difficile à mener. L'efficacité de nombreux fongicides est en effet limitée suite à l'apparition d'isolats résistants à différentes familles de matières actives (résistances aux strobilurines, aux triazoles).

Pour la rouille brune, il a été constaté en France par le biais de l'analyse fréquentielle des épidémies (suivi SPV Phytoma 1988 – 2003) que les pertes de rendement pour des parcelles non traitées avec des fongicides peuvent atteindre jusqu'à 40 % pour des variétés sensibles par rapport aux parcelles traitées (Pariaud, 2008). Il est notamment conseillé d'intervenir dès l'apparition des premières pustules sur l'une des trois dernières feuilles visibles (Maufras, 2016).

Ainsi, concernant la lutte contre ces deux maladies, l'utilisation de manière raisonnée des différents leviers (variétés résistantes, pratiques culturales et fongicides) est probablement la manière la plus durable de protéger les cultures.

1.3 Généralités sur les résistances chez les plantes

Le contrôle de la septoriose et de la rouille brune repose actuellement fortement sur le recours à des traitements fongicides. Toutefois, le recours à ce type de produit est devenu de plus en plus réglementée par les pouvoirs publiques (lois Grenelles, Ecophyto, etc.) à cause de leur effet néfaste sur l'environnement. L'utilisation de variétés résistantes continue ainsi à être un enjeu important pour la lutte contre ces deux maladies. Toutefois, toutes les résistances ne sont pas durables et sont contournées par certains pathogènes. Il existe, en effet, des pathotypes différents dans les populations fongiques (ayant des profils de virulences différents). Il est donc important de comprendre et de caractériser les mécanismes de résistance afin d'optimiser la durabilité de la résistance des cultivars.

On peut distinguer deux types de résistance chez les plantes : les résistances qualitatives et les résistances quantitatives.

1.3.1 Les résistances qualitatives

Les résistances qualitatives entrainent une inhibition totale de la maladie et une quasi-absence des symptômes. Elles sont plus spécifiques et reposent sur les interactions dites gène-pour-gène entre les produits de gènes de résistance des plantes (protéines R) et les produits de gènes d'avirulence des agents pathogènes (protéines Avr) (Flor, 1955, Gururani *et al.*, 2012) (***figure 8***). La notion d'avirulence dépend de l'efficacité de le résistance : une souche pathogène sera qualifiée d'avirulente si un gène de résistance est efficace contre celle-ci, et une souche sera qualifiée de virulente si aucun gène de résistance n'est efficace (Niks *et al.*, 2011). Les gènes de résistances chez les plantes sont répartis en huit classes basées sur l'organisation de leurs motifs d'acides aminés (Gururani *et al.*, 2012) (***figure 9***).

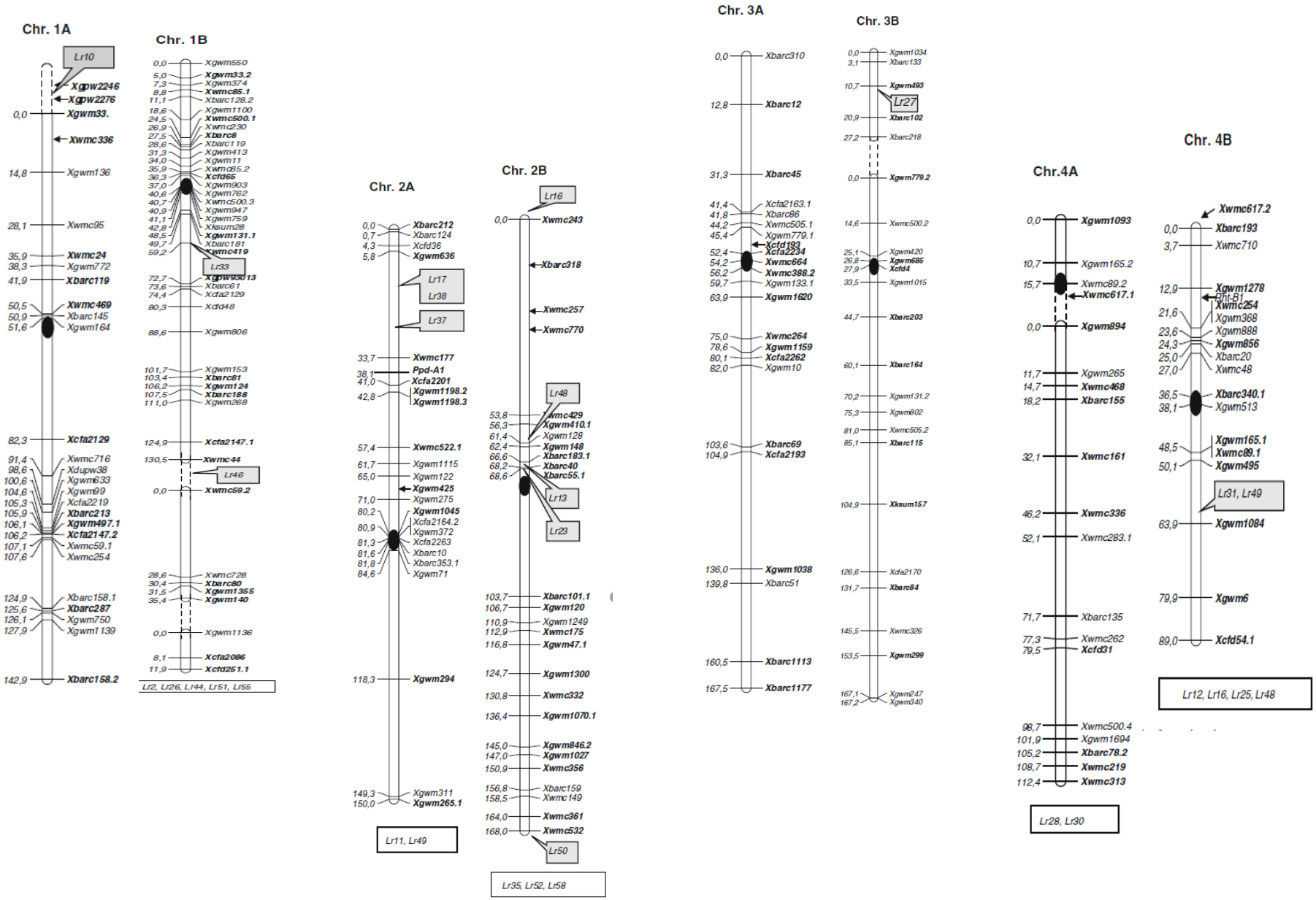


Figure 10 : Carte génétique intégrée du génome du blé dur obtenue par l'association de deux cartes génétiques de deux populations : Kofa x Svevo (Maccaferri *et al.* 2008a) et Colosseo x Lloyd (Mantovani *et al.*, 2008) ; utilisation de marqueurs SSR (Maccaferi, 2010)

Les marqueurs indiqués à l'aide de flèches sont issus de la littérature. La position des gènes Lr de résistance à la rouille brune sont reportés sur chaque chromosome. Les gènes Lr assignées à un chromosome mais pas encore cartographiés sont reportés au bas de chaque chromosome.

Ainsi les résistances qualitatives sont basées sur des gènes de résistance à effet majeur spécifiques à certains pathotypes. Ce type de résistance se traduit par une distribution discrète de phénotypes dans une population recombinante. Actuellement dans les programmes de sélection, l'amélioration du niveau de résistance des variétés s'appuie principalement sur ce type de résistances. Elles sont en effet plus faciles à manipuler car elles sont monogéniques et à effet fort. Toutefois, elles imposent une pression de sélection très forte sur la population pathogène. Toute mutation ou évolution chez ce dernier peut entraîner un contournement rapide des résistances qualitatives.

1.3.2 Les résistances quantitatives

Les résistances quantitatives reposent, quant à elles, sur plusieurs gènes à effet partiel et sur les interactions entre ces gènes. Chaque gène de résistance quantitative peut avoir un effet plus ou moins important sur le niveau de résistance, certains gènes ayant un effet presque aussi fort qu'un gène R et d'autres gènes ayant un effet à la limite de la détection.

Ce type de résistance se traduit par une distribution continue de phénotypes dans une population recombinante. Les gènes impliqués peuvent être localisés sur le génome à l'aide d'approches de cartographie de QTL (Pilet-Nayel *et al.,* 2017). Les résistances quantitatives impliquent des mécanismes de défense très variés interférant avec certaines phases de développement du champignon pathogène (Azzimonti *et al.,* 2013). En général, elles ne provoquent pas une inhibition totale de son développement, mais peuvent réduire son taux de multiplication ou diminuer la sévérité des symptômes (Pilet-Nayel *et al.*, 2017). Cependant, il arrive parfois qu'une combinaison de QTL de résistance conduise à une résistance totale à un pathogène (Niks *et al.*, 2015 ; Stall *et al.,* 2009).

Les gènes impliqués dans la résistance quantitative peuvent aussi être spécifiques et contournés par les populations pathogènes, mais la résistance quantitative dans son ensemble apparaît plus durable (Parleviet, 2002 ; Pilet-Nayel *et al.,* 2017). Une résistance est dite durable lorsqu'elle reste efficace alors que la variété est cultivée sur des grandes surfaces, pendant une longue période de temps, et dans des conditions favorables au développement de la maladie (Johnson, 1981).

La durabilité plus importante des résistances quantitatives par rapport aux résistances qualitatives peut être due à une pression de sélection plus faible sur la population de pathogènes par l'hôte résistant, à une combinaison de sélections contradictoires sur les pathogènes, à une combinaison de différents mécanismes de résistance, à la faible probabilité que l'organisme pathogène acquière dans le même temps les différentes mutations nécessaires au contournement des résistances de l'hôte, ou encore à une succession de différents mécanismes au cours du temps ou du développement de la plante (Mundt, 2014 ; Pilet-Nayel *et al.,* 2017 ; Palloix *et al.,* 2009 ; Richardson *et al.,* 2006).

La résistance à la rouille brune peut être soit qualitative soit quantitative et les mécanismes de ces deux types de résistance sont distincts : la résistance qualitative se caractérise par une réaction d'hypersensibilité après pénétration des cellules de l'hôte par le champignon, alors que la résistance quantitative se caractérise par la formation de papillae au niveau des parois cellulaires de l'hôte avant leur pénétration par le champignon (Collins *et al.* 2007). La résistance à la septoriose semble principalement être de type quantitatif. La septoriose ne pénètre pas les cellules de l'hôte et reste dans l'apoplasme, et des mécanismes de résistance distincts n'ont pas été décrits comme pour les rouilles.

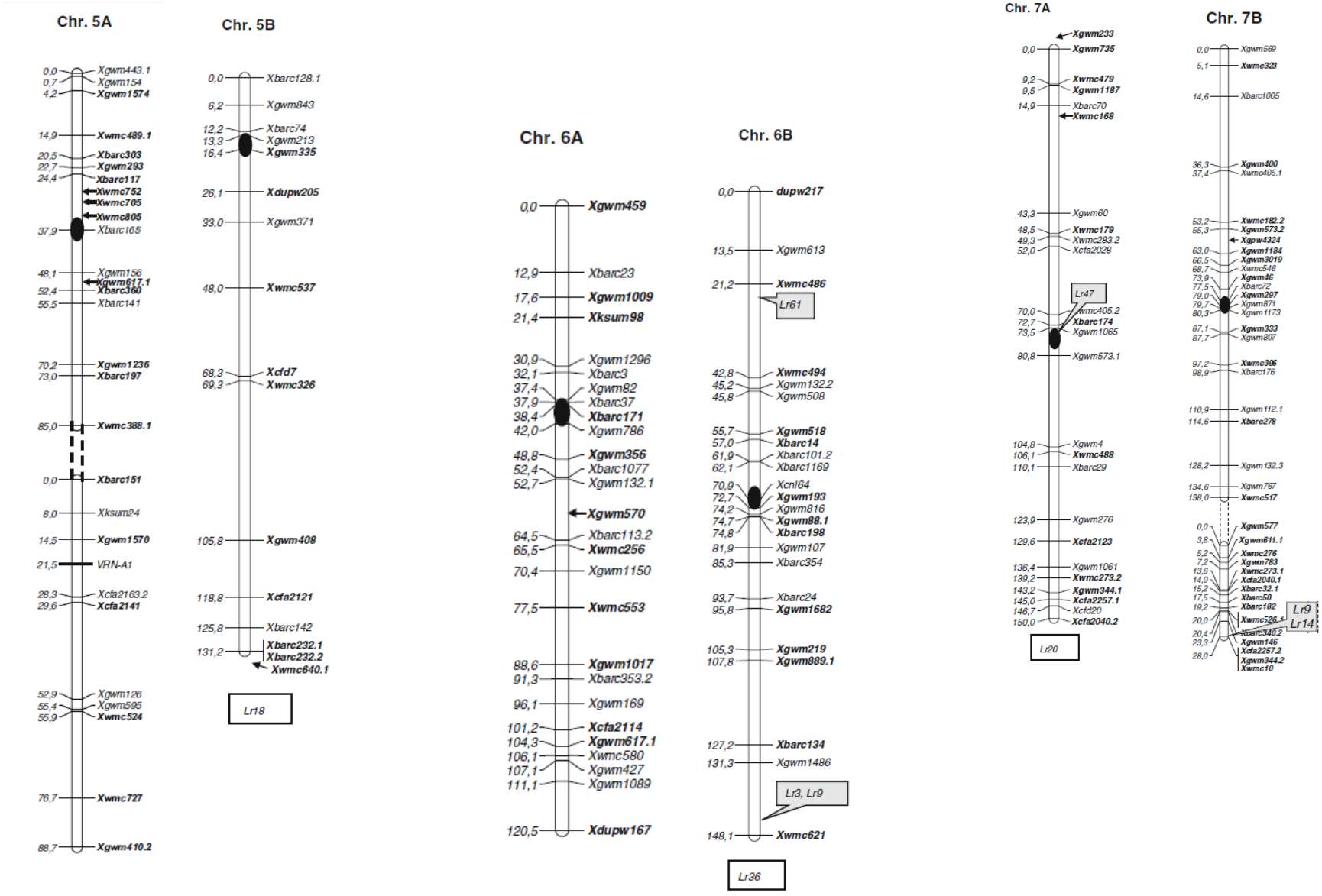


Figure 10 (suite) : Carte génétique intégrée du génome du blé dur obtenue par l'association de deux cartes génétiques de deux populations : Kofa x Svevo (Maccaferri *et al.* 2008a) et Colosseo x Lloyd (Mantovani *et al.*, 2008) ; utilisation de marqueurs SSR (Maccaferi, 2010)

Les marqueurs indiqués à l'aide de flèches sont issus de la littérature. La position des gènes Lr de résistance à la rouille brune sont reportés sur chaque chromosome. Les gènes Lr assignées à un chromosome mais pas encore cartographiés sont reportés au bas de chaque chromosome.

1.3.3 Résistances connues à la rouille brune chez le blé dur

Plus de 70 gènes de résistances à la rouille brune ont d'ores et déjà été caractérisées chez les espèces *Triticum* (McIntosh *et al.*, 2004). En dépit des grandes avancées dans la caractérisation de ces gènes de résistances chez le blé tendre, des progrès limités sont constatés chez le blé dur (Marone *et al.*, 2009). Quelques études suggèrent que la résistance à la rouille brune chez le blé dur serait basée sur des déterminants génétiques différents des gènes *Lr* connus chez le blé tendre (Zhang et Knott 1990, 1993, Martinez *et al.*, 2007). De plus, il a été montré que les populations de *Puccinia triticina* sur blé tendre sont distinctes de celles sur blé dur (Singh, 1991, Goyeau *et al*., 2006, Ordenez et Kolmer, 2007, Goyeau *et al.*, 2012).

Au niveau des gènes de résistances caractérisés chez le blé dur, seulement quelques gènes majeurs isolat-spécifiques ont été cartographiés (Maccaferi, 2010) (***figure 10 et figure 10 suite***). Parmi ceux-ci :

- Le gène *Lr14a* sur le chromosome 7B trouvé chez plusieurs variétés dont le cultivar chilien Llareta Inia, le cultivar du CIMMYT Somateria (Herrera-Foessel *et al.* 2008), et les cultivars italiens Creso et Colosseo (Maccaferri *et al.* 2008b ; Marone *et al.* 2009).
- Le gène *Lr3* sur le chromosome 6B trouvé chez la variété Storlom. Un gène inconnu adjacent au gène *Lr3* serait responsable de la résistance chez la variété Camayo (Herrera-Foessel *et al.*, 2007a).
- Le gène *Lr23* sur le chromosome 2B chez la variété Gaza (McIntosh *et al.*, 1975) et chez Altar (Nelson *et al*., 1997).
- Le gène *Lr72* sur le chromosome 7B chez les variétés Altar (Soleiman *et al.*, 2016) et Atil C2000 (Herrera-Foessel *et al.*, 2014).

Des QTL de résistance ont également été mis en évidence lors de certaines études sur des lignées recombinantes (ex : RiL Creso (cultivar italien résistant) × Pedroso (cultivar espagnol sensible) (Marone et al., 2009) et sur des panels d'association (Maccaferi *et al*. , 2010, Goyeau *et al*., 2014, Aoun *et al*., 2016).

Les gènes de résistance qualitative ont été successivement contournés. Dans le blé tendre, suite à de sévères épidémies, les sélectionneurs français ont introduit progressivement des combinaisons de gènes *Lr* de complexité croissante (Goyeau et Lannou, 2011). Le CIMMYT, au Mexique, a choisi de caractériser des sources de résistance partielle (Herrera *et al.*, 2007b), et de les combiner pour prévenir une éventuelle érosion de celles-ci (Ammar *et al.*, 2010).

1.3.4 Résistances connues à la septoriose chez le blé dur

Chez le blé dur, très peu de sources de résistance à la septoriose ont été caractérisées. Une étude menée par McCartney et ses collaborateurs en 2002 a mis en évidence au sein de la variété Coulter deux QTL de résistance dont un est isolat-spécifique. D'autres sources de résistance ont été observées dans certaines variétés et sont en cours de caractérisation. Il s'agit notamment d'études menées sur différentes lignées et variétés tunisiennes dont Agili (Ferajoui *et al.*, 2011, Medini *et al.*, 2014, Aouini *et al*., in prep) et Salim (Berraies *et al.*, in prep).

Le ***tableau 1*** présente les principaux résultats des différentes études sur le sujet. Les QTL identifiés possèdent des effets plus ou moins forts et peuvent intervenir à différents stades de développement de la plante ; certains ne sont, par exemple, efficaces qu'au stade plantule comme le QTL identifié sur le chromosome 1A chez la variété Agili (Aouini *et al*., in prep).

Tableau 1 : Synthèse des différentes sources de résistance à la septoriose identifiées ou en cours d'indentification chez le blé dur

Référence	Matériel étudié	Isolat	Résultats
McCartney *et al.*, 2001	Croisement entre Coulter et 4B1149 : populations parentales, F1, F2, F3, BC1F1 et BC1F2	MG2 et MG96-36	- Deux QTL de résistance indépendant dans le cultivar Coulter dont un est isolat-spécifique
Ferajoui *et al.*, 2011	Croisement entre Agili (résistant) et les cultivars sensibles Khiar et Karim	Tun 6	- Un gène majeur de résistance dans la variété Agili mais localisation non identifiée
Medini *et al.*, 2014	Deux populations biparentales F3 issues de croisements entre Agili et les cultivars sensibles Karim et Khiar	Tun 6	- Deux marqueurs AFLP EcoACT/MseCTC-241 ont été significativement associés avec le gène de résistance chez Agili
Berraies *et al.*, in prep	Croisement Karim (sensible) x Salim (résistant)	Infection en champ : septoriose + rouille	- Deux QTL localisés sur les chromosomes 3B et 6B apportant des résistances contre la septoriose - Un QTL sur le chromosome 6B associé à la résistance à la rouille - Proximité entre les 2 QTL trouvés sur le chromosome 6B
Maccaferri *et al.*, in prep	Deux populations de lignées recombinantes : viz Kofa x Svevo (KS) et Simeto x Levante (SL)	Différents isolats méditerranéens et européens sur plantes adultes et jeunes plantules	- KS : quatre QTL de résistance partielle sur les chromosomes 1B, 3B, 4A et 4B au stade plante adulte. - SL : quatre QTL de résistance sur les chromosomes 1B, 4A, 4B et 6B au stade plante adulte et quatre QLT de résistance sur les chromosomes 4B, 6B, 3A et 7A au stade jeune plantule.
Aouini *et al.*, in prep	Différentes variétés cultivées et landrace	Différents isolats de Z. Tritici	- T dicoccum : un QTL de résistance sur le chromosome 3A - Agili (stade jeune plantule) : deux QTL de résistance sur les chromosomes 2B (localisé proche du gène STb9) et 1A (isolats-spécifique)

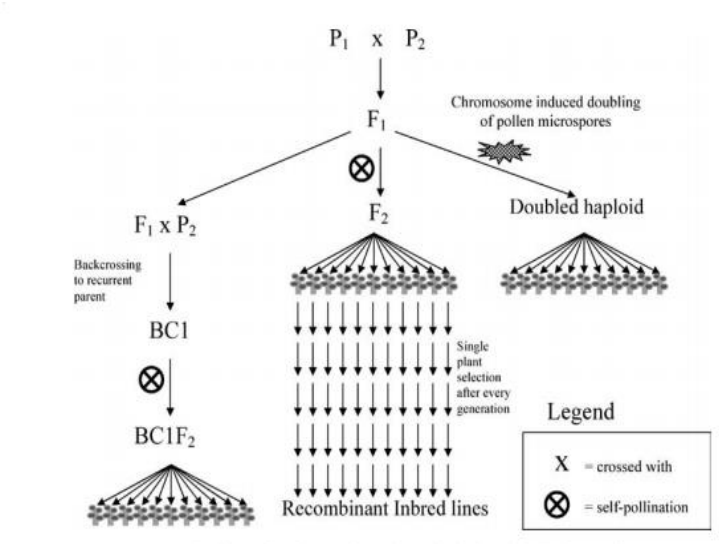


Figure 11 : Principaux types de populations en ségrégation (Collard *et al.*, 2005)

En France, en 2012, le projet CASDAR SeptoDUR a permis de caractériser des populations du complexe d'espèces responsable de la septoriose chez le blé dur dans une optique de durabilité de la lutte variétale et chimique. Des différences qualitatives et quantitatives dans les niveaux de résistances des variétés élites françaises par inoculation des plantes avec différentes souches de *Z. tritici* ont pu être mises en évidence. Toutefois, la plupart de ces résistances étaient d'ores et déjà contournées par au moins une des souches testées.

Contrairement au blé dur, de nombreuses sources de résistance à la septoriose ont déjà été caractérisées chez le blé tendre, dont 21 gènes *Stb* et 89 QTLs (Brown *et al.*, 2015). Parmi les différents gènes *Stb* identifiés, il est particulièrement intéressant de noter la présence du gène *Stb6* dans de nombreuses variétés de blé tendre (Saintenac *et al.*, 2018).

1.4 Généralités sur les cartes génétiques

Contrairement aux cartes physiques basées sur les distances réelles en paire de bases, les cartes génétiques s'appuient sur le taux de recombinaison durant la méiose. Elles permettent une représentation graphique de l'arrangement des marqueurs génétiques, de leur ordre et de leur position relative sur les chromosomes.

Un marqueur génétique est un caractère sous contrôle héréditaire simple permettant de distinguer un individu ou un génotype d'un autre. Il est en général polymorphe, co-dominant, non épistatique, neutre et insensible au milieu. Il existe différents types de marqueurs génétiques : morphologiques, biochimiques ou moléculaires. Dans la construction de carte génétique, ce sont les marqueurs moléculaires qui sont aujourd'hui le plus souvent utilisé. Les premières cartes génétiques étaient basées sur des marqueurs RFLP (polymorphisme de longueur des fragments de restriction). Puis avec le développement de la technique des PCR, les marqueurs de type AFLP (polymorphisme de longueur des fragments amplifiés) ou de type microsatellite SSR (marqueurs de séquences répétées) ont été exploités. Aujourd'hui, ce sont les marqueurs SNP (polymorphisme de simple nucléotide) qui sont les plus utilisés grâce au développement des puces d'hybridation et du reséquençage de génome.

Les cartes génétiques ont pour but d'identifier les régions du génome influençant un caractère d'intérêt (résistance aux maladies, rendement, etc.), de positionner et d'identifier un gène, de comparer des génomes (études de synténie, évolutions des génomes, etc.), de faciliter la construction de cartes physiques, ou d'étudier la méiose.

1.4.1 Etapes de construction d'une carte génétique

La construction d'une carte génétique s'effectue selon les étapes suivantes :
1. L'identification des marqueurs génétiques polymorphes entre les parents.
2. Le génotypage de la descendance en ségrégation pour chacun des marqueurs. Différents types de population peuvent être utilisées comme le montre la ***figure 11***.
3. L'analyse des données :
   a. Etude de la distorsion de ségrégation par le biais d'un test du Chi2. La distorsion de ségragation peut être définie comme une déviation significative des proportions des individus d'un groupe génotypique donné au sein d'une population ségrégante (Xu *et al.*, 1997 ; Castro *et al.*, 2011). Ce phénomène est contraire aux lois fondamentales de Mendel qui reposent sur la transmission prévisible des allèles d'un parent à ses descendants et sur la détermination des génotypes à partir des allèles transmis (Diouf et *al.*, 2012).
   b. Estimation du taux de recombinaison entre chaque couple de marqueur en calculant le nombre de gamètes recombinés, c'est-à-dire ayant connu un crossing-over lors de la

méiose. Ce phénomène est fonction de la distance séparant les gènes. Le taux de recombinaison r permet ainsi de déterminer si les marqueurs sont liés et appartiennent au même groupe de liaison : 0 (complètement liés) < r < 0.5 (indépendants, non liés).

c. Calcul de la distance génétique entre chaque couple de marqueurs. Deux types de distance peuvent être calculés : la distance de Haldane (dH= -50 ln(1-2r)) et la distance de Kosambi (dK= 25 ln[(1+2r)/(1-2r)]) (De Vienne, 1998). Toutes deux sont exprimées en centimorgan (cM), 1 cM correspondant à un crossing-over sur un haplotype pour 100 méioses.
d. Ordonnancement des marqueurs à l'intérieur des groupes de liaisons.

Une carte est dite saturée lorsqu'il y a autant de groupes de liaison que de chromosomes. Tous les marqueurs sont alors liés à un groupe.

1.4.2 Les cartes génétiques chez le blé dur

Le blé dur, *Triticum turgidum ssp. durum*, est un allotétraploide (génome AABB) avec 2n = 28 chromosomes répartis en 7 groupes homéologues pour une taille totale de 13 000 millions de paires de bases. De nombreuses cartes génétiques de cette espèce basées sur différents types de marqueurs moléculaires ont été publiées (Marone *et al.*, 2012) : carte avec des marqueurs RFLP (Blanco *et al.*, 1998), des marqueurs AFLP (Nachit *et al.*, 2001), des marqueurs SSR (Peleg *et al.*, 2008 ; Gadaleta *et al.*, 2009) (***figure 10 et figure 10 suite***). Plus récemment, les SNP ont été inclus dans la carte génétique du blé dur (Zhang *et al.*, 2008 ; Trebbi *et al.*, 2011). Ainsi, la grande majorité de ces cartes a été construite avec des types de marqueurs moléculaires qui ne sont plus utilisés aujourd'hui. Il apparaît alors plus difficile de comparer les anciennes cartes avec les nouvelles.

Des cartes génétiques consensus ont également été construites chez de nombreuses espèces de plantes. Elles permettent d'augmenter la couverture en marqueurs tout en respectant les cartes individuelles de chaque population de ségrégation (Marone *et al.*, 2012). Chez le blé dur, différentes cartes consensus ont été réalisées dont celle de Maccaferri et ses collaborateurs en 2015. Ils ont notamment travaillé à partir de 13 jeux de données issus de populations biparentales incluant des cultivars de blé dur (*Triticum turgidum* ssp. *durum*), d'amidonnier (*T. turgidum* ssp. *Dicoccum*) et leur ancêtre (wild emmer, *T. turgidum* ssp.*dicoccoides*). La carte consensus réalisés comprend 30 144 marqueurs (26 626 SNP et 791 SSR) et mesure au total 2 631 cM. Concernant les cartes génétiques individuelles chez les populations biparentales de blé dur utilisées dans cette étude, elles comprennent en moyenne 5 175 SNP pour une longueur totale de 2 012 cM (Maccaferri *et al.*, 2015).

1.5 Présentation du projet Duromal

Deux principales maladies foliaires impactent le blé dur : la rouille brune avec *Puccinia triticina* et la septoriose avec *Zymoseptoria tritici.* Les nouveaux enjeux environnementaux conduisent à une limitation du recours aux fongicides. Afin de lutter contre ces maladies, des recherches de résistances au sein du pool génétique de l'espèce blé dur (notamment les variétés mais aussi le matériel rustique et exotique) sont effectuées. L'enjeu majeur des améliorateurs est l'identification des résistances dans les variétés cultivées afin de faciliter leur sélection dans les nouvelles variétés.

Chez le blé dur, les connaissances actuelles sur les sources de résistances sont limitées pour la rouille brune et la septoriose. Ce phénomène s'explique principalement par les raisons suivantes :

- Les travaux de recherches de sources de résistance ont principalement été réalisés chez le blé tendre mais très peu ont été menés chez blé dur qui représente une culture mineure comparée au blé tendre.
- Une très faible diversité dans les variétés de blé dur cultivées peut être constatée. En effet, les améliorateurs travaillent avec une diversité génétique réduite suite à l'historique de l'amélioration de cette espèce. Ainsi, relativement peu de sources de résistance sont disponibles dans le pool cultivé.
- Chez cette espèce, ce caractère est souvent très polygénique et quantitatif ; peu de gènes majeurs ont été identifiés.

De plus, le potentiel évolutif très important chez ces pathogènes provoque fréquemment le contournement des résistances qualitatives.

Dans ce contexte, le projet Duromal a vu le jour en 2014. Il est mené par un consortium regroupant l'institut de recherche INRA Bioger, l'institut technique Arvalis, et la profession représentée par le GIE Blé Dur. Il a pour objectif de mettre à disposition des outils d'aide à la sélection et des sources de résistances, pour construire des génotypes de blé dur avec une résistance durable, à la fois à la rouille brune et à la septoriose. Le projet Duromal est décomposé en trois volets (calendrier en ***annexe 3***) :

- La caractérisation des populations pathogènes de *Puccinia triticina* et *Zymoseptoria tritici* issues du blé dur et le suivi de leur évolution en France.
- Le développement de populations recombinantes de blé dur issues du croisement entre parent sensible et parent résistant.
- L'identification de marqueurs utilisables en sélection assistée par marqueurs, issue du phénotypage et du génotypage des populations de cartographie.

2. OBJECTIFS DE L'ETUDE ET STRATEGIE MISE EN ŒUVRE

Ce stage s'inscrit dans le troisième volet du projet Duromal qui a pour objectif la recherche de résistances plus durables à deux maladies foliaires du blé dur, la septoriose et la rouille brune. Afin de permettre une durabilité accrue des résistances, il semble préférable de développer des résistances quantitatives. En effet, l'accumulation de résistances quantitatives, chacune ayant un petit effet, permet d'obtenir au sein d'une variété un niveau de résistance plus durable que les gènes de résistance à effet majeur. Le recours à des méthodes de cartographie génétique pour la détection des QTL permet l'identification de marqueurs moléculaires associés à ces résistances quantitatives qui peuvent ensuite être utilisés en SAM (Sélection Assistée par Marqueurs).

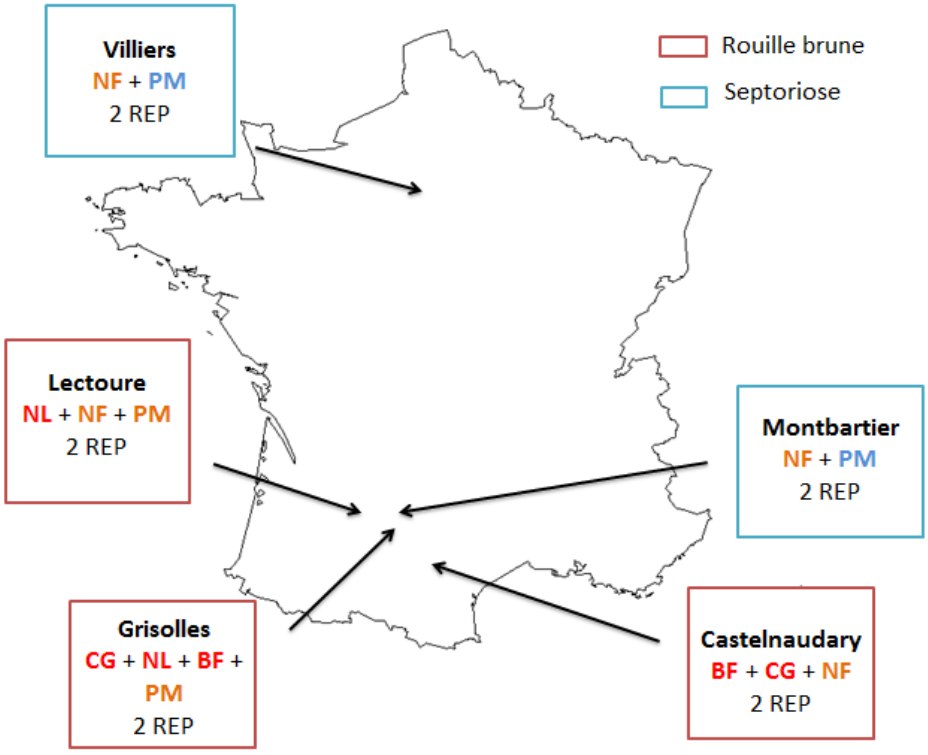
Ce stage a pour objectif l'identification de QTL de résistance à la septoriose et/ou à la rouille brune dans cinq populations biparentales de blé dur. Dans le cadre de cette étude, nous nous intéresserons aux questions de recherche suivantes :

- La résistance dans les cinq populations d'étude est-elle plutôt de type qualitative (gènes-R) ou quantitative (QTL) ?
- Le déterminisme génétique de la résistance est-il différent entre les populations et/ou selon la souche utilisée ?
- Existe-t-il des QTL à large spectre efficaces contre les deux maladies ?

Afin de répondre à ces questions, nous allons déterminer le nombre de QTL différents impliqués dans les résistances quantitatives de ces populations à la rouille brune et/ou à la septoriose et nous les localiserons dans le génome. Cette étude s'appuie sur l'hypothèse de l'existence de résistances polygéniques, quantitatives et durables à *Puccinia triticina* et/ou à

Tableau 2 : Note de résistance à la rouille et à la septoriose des cultivars choisis
(Source notation Geves et Arvalis à partir des fiches techniques semence de France)

Cultivar	Note résistance à la rouille brune	Note résistance à la septoriose
Nobilis	8 (assez résistant à résistant)	7 (assez résistant)
Fabulis	4,5 (assez sensible)	5 (assez sensible à peu sensible)
Pastadou	8 (résistant)	6,5 (peu sensible)
Miradoux	4,5 (assez sensible)	6 (peu sensible)
SY Carma	8 (résistant)	/
Gainsur	5,5 (assez sensible)	/
Babylone	7 (assez résistant)	7 (assez résistant)
Nautilur	/	/
Liberdur	6,5 (peu sensible)	6 (peu sensible)



Exemple de mise en place des essais sur Montbartier

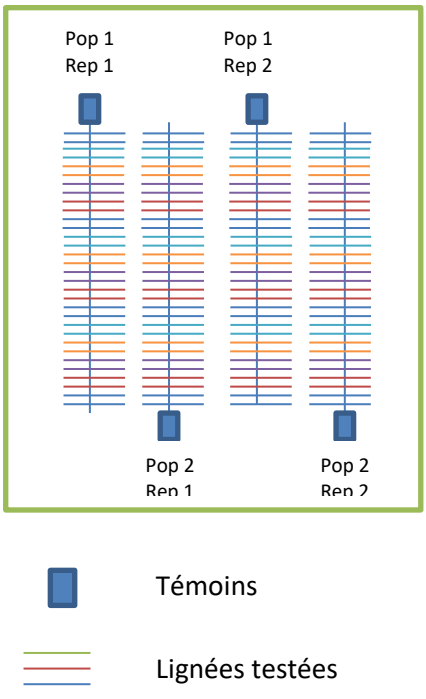


Figure 12 : Organisation de la campagne de phénotypage en 2017

Zymoseptoria tritici chez *Triticum turgidum ssp. durum*. La méthodologie appliquée pour remplir l'objectif fixé et répondre aux questions de recherche est divisée en trois étapes :

- La construction des cartes génétiques individuelles de cinq populations biparentales de blé dur à l'aide du logiciel Multipoint puis la construction d'une carte génétique intégrant les données de toutes les populations à l'aide du programme LPmerge sous *R*.
- La recherche et la cartographie des QTL de résistance à la rouille brune et à la septoriose pour chaque population par analyse de liaison à l'aide de *R/qtl*.
- Le positionnement et la comparaison des QTL sur la carte génétique intégrée.

3. MATERIELS ET METHODES

3.1 Matériels et données disponibles

3.1.1 Cinq populations d'étude

Cinq populations de lignées recombinantes ont été choisies pour cette étude. Le choix des parents s'est effectué en prenant en compte les critères de résistance aux maladies (***tableau 2***). Les croisements effectués ont été les suivants :

- Nobilis x Fabulis, NF : 210 lignées
- Pastadou x Miradoux PM : 225 lignées
- SY Carma x Gainsur, CG : 233 lignées
- Babylone x Fabulis, BF : 97 lignées
- Nautilur x Liberdur, NL : 89 lignées

3.1.2 Inoculation et phénotypage

3.1.2.1 Phénotypage sur plantes adultes au champ

Un phénotypage au champ sur plantes adultes a été réalisé en 2017 sur les générations F6 des lignées recombinantes. Une méthode basée sur des descendances monograines (« single seed descent ») a été mise en place, au cours de laquelle aucune sélection n'a été effectuée pendant les cinq premières générations.

En 2017, cinq lieux ont été sélectionnés pour la réalisation des expérimentations : Villiers-le-Bâcle (département du 91), Montbartier (82), Castelnaudary (11), Lectoure (32), Grisolles (82). Les populations ont été implantées par les sélectionneurs dans leurs lieux d'essais respectifs. Chaque population a été testée dans deux lieux soit pour l'une des deux maladies (SY Carma x Gainsur, Babylone x Fabulis, Nautilur x Liberdur) soit pour les deux (Pastadou x Miradoux, Nobilis x Fabulis) (***figure 12***).

Les cultivars parentaux et les descendants de chaque population ont été semés en octobre 2016 selon une organisation similaire dans chaque lieu (***figure 12***) et ont été inoculées en fin avril – début mai 2017 avec le même isolat : INRA13-LG1697 pour la septoriose, souche prélevée sur le cultivar Miradoux en 2013 à Fresnaye dans le Centre pour le projet CASDAR SeptoDur, et pour la rouille brune le pathotype (14a ; Atl ; 23), seul pathotype identifié en France sur le blé dur depuis 2014. Ces isolats ont été sélectionnés car ils avaient un phénotype contrasté entre les cultivars parentaux de chacune des populations testées. Pour la septoriose, trois applications ont été réalisées par pulvérisation à environ 7 jours d'intervalle (0,04 litres/ha avec une solution concentrée à 10^6 spores par mL). Pour la rouille brune, une suspension de spores dans de l'huile Soltrol® (solution concentrée à 8 mg de spores par mL)

Tableau 3 : Récapitulatif des différentes dates de notation

Maladie	Population	Lieux	Date note 1	Date note 2	Rep 1	Rep 2	Nombre d'individus
Rouille Brune	Nobilis x Fabulis	Lectoure	30/05/2017	07/06/2017	2 notes	1 note	213
Rouille Brune	Nobilis x Fabulis	Castelnaudary	31/05/2017	08/06/2017	2 notes	/	212
Rouille Brune	Nautilur x Liberdur	Lectoure	30/05/2017	07/06/2017	2 notes	/	102
Rouille Brune	Nautilur x Liberdur	Grisolles	29/05/2017	06/06/2017	2 notes	/	102
Rouille Brune	SY Carma x Gainsur	Grisolles	29/05/2017	06/06/2017	2 notes	/	246
Rouille Brune	SY Carma x Gainsur	Castelnaudary	31/05/2017	08/06/2017	2 notes	/	247
Rouille Brune	Babylone x Fabulis	Grisolles	29/05/2017	06/06/2017	2 notes	/	98
Rouille Brune	Babylone x Fabulis	Castelnaudary	31/05/2017	/	1 note	/	98
Rouille Brune	Pastadou x Miradoux	Lectoure	30/05/2017	07/06/2017	2 notes	2 notes	211
Rouille Brune	Pastadou x Miradoux	Grisolles	29/05/2017	06/06/2017	2 notes	/	211
Septoriose	Nobilis x Fabulis	Villiers	16/06/2017	/	1 note	1 note	202
Septoriose	Nobilis x Fabulis	Montbartier	06/06/2017	/	1 note + 2 notes sélectionneur	1 note + 2 notes sélectionneur	210
Septoriose	Miradoux x Pastadou	Villiers	21 et 22/06/2017	/	1 note	1 note	202
Septoriose	Miradoux x Pastadou	Montbartier	06/06/2017	/	1 note +2 notes sélectionneur	1 note + 2 notes sélectionneur	222

Tableau 4 : Différents type d'infection pour la rouille brune (Roelfs *et al.*, 1992)

Type d'infection	Description	Coefficient
R	Resistant, pas de sporulation dans les lésions	0
RMR	Intermédiaire entre R et MR	0.125
MR	Moderately Resistant, petite surface de tissu sporulant entourée de chlorose ou de nécrose	0.25
MRMS	Intermédiaire entre MR et MS	0.5
MS	Moderately Susceptible, surface de tissu sporulant moyenne, pas de nécrose ou chlorose	0.75
SMS	Intermédiaire entre S et MS	0.875
S	Susceptible, grande surface sporulante, sans nécrose ou chlorose	1

a été pulvérisée lors d'une application à raison de 2 mL d'inoculum par mètre linéaire sur les lignes de contaminateurs, semées toutes les deux lignées.

Pour la rouille brune, le phénotypage a été réalisé lors de deux passages à deux dates différentes (synthèse des dates de chaque lieu ***tableau 3***). La notation a été effectuée sur la feuille drapeau d'une dizaine d'individus appartenant à la même lignée. Le pourcentage maximum de surface foliaire infectée a été noté selon l'échelle modifiée de Cobb (Peterson *et al.*, 1948). Cette échelle, allant de 0 à 100, a été conçue pour estimer au moyen de diagrammes la proportion de la surface d'une feuille ou d'une tige atteinte par la rouille. Un coefficient est ensuite attribué à ce pourcentage selon le type d'infection détecté (Roelfs *et al.*, 1992) (***tableau 4***). Pour chaque lignée, une moyenne est ensuite effectuée.

Pour la septoriose, le phénotypage a été réalisé lors d'un passage sur chaque lieu par l'INRA (***tableau 3***). A Montbartier, des notations par les sélectionneurs ont également été réalisées. La notation a été effectuée sur la feuille drapeau (F) ainsi que la feuille sous-jacente (F-1) d'une dizaine d'individus appartenant à la même lignée. Une note allant de 0 à 9 traduisant la sévérité de la maladie sur la feuille observée est attribuée (***figure 13***). Pour chaque lignée, une moyenne est ensuite effectuée et un index de maladie est calculé selon la relation suivante :

$$[(\mathbf{F}_{\mathbf{drapeau}}+1)/10]*[(\mathbf{F\text{-}1}_{\mathbf{drapeau}}+1)/10]*100$$

3.1.2.2 Phénotypage sur plantules en conditions contrôlées

Un phénotypage pour la septoriose sur jeunes plantules en conditions contrôlées a été réalisé au cours du stage pour deux populations avec différents isolats :

- Nobilis x Fabulis, isolat INRA13-LG1697, deux répétitions, 150 individus
- Pastadou x Miradoux, isolat INRA13-LG1697, deux répétitions, 150 individus
- Pastadou x Miradoux, isolat IPO-92003 prélevé au Portugal en 1992 sur un cultivar inconnu, deux répétitions, 150 individus
- Pastadou x Miradoux, isolat INRA13-LG1035 prélevé sur le cultivar Sculptur à Barjac (Sud-Est) en 2013, deux répétitions, 150 individus

Ces différentes expérimentations ont pour but de compléter les données de phénotypage obtenues en champ. Pour des raisons de temps et de place, les deux répétitions sont décalées dans le temps. Le protocole appliqué pour ces expérimentations fut le suivant :

Seize jours avant inoculation, les lignées des populations sont semées : pour chaque génotype, cinq graines par pot. Ces derniers sont ensuite répartis dans des plateaux (quinze pots par plateaux) et placés en chambre climatiques en conditions contrôlées : photopériode de 16h, hygrométrie de 70 % et des températures de 18°C le jour et 16°C la nuit. Un arrosage une à deux fois par semaine est ensuite effectué.

Dix jours avant l'inoculation, 15 µL de la souche choisie, conservée à -80 °C sous forme de spores, sont mis en pré-culture dans 10 mL de milieu liquide YPD (1 % yeast, 2 % bacto-peptone, 2 % glucose) sous condition stérile. La pré-culture est ensuite placée sur un agitateur en chambre climatique à une température de 17°C et une hygrométrie de 70 %.

Six jours plus tard, une boîte de pétri contenant un milieu PDA (Potato Dextrose Agar) est inoculée avec 100 µL de la pré-culture.

La vieille de l'inoculation, 150 mL d'inoculum sont préparés à partir de la culture. Les spores sont mis en suspension dans de l'eau, la concentration finale de la solution doit être comprise

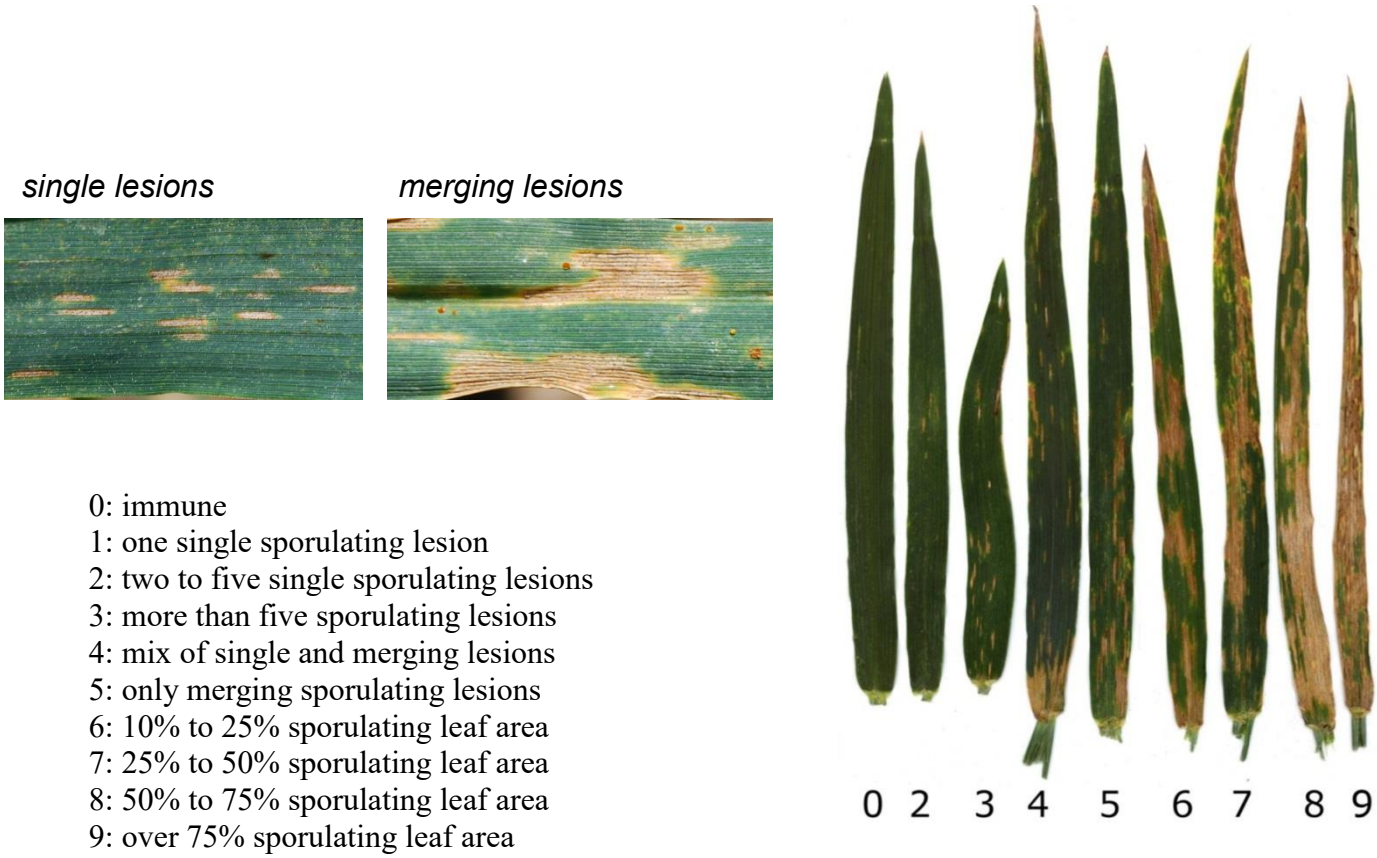


Figure 13 : Echelle de notation utilisée lors du phénotypage pour la septoriose (Thierry C. Marcel, INRA Bioger)

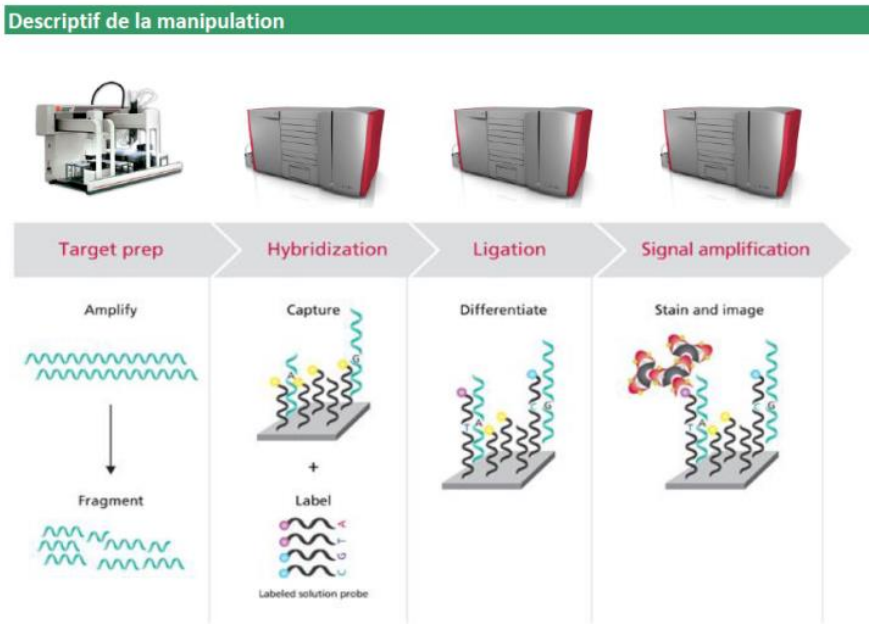


Figure 14 : Protocole de la méthode de séquençage à l'aide du Genetitan Affymetrix (Gentyane, 2016)

entre 0,9 et 1,1 x 10^6 spores / mL. Ce résultat est vérifié à l'aide d'un comptage sur cellule de Malassez. Le jour de l'inoculation, une goutte de Twin pour 15 µL d'inoculum est ajoutée à la solution afin de favoriser son adhérence sur les feuilles. De plus, trois plantes par pot/génotype sont conservées et une longueur de 7,5 cm est marquée sur la première vraie feuille de chaque plante.

L'inoculum est appliqué sur la longueur marquée de chaque feuille à l'aide d'un pinceau, trois allers retours sont réalisés sur chaque feuille. Une fois l'ensemble des plantes du plateau inoculées, un second passage est effectué. Les plateaux avec plantes inoculées sont ensuite enfermés dans un sac en plastique afin de reproduire une atmosphère saturée en eau permettant d'initier le début de l'infection, puis placés dans une chambre climatique en conditions contrôlées : photopériode de 16h, hygrométrie de 90 % le jour et 80 % la nuit, des températures de 22°C le jour et 18°C la nuit. Trois jours après l'inoculation, les sacs plastiques sont retirés.

Dix jours après l'inoculation, avant l'apparition des premiers symptômes, les feuilles non inoculées de chaque plante sont taillées deux à trois centimètres au-dessus du premier nœud. Cette découpe permet de garder les feuilles vertes plus longtemps et de favoriser leur exposition à la lumière.

Trois notations sont ensuite réalisées : 14, 20 et 26 jours après l'inoculation. Les pourcentages de surfaces verte, nécrosée et sporulante (partie comportant des pycnides) pour chaque feuille inoculée sont évaluées visuellement. Chaque génotype est noté trois fois et la moyenne des trois feuilles (par pot) est ensuite calculée. A partir de ces valeurs, les AUDPC pour les surfaces verte, nécrosée et sporulante ainsi que la sporulation maximale (pourcentage maximale de surface foliaire présentant des spores) sont estimées puis utilisées pour les analyses QTL.

3.1.3 Séquençage et génotypage

Cette étape a été externalisée auprès de la plateforme Gentyane, rattachée à l'Unité Génétique Diversité et Ecophysiologie des Céréales (GDEC) de l'INRA à Clermont-Ferrand. L'extraction des ADN a été réalisée à partir d'une semence de chaque génotype. Après broyage et extraction des ADN, un génotypage SNP par hybridation sur puce a été réalisé à l'aide du Genetitan Affymetrix selon la méthodologie présentée en ***figure 14.***

Pour cette étape, des puces TaBW35K SNP, contenant près de 35 000 marqueurs SNP, ont été utilisées. Ces dernières offrent des possibilités intéressantes en termes de recouvrement en marqueurs du génome chez le blé (***figure 15***) :

- Génome A : 14 180 SNP avec 2 116 SNP par chromosome et un SNP tous les 378 kb.
- Génome B : 15 414 SNP avec 2 202 SNP par chromosome et un SNP tous les 356 kb.
- Génome D : 9 383 SNP avec 1 3450 SNP par chromosome et un SNP tous les 525 kb.

Ces puces sont issues du projet BreedWheat dont les activités comprennent notamment la mise en œuvre de nouvelles technologies de génotypage chez le blé. La puce TaBW35K est une puce dérivée de la puce TaBW420K développée au sein du projet Breedwheat et contenant près de 420 000 marqueurs SNP.

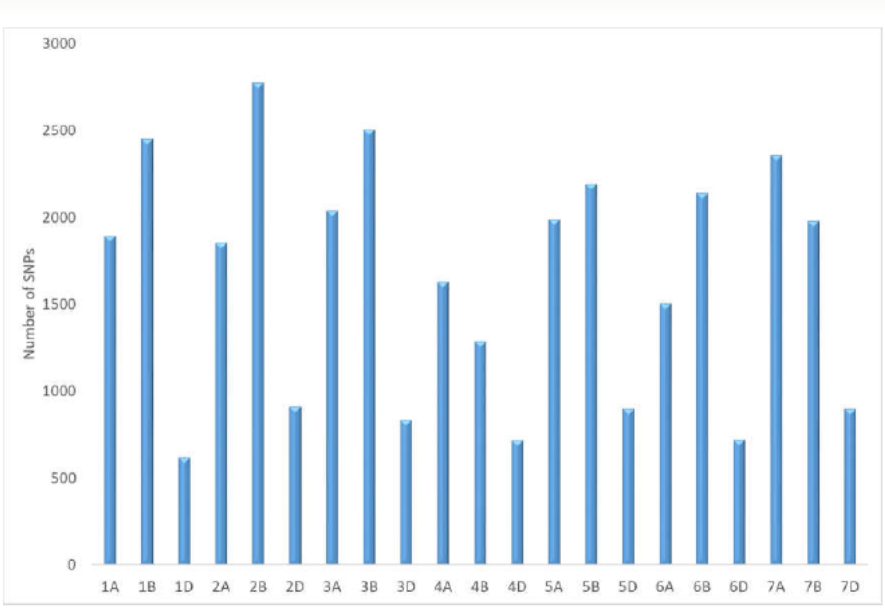


Figure 15 : Nombre de marqueurs SNP par chromosome pour la puce TaBW35K SNP (Bouchet, 2017)

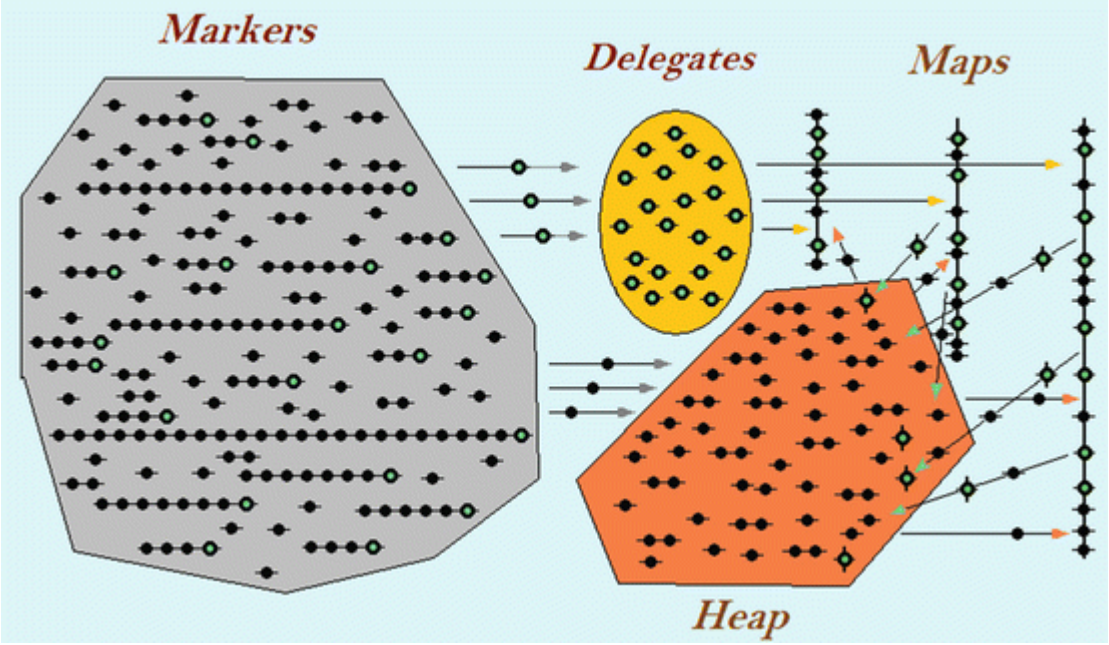


Figure 16 : Fonctionnement du « twin algorithm » (Ronin et al., 2015)

3.2 Démarche adoptée

3.2.1 Construction de cartes génétiques individuelles des cinq populations

A partir des données de génotypage, seuls les marqueurs polymorphes au sein de chaque croisement ont été conservés, puis implémentés dans le logiciel Multipoint-ultradense développé par MultiQTL Ltd à l'université d'Haifa. Ce dernier permet la construction de cartes génétiques ultra-denses en marqueurs. Il est notamment basé sur l'algorithme des marqueurs délégués, « twin algorithm » (Ronin *et al.*, 2015) s'appuyant sur les étapes majeures de construction suivantes (***figure 16***) :

- La formation des groupes de marqueurs avec une distance génétique proche de zéro, « twin group », et la sélection d'un marqueur représentant pour chaque groupe ainsi formé, appelé marqueur délégué. Les marqueurs non compris dans ces groupes sont placés dans le « Heap ».
- La formation des différents groupes de liaison à partir d'un taux de recombinaison seuil pour les marqueurs délégués retenus, puis l'ordonnancement de ceux-ci au sein de chaque groupe de liaison.
- L'extension des groupes de liaisons formés en utilisant les marqueurs contenus dans le « Heap ».
- Le retrait des marqueurs impactant la stabilité de la carte génétique et sa monotonie (accroissement non monotone de la distance entre un marqueur et ses voisins).

Les marqueurs avec plus de 40 % de données manquantes et un chi2 supérieur à 80 ont été dès le départ exclus de l'analyse. Ces paramètres correspondent notamment à ceux utilisés par Balcárková et son équipe pour la réalisation d'une carte génétique du chromosome 4A chez le blé en 2017 à l'aide du logiciel Multipoint (Balcárková *et al.*, 2017).

Les paramètres utilisés pour la formation des « twin group » furent les suivants :

- Un minimum de 20 génotypes communs pour que deux marqueurs soient considérés comme complètement liés ;
- Une taille minimum de deux marqueurs complètement liés pour former un groupe ;
- Des coefficients de priorité dans le choix du marqueur délégué de chaque « twin groupe » répartis de la manière suivante : 0,9 pour le nombre de données manquantes et 0,1 pour la distorsion de ségrégation. Ces coefficients permettent ainsi de travailler avec des marqueurs de bonne qualité pour la construction de la carte squelette.

Un ratio seuil à 1,2 a été choisi pour le contrôle de monotonie. Ce ratio est calculé de la manière suivante : $R = r(m_i,m_{i+1})/r(m_i,m_{i+2})$ avec $r(m_i,m_{i+1})$ le taux de recombinaison entre les marqueurs m_i et m_{i+1}. Si ce seuil est dépassé, les marqueurs impactant cette inflation sont supprimés de la carte génétique et placés dans le « Heap ».

Une fois l'ensemble des groupes de liaison formés, ils ont été regroupés selon les informations connues concernant la position de certains marqueurs de la puce 35 K chez le blé (informations communiquées par E. Paux, INRA GDEC).

Une comparaison à l'aide du logiciel MapChart (Voorrips, 2002) de l'ordonnancement des marqueurs de l'ensemble des chromosomes formés a ensuite été effectuée avec la carte génétique de référence chez le blé tendre construite à partir de la population Renan x Chinese spring (Rimbert *et al.*, 2018). Suite à cette vérification, certains groupes de liaisons ont été redécoupés en plusieurs groupes afin de corriger les inversions d'ordonnancement survenues lors de leur fusion (exemple en ***figure 19*** partie résultats).

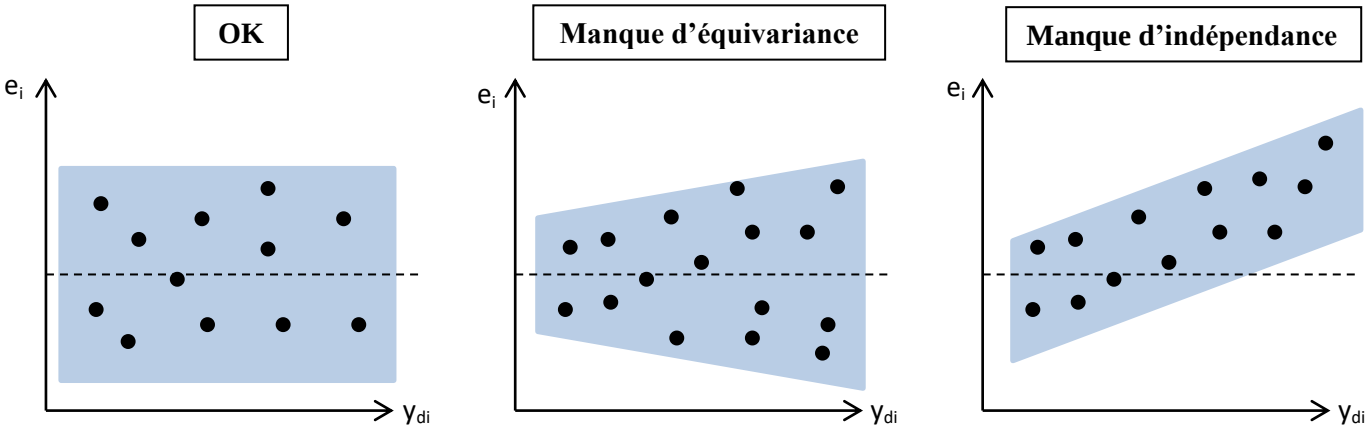


Figure 17 : Equivariance et indépendance des résidus e_i
(Millot, 2018, d'après Falissard, 1998)

Une carte génétique individuelle pour chaque population biparentale a été réalisée suivant cette procédure.

3.2.2 Construction d'une carte génétique intégrée

Cette étape a été réalisée avec le package LPmerge (Endelman *et al.*, 2014) sur le logiciel R (version 3.5., R Core Team, 2018). A partir des cartes génétiques des cinq populations biparentales, la position consensus de chaque marqueur a été calculée. Le package LPmerge s'appuie sur une programmation linéaire qui minimise l'erreur moyenne absolue entre la carte consensus créée et les cartes génétiques de chaque population. L'effectif de chaque population a été pris en compte lors de la résolution des conflits dans la position des marqueurs : une population avec un plus grand effectif a un poids plus important dans la résolution de ces conflits et donc dans la position retenue pour le marqueur. De plus, le paramètre K, nombre de marqueurs voisins pris en compte dans un intervalle, a également été utilisé afin de gagner en précision dans les résultats obtenus. Ce paramètre peut varier de 1 à 8, ainsi le programme nous renvoie huit cartes consensus différentes. La carte avec le K possédant le Root Mean Standart Error (RMSE) le plus faible a été retenue.

Afin de faciliter le travail, les chromosomes divisés en plusieurs groupes de liaison ont été reformés en utilisant le calcul de la distance de Kosambi selon la formule présentée en première partie.

Une nouvelle comparaison de l'ordonnancement des marqueurs de l'ensemble des chromosomes de la carte consensus obtenue a ensuite été effectuée à l'aide du logiciel MapChart et de la carte génétique du croisement chez le blé tendre entre Renan x Chinese spring (Rimbert *et al.*, 2018).

3.2.3 Etude statistique des phénotypes

Chaque population pour chaque maladie a été étudiée séparément mais selon la même méthode. Les analyses ont été réalisées à l'aide du logiciel R. Les variations des phénotypes (notation des maladies) sont de type continue. Elles ont alors été analysées avec le modèle linéaire à effet fixe suivant :

$$Note_{ijk} = \mu + Geno_i + Date_j + Lieu_k + e_{ijk}$$

Où $Note_{ijk}$ correspond à la note de maladie attribuée au génotype i à la date j et dans le lieu k, μ à la moyenne de la population, $Geno_i$ à l'effet du génotype i, $Date_j$ à l'effet de la date j, $Lieu_k$ à l'effet du lieu k et e_{ijk} la résiduelle.

Ainsi pour chaque phénotype, l'effet « génotype », l'effet « date », l'effet « lieu » et leurs interactions ont été testés. Dans les lieux où plusieurs répétitions ont été notées, l'effet « répétition » a également été analysé. Pour la rouille brune au champ, il n'a pas toujours été possible de noter les deux répétitions de chaque site du fait des conditions climatiques particulières de l'année 2017 (alternance au moment des notations d'épisodes climatiques très chauds puis très pluvieux provoquant une sénescence rapide des feuilles).

La normalité des résidus a été analysée à l'aide d'un test de Shapiro avec un seuil de significativité à 0,05. Une visualisation graphique des résidus (évolution des écarts entre le modèle de régression et la valeur réelle) a permis de juger de leur indépendance et de leur homoscédastécité. L'équivariance est acceptée quand la dispersion verticale des points est à peu près constante sur toute la longueur de l'axe des abscisses. L'indépendance est acceptée lorsque l'orientation du nuage de points est horizontale (***figure 17***) (Millot, 2018).

Tableau 5 : Caractères retenus pour l'analyse de QTL

Données phénotypiques	Maladie	Caractères étudiés	Calcul
Plantes adultes champ	Rouille brune	Notation corrigée selon le type d'infection détecté	Note x coefficient infection (***tableau 7***)
Plantes adultes champ	Septoriose	Index de maladie	$[(\mathbf{F}_{\mathbf{drapeau}}+1)/10]*[(\mathbf{F\text{-}1}_{\mathbf{drapeau}}+1)/10]*100$
Jeunes plants conditions contrôlées	Septoriose	AUDPC vert : aire sous la courbe de progression de la surface verte	$AUDPC = (½) \times (\sum (y_{i+1}+y_i) \times (t_{i+1}-t_i))$
		AUDPC nécrose : aire sous la courbe de progression de la surface nécrosée	
		AUDPC pycnides : aire sous la courbe de progression de la surface sporulante	
		Sporulation maximale	

Tableau 6 : Informations liés aux marqueurs utilisés pour la cartographie

Population	Nombre de marqueurs polymorphes	Nombre d'individus	Nombre de marqueurs conservés	Nombre de groupes formés	Nombre de marqueurs délégués
Babylone x Fabulis	1 674	97	1586	26	330
Carma x Gainsur	3 738	233	3632	19	718
Nobilis x Fabulis	3 341	210	3316	23	745
Nautilur x Liberdur	2 499	89	2369	30	481
Pastadou x Miradoux	2 780	225	2650	18	605

Les répétitions non complètes n'ont pas été prises en compte dans cette étude.

3.2.4 Recherches de QTL par analyse de liaison et cartographie

Préalablement à l'analyse de liaisons, une "grille de génotypage" est calculé à l'aide de la fonction « calc.genoprob », utilisant le model Maarkov (HMM). Ici un intervalle de 2 cM est choisi. Pour cette recherche de QTL, un modèle à effets fixes est utilisé.

Les analyses ont été réalisées à partir du logiciel R, des données de phénotypages et des cartes génétiques individuelles de chaque population. Dans un premier temps, une Simple Interval Mapping (SIM) a été effectuée afin de détecter les principaux QTL avant de les implémenter comme facteurs aléatoires dans le modèle statistique utilisé pour la Composite Interval Mapping (CIM).

La cartographie d'intervalle simple, aussi appelée Simple Interval Mapping (SIM), utilise les marqueurs flanquants d'une position et les informations génotypiques disponibles à ces loci. Il est supposé qu'il existe un seul QTL par chromosome et au plus un seul entre deux marqueurs. Ensuite un génotype probable pour chacun des individus à chacune des positions testées est estimé. Ces estimations sont validées soit à partir d'un modèle de régression soit à l'aide d'une méthode du maximum de vraisemblance. Cette dernière, plus puissante mais moins robuste à la non-normalité des données, calcule le rapport entre deux modèles, l'un avec un QTL (modèle complet) et l'autre sans QTL (modèle réduit). Le log de ce rapport pour obtenir le LOD Score (Logarithm of Odds Ratio) est par la suite calculé. Cette méthode a l'avantage de permettre de différencier l'effet du QTL et la distance au marqueur mais ne prend pas en compte les différents QTL pouvant exister sur un chromosome.

Le Composite Interval Mapping (CIM) cherche à contrôler l'effet du fonds génétique, c'est-à-dire de s'affranchir de l'effet des autres QTL placés sur le même chromosome, en étudiant les covariances entre QTL. En effet, un QTL fort peut provoquer un biais lors de la cartographie d'intervalle simple et empêcher la détection de QTL à effet plus faible ou combiner les deux QTL en un seul QTL, dit fantôme, situé entre les deux QTL.

Après obtention des QTL, la significativité de chacun d'entre eux, ainsi que celle des différentes interactions potentielles, est estimée à l'aide d'un modèle linéaire. Le pourcentage de variabilité expliqué par chacun des QTL est également calculé par le même modèle.

Les QTL retenus sont ceux ayant dépassés le seuil de significativité. Des QTL proche du seuil ont également été conservés lorsqu'ils étaient présents dans au moins deux lieux, ou deux répétitions, ou deux dates pour la même population. L'intervalle de confiance de chacun des QTL retenus a alors ensuite été représenté à l'aide du logiciel MapChart sur la carte consensus réalisée avec les cinq populations biparentales.

Les analyses ont été menées population par population, maladie par maladie, isolat par isolat et en séparant les résultats jeunes plantules et plantes adultes. Les traits phénotypiques évalués et utilisés dans la recherche de QTL sont résumés dans le ***tableau n°5***.

4. RESULTATS

4.1 Cartes génétiques individuelles des cinq populations

Le ***tableau 6*** renseigne pour chaque population le nombre de marqueurs polymorphes, le nombre de marqueurs conservés suite au retrait des marqueurs de qualité moindre (nombre de

Figure 18 : Répartition des marqueurs cartographiés selon les différents chromosomes du blé dur pour les cinq populations biparentales

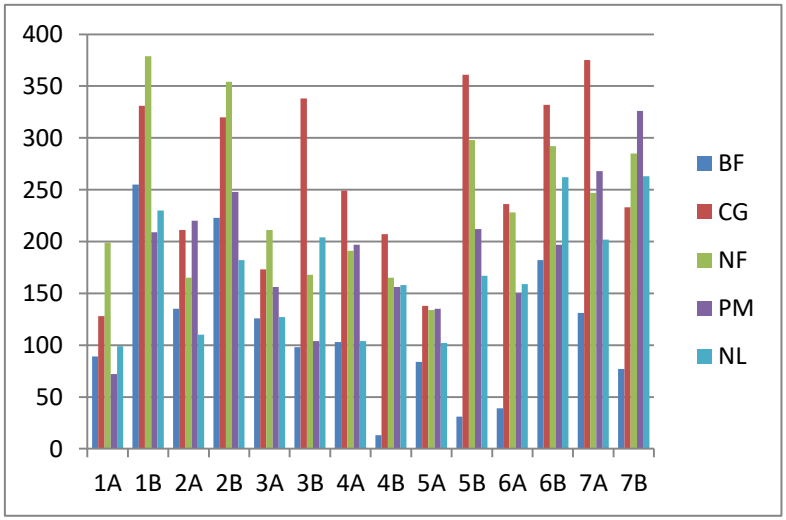
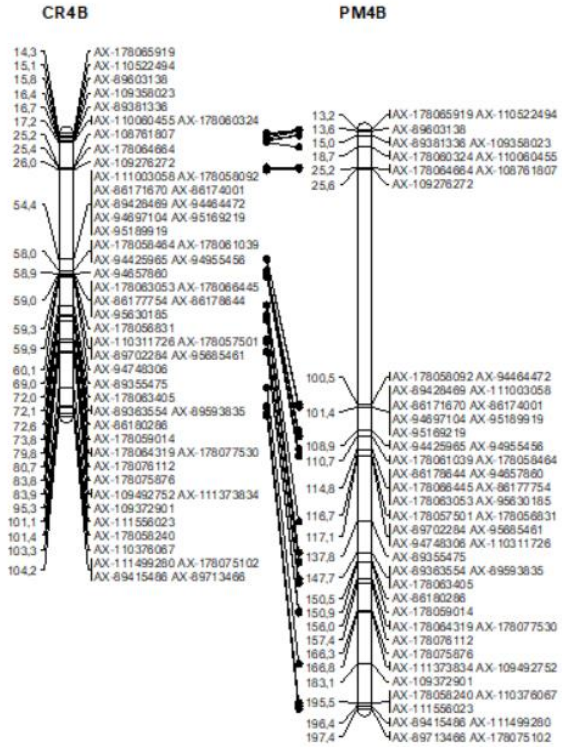
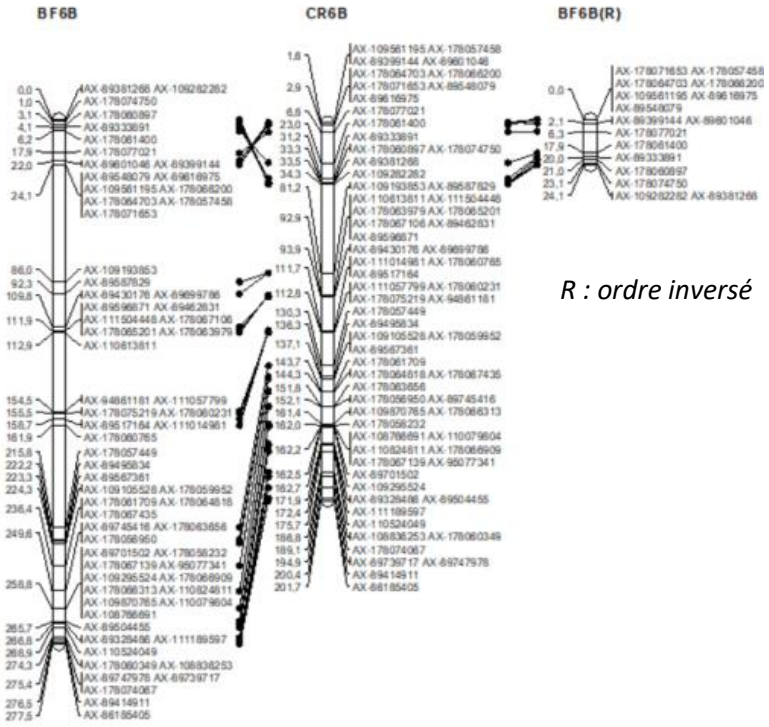


Figure 19 : Exemples de résultats de comparaison avec Chinese Spring x Renan (CR) : à gauche le chromosome 4B de PM et à droite le chromosome 6B de BF





R : ordre inversé

données manquantes importantes et/ou test du chi2 élevé), le nombre de marqueurs délégués et le nombre de groupes de liaison formé

Parmi les 34 746 marqueurs de la puce 35 K, les populations comprennent un nombre de marqueurs polymorphes compris entre 1 674 et 3 738. Il est intéressant de noter que la plupart des marqueurs localisés sur les chromosomes D ne sont pas ressortis polymorphes : sur les 5 516 marqueurs localisés sur les chromosomes D, 290 marqueurs sont en moyenne polymorphes dans les populations d'étude.

Les marqueurs délégués, compris entre 330 et 745 selon les populations, ont permis de travailler avec un nombre restreint de marqueurs de bonne qualité et ainsi de réduire les temps de calcul.

Quatre des cinq populations ont été cartographiées selon la méthode présentée en troisième partie. Pour la population NL, un travail chromosome par chromosome a dû être effectué. En effet, le logiciel de cartographie Multipoint n'a pas réussi à séparer les marqueurs en différents groupes de liaison. Les marqueurs polymorphes ont donc été triés et séparés par chromosome selon leur position sur la carte génétique de référence Chinese Spring x Renan. Les groupes de marqueurs correspondants à chaque chromosome ont ensuite été implémentés un par un dans Multipoint.

La distribution en nombre de marqueurs pour les différents chromosomes semble globalement homogène d'une population à l'autre (***figure 18***). Le chromosome 1B possède en général le plus grand nombre de marqueurs (en moyenne 280 marqueurs par population), les chromosomes 1A et 5A les plus faibles nombres (en moyenne 117 marqueurs par population). De manière générale, le génome B est le plus représenté avec en moyenne 225 marqueurs par chromosome contre 163 pour le génome A.

Les comparaisons entre les chromosomes de la carte génétique de Chinese Spring x Renan, comprenant 10 884 marqueurs polymorphes (génome A, B et D confondus), et ceux des cartes génétiques réalisées ont permis de montrer des résultats plutôt en accord en termes d'ordonnancement des marqueurs (***figure 19***, exemple du chromosome 4B pour la population PM), excepté pour la population NL qui présentait plus d'inversions et de réarrangements de l'ordre des marqueurs. Toutefois, des inversions de blocs complets de marqueurs ont pu être constatées sur certaines parties de chromosomes. Ces inversions ont notamment été observées pour des blocs de marqueurs se trouvant séparés par une distance importante du bloc de marqueurs suivant (***figure 19***, exemple du chromosome 6B pour la population BF).

4.2 Carte génétique intégrée

La ***figure 20*** présente le nombre de marqueurs polymorphes communs aux différentes populations pour chacun des chromosomes de la carte consensus réalisée avec les cinq populations. Le chromosome 1B en possède le plus grand nombre avec 340 marqueurs, le chromosome 5A le plus petit nombre avec 110 marqueurs. Plus du tiers de l'ensemble des marqueurs de chaque chromosome (en moyenne 44 %) est partagé entre deux ou plusieurs populations. Le nombre important de ces marqueurs communs et leur répartition homogène sur l'ensemble des chromosomes ont permis la construction d'une carte consensus de qualité. En effet, le logiciel calcule une première carte consensus à l'aide de ces marqueurs communs avant d'y intégrer les marqueurs uniques à une population.

Figure 20 : Distribution du nombre de marqueurs polymorphes communs entre les différentes populations pour chacun des chromosomes de la carte consensus avec la population NL

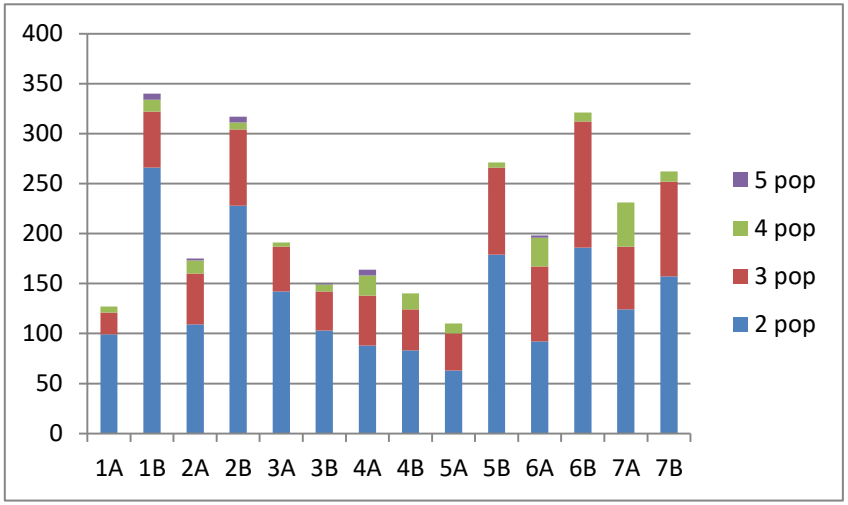
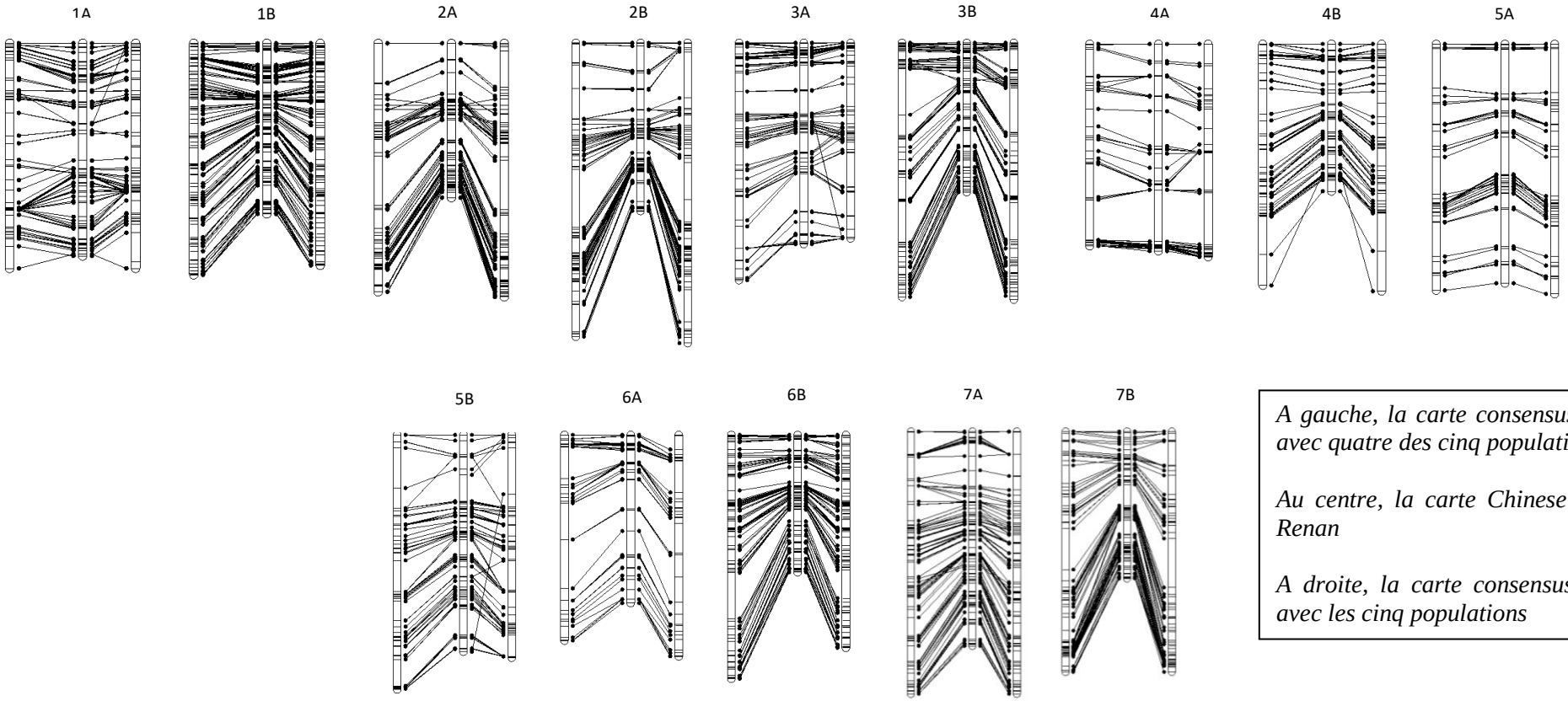


Figure 21 : Comparaison des cartes consensus avec et sans la population Nautilur x Liberdur



A gauche, la carte consensus réalisée avec quatre des cinq populations

Au centre, la carte Chinese spring x Renan

A droite, la carte consensus réalisée avec les cinq populations

Deux cartes consensus ont été réalisées : une comprenant les cartes des cinq populations (6 754 marqueurs cartographiés pour une taille de 2 671 cM) et une autre sans la population NL (6 086 marqueurs cartographiés pour une taille de 2 596 cM). La ***figure 21*** représente la comparaison de l'ordre des marqueurs des cartes consensus réalisées avec celui de la carte génétique de Chinese Spring x Renan (taille de 2 027 cM pour les chromosomes des génomes A et B). Les résultats pour les deux cartes consensus sont globalement bons avec quelques inversions pour certains marqueurs (exemple pour les chromosomes 1A et 2A). Une vigilance accrue a alors été appliquée dans ces zones lors de la recherche de QTL. De plus, il a été décidé au vu de ces résultats de réaliser la cartographie des QTL identifiés en analyse de liaison sur la carte consensus avec les cinq populations. En effet, peu de différences sont observées entre les deux cartes intégrées. Leur taille sont du même ordre de grandeur, seuls quelques marqueurs ont des positionnements différents entre les deux cartes (exemple : des marqueurs sont placés différemment sur les chromosomes 3A et 5B).

4.3 Traitements statistiques des données de phénotypage

Les distributions des phénotypes sont présentées en ***annexe 4***. Pour la rouille brune, les populations CG, NF et PM présentent des distributions discrètes. La ségrégation du caractère est due à la ségrégation d'un petit nombre de gènes à effet suffisamment grand pour qu'il y ait discontinuité. Pour les populations BF et NL, les variations sont de type continue et se rapprochent d'une loi normale, ce qui indique un déterminisme génétique polygénique avec plusieurs gènes ayant des effets partielles sur la résistance. Dans ces distributions, la position des phénotypes des parents à l'origine de chacune des populations a également été observée. Pour la rouille brune, aucun phénomène de transgression n'a été constaté pour les populations CG, NF et PM, les parents sont globalement situés aux extrémités de chaque distribution. Le parent résistant est toujours le plus résistant des deux. Au contraire, pour les populations BF et NL, des transgressions peuvent être observées.

Pour la septoriose, les populations NF (plantes adultes : isolat INRA13-LG1697) et PM (plantes adultes : isolat INRA13-LG1697 et jeunes plantules : isolats INRA13-LG1697 et INRA13-LG1035) présentent des variations de type continue. Les distributions de phénotypes pour les populations PM (jeunes plantules : isolat IPO-92003) et NF (jeunes plantules isolat : INRA13-LG1697) sont de type discrète. De plus, aucune transgression n'a été constatée pour la population NF lors des expériences menées en champ et pour la population PM en conditions contrôlées avec l'isolat INRA13-LG1035. Toutefois, des transgressions peuvent être observées pour les populations PM en champ et en conditions contrôlées avec les isolats INRA13-LG1697 et IPO-92003, et NF en conditions contrôlées avec l'isolat INRA13-LG1697.

Le tableau en ***annexe 5*** présente les résultats des analyses statistiques réalisées sur les données de phénotypage. Des effets « génotype », « date », « lieu » et « répétition » ont été mis en évidence pour pratiquement chacune des expérimentations menées. Toutefois, quelques exceptions sont à souligner pour certaines données collectées au champ : pas d'effet « génotype » constaté pour les populations BF et NL pour la rouille brune et PM pour la septoriose. Des interactions « génotype – lieu » et « génotype – date » ont également été identifiées pour certaines modalités (exemple : PM pour la rouille brune, NF pour la septoriose sur plante adulte, etc.). La grande majorité des résidus ne suivait pas une loi normale d'après le test de Shapiro. De plus, une hétéroscédasticité des résidus a pu être constatée, traduisant ainsi une hétérogénéité forte dans les populations d'étude. Toutefois, l'indépendance des résidus a été vérifiée pour une grande majorité des expérimentations.

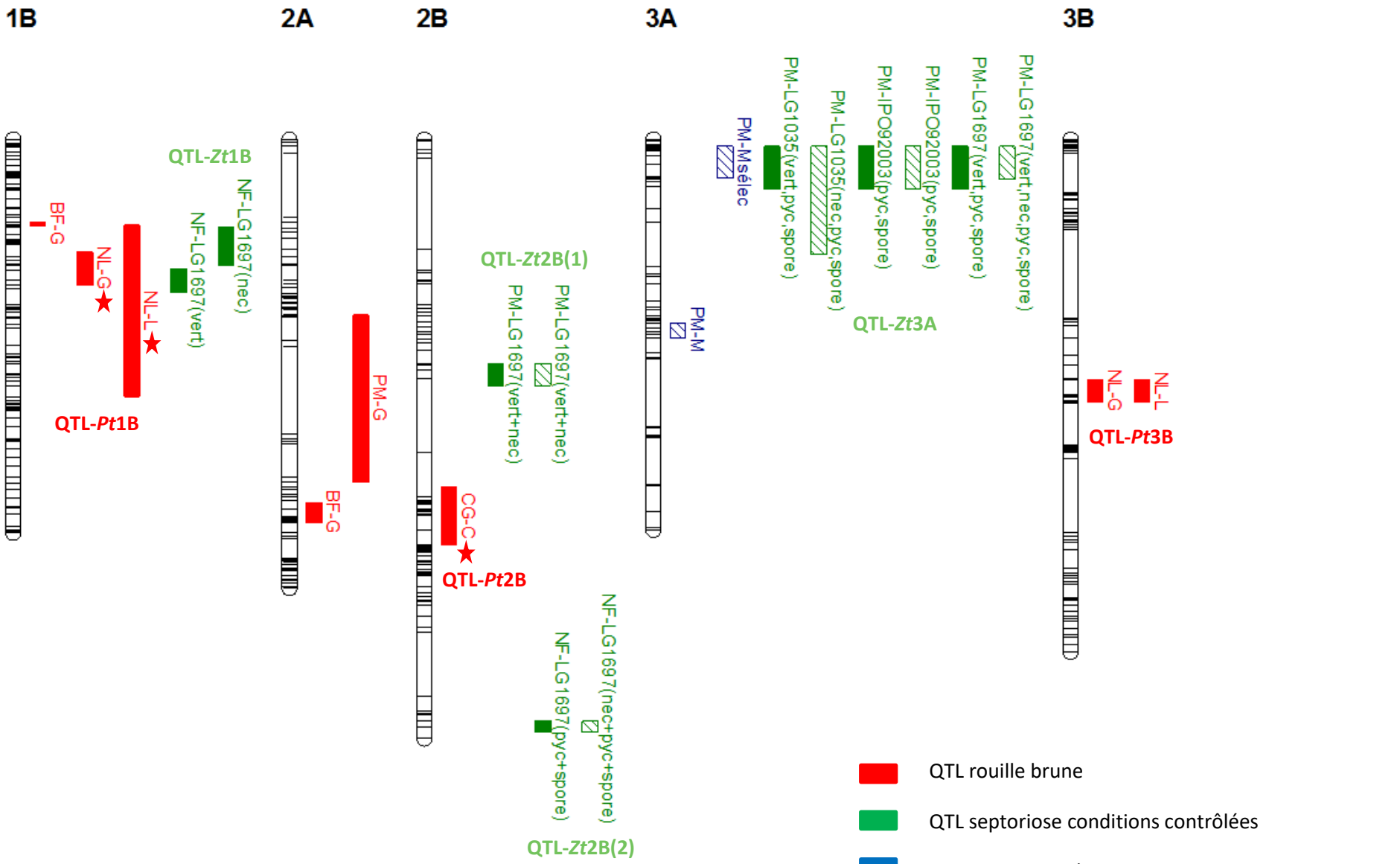


Figure 22 : Cartographie sur la carte consensus des cinq populations biparentales des différents QTL de résistance identifiés en analyse de liaison

Au vu de ces résultats, il a été décidé de mener les analyses QTL en séparant chacune des modalités lieu, date et répétition. Ainsi pour chaque population, chaque analyse est menée selon un lieu, une date et une répétition.

4.4 Résultats et cartographie des QTL identifiés en analyse de liaison

19 QTL de résistance ont pu été identifiés (tableau en ***annexe 6***) et cartographiés sur la carte consensus réalisée à partir des cartes génétiques des cinq populations biparentales (***figure 22 et figure 22 suite***). Ces 19 QTLs correspondent à cinq régions pour la rouille brune et huit régions pour la septoriose ; une région correspondant au chevauchement d'au moins deux QTL identifiés pour la même maladie dans différentes répétitions, différentes dates, différentes populations, différentes souches, etc. Par mesure de simplicité nous appellerons ces régions « QTL » dans le reste du manuscrit.

Pour la rouille brune, dans les trois populations à distribution phénotypique discrète PM, NF et CG, un QTL a été identifié sur le chromosome 7B expliquant, en moyenne, par son effet environ 21,5 % de la variation observée chez PM, 15,3 % chez CG et 5,2 % chez NF. Un deuxième QTL a été mis en évidence sur le chromosome 1B dans les populations BF et NL avec, en moyenne, un pourcentage de variation expliquée de 24,5 % chez BF et 11,6 % chez NL. Trois QTL population spécifiques ont également pu être cartographié sur les chromosomes 2B pour la population CG, 3B pour la population NL et 4A pour la population NF, expliquant respectivement en moyenne 5,6 %, 15,4% et 6,1% de la variation observée. Ces différents QTL seront par la suite appelés respectivement QTL-*Pt*7B, QTL-*Pt*1B, QTL-*Pt*2B, QTL-*Pt*3B et QTL-*Pt*4A.

Pour la septoriose, huit QTL population spécifique à effet variable ont été identifiés sur les chromosomes 1B pour NF avec l'isolat INRA13-LG1697 (pourcentage de variation expliquée de 11 % en moyenne), 2B pour PM avec l'isolat INRA13-LG1697 (8,4 %) et pour NF avec l'isolat INRA13-LG1697 (12,8 %), 3A pour PM avec l'ensemble des isolats (15 %), 4B pour PM avec l'isolat INRA13-LG1697 (6,7 %), 6A pour PM avec les isolat INRA13-LG1697 et INRA13-IPO92003 (20,1 %), 6B pour PM (8.52 %) et 7B pour NF avec l'isolat INRA13-LG1697 (14 %). Ces QTL seront par la suite appelés respectivement QTL-*Zt*1B, QTL-*Zt*2B(1), QTL-*Zt*2B(2), QTL-*Zt*3A, QTL-*Zt*4B, QTL-*Zt*6A, QTL-*Zt*6B et QTL-*Zt*7B.

Par ailleurs, des concordances entre les analyses sur jeunes plantules et sur plantes adultes ont pu être mises en évidence. Cinq QTL communs ont été identifiés : les QTL-*Zt*3A, QTL-*Zt*4B, QTL-*Zt*6A, QTL-*Zt*6B et QTL-*Zt*7B.

De plus, pour la rouille brune pour l'ensemble des populations, l'allèle de résistance provient toujours du parent résistant. Pour la septoriose, ce phénomène est observé pour la population NF sur plantes adultes en champ et pour la population PM en conditions contrôlées avec l'isolat INRA13-LG1035. Pour le reste des expérimentations pour la septoriose, les allèles de résistance proviennent des deux parents. Ces résultats concordent avec les analyses faites sur les distributions phénotypiques et les transgressions observées hormis pour la rouille brune pour les populations BF et NL.

Des interactions significatives entre QTL de résistance ont aussi pu être mises en évidence entre les QTL-*Zt*2B(2) et QTL-*Zt*7B chez NF pour l'isolat INRA13-LG1697 et entre les QTL-*Zt*3A et QTL-*Zt*6A chez PM pour l'isolat IPO-92003.

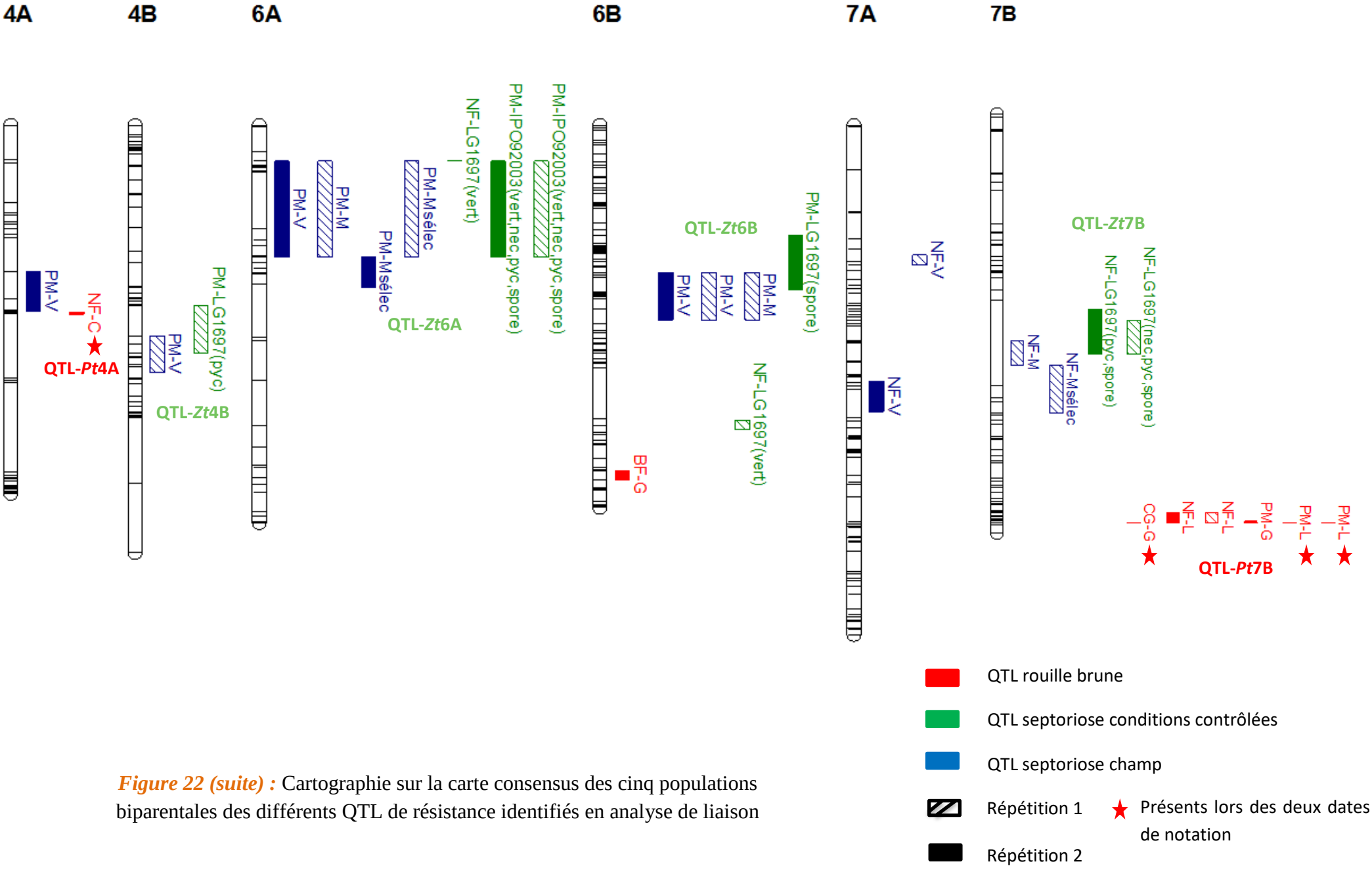


Figure 22 (suite) : Cartographie sur la carte consensus des cinq populations biparentales des différents QTL de résistance identifiés en analyse de liaison

Les résistances aux deux maladies sont globalement localisées dans des régions différentes de la carte consensus ; il n'y a donc peu ou pas de co-localisation entre les QTL de résistance à la rouille brune et à la septoriose. La seule colocalisation observée se situe sur le chromosome 1B mais les QTL identifiés à l'une et l'autre des maladies proviennent de populations différentes.

5. DISCUSSIONS

5.1 Analyse des cartes génétiques obtenues

Les cartes génétiques des cinq populations biparentales de blé dur ont été réalisées à l'aide du logiciel Multipoint-utradense. Ce dernier permet de travailler avec un nombre important de marqueurs et ainsi de construire des cartes génétiques ultra-denses. Il s'appuie sur le « twin » algorithme qui permet de focaliser le travail sur un nombre restreint de marqueurs de bonne qualité, les marqueurs délégués, ce qui permet un gain de temps dans les calculs mais également de s'affranchir d'une partie des erreurs de séquençage et d'une partie du phénomène de distorsion de ségrégation. Il s'agit d'un logiciel assez facile d'accès conduisant à des résultats de bonne qualité au vu des comparaisons de l'ordre des marqueurs entre les cartes génétiques construites et la carte génétique de Chinese Spring x Renan.

Toutefois, des phénomènes d'inversion de blocs de marqueurs sur une partie des chromosomes ont pu être constatées dans certains cas (comme le montre la ***figure 19*** en partie résultats). Ce phénomène pourrait être dû au logiciel qui repositionnerait les blocs de manière aléatoire d'un sens ou dans l'autre lorsque la distance entre les deux blocs est assez élevée, et/ou à la méthodologie utilisée dans laquelle la fusion des groupes de liaison a parfois été forcée. Certaines limites du logiciel peuvent alors être soulevées. Il est notamment apparu regrettable de ne pas pouvoir fixer l'ordre de certains marqueurs au sein des groupes de liaison. Cette fonction aurait notamment permis de s'affranchir de la mauvaise orientation de certains blocs de marqueurs trop proche d'un trou dans la carte.

Le nombre marqueurs de la puce 35 K ressortant polymorphes entre les parents de chaque population est relativement important pour chaque croisement ce qui a permis de travailler avec un nombre conséquent de marqueurs pour la cartographie. A titre de comparaison, les résultats obtenus avec la puce 90 K sont présentés dans le ***tableau 7***. La puce 35 K donne ainsi un meilleur taux de réussite puisque le pourcentage de marqueurs polymorphes est plus élevé sur cette puce. De plus, il est également intéressant de noter le prix plus faible de la puce 35 K par individu (34 euros contre environ 82 euros pour la 90 K).

Comme indiqué précédemment, seule la carte de la population NL n'a pas pu être réalisée suivant la même méthodologie que pour les quatre autres cartes. Les problèmes liés à la construction de la carte de NL peuvent s'expliquer par le nombre restreint d'individus génotypés pour cette population (89 individus contre plus de 200 pour les autres populations). De plus, la séparation forcée des marqueurs selon leur assignation chromosomique sur d'autres cartes génétiques peut être à l'origine de la hausse du nombre d'inversions dans l'ordonnancement des marqueurs entre la carte génétique de NL et les autres cartes.

Afin de faciliter les comparaisons entre populations et la mise en évidence de potentielles zones communes de résistance, il est apparu essentiel de réaliser une carte génétique consensus. Toutefois, au vu des résultats obtenus pour la carte individuelle de NL, il a été décidé de réaliser deux cartes intégrée : une avec la population NL et l'autre sans cette population. Cependant, peu de différences ont été constatées entre les cartes consensus sans

Tableau 7 : Comparaison du nombre de marqueurs polymorphes des populations d'étude entre les puces 35 et 90 K

	Puce 35 K	**Puce 90 K**
Nombre marqueurs	34 746	81 587
Population	Nombre marqueurs polymorphes	Nombre marqueurs polymorphes
Babylone x Fabulis	1674 (4,8 %)	2686 (3,3 %)
Carma x Gainsur	3738 (9,6 %)	/
Nobilis x Fabulis	3341 (9,6 %)	4481 (5,5 %)
Nautilur x Liberdur	2499 (7,2 %)	4273 (5,2 %)
Pastadou x Miradoux	2780 (8 %)	/

ou avec NL. Ce phénomène peut en partie s'expliquer par le poids moindre de NL dans la résolution des conflits de position de marqueurs, dû au faible effectif de cette population. La carte génétique consensus avec les cinq populations comprend un nombre important de marqueurs cartographiés : 6 754 ce qui représente 19,4 % de l'ensemble des marqueurs de la puce 35 K.

La question sur la pertinence des comparaisons avec la carte Chinese Spring x Renan, croisement entre deux variétés de blé tendre, se pose également. Ce choix a été effectué car une carte génétique de ce croisement avait déjà été réalisée par Rimbert et ses collaborateurs en 2018 avec les marqueurs de la puce 420K, puce à partir de laquelle est dérivée la 35 K. De plus, cette carte est considérée comme une carte de référence et comporte une grande densité de marqueurs.

5.2 Analyse des QTL de résistance identifiés

Des interrogations concernant la qualité du phénotypage au champ peuvent être soulevées. En effet, les résultats des tests statistiques sur ces données n'ont pas permis d'identifier à chaque fois un effet « génotype » (notamment pour les populations BF et NL pour la rouille brune et PM pour la septoriose). De plus, certaines répétitions n'ont pas été phénotypées. L'année 2017 fut une année particulièrement difficile concernant les conditions climatiques : alternance au moment des notations d'épisodes climatiques très chauds puis très pluvieux. Ainsi, l'ensemble des répétitions n'a pas pu être phénotypé à cause de la sénescence rapide des feuilles. D'autre part, la septoriose est une maladie très difficile à noter, particulièrement au champ mais également en conditions contrôlées. Cette difficulté se traduit par une forte variabilité dans le phénotypage de cette maladie, variabilité qui peut s'expliquer par la sensibilité de la septoriose aux variations environnementales les plus minimes ; par exemple, luminosité, humidité et pluie, température, qualité du sol, etc. La variabilité dans le phénotypage est particulièrement importante au champ où la distinction entre les lésions provoquées par la maladie, les nécroses physiologiques ou dues à d'autres agents biotiques et la sénescence peut être très compliquée. Ceci était d'autant plus vrai lors des essais de 2017 pendant lesquels les très fortes chaleurs ont fortement accéléré la sénescence des plantes au moment où la septoriose se développait. De ce fait, les tests pathologiques septoriose réalisés en conditions contrôlés et en champ sont très complémentaires, puisque les premiers ont permis de confirmer plusieurs QTL identifiés au champ mais restent peu répétable.

5.2.1 QTL identifiés pour la rouille brune

Concernant les QTL identifiés lors du phénotypage au champ pour la rouille brune, les allèles de résistance proviennent toujours du parent résistant. Les QTL mis en évidence sont stables entre notations, mais moins stables entre répétition/lieu. Trois des QTL identifiés sont spécifiques d'une population alors que le QTL-*Pt*1B a été identifié dans deux populations (NL et BF) et le QTL-*Pt*7B dans les trois populations à distributions phénotypiques discrètes (PM, NF et CG). Dans deux de ces trois populations, un effet fort de ce QTL a effectivement pu être constaté. Il explique, en effet, 21,5 % chez PM et 15,3 % chez CG de la variation observée. Dans le cas des distributions continues (population NL et BF), peu de QTL ont pu être mis en évidence et ces derniers sont peu répétables, ce qui traduirait le fait que la résistance est très polygénique et basée sur de petits effets, et que les effets sont tellement petits qu'ils sont souvent à la limite de détection. Dans ce dernier cas, nous n'avons peut-être pas la résolution suffisante pour expliquer le déterminisme génétique derrière nos distributions.

Des comparaisons avec la littérature au niveau des sources de résistance identifiées peuvent être effectuées. Toutefois, les positions précises ne pourront pas être vérifiées, nous ne disposons pas d'informations sur les positions physiques des gènes majeures de résistance. Des gènes *Lr* ont déjà été cartographiés sur chaque chromosome identifié dans cette étude. Pour certains QTL des positions semblent communes, le QTL-*Pt*7B, QTL à effet fort résultant en une distribution discrète, semble notamment correspondre aux gènes majeurs *Lr14a* et *Lr9*, déjà identifiés dans plusieurs variétés de blé dur.

5.2.2 QTL identifiés pour la septoriose

Concernant la septoriose, la résistance s'appuie sur des QTL spécifiques à chacune des populations, principalement isolat spécifique (hormis pour les QTL-*Zt*3A et QTL-*Zt*6A) et semblerait de type polygénique (deux ou plus de QTL par population). Concernant la comparaison des QTL identifiés pour la septoriose entre les expériences menées en champ (plantes adultes) et celles en conditions contrôlées (jeunes plantules), cinq zones communes de résistance population spécifiques ont pu être identifiées dont deux qui ne sont pas isolats spécifiques (nous retrouvons les QTL-*Zt*3A et QTL-*Zt*6A). Ainsi les expériences en conditions contrôlées permettent vraiment d'appuyer et de confirmer les QTL identifiés au champ. De plus, ces expérimentations ont permis de mettre en évidence la spécificité à la souche de gènes/QTL à caractère quantitatif (six des QTL identifiés sont isolat spécifiques).

Des sources de résistance ont déjà été identifiés sur les chromosomes 3B et 6B chez la variété Salim (Berraies *et al.*, in prep). Toutefois, les localisations ne semblent pas correspondre à celles que nous avons identifiées dans cette étude. Hormis pour le QTL-*Zt*6A, l'ensemble des QTL de résistance mis en évidence semblent correspondre à ceux identifiés par Aouini et ses collaborateurs en 2018. De plus, plusieurs des QTL identifiés pour la résistance à la septoriose dans nos populations blé dur semblent colocaliser avec des QTL de résistance à la septoriose identifiés précédemment dans le blé tendre : le QTL-*Zt*2B2 colocalise avec le gène *Stb9*, le QTL-*Zt*3A avec *Stb6*, et le QTL-*Zt*6A avec *Stb15*. Il est particulièrement intéressant de noter la proximité entre le QTL-*Zt*3A chez PM pour les différents isolats testés et le gène majeur de résistance *Stb6* présent dans plus de 50% des variétés de blé tendre inscrites en France (communication personnelle de Cyrille Saintenac). *Stb6* a été détecté pour la première fois dans les cultivars Flame et Hereward (Brown *et al.*, 2015). *Stb6* est l'un des premiers gène pour lequel le modèle gène-pour-gène a été vérifié chez *Z. tritici* (Brading *et al.*, 2002) et pour lequel le gène d'avirulence correspondant a été identifié (Zhong et al. 2017).

La présence du gène *Stb6* chez Miradoux et son absence chez Pastadou et Nobilis (variété résistante du croisement NxF) ont été vérifiées lors d'études menées chez plusieurs accessions de blé dur par Cyrille Saintenac (INRA GDEC). La résistance *Stb6* est donc bien en ségrégation dans la population PM mais pas dans la population NF. L'avirulence des souches testées (INRA13-LG1697 et IPO-92003) a été constatée lors des notations de septoriose en conditions contrôlées. Il est donc tout à fait probable que le QTL-*Zt*3A corresponde bien au gène de résistance *Stb6*, et il est tout à fait logique que ce QTL ait été identifié dans PM mais pas dans NF. Toutefois, d'après nos tests préliminaires, la souche INRA13-LG1035 est virulente sur *Stb6* mais a quand même permis de mettre en évidence le QTL-*Zt*3A. Il pourrait s'agir pour cette souche d'un effet résiduel de *Stb6* malgré son contournement (contournement partiel de la résistance) qu'il serait intéressant de confirmer au cours d'études ultérieures. La position physique du gène *Stb6* est connue et comprise sur le chromosome 3A entre 26 132 276 et 26 234 049 paires de base. L'intervalle dans lequel est compris le QTL-*Zt*3A, c'est-à-dire 15 461 484 et 26 140 057 paires de base, chevauche l'intervalle de *Stb6*. Ceci semble bien confirmer la correspondance entre le QTL-*Zt*3A et *Stb6*, et indique que nos

connaissance sur le déterminisme génétique des résistances du blé tendre à la septoriose peuvent être utiles à la compréhension du déterminisme génétique de la résistance du blé dur. Il serait à ce titre intéressant de comparer la fréquence de présence de *Stb6* dans le blé tendre et le blé dur, ainsi que la fréquence des souches avirulentes (*AvrStb6*) dans les populations *Z. tritici* provenant du blé tendre ou du blé dur.

Une co-localisation entre les QTL de résistance à la rouille brune et à la septoriose a pu être mise en évidence sur le chromosome 1B. Toutefois, les gènes localisés dans cette région sont probablement différents pour chaque maladie. En effet, la zone de co-localisation n'est pas très précise et implique des parents différents. Ainsi aucune résistance multiples ni d'interaction rouille-septoriose dans ces populations n'a pu être mise en évidence. Cependant, même si aucune zone de co-localisation de gènes de résistance entre les deux maladies n'a été constatée, il est tout de même possible de sélectionner les cultivars pour la résistance aux maladies indépendamment l'une de l'autre.

5.3 Perspectives

Pour la septoriose, une étude basée sur de la génétique d'association avec un panel de 200 accessions de blé dur est actuellement en cours de réalisation en Italie (Pasquale de Vita, Consiglio per la Ricerca e la sperimentazione in Agricultura). Elle permettra notamment d'apporter des informations complémentaires à cette étude sur le déterminisme génétique de la résistance dans le blé dur. Les recherches de QTL dans des populations biparentales et dans des panels de diversité (GWAS) sont, en effet, deux démarches complémentaires. La variabilité présente et le pouvoir de détection des facteurs génétiques impliqués ne sont pas les mêmes.

Une étude appronfondie pour comprendre l'absence d'avirulence pour la souche INRA13-LG1035 chez Miradoux pourrait également être effectuée. Elle s'intéresserait notamment à la présence de cet effet résiduel du QTL-*Zt*3A alors que la souche à contourner ce gène. Des études menées chez le couple blé-oïdium ont montré des faits similaires (Martin *et al.*, 1976 ; Nass, 1980). Lorsque les gènes Pm_3 et Pm_4 ont été contournés, une résistance résiduelle se traduisant par une efficacité diminuée de l'inoculum et une réduction de la sporulation a été constatée.

Une cartographie plus fine des QTL identifiés peut également être envisagée. En effet, les QTL mis en évidence ne sont pas très résolutifs. Il serait intéressant de pouvoir les positionner plus finement, notamment pour évaluer la possibilité que l'on ait d'autres gènes déjà identifiés chez le blé dur ou chez le blé tendre comme *Stb9* et *Stb15*. De plus, cette cartographie plus fine permettrait d'identifier des marqueurs diagnostics utilisables en SAM. Elle permettrait également d'aller par la suite vers l'identification et le clonage de ces gènes.

Par ailleurs, l'étude réalisée ici repose sur l'hypothèse d'une plus grande durabilité des résistances contrôlées par des gènes quantitatifs. Or peu d'études ont permis de démontrer cette hypothèse et des érosions des résistances quantitatives ont même été constatées (Montarry *et al.*, 2012), par exemple chez le pommier (Caffier *et al.*, 2016) , le maïs (Kolmer et Leonard,1986), le blé (Lehman et Shaner, 1997 ; Cowger et Mundt, 2002), et autres. La vitesse de contournement d'une résistance, qu'elle soit quantitative ou qualitative, varie fortement en fonction de la maladie, de l'espèce et des mécanismes de résistance. Elle dépend notamment du fonds génétique dans lequel sont présents les QTL de résistance (Pilet-Nayel *et al.*, 2017). Face à ces risques de contournement des résistances quantitatives, des stratégies devraient être élaborées afin d'augmenter la durabilité de ces résistances. Parmi ces stratégies,

l'usage de variétés multi-lignée ou de mélange variétal portant des gènes de résistances ou des QTL complémentaires (Sapoukhina *et al.*, 2013), la rotation dans le temps ou l'espace de différents gènes de résistance (Papaix *et al.*, 2011) ou le pyramidage de différents gènes de résistances et QTL au sein d'un même génotype (Brown, 2015b ; Mundt, 2014 ; St. Clair, 2010) pourraient être envisagées.

Les QTL/gènes de résistance à la septoriose et à la rouille brune mis en évidence dans cette étude sont parmi les premiers identifiés chez le blé dur. Ils pourront être, après cartographie plus fine, déployés en suivant les stratégies mentionnées ci-dessus.

CONCLUSION

Dans l'amélioration variétale, la gestion durable des résistances est l'un des enjeux majeurs. Afin de lutter contre les agents pathogènes, des recherches de résistances au sein du pool génétique de l'espèce étudiée (notamment les variétés mais aussi le matériel rustique et exotique) sont effectuées. L'enjeu majeur des améliorateurs est l'identification des résistances dans les variétés cultivées afin de faciliter leur sélection dans les nouvelles variétés. Chez le blé dur, les connaissances actuelles sur les sources de résistances sont limitées pour la rouille brune et la septoriose.

L'objectif du travail présenté dans ce rapport était l'identification et la cartographie génétique des QTL de résistance à ces deux maladies dans cinq populations biparentales de blé dur possédant des niveaux de résistances différents.

Cinq QTL de résistance pour la rouille brune et huit QTL pour la septoriose ont été mis en évidence et cartographiés sur une carte génétique consensus réalisée à partir des cartes génétiques individuelles de chaque population. Pour la rouille brune, hormis pour les QTL-*Pt*1B et QTL-*Pt*7B, seuls des QTL spécifiques pour chaque population ont pu être mis en évidence. De plus, la localisation du QTL-*Pt*7B semble correspondre avec les gènes *Lr14a* et *Lr9* déjà identifié dans plusieurs variétés de blé dur. Concernant la septoriose, la résistance s'appuie principalement sur des QTL spécifiques à chacune des populations et également isolat spécifique, hormis pour les QTL-*Zt*3A et QTL-*Zt*6A efficaces contre différentes souches. De plus, la localisation des QTL-*Zt*2B2, QTL-*Zt*3A et QTL-*Zt*6A semble correspondre avec des gènes de résistance à la septoriose chez le blé tendre : respectivement *Stb9*, *Stb6* et *Stb15*. Les résistances aux deux maladies sont globalement localisées dans des régions différentes de la carte consensus ; il n'y a donc peu ou pas de co-localisation entre les QTL de résistance à la rouille brune et à la septoriose. Il est tout de même possible de sélectionner les cultivars pour la résistance aux maladies indépendamment l'une de l'autre.

De ce fait, il serait intéressant de prolonger cette étude en cherchant à diminuer les intervalles de confiance des QTL par une cartographie plus fine de ces derniers. Les marqueurs moléculaires associés à ces résistances pourront alors être par la suite utilisés en sélection assistée par marqueurs.

De plus, d'autres leviers peuvent être mis en place afin d'augmenter la durabilité des résistances : le pyramidage de gènes (combinaison de différentes résistances au sein d'une même variété), la rotation dans le temps ou l'espace de différents gènes de résistance ou l'utilisation de variétés multi-lignées.

BIBLIOGRAPHIE

Ammar K, Herrera-Foessel SA, Huerta-Espino J, Crossa J, Singh RP, 2010. Resistance to leaf rust in durum wheat via the accumulation of minor, adult-plant resistance genes. 8th International Wheat Conference, St Petersbourg, Russia, pp 223-224

Aoun M, Breiland M, Turner MK, Loladze A, Chao S, Xu SS, Ammar K, Anderson JA, Kolmer JA, et Acevedo M, 2016. Genome-Wide Association Mapping of Leaf Rust Response in a Durum Wheat Worldwide Germplasm Collection, Plant Genome Volume 9

Aouini, 2018. Durum wheat and septoria tritici blotch genes and prospects for breeding. PhD Thesis, Wageningen University, Wageningen, The Netherlands pp 165 - 198

Aouini L, Faris J, Hamza S, Kema GHJ, in prep. Novel and broad-spectrum resistance to Zymoseptoria tritici in durum wheat. Abstract available in : Book of abstracts the 9th international symposium on Septoria Diseases of Cereals, 7-9 avril 2016, Paris.

Azzimonti G, 2012. Diversification de la résistance quantitative à la rouille brune du blé, à partir de la caractérisation des composantes de la résistance. Sciences agricoles. AgroParisTech, Français

Azzimonti G, Lannou C, Sache I et Goyeau H, 2013. Components of quantitative resistance to leaf rust in wheat cultivars: diversity, variability and specificity. In : Plant Pathology. octobre 2013. Vol. 62, n° 5, pp 970-981

Balcárková B, Frenkel Z, Škopová M, Abrouk M, Kumar A, Chao S, Kianian SF, Akhunov E, Korol AB, Doležel J et Valárik M, 2017. A High Resolution Radiation Hybrid Map of Wheat Chromosome 4A. Front. Plant Sci. 7:2063

Berraies S, Ammar K, Gharbi MS, Yahyaoui A et Rezgui S, 2013. Quantitative inheritance of resistance to Septoria tritici blotch in durum wheat in Tunisia, Chilean journal of agricultural research 74

Berraies S, Belzile F, Martine J, Pozniac CJ, Trifi N, Ammar K, Gharbi MS, Hajlaoui MR, in prep. Mapping of QTLs for Septoria triti blotch and Leaf rust resistance in Durum wheat recombinant inbred line population.

Blanco A, Mangini G, Giancaspro A, Giove S, Colasuonno P, Simeone R, Signorile A, Vita P, Mastrangelo AM, Cattivelli L et Gadaleta A, 2012. Relationships between grain protein content and grain yield components through quantitative trait locus analyses in a recombinant inbred line population derived from two elite durum wheat cultivars, Mol Breed, 30:79–92

Bolton MD, Kolmer JA et Garvin DF, 2008. Wheat leaf rust caused by Puccinia triticina. Molecular Plant Pathology 9, pp 563-575

Bonjean A, 2011. Histoire de la culture des céréales et en particulier de celle du blé tendre, Dossier de l'environnement de l'INRA n°21

Bouchet S, 2017. The TaBW35K SNP array. WP1: Sequencing, SNP discovery & high throughput genotyping, Plenary session, Sixth Annual Meeting, 2017, Lyon

Boudreau A et Ménard G, 1992. Le blé, éléments fondamentaux et transformation, édition Presse Universitaire de Laval

Brading PA, Verctappen ECP, Kema GHJ et Brown JKM, 2002. A Gene-for-Gene Relationship Between Wheat and Mycosphaerella graminicola, the Septoria Tritici Blotch Pathogen. *Phytopathology*. avril 2002. Vol. 92, n° 4, pp. 439-445.

Brown JKM, Chartrain L, Lasserre-Zuber P et Saintenac C, 2015a. Genetics of resistance to Zymoseptoria tritici and applications to wheat breeding. *Fungal Genetics and Biology*. Juin 2015. Vol. 79, pp 33-41

Brown JKM, 2015b. Durable resistance of crops to disease: a darwinian perspective, in Annual Review of Phytopathology, ed. N. K. VanAlfen (Palo Alto, CA: Annual Reviews), 513–539.

Caffier V., Le Cam B., Al Rifaï M., Bellanger MN, Comby M, Denancé C, Didelot F, Expert P, Kerdraon T, Lemarquand A, Ravon E, Durel CE, 2016. Slow erosion of a quantitative apple resistance to Venturia inaequalis based on an isolate-specific Quantitative Trait Locus. Infect Genet Evol. 2016 Oct;44:541-8

Castro P, Rubio J, Cabrera A, Millan T et Gil J, 2011. A segregation distortion locus located on linkage group 4 of the chickpea genetic map. Euphytica, 179, pp 515-523

Chai Y, Kriticos DJ, Beddow JM, Ota N, Yonow T et Cuddy WS, 2016. Puccinia triticina (Wheat Leaf Rust) HarvestChoice Pest Geography. St. Paul, MN: InSTePP-HarvestChoice

Chambre d'agriculture d'Eure-et-Loir, 2014. Coût de production et prix d'intérêt blé dur/blé tendre, Comité technique blé dur Centre Ile-de-France

Collard BCY, Jahufer MZZ, Brouwer JB, Pang ECK, 2005. An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: The basic concepts, Euphytica, volume 142, issue 1–2, pp 169–196

Collins NC, Niks RE, and Schulze-Lefert P, 2007. Resistance to cereal rusts at the plant cell wall—what can we learn from other host-pathogen systems? *Australian Journal of Agricultural Research*, 2007, 58, pp : 476–489

Cowger C, et Mundt CC, 2002. Aggressiveness of *Mycosphaerella graminicola* isolates from susceptible and partially resistant wheat cultivars. Phytopathology 92, 624–630

Dancer J, Daniels A, Cooley N et Foster S, 1999. Septoria tritici and Stagonospora nodorum as model pathogens for fungicide discovery. In: Septoria on cereals: a study of pathosystems (Lucas, J.A., Bowyer, P. and Anderson, H.M., eds). CABI, Wallingford, UK, pp. 316–331

Dean R, Van Kan JAL, Pretorius ZA, Hammond-Kosack KE, Di Pietro A, Spanu PD, Rudd JJ, Dickman M, Kahmann R, Ellis J et Foster GD, 2012. The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. Mol. Plant Pathol, 13:414–430

De Vienne D, 1998. Les marqueurs moléculaires en génétique et biotechnologies végétales, INRA Editions, Mieux comprendre, INRA, Paris

Diouf FBH et Mergeai G, 2012. Distorsions de ségrégation et amélioration génétique des plantes (synthèse bibliographique) Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 2012 16(4), 499-508

Doré C et Varoquaux F, 2006. Histoire et amélioration de cinquante plantes cultivées. S.l. : INRA. Savoir faire. ISBN 2-7380-1215-9

Endelman J, Plomion C, 2014. LPmerge : an R package for merging genetic maps by linear programming. Bioinformatics

Falissard B, 1998. Comprendre et utilizer les statistiques dans les sciences de la vie. Editions Masson

Feldman M, Lipton FGH et Miller TE, 1995. Wheats. In J. SMARTT, N.W. SIMMONDS : Evolution of crop plants. Longman Group Ltd., London, pp 184-192

Feldman M, 2001. Origin of cultivated wheat. In: Bonjean AP, Angus WJ, eds. The world wheat book: a history of wheat breeding. Paris, France: Lavoisier Publishing, pp 3–56

Ferjaoui S, Sbei A, Aouadi N, Hamza S, 2011. Monogenic inheritance of resistance to Septoria tritici blotch in durum wheat 'Agili' Int. J. Plant Breed., 5, pp. 17-20

Flor HH, 1955. Host-parasite interaction in flax rust - its genetics and other implications, Phytopathology, vol. 45, pp. 680–685

FranceAgriMer, 2018a. Marché du blé dur, Récolte 2017. Les études FranceAgriMer.

FranceAgriMer, 2018b. Bilans prévisionnels Blé dur, Blé tendre, Orges et Maïs pour la campagne 2017/2018

Gadaleta A, Giancaspro A, Giove SL, Zacheo S, Mangini G, Simeone R, Signorile A et Blanco A, 2009. Genetic and physical mapping of new EST-derived SSRs on the A and B genome chromosomes of wheat. Theor Appl Genet. 118:1015–1025

Geiger HH et Heun M, 1989. Genetics of quantitative resistance to fungal diseases. Annual Review of Phytopathology 27, pp 317-341

Gentyane, 2016. Catalogue des prestations de la plateforme Gentyane, p 9

Goldringer I, Bonnin I et David J, 2013. Rôle de la sélection dans la dynamique de la diversité des Blés cultivés : de la domestication à la sélection moderne au 20ème siècle. Carrefours de l'innovation agronomique

Goyeau H, Park R, Schaeffer B et Lannou C, 2006. Distribution of pathotypes with regard to host cultivars in French wheat leaf rust populations. Phytopathology 96, pp 264-273

Goyeau H, Halkett F, Zapater MF, Carlier J, Lannou C, 2007. Clonality and host selection in the wheat pathogenic fungus Puccinia triticina,. Fungal Genet Biol. 44:474–483

Goyeau H, Lannou C, 2011. Specific resistance to leaf rust expressed at the seedling stage in cultivars grown in France from 1983 to 2007. Euphytica 178, pp 45-62

Goyeau H., Berder J., Czerepak C., Gautier A., Lanen C., Lannou C., 2012. Low diversity and fast evolution in the population of Puccinia triticina causing durum wheat leaf rust in France from 1999 to 2009, as revealed by an adapted differential set. Plant Pathology 61, 761-772.

Goyeau H, Berder J, Lacoudre F, Ammar K, Loladze A, Duchalais L, Goudemand E, Desmouceaux N, André C, Blanc P, Gervais L, Lonnet P, Lefèvre T, Argillier O, Robert O, Lezie A, Poupard B, Olivier A, 2014. Caractérisation de sources de résistance à la rouille brune chez le blé dur, Innovations Agronomiques 35, pp 143-150

Gurr SJ et Fones H, 2015. The impact of Septoria tritici Blotch disease on wheat: an EU perspective. Fungal Genet. Biol, 79:3–7.

Gururani MA, Venkatesh J, Upadhyaya CP, Nookaraju A, Pandey SK et Park SW, 2012. Plant disease resistance genes: Current status and future directions. Physiological and Molecular Plant Pathology
Volume 78, Pages 51-65

Haudry A, Cenci A, Ravel C, Bataillon T, Brunel D, Poncet C, Hochu I, Poirier S, Santoni S, Glémin S et David J, 2007. Grinding up Wheat: A Massive Loss of Nucleotide Diversity Since Domestication Mol. Biol. Evol. 24(7):1506–1517

Herrera-Foessel SA, Singh RP, Huerta-Espino J, William HM, Rosewarne G, Djurle A, Yuen J, 2007a. Identification and mapping of Lr3 and a linked leaf rust resistance gene in durum wheat. Crop Sci 47:1459–1466

Herrera-Foessel SA, Singh RP, Huerta-Espino J, Crossa J, Djurle A, Yuen J, 2007b. Evaluation of slow rusting resistance components to leaf rust in CIMMYT durum wheats. Euphytica, 155, pp 361-369

Herrera-Foessel SA, Djurle A, Yuen J, Singh RP, William HM, Garcia V, Huerta-Espino J, 2008. Identification and molecular characterization of leaf rust resistance gene Lr14a in durum wheat. Plant Dis 92:469–473

Herrera-Foessel S A, Huerta-Espino J, Calvo-Salazar V, Lan C X, et Singh R P, 2014. Lr72 confers resistance to leaf rust in durum wheat cultivar Atil C2000. Plant Dis. 98:631-635

HGCA, 2012. Septoria tritici in winter wheat. Topic sheet 113

Hu G, Linning R, Mccallum B, Banks T, Cloutier S, Butterfiels Y, Liu J, Kirkpatrick R, Stott J, Yang G,

Smailus D, Jones S, Marra M, Schein J et Bakkeren G, 2007. Generation of a wheat leaf rust, Puccinia triticina, EST database from stage-specific cDNA libraries

Isenring R, 2010. Pesticide and the loss of biodiversity. How intensive pesticide use affects wildlife populations and species diversity. PAN Europe, London

Johnson R, 1981. Durable resistance: definition of genetic control and attainment in plant breeding. Phytopathology 71:567–568

Kema GHJ, Yu DZ, Rijkenberg FHJ, Shaw MW et Baayen RP, 1996. Histology of the pathogenesis of Mycosphaerella graminicola in wheat. Phytopathology, 86(7), 777–786

Kolmer, J. A., et Leonard, K. J. (1986). Genetic selection and adaptation of *Cochliobolus heterostrophus* to corn host with partial resistance. Phytopathology 76, 774–777.

Kolmer JA, Hanzalova A, Goyeau H, Bayles R, Morgounov A. Genetic differentiation of the wheat leaf rust fungus Puccinia triticina in Europe, 2012. Plant Pathol. 62:21–31

Lehman, J. S., et Shaner, G, 1997. Selection of populations of *Puccinia recondita* f. sp. tritici for shortened latent period on a partially resistant wheat cultivar. Phytopathology 87, 170–176

Maccaferri M, Sanguineti MC, Corneti S, Ortega JLA, Ben Salem M, Bort J, DeAmbrogio E, del Moral LFG, Demontis A, El-Ahmed A, Maalouf F, Machlab H, Martos V, Moragues M, Motawaj J, Nachit M, Nserallah N, Ouabbou H, Royo C, Slama A, Tuberosa R, 2008a. Quantitative trait loci for grain yield and adaptation of durum wheat (Triticum durum Desf.) across a wide range of water availability. Genetics 178:489–511

Maccaferri M, Mantovani P, Tuberosa R, DeAmbrogio E, Giuliani S, Demontis A, Massi A, Sanguineti MC, 2008b. A major QTL for durable leaf rust resistance widely exploited in durum wheat breeding programs maps on the distal region of chromosome arm 7BL. Theor Appl Genet 117: 1225–1240

Maccaferri M, Sanguineti MC, Mantovani P, Demontis A, Massi A, Ammar K, Kolmer JA, Czembor JH, Ezrati S, Tuberosa R, 2010. Association mapping of leaf rust response in durum wheat Mol Breeding, 26:189–228

Maccaferri M, Cane MA, Sanguineti MC, Salvi S, Colalongo MC, Massi A, Clarke F, Knox R, Pozniak CJ, John M Clarke, Tzion F, Dubcovsky J, Xu S, Ammar K, Karsai I, Vida G et Tuberosa R, 2014. A consensus framework map of durum wheat (Triticum durum Desf.) suitable for linkage disequilibrium analysis and genome-wide association mapping, BMC Genomics, 873

Maccaferri M, Ricci A, Salvi S, Milner SG, Noli E, Martelli PL, Casadio R, Akhunov E, Scalabrin S, Vendramin V, Ammar K, Blanco A, Desiderio F, Distelfeld A, Dubcovsky J, Fahima T, Faris J, Korol A, Massi A, Mastrangelo AM, Morgante M, Pozniak C, N'Diaye A, Xu S, Tuberosa R, 2015. A high-density, SNP-based consensus map of tetraploid wheat as a bridge to integrate durum and bread wheat genomics and breeding. Plant Biotechnol J. 2015 Jun;13(5):648-63

Maccaferri M, Aouini Lamia, Prodi A, Stefanelli S, Corneti S, Tuberosa R, Mantovani P, Massi A, Kema GHJ, in prep. QTLs for partial resistance to Zymoseptoria tritici in durum wheat recombinant inbred line populations, Abstract available in : Book of abstracts the 9th international symposium on Septoria Diseases of Cereals, 7-9 avril 2016, Paris.

Mantovani P, Maccaferri M, Sanguineti MC, Tuberosa R, Catizone I, Wenzl P, Thomson B, Carling J, Eric H, De-Ambrogio E, Kilian A, 2008. An integrated DArT-SSR linkage map of durum wheat. Mol Breed 22:629–648

Marone D, Del Olma AI, Laido G, Sillero JC, Emeran AA, Russo MA, Ferragonio P, Giovanniello V, Mazzucotelli E, De Leonardis AM, De Vita P, Blanco A, Cattivelli L, Rubiales D, Mastrangelo AM, 2009. Genetic analysis of durable resistance against leaf rust in durum wheat, Molecular Breeding, Volume 24, Issue 1, pp 25–39

Marone D, Laido G, Gadaleta A, Colasuonna P, Ficco DBM, Giancaspro A, Giove S, Panio G, Russo MA, De Vita P, Cattivelli L, Papa R, Blanco A et Mastrangelo AM 2012. A high-density consensus map of A and B wheat genomes, Theor Appl Genet. 125(8): 1619–1638

Martin JJ et Ellingboe AM, 1976. Differences between compatible parasite host genotypes involving the Pm4 leaves of wheat and the corresponding genes of Erysiphe graminis f sp. tritici. Phytopathology 66, pp. 1435-1438

Martínez F, Sillero JC, Rubiales D, 2007. Resistance to leaf rust in cultivars of bread wheat and durum wheat grown in Spain. Plant Breed 126:13–18

McCartney C A, Brûlé-Babel A L, Lamari L, 2002. Inheritance of Race-Specific Resistance to Mycosphaerella graminicola in Wheat. Phytopathology 92, pp 138-144

McIntosh RA, Dyck PL, 1975. Cytogenetical studies in wheat. VII. Gene Lr23 for reaction to Puccinia recondita in Gabo and related cultivars. Austr J Biol Sci 28:201–211

McIntosh RA, Devos KM, Dubcovsky J, Rogers WJ, 2004. Catalogue of gene symbols for wheat : 2004 Supplement ; http://wheat.pw.usda.gov

Medini M, Ferjaoui S, Bahri B, Mhri W, Hattab S, Hamza S, 2014. Les méthodes d'analyse de ségrégation en mélange et d'association marqueur-trait révèlent des marqueurs AFLP communs de résistance à la septoriose chez un ancien blé dur de Tunisie, Biotech. Agron. Soc. Environ., 18, pp 3-10

Millot G, 2018. Comprendre et réaliser les tests statistiques à l'aide R, manuel de biostatistique 4ème édition p 800

Montarry J, Cartier E, Jacquemond M, Palloix A, et Moury B, 2012. Virus adaptation to quantitative plant resistance: erosion or breakdown? J. Evol. Biol. 25, 2242–2252

Mundt CC, 2014. Durable resistance: a key to sustainable management of pathogens and pests. Infect. Genet. Evol. 27, 446–455

Nachit MM, Elouafi I, Pagnotta MA, Saleh A, Iacono E, Labhilili M, Asbati A, Azrak M, Hazzam H, Benscher D, Khairallah M, Ribaut JM, Tanzarella OA, Porceddu E et Sorrells ME, 2001. Molecular linkage map for an intraspecific recombinant inbred population of durum wheat (Triticum turgidumL. var durum) Theor Appl Genet. 102:177–186

Nass HA, 1980. The residuals effects of certains defeated powdery mildew genes in near isogenic Unes of chancellor winter whear. MS Thesis Univ. Park

Nelson JC, Singh RP, Autrique JE, Sorrells ME, 1997. Mapping genes conferring and suppressing leaf rust resistance in wheat. Crop Sci 37:1928–1935

Nevo E, Korol AB, Beiles A et Tzion F, 2002. Evolution of Wild Emmer and Wheat Improvement, Population Genetics, Genetic Ressources, and Genome Organization of Wheat's Progenitor, Triticum dicoccoides, 3-10

Niks RE, Parlevliet JE, Lindhout P et Bai Y, 2011. Breeding crops with resistance to diseases and pests. Wageningen Academic Publishers. S.l. : s.n. Plant Breeding Wageningen UR. ISBN 978-90-8686-171-2

Niks RE, Qi XQ, et Marcel TC, 2015. Quantitative resistance to biotrophic filamentous plant pathogens: concepts, misconceptions and mechanisms," in Annual Review of Phytopathology, ed. N. K. VanAlfen (Palo Alto, CA: Annual Reviews), 445–470

Ordonez ME, Kolmer JA, 2007. Virulence phenotypes of a worldwide collection of Puccinia triticina from durum wheat. Phytopathology 97, pp 344-351

Ouvrard N, 2014. Gros coup de mou pour le blé dur française, Réussir grandes cultures

Palloix A, Ayme V, et Moury B, 2009. Durability of plant major resistance genes to pathogens depends on the genetic background, experimental evidence and consequences for breeding strategies. New Phytol. 183, 190–199

Palmer CL et Skinner W, 2002. Mycosphaerella graminicola: latent infection, crop devastation and genomics. In : Molecular Plant Pathology. Vol. 3, n° 2, p. 63–70

Papaix J, Goyeau H, Du Cheyron P, Monod H, and Lannou C, 2011. Influence of cultivated landscape composition on variety resistance: an assessment based on wheat leaf rust epidemics. New Phytol. 191, 1095–1107

Pariaud B, 2008. Agressivité de Puccinia triticina (agent de la rouille brune du blé) et son adaptation à l'hôte. 217pp

Passion céréale, 2009. Des céréales utiles tous les jours

Parlevliet JE, 2002. Durability of resistance against fungal, bacterial and viral pathogens; present situation. Euphytica 124, 147–156

Paveley ND, 1999. Integrating Septoria risk variables. In: Septoria on cereals: a Study of Pathosystems. (Lucas, J.A., Bowyer, P. and Anderson, H.M., eds). CABI Publishing, Wallingford, UK, pp. 230–250

Perez-Nadales E, Almeida Nogueira MF, Baldin C, Castanheira S, El Ghalid M, Grund E, Lengeler K, Marghegiani E, Mehrotra PV, Moretti M, Naik V, Oses-Ruiz M, Oskarsson T, Schäfer K, Wasserstrom L, Brakhage A, Gow N, Kahmann R, Lebrun MH, Perez-Martin J, Di Pietro A, Talbot N, Toquin V, Walther A et Wendland J, 2014. Fungal model systems and the elucidation of pathogenicity determinants. In : Fungal Genetics and Biology. septembre 2014. Vol. 70, p. 42-67

Peleg Z, Saranga Y, Suprunova T, Ronin Y, Röder MS, Kilian A, Korol AB et Fahima T, 2008. High-density genetic map of durum wheat x wild emmer wheat based on SSR and DArT markers. Theor Appl Genet. 117:103–115

Peterson RF, Campbell AB et Hannah AE, 1948. A diagrammatic scale for estimating rust intensity on leaves and stems of cereals. Canadian Journal of Research, 1948, Vol. 26c, N° 5 : pages 496-500

Pilet-Nayel ML, Moury B,Caffier V, Montarry J, Kerlan MC, Fournet S, Durel et Delourme R, 2017. Quantitative resistance to plant pathogens in pyramiding strategies for durable crop protection. Frontiers in Plant Science, Octobre 2017, Volume 8, Article 1838

Ponomarenko A, Goodwin SB, et Kema GHJ, 2011. Septoria tritici blotch (STB) of wheat. Plant Health Instructor

R Core Team , 2018. R Installation and Administration

Rampitsch C, Bykova NV, McCallum B, Beimcik E et Ens W, 2006. Analysis of the wheat and Puccinia triticina (leaf rust)proteomes during a susceptible host-pathogeninteraction, Proteomics 2006, 6, pp 1897–1907

Richardson KL, Vales MI, Kling JG, Mundt CC et Hayes PM, 2006. Pyramiding and dissecting disease resistance QTL to barley stripe rust. Theor. Appl. Genet. 113, pp 485–495

Rimbert H, Darrier B, Navarro, Kitt, Choulet F, Leveugle M, Duarte J, Rivière N, Eversole K, The International Wheat Genome Sequencing Consortium, Le Gouis J, TheBreedWheat Consortium, Davassi A, Balfourier F, Le Paslier MC, Berard A, Brunel D, Feuillet C, Poncet Charles, Sourdille P, Paux E, 2018. High throughput SNP discovery and genotyping in hexaploid wheat. PLoS ONE 13(1): e0186329.

Robinson RA et Sutherland WJ, 2002. Post-war changes in arable farming and biodiversity in Great Britain. Journal of Applied Ecology 39, pp 157-716

Roelfs AP, Singh RP, et Saari EE, 1992. Rust diseases of wheat: concepts and methods of disease management. Mexico, DF: CIMMYT. 81 pages

Ronin Y, Minkov D, Mester D, Akhunov E et Korol A, 2015. Building Ultra-Dense Genetic Maps in the Presence of Genotyping Errors and Missing Data. In: Ogihara Y, Takumi S, Handa H (eds) Advances in Wheat Genetics: From Genome to Field. Springer, Tokyo

Saintenac C, Lee W-S, Cambon F, Rudd JJ, King RC, Marande W, Powers SJ, Bergès H, Phillips AL, Uauy C,

Hammond-Kosack KE, Langin T et Kanyuka K, 2018. Wheat receptor-kinase-like protein Stb6 controls gene-for-gene resistance to fungal pathogen *Zymoseptoria tritici*, Nature Genetics, Vol 50, pp.368–374

Sapoukhina, N., Paillard, S., Dedryver, F., et de Vallavieille-Pope, C. (2013). Quantitative plant resistance in cultivar mixtures: wheat yellow rust as a modeling case study. New Phytol. 200, 888–897

Shaw MW et Royle DJ, 1989. Estimation and validation of a function describing the rate at which Mycosphaerella graminicola causes yield loss in winter wheat. Ann. Appl. Biol. 115, pp 425–442

Singh RP, 1991. Pathogenicity variations of Puccinia recondita f. sp. tritici and P. graminis f. sp. tritici in wheat-growing areas of Mexico during 1988 and 1989. Plant Dis 75, pp 790-794

Soleiman N H, Solis I, Soliman M H, Sileros J C, Villegas D, Alvaro F, Royo C, Serra J, Ammar K et Martinez-Moreno F, 2016. Emergence of a new race of leaf rust with combined virulence to Lr14a and Lr72 genes on durum wheat. Spanish Journal of Agricultural Research, Volume 14, Issue 3, e10SC02

St. Clair DA, 2010. "Quantitative disease resistance and quantitative resistance loci in breeding," in Annual Review of Phytopathology, eds N. K. VanAlfen, G. Bruening, and J. E. Leach (Palo Alto, CA: Annual Reviews), pp 247–268.

Stall RE, Jones, JB, et Minsavage, GV, 2009. Durability of resistance in tomato and pepper to xanthomonads causing bacterial spot. Annu. Rev. Phytopathol. 47, pp 265–284

Suffert F, Sache I, Lannou C, 2013. Assessment of quantitative traits of aggressiveness in Mycosphaerella graminicola on adult wheat plants. Plant Pathology 62 : 1330-1341.

Suffert F, 2015. Processus et mécanismes centrés sur l'inoculum : une approche fonctionnelle et expérimentale de l'épidémiologie végétale. Sciences du Vivant [q-bio]. Université Paris Sud

Thomas MR, Cook RJ et King JE, 1989. Factors affecting development of Septoria tritici in winter wheat and its effect on yield. Plant Pathol. 38, pp 246–257

Thuillet AC, Bataillon T, Poirier S, Santoni S et David JL, 2004. Estimation of Long-Term Effective Population Sizes Through the History of Durum Wheat Using Microsatellite. DataGenetics 169 : 1589 99.

Trebbi D, Maccaferri M, Heer P, Sørensen A, Giuliani S, Salvi S, Sanguineti MC, Massi A, Vossen EAG et Tuberosa R, 2011. High-throughput SNP discovery and genotyping in durum wheat (Triticum durumDesf.) Theor Appl Genet. 123:555–569

Voorrips RE, 2002. MapChart: Software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs. The Journal of Heredity 93 (1): 77-78.

Williams PC, 1993. The world of wheat. In: Grains and oilseeds: handling marketing processing. Canadian International Grains Institute, Winnipeg, Canada, pp 557-602

Xu Y, Zhu L, Xiao J, Huang N et McCouch SR, 1997. Chromosomal regions associated with segregation distortion of molecular markers in F2, backcross, doubled haploid, and recombinant inbred populations in rice (Oryza sativa L.). Mol. Gen. Genet., 253, pp 535-545

Zhang H, Knott DR, 1990. Inheritance of leaf rust resistance in durum wheat. Crop Sci 30:1218–1222

Zhang HT, Knott DR, 1993. Inheritance of adult plant resistance to leaf rust in 6 durum wheat cultivars. Crop Sci 33:694–697

Zhang W, Chao S, Manthey F, Chicaiza O, Brevis JC, Echenique V et Dubcovsky J, 2008. QTL analysis of pasta quality using a composite microsatellite and SNP map of durum wheat. Theor Appl Genet. 117:1361–1377

Zhong Z, Marcel TC, Hartmann FE, Ma X, Plissonneau C, Zala M, Ducasse A, Confais J, Compain J, Lapalu N, Amselem J, Mcdonald BA, Croll D et Palma-Guerrero J, 2017. A small secreted protein in Zymoseptoria tritici is responsible for avirulence on wheat cultivars carrying the Stb6 resistance gene. *New Phytologist*, avril 2017, 214(2): 619-631

Zohary D et Hopf M, 2000. Domestication of Plants in the Old World. Oxford University Press, New York

SITOGRAPHIE

« Contrôler la rouille brune en début d'attaque », ARVALIS [en ligne], Maufras JY, 2016. [Consulté le 25 janvier 2018]. Disponible sur : https://www.arvalis-infos.fr/controler-la-rouille-brune-en-debut-d-attaque-@/view-12571-arvarticle.html

« Fiche variété blé dur Babylone » [en ligne], Semences de France, 2017. [Consulté le 19 janvier 2018]. Disponible sur : www.semencesdefrance.com

« Le blé dur, histoire d'une sélection millénaire » [en ligne], Semencemag, s.d. [Consulté le 18 janvier 2018]. Disponible sur : https://www.semencemag.fr/ble-dur-agriculture-selection.html

« La septoriose, une maladie propagée par les éclaboussures de pluie », ARVALIS [en ligne], Maufras JY, 2017. [Consulté le 24 janvier 2018]. Disponible sur : https://www.arvalis-infos.fr/la-septoriose-une-maladie-propagee-par-les-eclaboussures-de-pluie-@/view-9994-arvarticle.html

ANNEXES

Annexe 1 : Productions mondiale, européenne et française du blé dur ces dernières années

Annexe 2 : Exemple fiche descriptive de la variété Babylone

Annexe 3 : Tableau récapitulatif du projet Duromal : actions, calendrier, indicateurs de suivi et d'évaluation

Annexe 4 : Distribution des phénotypes

Annexe 5 : Tableau récapitulatif des analyses statistiques réalisées sur les données de phénotypage

Annexe 6 : QTL identifiés en analyse de liaison

Annexe 1 : Productions mondiale, européenne et française du blé dur ces dernières années

Evolution de la production mondiale de blé dur en millions de tonnes
(FranceAgrimer, 2018a d'après le Conseil international des céréales)

millions de tonnes	99/00	00/01	01/02	02/03	03/04	04/05	05/06	06/07	07/08	08/09	09/10	10/11	11/12	12/13	13/14	14/15	15/16	16/17	17/18
Union européenne	7,4	9,1	6,9	8,9	8,7	11,4	8,4	9,1	8,2	10,1	8,7	9,1	8,2	8,2	8,1	7,6	8,5	9,4	9,1
Canada	4,3	5,6	3,0	3,9	4,3	5,0	5,9	3,3	3,7	5,5	5,4	3,0	4,2	4,6	6,5	5,2	5,4	7,8	4,2
Mexique					0,9	1,1	1,3	1,9	1,8	2,0	2,2	2,2	2,2	2,1	2,3	2,3	2,3	2,3	2,0
États-Unis	2,7	3,0	2,3	2,2	2,6	2,5	2,8	1,5	2,0	2,3	3,0	2,9	1,4	2,2	1,6	1,5	2,3	2,8	1,5
Turquie	3,8	3,0	3,0	3,0	3,2	3,2	3,2	3,0	2,7	3,0	3,1	2,9	3,0	3,0	4,1	3,3	4,1	3,6	4,0
Algérie	0,9	0,5	1,2	1,0	1,8	2,0	1,6	1,8	1,8	0,9	2,9	2,2	2,5	3,0	2,5	1,3	2,2	1,7	2,0
Maroc	0,8	0,4	1,0	1,0	1,8	2,0	0,9	2,1	0,5	1,0	1,9	1,6	1,7	1,0	1,9	1,4	2,4	0,9	2,0
Tunisie	0,7	0,7	0,9	0,4	1,6	1,4	1,3	1,1	1,4	1,4	1,4	0,6	1,2	1,3	0,8	1,2	0,8	0,8	1,2
Syrie	2,0	2,1	3,1	2,8	3,0	2,5	2,5	2,0	1,8	1,2	1,8	1,6	1,7	1,5	1,5	0,8	1,4	1,0	0,9
Kazakhstan	3,0	2,2	2,5	2,6	2,6	2,2	2,4	2,6	3,0	2,5	2,6	1,7	3,0	1,4	2,0	2,0	2,1	2,1	2,0
Australie					0,6	0,5	0,6	0,2	0,3	0,5	0,5	0,5	0,6	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Autres pays	6,5	6,9	7,9	8,8	6,2	6,8	6,7	7,2	7,7	8,5	7,5	6,6	7,2	6,7	7,0	7,5	7,2	7,0	7,2
Total	**32,1**	**33,5**	**31,8**	**34,6**	**36,8**	**40,6**	**37,5**	**35,7**	**34,9**	**38,9**	**40,9**	**34,9**	**36,8**	**35,4**	**38,8**	**34,5**	**39,1**	**39,9**	**36,6**

Prévisions au 11/01/2018
* Union européenne à 15 à partir de 1994/95, Union européenne à 25 à partir de 2003/04, Union européenne à 27 à partir de 2007/08

Evolution de la production européenne de blé dur en milliers de tonnes
(FranceAgrimer, 2018a)

				UE à 25			UE à 27										
1 000 t	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017
Autriche	46	50	64	89	63	77	53	91	67	79	78	44	63	67	88	124	92
Bulgarie	63	57	45	70	78	:	14	22	185	95	153	50	41	23	32	54	48
Espagne	1 900	2 153	1 989	2 708	935	1 643	1 227	1 185	1 368	1 000	900	499	933	825	925	1 058	1 160
France	1 352	1 614	1 427	2 086	2 042	2 100	1 991	2 102	2 091	2 549	2 023	2 380	1 771	1 490	1 806	1 694	2 106
Grèce	1 428	1 402	1 308	1 500	1 491	1 144	918	1 414	1 330	1 214	1 237	1 091	1 118	1 034	786	1 122	1 143
Hongrie	49	43	24	54	39	40	29	37	48	44	50	46	65	67	94	150	157
Italie	3 624	4 268	3 718	5 546	4 431	3 989	3 923	5 113	3 648	3 824	3 793	4 160	3 970	4 036	4 398	5 049	4 320
Portugal	103	327	113	235	1	8	3	7	20	16	4	4	3	4	6	13	10
Roumanie	10	8	2	14	10	8	1	5	16	28	15	22	13	19	8	25	23
Autres			27	67	6	97	63	83	147	211	184	106	331	354	415	596	642
"Union européenne"	8 535	9 912	8 716	12 368	9 096	9 105	8 222	10 058	8 919	9 059	8 437	8 403	8 308	7 921	8 559	9 946	9 701

Source : FranceAgriMer et Commission européenne

Bilan prévisionnel blé dur pour la campagne 2017/2018 en France
(FranceAgrimer, 2018b)

1 000 t	2012/13	2013/14	2014/15	2015/16	2016/17 *Provisoire Nov-17*	2017/18 *Prév. Oct-17*	2017/18 *Prév. Nov-17*	Evolution *16/17 / 17/18*
Données hors bilan marché								
Surfaces (1 000 ha)	437	336	287	319	401	381	372	-7,2%
Rendement (qx/ha)	54,5	53,0	51,8	56,6	42,2	56,7	56,6	34,0%
Production (1 000 t)	2 383	1 781	1 484	1 806	1 694	2 162	2 106	24,3%
Estimation stock initial à la ferme*	**35**	52	7	61	164	146	146	-11,3%
Estimation autoconsommation et autres usages à la ferme*	52	6	18	83	135	50	50	-62,9%
Estimation stock final à la ferme*	52	7	61	81	146	307	240	64,7%
Collecte réalisée au 01.10					937		1 143	22,0%
en % de la collecte prévue					59,4%		58,3%	

* Estimations sous toutes réserves.

Annexe 2 : Exemple fiche descriptive de la variété Babylone (source : semences de France, 2017 d'après GEVES / ARVALIS - Institut du végétal)

Blé Dur

BABYLONE

Résistant Rouille Brune | Peu sensible Fusariose | Peu sensible Mitadinage | Biscuit

En savoir plus...

Obtenteur :	**Syngenta**
Année d'inscription :	**2009**

Caractéristiques physiologiques

Précocité Montaison :	**2** *½ tardif*
Précocité Épiaison :	**5,5** *½ tardif*

Qualité technologique

PMG :	**8,5** *Gros à très gros*
Poids Spécifique :	**6,5** *Assez élevé*
Protéines :	**5** *Moyen*
Indice de jaune :	**8** *Élevé à très élevé*
Clarté :	**6,5** *Assez élevé*
Moucheture :	**6,5** *Peu sensible*
Mitadinage :	**4** *Assez sensible*
Classe technologique :	**BD**
Avis semoulerie (CFSI) :	

Caractéristiques Agronomiques

Froid	3,5	*Sensible à assez sensible*
Hauteur	3,5	*Courte*
Verse	7,5	*Assez résistant*
Germination sur pied	2	*Sensible*
Oïdium	6	*Peu sensible*
Rouille jaune	8	*Assez résistant à résistant*
Rouille brune	7	*Assez résistant*
Septorioses *majoritairement S. tritici*	7	*Assez résistant*
Fusarioses *symptômes sur épi*	6	*Peu sensible*
Risque mycotoxine (DON)	5,5	*Assez sensible à peu sensible*

Votre outil d'aide au choix variétal :
www.semencesdefrance.com/memento-interactif-bth

Sources : GEVES / ARVALIS - Institut du végétal
Certaines informations ont été ajoutées par Semences de France.
les notes entre parenthèses () doivent être confirmées par des observations supplémentaires
La légende des tabeaux est disponible sur www.semencesdefrance.com/legende

Mise à jour Mai 2017

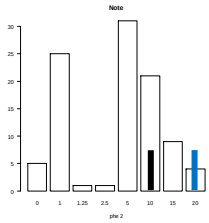
SEMENCES DE FRANCE
62, rue Léon Beauchamp
59932 La Chapelle d'Armentières
Tel : +33 (0)3 20 48 41 41 - Fax : +33 (0)3 20 48 41 30
Email: contact@semences-de-france.fr

www.semencesdefrance.com

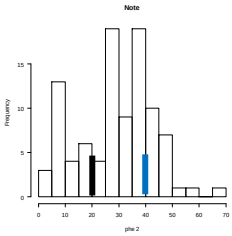
Annexe 3 : Tableau récapitulatif du projet Duromal : actions, calendrier, indicateurs de suivi et d'évaluation (source : annexe 1 de la présentation des dossiers projets et AMS pour le projet Duromal)

Action	Partenaire impliqué	Année 1 (2014-2015)	Année 2 (2015-2016)	Année 3 (2016-2017) Année 3,5 (2017)	Indicateurs de suivi et d'évaluation
Action 1. 1 Populations de Puccinia triticina	GIE Blé dur ARVALIS INRA Bioger	Isolements monopustule de la collection 2010-2013 (400 isolats collectés) et pathotypage de 250 isolats Collecte isolats 2015 (~100) et mise en collection	Isolements monopustule collection 2014 et 2015 et pathotypage de 250 isolats Evolution de la gamme d'hôtes différentiels si nécessaire Collecte isolats 2016 (~100) et mise en collection	Collecte isolats 2017(~100) et mise en collection Evolution de la gamme d'hôtes différentiels si nécessaire Choix isolats et Production d'inoculum pour phénotypage des populations	Collection d'isolats représentatifs des populations de *P. triticina* en France, stockage à -80°C à l'INRA BIOGER Evolution de la gamme d'hôtes différentiels
Action 1.2 : Populations de Zymoseptoria tritici	INRA Bioger ARVALIS	Evaluation d'un panel de 200 variétés pour constituer une gamme d'hôtes différentiels : 4 isolats sur plantules en conditions contrôlées, 2 isolats au champ	Constitution de la gamme d'hôtes différentiels, et caractérisation de 30 isolats. Production de semences des hôtes différentiels	Choix isolats et Production d'inoculum pour phénotypage des populations	Constitution d'une gamme d'hôtes différentiels Mise à disposition des semences de ces hôtes pour les partenaires
Action 2.1 : Populations de lignées recombinantes	GIE Blé Dur	Production des générations F4 et F5 de 6 populations	Production des générations F6 de 4 populations		A chaque génération, suivi du bilan des semences disponibles pour les différentes populations
Action 2.2 : Phénotypage des populations	GIE Blé dur ARVALIS INRA Bioger			sur générations F6 Rouille brune : 3 populations x 2 isolats x 2 lieux=12 pépinières Septoriose : 1 population x 2 isolats x 2 lieux = 4 pépinières	Production d'inoculum par INRA BIOGER, mise en place des pépinières sur les différents lieux, suivi des notations (coordination INRA BIOGER)
Action 2.3 : Génotypage des populations	sous-traitance			Génotypage de 4 populations en génération F6 (sur puce SNP blé tendre, ou bien RNAseq), objectif 1000-1500 marqueurs SNP polymorphes	Selon technologie choisie, réception des cartes génétiques SNPs ou de marqueurs KASPAR auprès du prestataire choisi
Action 2.4 : Cartographie QTL	INRA Bioger			**Année 3,5** : détection de QTL à partir des cartes génétiques et des données de phénotypage. Intégration des 4 cartes génétiques.	Production de marqueurs de QTLs

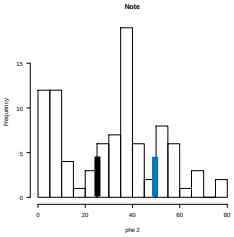
Annexe 4 : Distribution des phénotypes (légende à la fin)



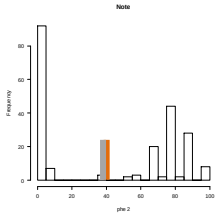
Grisolles 29/05/17, Rouille brune, Babylone x Fabulis



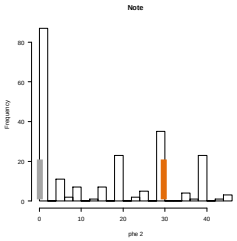
Grisolles 06/06/17, Rouille brune, Babylone x Fabulis



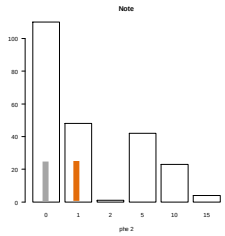
Castelnaudary, 31/05/2017, Rouille brune, Babylone x Fabulis



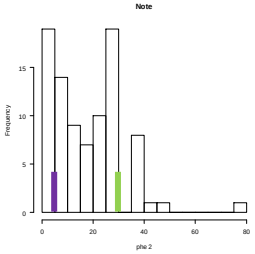
Castelnaudary 31/05/2017, Rouille brune, Carma x Gainsur



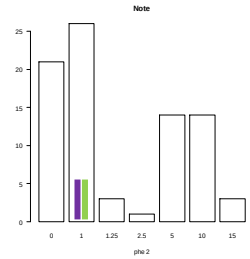
Grisolles, 06/06/2017, Rouille brune, Carma x Gainsur



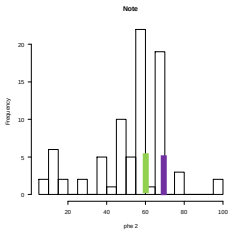
Grisolles, 29/05/2017, Rouille brune, Carma x Gainsur



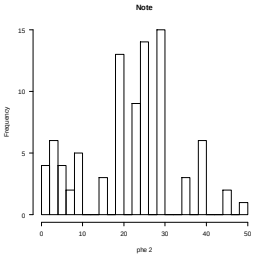
Grisolles, 06/06, Rouille brune, Nautilur x Liberdur



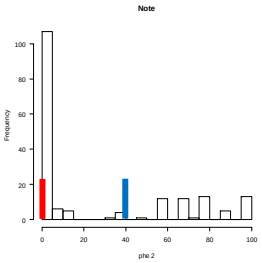
Grisolles 29/05, Rouille brune, Nautilur x Liberdur



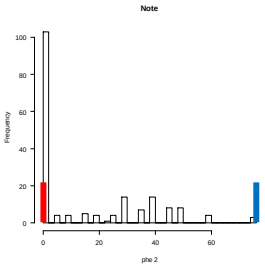
Lectoure 07/06, Rouille brune, Nautilur x Liberdur



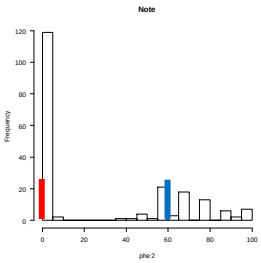
Lectoure, 30/05/2017, Rouille brune, Nautilur x Liberdur



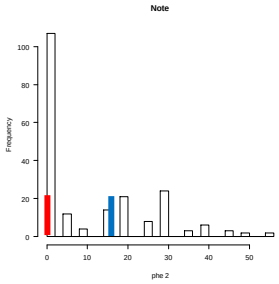
Castelnaudary 08/06/2017, Rouille brune, Nobilis x Fabulis



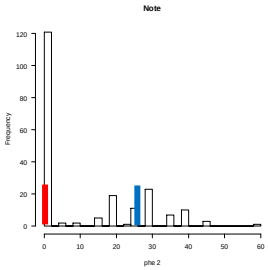
Castelnaudary 31/05/2017, Rouille brune, Nobilis x Fabulis



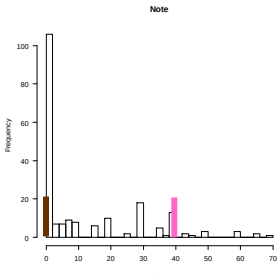
Lectoure, 07/06, Rouille brune, Nobilis x Fabulis



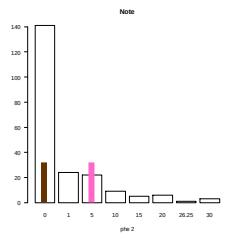
Lectoure 30/05, rép 1, Rouille brune, Nobilis x Fabulis



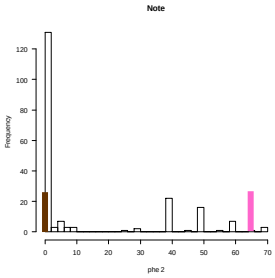
Lectoure 30/05, rép 2, Rouille brune, Nobilis x Fabulis



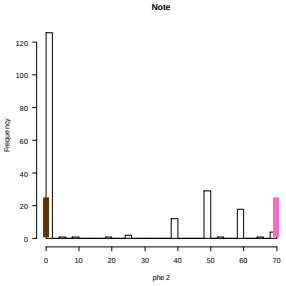
Grisolle, 06/06/2017 Pastadou x Miradoux, Rouille brune



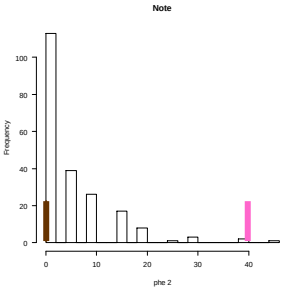
Grisolle, 29/05/2017 Pastadou x Miradoux, Rouille brune



Lectoure, 07/06/2017, Rep 1, Pastadou x Miradoux, Rouille

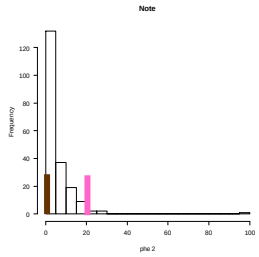


Lectoure, 07/06/2017, Rep 2, Pastadou x Miradoux, Rouille

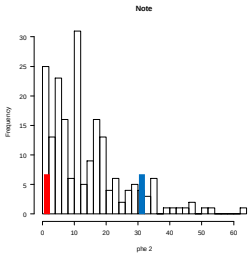


Lectoure, 30/05/2017, Rep 1, Pastadou x Miradoux, Rouille

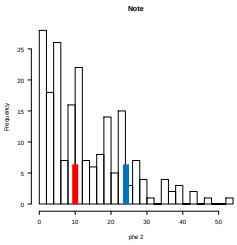
Annexe 4 (suite) : Distribution des phénotypes



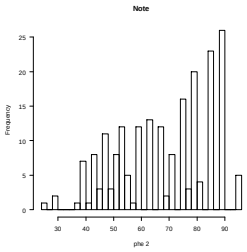
Lectoure, 30/05/2017, Rep 2, Pastadou x Miradoux, Rouille



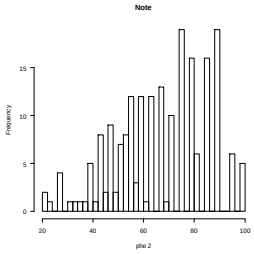
Villiers 16/06 rép 1, Septoriose, Nobilis x Fabulis



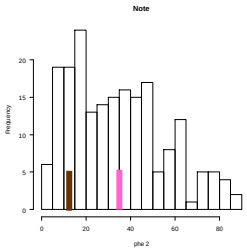
Villiers 16/06 rép 2, Septoriose, Nobilis x Fabulis



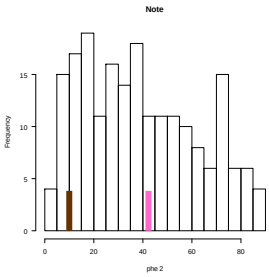
Montbartier 06/06/2017 rép 1, Septoriose, Nobilis x Fabulis



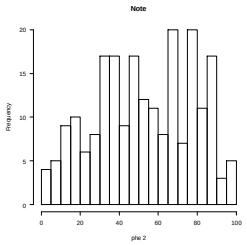
Montbartier 06/06/2017 rép 2, Septoriose, Nobilis x Fabulis



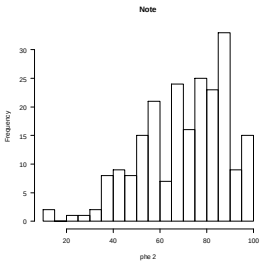
Villiers, 21/06, rép 1, Pastadou x Miradoux, septoriose



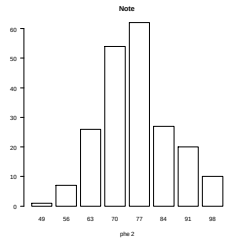
Villiers, 22/06, rép 2, Pastadou x Miradoux, septoriose, septoriose



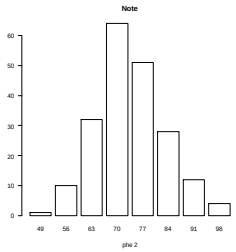
Montbartier, 06/06, rép 1, Pastadou x Miradoux, septoriose



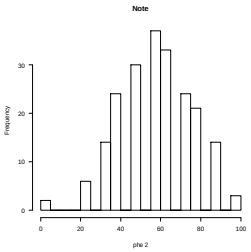
Montbartier, 06/06, rép 2, Pastadou x Miradoux, septoriose



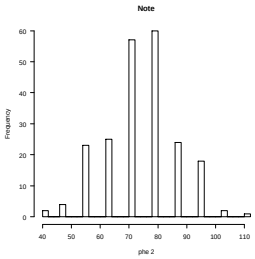
Montbartier, Nobilis x Fabulis, septoriose, notes sélectionneur, rep 1



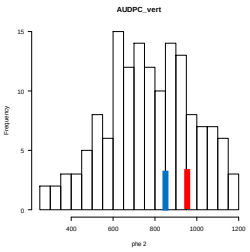
Montbartier, Nobilis x Fabulis, septoriose, notes sélectionneur, rep 2



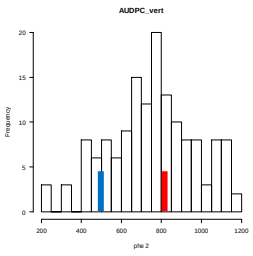
Montbartier, Pastadou x Miradoux, septoriose, notes sélectionneur, rep 1



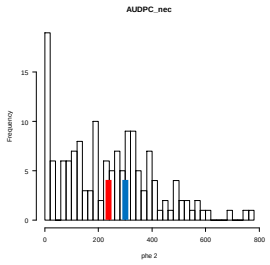
Montbartier, Pastadou x Miradoux, septoriose, notes sélectionneur, rep 2



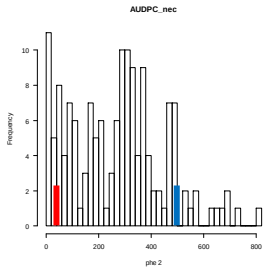
Notation septoriose conditions contrôlées, NF, LG1697, AUDPC vert rep1



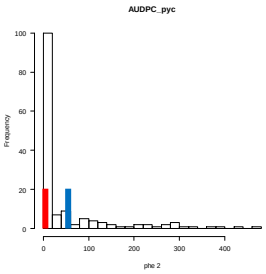
Notation septoriose conditions contrôlées, NF, LG1697, AUDPC vert rep2



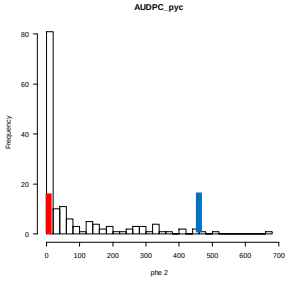
Notation septoriose conditions contrôlées, NF, LG1697, AUDPC nécrose rep1



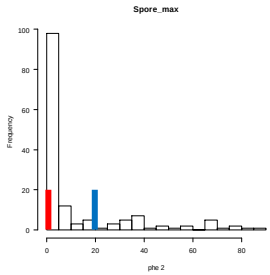
Notation septoriose conditions contrôlées, NF, LG1697, AUDPC nécrose rep2



Notation septoriose conditions contrôlées, NF, LG1697, AUDPC pycnides rep1

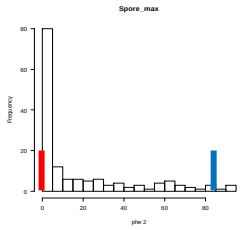


Notation septoriose conditions contrôlées, NF, LG1697, AUDPC pycnides rep2

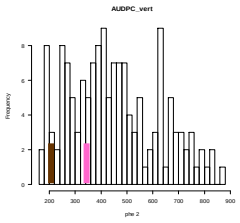


Notation septoriose conditions contrôlées, NF, LG1697, Spore_max, rep1

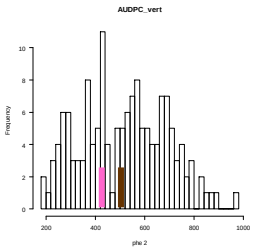
Annexe 4 (suite) : Distribution des phénotypes



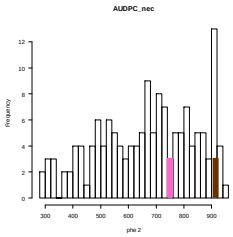
Notation septoriose conditions contrôlées, NF, LG1697, Spore_max, rep2



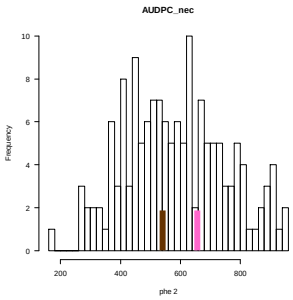
Notation septoriose conditions contrôlées, PM, LG1697, AUDPC_vert, rep1



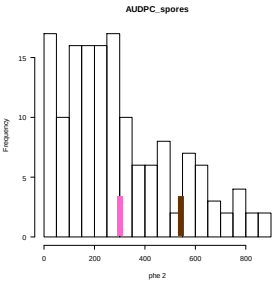
Notation septoriose conditions contrôlées, PM, LG1697, AUDPC_vert, rep2



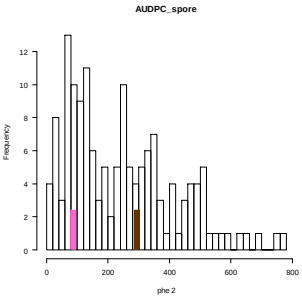
Notation septoriose conditions contrôlées, PM, LG1697, AUDPC_nécrose, rep1



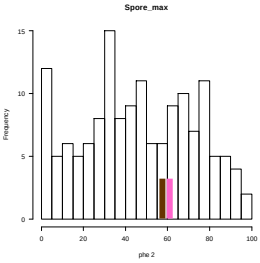
Notation septoriose conditions contrôlées, PM, LG1697, AUDPC_nécrose, rep2



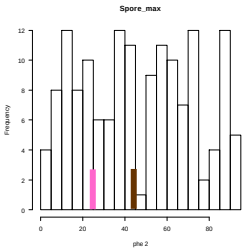
Notation septoriose conditions contrôlées, PM, LG1697, AUDPC_pycnides, rep1



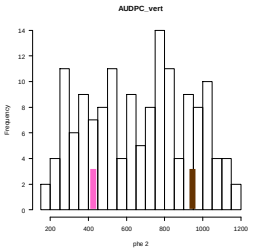
Notation septoriose conditions contrôlées, PM, LG1697, AUDPC_pycnides, rep2



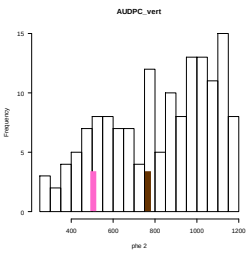
Notation septoriose conditions contrôlées, PM, LG1697, Spore_max, rep1



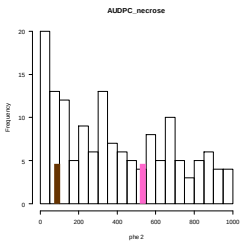
Notation septoriose conditions contrôlées, PM, LG1697, Spore_max, rep2



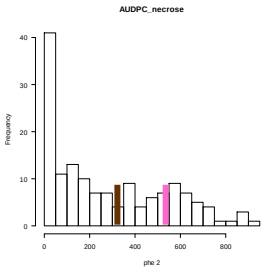
Notation septoriose conditions contrôlées, PM, IPO 92003, AUDPC_vert, rep1



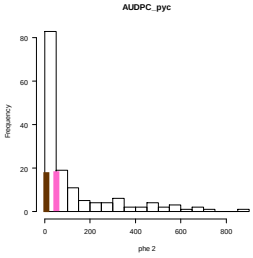
Notation septoriose conditions contrôlées, PM, IPO 92003, AUDPC_vert, rep2



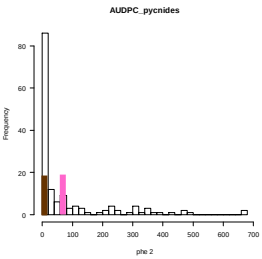
Notation septoriose conditions contrôlées, PM, IPO 92003, AUDPC_nécrose, rep1



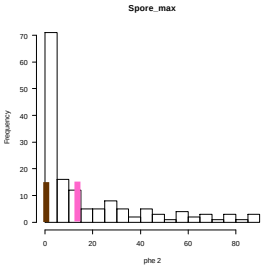
Notation septoriose conditions contrôlées, PM, IPO 92003, AUDPC_nécrose, rep2



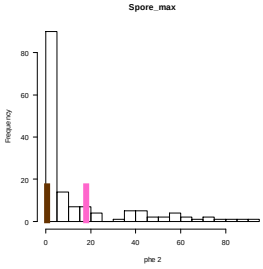
Notation septoriose conditions contrôlées, PM, IPO 92003, AUDPC_pycnides, rep1



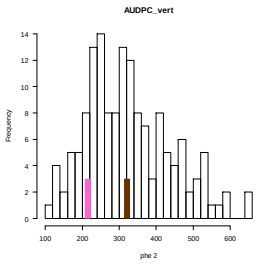
Notation septoriose conditions contrôlées, PM, IPO 92003, AUDPC_pycnides, rep2



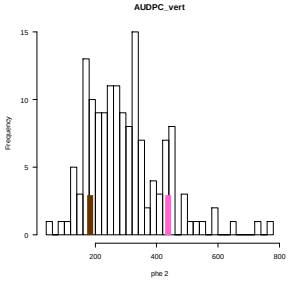
Notation septoriose conditions contrôlées, PM, IPO 92003, Spore max, rep1



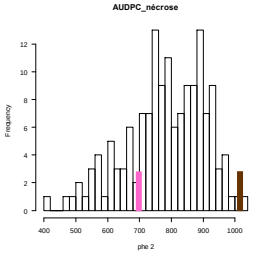
Notation septoriose conditions contrôlées, PM, IPO 92003, Spore max, rep2



Notation septoriose conditions contrôlées, PM, LG 1035, AUDPC_vert, rep1

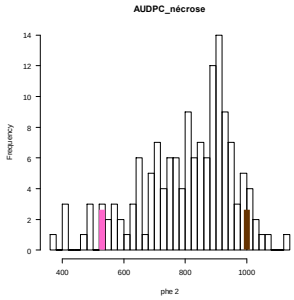


Notation septoriose conditions contrôlées, PM, LG 1035, AUDPC_vert, rep2

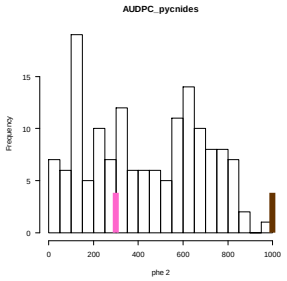


Notation septoriose conditions contrôlées, PM, LG 1035, AUDPC_nécrose, rep1

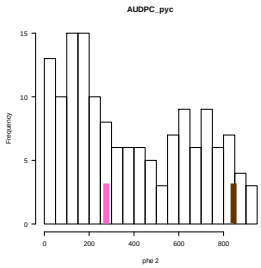
Annexe 4 (suite) : Distribution des phénotypes



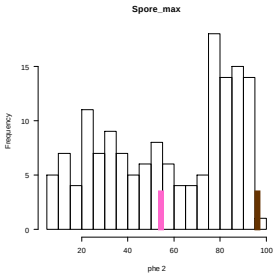
Notation septoriose conditions contrôlées, PM, LG 1035, AUDPC_nécrose, rep2



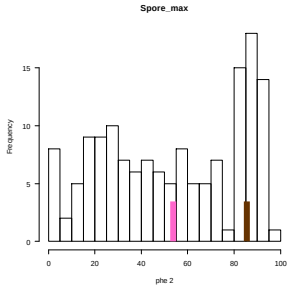
Notation septoriose conditions contrôlées, PM, LG 1035, AUDPC_pycnides, rep1



Notation septoriose conditions contrôlées, PM, LG 1035, AUDPC_pycnides, rep2



Notation septoriose conditions contrôlées, PM, LG 1035, Spores_max, rep1



Notation septoriose conditions contrôlées, PM, LG 1035, Spores_max, rep2

Dans chaque graphe, l'axe des ordonnées correspond à la fréquence des lignées recombinantes présentant une valeur de phénotype donnée. Les positions des parents sont représentées par des traits : en rouge Nobilis, en bleu Fabulis, en vert Nautilur, en violet Liberdur, en orange Gainsur, en gris Sy Carma, en noir Babylone, en marron Pastadou et en rose Miradoux

Annexe 5 : Tableau récapitulatif des analyses statistiques réalisées sur les données de phénotypage

Tests des effets génotypes, lieux, dates et leurs interactions sur les données phénotypiques prélevées en champ

Population (maladie)	Effet Geno	Effet Lieu	Effet Date	Effet Lieu:Geno	Effet Date:Geno	Normalité des résidus	Homoscedasticité des résidus	Indépendance des résidus
Babylone x Fabulis (Rouille Brune)	0,1423	6,277 e-05 ***	6,639 e-07 ***	0,1491	/	Non (1,465 e-6)	Non	Oui
Pastadou x Miradoux (septoriose)	0,6106	< 2e-16***	0,1154	0,2667	0,8734	Non (< 2,2 e-16)	Non	Non
Nobilis x Fabulis (Rouille brune)	<2,2e-16***	1,301e-10***	< 2,2e-16***	< 2,2e-16***	< 2,2e-16***	Non (< 2,2 e-16)	Oui	Oui
SY Carma x Gainsur (Rouille brune)	< 2,2e-16***	< 2,2e-16***	< 2,2e-16***	< 2,2e-16***	/	Non (7,135 e-12)	Non	Oui
Nautilur x Liberdur (Rouille brune)	0,2223	< 2e-16***	< 2e-16***	0,3015	/	Non (1,215e-5)	Non	Oui
Nobilis x Fabulis (septoriose)	0,003548**	< 2e-16***	<2,2e-16***	0,008697**	0,008697**	Non (1,284e-12)	Non	Oui
Pastadou x Miradoux (Rouille brune)	<2,2e-16***	1,084 e-07***	<2,2e-16***	<2,2e-16***	<2,2e-16***	Non (< 2,2 e-16)	Non	Non

Tests des effets génotypes et répétitions pour les expérimentations menées en champ et en conditions contrôlées

Expérimentations	Geno	Rep	Normalité des résidus	Homoscedasticité des résidus	Indépendance des résidus
Nobilis x Fabulis (Rouille brune, Lectoure,30/05)	<2e-16***	0,0504.	Non (<2,2e-16)	Oui	Oui
Pastadou x Miradoux (Septoriose, Montauban)	0,1594	3,47e-08***	Non (0,003668)	Non	Non
Pastadou x Miradoux (Septoriose, Villiers)	0,10127	0,09387 .	Non (0,03291)	Non	Oui
Nobilis x Fabulis (Septoriose, Montauban)	8,078e-05 ***	0,05633 .	Non (1,251e-15)	Non	Non
Nobilis x Fabulis (Septoriose, Villiers)	0,07472 .	0,6324	Non (3,507e-6)	Non	Oui
Pastadou x Miradoux (Rouille brune, Lectoure)	<2,2e-16***	0,02457*	Non (<2,2e-16)	Non	Non
Nobilis x Fabulis (INRA13-LG1697, AUDPC vert)	0,01763 *	0,78086	Non (0,007117)	Non	Oui
Nobilis x Fabulis (INRA13-LG1697, AUDPC nécrose)	0,0975 .	0,007628	Oui (0,5535)	Non	Oui
Nobilis x Fabulis (INRA13-LG1697, AUDPC pycnides)	0,0009746 ***	0,0079255 **	Non (7,763e-6)	Non	Oui
Nobilis x Fabulis (INRA13-LG1697, Spore_max)	8,255 e-15 ***	0,02603 *	Non (9,134e-9)	Non	Oui
Pastadou x Miradoux (INRA13-LG1697, AUDPC vert)	5,135 e-5 ***	0,000189 ***	Oui (0,6176)	Non	Non
Pastadou x Miradoux (INRA13-LG1697, AUDPC nécrose)	0,000623 ***	5,283 e-6 ***	Oui (0,9151)	Non	Non
Pastadou x Miradoux (INRA13-LG1697, AUDPC pycnides)	0,109	0,713	Oui (1,874)	Non	Oui

Annexe 5 (suite) : Tableau récapitulatif des analyses statistiques réalisées sur les données de phénotypage

Expérimentations	Geno	Rep	Normalité des résidus	Homoscedasticité des résidus	Indépendance des résidus
Pastadou x Miradoux (IPO-92003, Spore_max)	< 2 e-16 ***	0,01762 **	Non (4,829 e-15)	Non	Oui
Pastadou x Miradoux (INRA13-LG1035, AUDPC vert)	0,002852 **	0,036082 *	Oui (0,7825)	Oui	Non
Pastadou x Miradoux (INRA13-LG1035, AUDPC nécrose)	0,0001574 ***	0,1483351	Oui (0,8209)	Oui	Oui
Pastadou x Miradoux (INRA13-LG1035, AUDPC pycnides)	< 2,2 e-16 ***	0,006507 **	Non (1,785 e-5)	Oui	Non
Pastadou x Miradoux (INRA13-LG1035, Spore_max)	< 2 e-16 ***	0,03637 *	Non (0,02299)	Oui	Non

Annexe 6 : QTL identifiés en analyse de liaison
Rouille brune

Population	Lieu	Date	Rép	Chr	Marqueurs	Pos	LOD	%var	pValue	Effet allèle AA	Effet allèle HH
B(A) x F(H)	Grisolles	29/05/2017	/	1B	Confidentiel	31,75002	5,460974				
					Confidentiel	32,85002	7,117272	28,82	6,72E-08	3,950404	9,470413
					Confidentiel	34,49002	5,896469				
				2A	Confidentiel	2,840002	1,903209				
					Confidentiel	4,540003	3,077654	12,928	0,000587	7,627751	4,88047
					Confidentiel	9,020007	1,886312				
				Interaction 1B:2A				5,188	0,015655		
B(A) x F(H)	Grisolles	06/06/2017	/	1B	Confidentiel	31,75002	3,907634				
					Confidentiel	34	5,351632	20,212	2,61E-06	24,85739	39,70418
					Confidentiel	36,16002	3,296444				
				6B	Confidentiel	106,31	1,78529				
					Confidentiel	109,78	3,095691	11,092	0,000559	26,60052	38,25688
					Confidentiel	111,44	1,814498				
G(A) x C(H)	Castelnaudary	08/06/2017	/	2B	Confidentiel	1,600002	1,923513				
					Confidentiel	3,660005	2,943754	6,35875	0,00021463	51,75094	30,8216
					Confidentiel	6,440008	1,878113				
G(A) x C(H)	Castelnaudary	31/05/2017	/	2B	Confidentiel	0,680001	1,55067048				
					Confidentiel	3,660005	2,75534849	4,81059	0,00114608	22,16907	14,18267
					Confidentiel	20,20001	0,01612652				
G(A) x C(H)	Grisolles	06/06/2017	/	7B	Confidentiel	37,56002	0,2739206				
					Confidentiel	57,26002	11,8599284	14,5889	1,40E-08	21,39974	7,19184
					Confidentiel	57,49002	11,7587959				
G(A) x C(H)	Grisolles	29/05/2017	/	7B	Confidentiel	37,56002	0,00695002				
					Confidentiel	57,26002	6,30787701	15,975	3,27E-07	3,6626745	0,8494599
					Confidentiel	57,49002	6,23345535				
N(A) x L(H)	Grisolles	06/06/2017	/	1B	Confidentiel	0	1,52798447				
					Confidentiel	4,690003	2,47792827	11,3435	0,00366	23,03298	13,04261
					Confidentiel	11,99001	0,00130922				
N(A) x L(H)	Grisolles	29/05/2017	/	3B	Confidentiel	36,21001	0,04985017				
					Confidentiel	44,17001	3,20936372	16,493	0,00015334	5,062408	1,608547
					Confidentiel	47,06001	1,89500566				
N(A) x L(H)	Lectoure	07/06/2017	/	1B	Confidentiel	161,39	0,5636161				
					Confidentiel	164,27	2,2005595	10,4684	0,00341649	51,54935	68,84044
					Confidentiel	164,8401	2,1652871				
N(A) x L(H)	Lectoure	30/05/2017	/	1B	Confidentiel	125,15	0,1621059				
					Confidentiel	128	4,0338308	13,096	0,000815	28,12994	18,25775
					Confidentiel	138,24	0,3670431				
				3B	Confidentiel	36,21001	0,04376925				
					Confidentiel	44	3,76486318	14,368	0,000434	26,13606	16,40077
					Confidentiel	47,63002	3,05816588				
N(A) x F(H)	Castelnaudary	08/06/2017	/	4A	Confidentiel	3,330003	0,03746577				
					Confidentiel	12,25001	2,57282145	5,8814	0,00331	16,75414	36,51838
					Confidentiel	14,32001	1,22701193				

Population	Lieu	Date	Rép	Chr	Marqueurs	Pos	LOD	%var	pValue	Effet allèle AA	Effet allèle HH
N(A) x F(H)	Castelnaudary	31/05/2017	/	4A	Confidentiel	3,330003	0,08428136				
					Confidentiel	12,25001	2,16593923	6,24822	0,00244	10,38196	19,78158
					Confidentiel	15,85001	0,97437632				
N(A) x F(H)	Lectoure	30/05/2017	1	7B	Confidentiel	108,81	0,85164966				
					Confidentiel	113,75	2,33331366	5,08246	0,00112171	8,666025	15,292092
					Confidentiel	120,44	0,0097489				
N(A) x F(H)	Lectoure	30/05/2017	2	7B	Confidentiel	108,81	0,7503238				
					Confidentiel	112,49	2,4766116	5,41159	0,00073238	8,383109	15,452001
					Confidentiel	120,44	0,0191234				
M(A) x P(H)	Grisolles	06/06/2017	/	7B	Confidentiel	154,6901	0,01240804				
					Confidentiel	164	4,2815819	8,82672	5,66E-05	16,835725	6,738197
					Confidentiel	167,3001	3,68272835				
M(A) x P(H)	Grisolles	29/05/2017	/	2A	Confidentiel	74,23001	0,06319516				
					Confidentiel	130,78	2,91761427	10,22	7,71E-06	1,063706	3,946966
					Confidentiel	139,95	0,06198787				
M(A) x P(H)	Lectoure	07/06/2017	1	7B	Confidentiel	163,2401	11,69827				
					Confidentiel	166,8201	13,27774	24,9719	4,29E-14	23,451092	1,8162218
					Confidentiel	167,3001	12,92363				
M(A) x P(H)	Lectoure	07/06/2017	2	7B	Confidentiel	163,2401	14,98134				
					Confidentiel	166,8201	16,91585	32,7969	0	31,475053	2,591081
					Confidentiel	167,3001	16,69309				
M(A) x P(H)	Lectoure	30/05/2017	1	7B	Confidentiel	163,2401	10,31463				
					Confidentiel	166,8201	12,17843	23,4377	9,74E-14	8,897354	1,191142
					Confidentiel	167,3001	11,84613				
M(A) x P(H)	Lectoure	30/05/2017	2	7B	Confidentiel	154,6901	0,267566				
					Confidentiel	166,0901	8,091116	17,4118	6,50E-10	9,565554	1,529667
					Confidentiel	167,3001	7,724551				

Septoriose Champ

Population	Lieu	Date	Rép	Chr	Marqueurs	Pos	LOD	%var	pValue	Effet allèle AA	Effet allèle HH
N(A) x F(H)	Villiers	16/06/2017	1	7A	Confidentiel	124,91	1,20549613				
					Confidentiel	126,69	2,22722208	7,554	0,000303	11,98834	17,3509
					Confidentiel	137,61	0,07053437				
N(A) x F(H)	Villiers	16/06/2017	2	7A	Confidentiel	57,51002	1,344236				
					Confidentiel	60	2,436096				
					Confidentiel	60,00002	2,436096	5,7692	0,0022	11,25813	16,03
					Confidentiel	61,87002	1,260523				
N(A) x F(H)	Montbartier	06/06/2017	2	7B	Confidentiel	32,81001	0,04553964				
					Confidentiel	40	4,55933801	9,7805	5,26E-06	61,11583	73,28417
					Confidentiel	45,46001	2,73926594				

Population	Lieu	Date	Rép	Chr	Marqueurs	Pos	LOD	%var	pValue	Effet allèle AA	Effet allèle HH
M(A) x P(H)	Villiers	21/06/2017	1	4A	Confidentiel	46,88001	0,266994				
					Confidentiel	52	3,4222926	8,689	0,000414	40,83069	29,11036
					Confidentiel	63,90001	0,3627906				
				6A	Confidentiel	0	3,8020777				
					Confidentiel	0	3,8020777	9,589	0,000166	28,77677	40,641
					Confidentiel	34,18001	0,1101841				
				6B	Confidentiel	61,79003	0,07967474				
					Confidentiel	72	2,89506626	8,09	0,000761	39,99614	29,70007
					Confidentiel	80,94004	0,00449231				
				Interaction 4A:6A				2,043	0,083309		
				Interaction 4A:6B				2,013	0,086299		
				Interaction 6A:6B				2,148	0,073449		
				Interaction 4A:6A:6B				1,959	0,029179		
M(A) x P(H)	Villiers	22/06/2017	2	4B	Confidentiel	84,33	0,34704359				
					Confidentiel	91,97	3,40294629	7,1778	0,000158	33,73778	46,07526
					Confidentiel	97,8	0,07322321				
				6B	Confidentiel	61,79	0,40113007				
					Confidentiel	70,23	7,407365	19,647	1,65E-08	49,19741	30,84598
					Confidentiel	80,94	0,07102279				
M(A) x P(H)	Montbartier	06/06/2017	2	3A	Confidentiel	59,66	5,131994				
					Confidentiel	62,84	6,522717	11,487	7,26E-06	65,29865	78,42808
					Confidentiel	65,01	4,994384				
				6A	Confidentiel	0	3,028108				
					Confidentiel	0,47	3,121115	5,9242	0,0037	67,50037	76,91983
					Confidentiel	34,18	1,242882				
				6B	Confidentiel	61,79	0,22185281				
					Confidentiel	69,77	2,43968878	4,7905	0,0131	76,61145	68,25646
					Confidentiel	80,94	0,01046425				
N(A) x F(H)	Montbartier	Notes sélectionneur	2	7B	Confidentiel	45,46001	0,04384539				
					Confidentiel	51,32001	2,32026497	5,6899	0,002061	71,64374	76,01764
					Confidentiel	60,34002	0,06139978				
M(A) x P(H)	Montbartier	Notes sélectionneur	1	6A	Confidentiel	34,18001	1,23115404				
					Confidentiel	38	2,304005	4,9732	0,00120482	54,2137	62,82383
					Confidentiel	47,96001	0,07983332				
M(A) x P(H)	Montbartier	Notes sélectionneur	2	6A	Confidentiel	0	3,1186901				
					Confidentiel	0,470001	3,284172	6,506	0,000535	72,0863	78,21825
					Confidentiel	34,18001	0,2149524				
				3A	Confidentiel	0	2,839174				
					Confidentiel	0,450001	2,900615	5,7672	0,001226	72,14138	77,94016
					Confidentiel	3,340005	1,496228				

Septoriose conditions contrôlées

Population	Isolat	Caractère	Rép	Chr	Marqueurs	Pos	LOD	%var	pValue	Effet allèle AA	Effet allèle HH
N(A) x F(H)	INRA13-LG1697	AUDPC_vert	1	1B	Confidentiel	71,45003	0,0195731				
					Confidentiel	81,28003	3,7211968	10,7961	4,04E-05	843,1067	701,3378
					Confidentiel	84,50003	2,2967284				

Population	Isolat	Caractère	Rép	Chr	Marqueurs	Pos	LOD	%var	pValue	Effet allèle AA	Effet allèle HH
N(A) x F(H)	INRA13-LG1697	AUDPC_vert	2	6A	Confidentiel	0	3,835751				
					Confidentiel	0	3,835751	9,397	0,000145	822,8149	682,2882
					Confidentiel	2,020005	2,631463				
				6B	Confidentiel	0	3,365475				
					Confidentiel	0	3,365475	8,284	0,000391	709,0924	852,5624
					Confidentiel	4,060001	1,98812				
N(A) x F(H)	INRA13-LG1697	AUDPC_nécrose	1	1B	Confidentiel	51,67002	0,3679398				
					Confidentiel	58	3,8832253	11,2387	2,75E-05	169,6917	299,0043
					Confidentiel	67,19002	0,0490083				
N(A) x F(H)	INRA13-LG1697	AUDPC_nécrose	2	2B	Confidentiel	8,680012	2,288991				
					Confidentiel	11,11001	4,302142	12,414	9,73E-05	324,2057	206,4057
					Confidentiel	11,11001	4,302142				
				7B	Confidentiel	23,34001	0,0445651				
					Confidentiel	30,99001	4,4074424	15,176	1,07E-05	212,9181	334,686
					Confidentiel	39,27001	0,0548251				
N(A) x F(H)	INRA13-LG1697	AUDPC_pyc	1	7B	Confidentiel	17,89001	0,104848				
					Confidentiel	23,34001	4,9692967	17,51	2,78E-07	18,58176	83,30887
					Confidentiel	30,99001	0,0505744				
				2B	Confidentiel	6,570011	1,674712				
					Confidentiel	10	3,178314	13,149	9,02E-06	76,6285	24,9813
					Confidentiel	11,11001	3,156148				
				Interaction 7B:2B				5,237	0,00188		
N(A) x F(H)	INRA13-LG1697	AUDPC_pyc	2	2B	Confidentiel	8,680012	3,291372				
					Confidentiel	11,11001	4,527273	17,917	9,28E-09	120,71486	36,92036
					Confidentiel	11,11001	4,527273				
				7B	Confidentiel	30,99001	6,7958021				
					Confidentiel	32,81001	8,1652504	28,162	1,41E-12	27,52665	146,96966
					Confidentiel	39,27001	0,1161605				
				Interaction 7B:2B				3,904	2,97E-05		

Population	Isolat	Caractère	Rép	Chr	Marqueurs	Pos	LOD	%var	pValue	Effet allèle AA	Effet allèle HH
N(A) x F(H)	INRA13-LG1697	Spore_max	1	7B	Confidentiel	6,57	1,613394				
					Confidentiel	11,11	3,337967	17,98	1,64E-06	5,338879	20,806389
					Confidentiel	11,11	3,337967				
				2B	Confidentiel	23,34	1,429034				
					Confidentiel	34	4,4650852	14,62	1,22E-07	18,410029	5,537455
					Confidentiel	39,27	0,3775605				
				Interaction 7B:2B				12,66	0,000504		
N(A) x F(H)	INRA13-LG1697	Spore_max	2	2B	Confidentiel	6,570011	2,327251				
					Confidentiel	11,11001	4,901302	19,988	2,58E-10	26,368238	8,466588
					Confidentiel	11,11001	4,901302				
				7B	Confidentiel	30,99001	8,6875077				
					Confidentiel	32,81001	9,9385346	32,685	3,55E-15	6,347602	31,98782
					Confidentiel	39,27001	0,0148173				
				Interaction 7B:2B				4,847	3,27E-06		
M(A) x P(H)	INRA13-LG1697	AUDPC_vert	1	2B	Confidentiel	102,19	0,2650753				
					Confidentiel	109	3,2085991	9,982	0,00019	500,4233	405,297
					Confidentiel	109	3,2085991				
				3A	Confidentiel	0	3,918269				
					Confidentiel	3,340005	4,252366	12,45	2,64E-05	359,2322	504,9725
					Confidentiel	7,580007	2,72391				
M(A) x P(H)	INRA13-LG1697	AUDPC_vert	2	3A	Confidentiel	0	4,73236				
					Confidentiel	0,910002	5,323816	16,9239	5,61E-07	44,6681	580,4536
					Confidentiel	2,870003	3,822074				
				2B	Confidentiel	99,85003	1,551944				
					Confidentiel	102,19	2,685512	6,834	0,00145	556,1687	474,7278
					Confidentiel	107,34	1,49355				
M(A) x P(H)	INRA13-LG1697	AUDPC_nécrose	1	2B	Confidentiel	102,19	0,1024555				
					Confidentiel	109	2,4558872	7,26262	0,00085329	618,1158	714,4893
					Confidentiel	109	2,4558872				

Population	Isolat	Caractère	Rép	Chr	Marqueurs	Pos	LOD	%var	pValue	Effet allèle AA	Effet allèle HH
M(A) x P(H)	INRA13-LG1697	AUDPC_nécrose	2	2B	Confidentiel	99,85003	1,4733827				
					Confidentiel	102,19	2,5059199	8,964	0,000571	540,1252	634,1582
					Confidentiel	107,34	0,0451503				
				3A	Confidentiel	0	2,978544				
					Confidentiel	0,910002	3,505136	9,3823	0,00041	636,5779	540,7131
					Confidentiel	4,050006	2,230672				
M(A) x P(H)	INRA13-LG1697	AUDPC_pyc	1	3A	Confidentiel	0	6,592739				
					Confidentiel	0,910002	7,720305	21,1026	3,36E-09	194,2934	395,7122
					Confidentiel	4,050006	6,598955				
M(A) x P(H)	INRA13-LG1697	AUDPC_pyc	2	3A	Confidentiel	0,910002	9,98825				
					Confidentiel	3,100004	12,22943	28,3378	7,16E-13	141,5449	344,898
					Confidentiel	3,340005	11,21399				
				4B	Confidentiel	72,15003	0,016361				
					Confidentiel	84,33003	3,2607016	6,2626	0,000772	190,4844	307,3083
					Confidentiel	90,34003	0,1746101				
M(A) x P(H)	INRA13-LG1697	Spore_max	1	3A	Confidentiel	0,450001	12,23331				
					Confidentiel	3,100004	13,4339	32,8488	1,44E-14	30,86592	63,18686
					Confidentiel	4,050006	11,51681				
				6B	Confidentiel	45,46001	2,050273				
					Confidentiel	60	3,280895	6,2021	0,000761	54,51879	39,73086
					Confidentiel	68,19003	1,406498				
M(A) x P(H)	INRA13-LG1697	Spore_max	2	3A	Confidentiel	0,91	14,50249				
					Confidentiel	3,1	16,62032	39,9662	0	29,91358	63,65129
					Confidentiel	3,34	15,18383				
M(A) x P(H)	IPO-92003	AUDPC_vert	1	6A	Confidentiel	0	11,497828				
					Confidentiel	4	11,890328	29,2042	7,85E-13	497,3918	803,0732
					Confidentiel	34,18	0,1783562				
M(A) x P(H)	IPO-92003	AUDPC_vert	2	6A	Confidentiel	0	14,256449				
					Confidentiel	4	14,929249	38,865	<2e-16	642,2032	956,7399
					Confidentiel	34,18001	0,2647334				

Population	Isolat	Caractère	Rép	Chr	Marqueurs	Pos	LOD	%var	pValue	Effet allèle AA	Effet allèle HH
M(A) x P(H)	IPO-92003	AUDPC_nécrose	1	6A	Confidentiel	0	15,625118				
					Confidentiel	1,400004	16,137707	39,0701	0	608,3808	236,7201
					Confidentiel	34,18001	0,1050116				
M(A) x P(H)	IPO-92003	AUDPC_nécrose	2	6A	Confidentiel	1,4	16,411149				
					Confidentiel	4	18,014568	42,4817	0	473,7748	142,0161
					Confidentiel	34,18	0,3488825				
M(A) x P(H)	IPO-92003	AUDPC_pyc	1	3A	Confidentiel	0	3,7144786				
					Confidentiel	0	3,7144786	13,256	3,00E-06	63,7273	178,897
					Confidentiel	7,580007	0,0392945				
				6A	Confidentiel	0	5,821405				
					Confidentiel	1,400004	6,211483	20,555	6,36E-09	212,5999	58,17312
					Confidentiel	34,18001	1,03594				
				Interaction 3A:6A				4,656	0,00215		
M(A) x P(H)	IPO-92003	AUDPC_pyc	2	3A	Confidentiel	0	5,7238666				
					Confidentiel	3,100004	6,2293517	23,01	1,82E-12	27,54602	128,64511
					Confidentiel	32,93001	0,5228432				
				6A	Confidentiel	0	10,077919				
					Confidentiel	1,400004	10,375935	35,33	< 2e-16	161,48059	18,66056
					Confidentiel	34,18001	0,2456694				
				Interaction 3A:6A				11,18	8,64E-08		
M(A) x P(H)	IPO-92003	Spore_max	1	3A	Confidentiel	0	4,6386113				
					Confidentiel	0	4,6386113	17,71	1,30E-07	9,189312	25,950238
					Confidentiel	7,580007	0,0473926				
				6A	Confidentiel	0	7,7710158				
					Confidentiel	1,400004	8,0905463	23,937	7,55E-11	30,590257	8,430375
					Confidentiel	34,18001	0,8723364				
				Interaction 3A:6A				4,643	0,00137		
M(A) x P(H)	IPO-92003	Spore_max	2	3A	Confidentiel	0	6,0266401				
					Confidentiel	3,100004	6,6432046	24,1	8,14E-14	5,506892	22,251494
					Confidentiel	32,93001	0,3483011				
				6A	Confidentiel	0	11,806835				
					Confidentiel	1,400004	12,148467	38,95	< 2e-16	28,104928	3,665276
					Confidentiel	34,18001	0,2510123				
				Interaction 3A:6A				11,59	1,55E-08		

Population	Isolat	Caractère	Rép	Chr	Marqueurs	Pos	LOD	%var	pValue	Effet allèle AA	Effet allèle HH
M(A) x P(H)	INRA2013-LG1035	AUDPC_pyc	1	3A	Confidentiel	0,910002	20,10273				
					Confidentiel	3,100004	24,17415	52,3922	0	246,7055	622,4918
					Confidentiel	4,050006	21,58856				
M(A) x P(H)	INRA2013-LG1035	Spore_max	1	3A	Confidentiel	0,910002	21,36757				
					Confidentiel	2	25,39219	54,1396	0	37,26477	78,65071
					Confidentiel	3,340005	24,04994				
M(A) x P(H)	INRA2013-LG1035	AUDPC_nécrose	2	3A	Confidentiel	0	3,297284				
					Confidentiel	4,050006	3,5756616	10,5294	5,73E-05	750,9545	852,2274
					Confidentiel	32,93001	0,0260604				
M(A) x P(H)	INRA2013-LG1035	AUDPC_pyc	2	3A	Confidentiel	0,91	21,15				
					Confidentiel	3,1	25,03426	54,112	0	183,2927	592,091
					Confidentiel	7,58	19,40104				
M(A) x P(H)	INRA2013-LG1035	Spore_max	2	3A	Confidentiel	0,91	19,48233				
					Confidentiel	3,1	22,88008	50,9307	0	33,13524	75,12747
					Confidentiel	3,34	21,28998				

	Diplôme : Master Biologie, Agrosciences Spécialité : Amélioration, Production et Valorisation du Végétal Spécialisation : Génétique, Génomique et Améliorations des plantes Responsable de parcours : Jubault M.

Auteur(s) : David MILLIOT-STOCLIN Date de naissance : 20/09/1991	Organisme d'accueil : UMR BIOGER – INRA AGROPARISTECH Adresse : 1 avenue Lucien Bretignières 78850 Thiverval Grignon Maîtres de stage : Goyeau H et Marcel T
Nb pages : 25 Annexe(s) : 6	
Année de soutenance : 2018	

Titre français : Recherche de résistances quantitatives à deux maladies foliaires chez le blé dur : la septoriose et la rouille brune

Titre anglais : Research of quantitative resistance to two leaf diseases in durum wheat: septoria tritici blotch and leaf rust

Résumé (1600 caractères maximum) :

Le blé dur, *Triticum turgidum ssp. durum,* représente une filière importante et dynamique à l'échelle mondiale. Deux des maladies foliaires impactant cette culture sont la rouille brune causée par *Puccinia triticina* et la septoriose causée par *Zymoseptoria tritici.* La gestion de ces deux maladies repose principalement sur le recours à des traitements fongicides. Toutefois, l'application de ce type de produit est devenue de plus en plus réglementée par les pouvoirs publics. L'utilisation de variétés durablement résistantes continue ainsi à être un enjeu important pour la lutte contre ces deux maladies. L'objectif du travail présenté dans ce rapport est l'identification et la cartographie génétique des QTL de résistance à ces deux maladies dans cinq populations biparentales de blé dur possédant des niveaux de résistances différents. Un génotypage sur puce SNP et un phénotypage de chacune des populations ont été réalisés ce qui a permis une détection de QTL par analyse de liaison. Ainsi cinq QTL pour la rouille brune et huit QTL pour la septoriose ont été mis en évidence et cartographiés sur une carte génétique consensus réalisée à partir des cartes génétiques individuelles de chaque population. Les résistances aux deux maladies sont globalement localisées dans des régions différentes de la carte consensus ; il n'y a donc peu ou pas de co-localisation entre les QTL de résistance à la rouille brune et à la septoriose.

Abstract (1600 caractères maximum) :

Durum wheat, *Triticum turgidum* ssp. *durum* represents an important and dynamic sector in the world. Two leaf diseases impacting this crop are leaf rust caused by *Puccinia triticina* and septoria tritici blotch caused by *Zymoseptoria tritici*. The management of these two diseases is mainly based on fungicide treatments. However, the use of this type of product has become increasingly regulated by the public authorities. That's why durable resistant varieties continue to be an important issue in the fight against these two diseases. The objective of the work presented in this report is the identification and genetic mapping of QTL resistance to these two diseases in five two-parent durum wheat populations characterized with different levels of resistance. A genotyping on SNP array and phenotyping of each population were performed which allowed QTL detection by linkage analysis. Five QTLs for leaf rust and eight QTL for septoria tritici blotch were highlighted and mapped on a consensus genetic map realized with individual genetic maps of each population. Resistance to both diseases are globally localized in different regions of the consensus map ; there is few or no co-location between the QTL resistance to leaf rust and septoria tritici blotch.

Mots-clés : blé dur, septoriose, rouille brune, analyse de liaison, résistances durables, cartographie génétique, QTL

Key Words : Durum wheat, septoria tritici blotch, leaf rust, linkage analysis, durable resistance, genetic mapping, QTL