



UFR Sciences  
2, Bd Lavoisier  
49045 ANGERS Cedex 01

AGROCAMPUS OUEST  
65 rue de St Briec, CS 84 215, BP  
35042 - RENNES Cedex  
Université de Rennes I  
1, 2 rue du Thabor, CS 46510 - 35065  
RENNES Cedex

SECOBRA Recherches  
Centre de Bois-Henry  
78580 MAULE

Mémoire de Fin d'Études

**CONFIDENTIEL 3 années**

**Master 2 Sciences Technologie Santé  
Mention Biologie et Technologie du Végétal**

**Spécialité : Production et Technologie du Végétal (ProTeV)**

Parcours : I Productions Végétales Spécialisées / Option : Semences et Plants

Année universitaire 2013-2014

## **Analyse de la variabilité génétique du blé pour la résistance à la fusariose de l'épi**

Par : Caroline ROQUES



Soutenu à Angers le : 15 septembre 2014

Maître de stage :

Pascal GIRAUDEAU  
*Responsable Recherche*  
*Sélectionneur Blé*  
pascal.giraudeau@secobra.com

Enseignant référent : Jérémy CLOTAULT

Autres membres du jury : Pierre-Yves COMMUNAL  
Béatrice TEULAT-MERAH





UFR Sciences  
2, Bd Lavoisier  
49045 ANGERS Cedex 01

AGROCAMPUS OUEST  
65 rue de St Briec, CS 84 215, BP  
35042 - RENNES Cedex  
Université de Rennes I  
1, 2 rue du Thabor, CS 46510 - 35065  
RENNES Cedex

SECOBRA Recherches  
Centre de Bois-Henry  
78580 MAULE

Mémoire de Fin d'Études

**CONFIDENTIEL 3 années**

**Master 2 Sciences Technologie Santé  
Mention Biologie et Technologie du Végétal**

**Spécialité : Production et Technologie du Végétal (ProTeV)**

Parcours : I Productions Végétales Spécialisées / Option : Semences et Plants

Année universitaire 2013-2014

## **Analyse de la variabilité génétique du blé pour la résistance à la fusariose de l'épi**

Par : Caroline ROQUES



Soutenu à Angers le : 15 septembre 2014

Maître de stage :

Pascal GIRAUDEAU  
*Responsable Recherche*  
*Sélectionneur Blé*  
pascal.giraudeau@secobra.com

Enseignant référent : Jérémy CLOTAULT

Autres membres du jury : Pierre-Yves COMMUNAL  
Béatrice TEULAT-MERAH





## AUTORISATION DE DIFFUSION EN LIGNE

Authorization for online diffusion

### I ÉTUDIANT(E) STUDENT

N° étudiant : 20123780  
Student number

Email : roquescaroline@hotmail.com  
email address

Je soussigné(e) ROQUES Caroline certifie être l'auteur du document  
I, the undersigned certify that I am the author of the document

intitulé Analyse de la variabilité génétique du blé pour la résistance à la fusariose de l'épi  
entitled

préparé sous la direction de Pascal GIRAudeau  
prepared under the supervision of

et soutenu le 15 09 2014  
and defended the

Je certifie la conformité de la version électronique déposée avec l'exemplaire imprimé remis au jury, certifie que les documents non libres de droits figurant dans mon mémoire seront signalés par mes soins et pourront être retirés de la version qui sera diffusée en ligne par le Service Commun de la Documentation de l'Université d'Angers. Agissant en l'absence de toute contrainte, et sachant que je dispose à tout moment d'un droit de retrait de mes travaux, j'autorise, sans limitation de temps, l'Université d'Angers à les diffuser sur internet dans les conditions suivantes :

*I certify that the digital copy of my thesis deposited with the University is the same as the print version submitted for examination. I certify that I will point out third party copyright material in my thesis and that it may be removed from the online copy diffused by the University of Angers. Acting in the absence of any constraint, and knowing that I have a permanent right of withdrawal, I allow the University of Angers to give online access to my work for an unlimited period, subject to the following conditions :*

☐ diffusion immédiate du document en texte intégral  
immediate diffusion of the full document

☐ diffusion différée du document en texte intégral ; date de mise en ligne :     
delayed diffusion of the full document

☒ n'autorise pas sa diffusion dans le cadre du protocole de l'Université d'Angers  
do not allow the diffusion under the University of Angers' protocol

À Angers, le 15 09 2014

Signature :



## I MAÎTRE DE STAGE INTERNSHIP SUPERVISOR

☐ autorise la diffusion dans le cadre du protocole de l'Université d'Angers allow the diffusion under the University of Angers' protocol

Nom et signature du maître de stage :

Name and signature of the supervisor :

Pascal GIRAUDEAU

## I JURY DE SOUTENANCE COMMITTEE

☐ autorise la diffusion immédiate du document en texte intégral  
allow the immediate diffusion of the full document

*OU (OR)*

☐ autorise la diffusion différée du document en texte intégral ; à compter du :     
allow the delayed diffusion of the full document ; from the :

☐ en libre-accès  
in open access

*OU (OR)*

☐ en accès restreint  
in restricted access

☐ sous réserve de corrections  
subject to corrections

*OU (OR)*

☐ n'autorise pas sa diffusion dans le cadre du protocole de l'Université d'Angers  
do not allow the diffusion under the University of Angers' protocol

À Angers, le

Signature :



**ENGAGEMENT DE NON PLAGIAT  
M2 ProTeV  
2013-2014**

Je, soussigné (e) ROQUES CAROLINE

Déclare être pleinement conscient(e) que le plagiat de documents ou d'une partie d'un document publiés sur toutes formes de support, y compris l'internet, constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée.

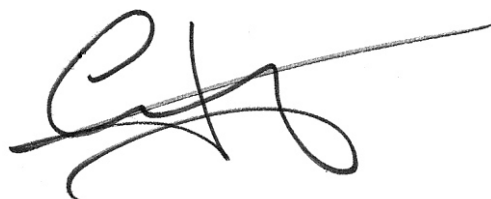
En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées pour ce rapport, rédigé au cours de mon master 2 Production et Technologie du Végétal (ProTeV).

Je m'engage également à respecter les consignes données pour la rédaction de ce rapport.

À : Maule

Le : 27 août 2014

Signature :





## Remerciements

Tout d'abord, je tiens à remercier Mr Pascal GIRAUDEAU pour m'avoir accordé toute sa confiance ; pour le temps qu'il m'a consacré durant le stage, pour les échanges constructifs sur la sélection du blé, sans oublier sa participation au cheminement de ce rapport.

Je souhaite également remercier les personnes de l'équipe « blé », pour leur bonne humeur, leur enthousiasme et leur expérience enrichissante.

Je remercie, Monsieur Jacques Bordes, Chercheur à l'INRA de Clermont Ferrand au sein de l'UMR 1095 Génétique, Diversité et Ecophysiologie des Céréales, pour son expertise en génétique d'association, ses conseils et astuces, ainsi que son aide sur les problèmes que j'ai pu rencontrer.

L'équipe pédagogique de l'Université d'Angers et d'Agrocampus-Ouest, pour avoir assuré la partie théorique de la formation.

Mr Jérémy Clotault, tuteur enseignant de ce stage, pour avoir suivi les étapes de cette étude avec bienveillance.

Bien entendu, je remercie mes proches, qui m'ont soutenu et encouragé dans l'accomplissement de mon projet d'étude.

Évidemment, je remercie mon partenaire sans qui toute cette aventure n'aurait pas eu la même saveur.





# Table des matières

---

<b>I. Introduction.....</b>	<b>1</b>
1. Les perspectives agricoles .....	1
2. Contexte de l'étude.....	1
3. Étude bibliographique .....	2
3.1 La fusariose de l'épi de blé .....	3
3.2 Les mycotoxines produites par <i>F.graminearum</i> .....	4
3.3 Les études de cartographie QTL sur la résistance à la fusariose .....	5
3.4 Les études de génétique d'association pour le caractère FHB.....	7
4. Problématique de l'étude.....	8
<b>II. Matériels et méthodes.....</b>	<b>10</b>
1. Production d'inoculum de la souche <i>F. graminearum</i> .....	10
1.1 Description de la souche <i>Fusarium</i> T10008.....	10
1.2 Protocole de multiplication .....	10
2. Essai expérimental.....	12
2.1 Matériel végétal (220 variétés) .....	12
2.2 Dispositif Expérimental .....	12
2.3 Itinéraire technique .....	12
3. Inoculation Parcelaire.....	13
4. Notations .....	13
4.1 Épiaison/Floraison .....	13
4.2 Symptômes et méthodologie de notation de la maladie FHB.....	14
5. Analyses statistiques des données phénotypiques.....	14
6. Démarche de la génétique d'association (GWAS).....	15
6.1 Principe général et Concepts de base.....	15
6.2 Données de Génotypages .....	15
6.3 Déséquilibre de liaison.....	15
6.4 Structuration de la population d'étude .....	16
6.5 Modèles statistiques d'association .....	17
<b>III. Résultats.....</b>	<b>18</b>
1. Analyse des données de phénotypages : .....	18
1.1 Vérification de l'effet terrain : .....	18
1.2 Validité des témoins :.....	19
1.3 Cotation et classification variétale .....	19
2. Structuration de la population. ....	20



3. Déséquilibre de liaison des chromosomes 3B et 4B .....	21
4. Résultats d'association génétique sur le chromosome 3B .....	22
5. Résultat d'association génétique sur le chromosome 4B .....	23
6. Effet allélique des marqueurs associés .....	23
<b>IV. Discussion.....</b>	<b>24</b>
1. Variabilité du caractère étudié.....	24
2. Stratification de la population d'étude .....	24
3. Résolution du déséquilibre de liaison.....	26
4. Associations génétiques établies sur les chromosomes 3B et 4B .....	26
<b>Conclusion .....</b>	<b>28</b>
<b>Références Bibliographiques .....</b>	<b>30</b>

## **Annexes**



# Glossaire

Allèles : Multiples versions d'un gène ou d'un marqueur qui diffèrent par sa séquence ADN

Bloc haplotypique : Ensemble spécifique d'allèles de marqueurs ou gènes voisins qui tendent à se transmettre ensemble dans la descendance

cM : le centiMorgan est l'unité de mesure de la distance génétique

Gène candidat : gène supposé influencer l'expression complexe d'un caractère phénotypique selon les propriétés physiologiques ou biologiques connues de celui-ci

Haplotype : Combinaison de plusieurs bases sur le même chromosome

Hexaploïde : cellule ou organisme comportant 6 jeux de chromosomes homologues

IBS : Segment d'ADN dont la séquence nucléotidique est identique chez plusieurs individus issus d'un parent ancestral commun.

ISBP : Marqueurs basés sur le polymorphisme de site d'insertion des éléments transposables. Ils sont génome-spécifiques, distribués de façon homogène le long des chromosomes avec une très forte densité. Ces marqueurs présentent un fort taux de polymorphisme entre espèces, mais aussi au sein d'une même espèce

Lignées recombinantes : Organisme possédant de nombreux événements de recombinaisons entre les chromosomes hérités de deux ou plusieurs organismes parentaux.

Locus/Loci : Position spécifique d'un gène, allèle, ou marqueur sur un chromosome

Macroconidies : Fait référence à la forme conidienne la plus grosse

Marqueur : Objet moléculaire ou phénotypique permettant de distinguer des différences génétiques entre individus

Prebreeding : Désigne toutes les activités permettant l'identification de caractères d'intérêt ou de gènes à partir de matériel végétal qui ne peut être utilisé directement dans les programmes de sélection

QTL : Région chromosomique de taille variable impliquée dans l'expression complexe d'un caractère phénotypique.

Recombinaison génétique : Processus par lequel deux molécules d'ADN échangent leur information génétique

ROS : Molécules chimiques contenant de l'oxygène aux effets oxydatifs très puissants. Cette famille de molécule participe aux voies de signalisation cellulaire.



SNP : Forme la plus commune d'une variation génétique dans le génome, qui diffère par une seule base nucléotidique.

Sporodochies : Structures gélatineuses au sein desquelles sont produites les macroconidies de taille et de forme homogène





# Liste des abréviations

**AJ** : Acide Jasmonique

**AS** : Acide Salicylique

**cM** : CentiMorgan

**CTPS**: Comité Technique Permanent de Sélection

**DON** : Déoxynivalénol

**ET** : Ethylène

**FHB**: Fusarium Head Blight

**GLM** : General Linear Model

**GWAS**: Genome Wide Association Study

**HR** : Humidité relative

**IBS** : Identity by state

**INRA** : Institut National de la Recherche Agronomique

**ISBP** : Insertion Site Based Polymorphism

**LD**: Linkage disequilibrium/Déséquilibre de liaison

**MLM** : Mixed Linear Model

**NIV** : Nivalénol

**PAC** : Politique Agricole Commune

**PDA**: Potatoe Dextrose Agar

**QTLs** : Quantitative Trait Loci

**ROS** : Reactive Oxygen Species

**SSR** : Simple Sequence Repeats

**SNP** : Single Nucleotide Polymorphism



# **Liste des Annexes**

ANNEXE I : Panel variétal du projet « Breedwheat » .....	I
ANNEXE II: Dispositif expérimental du panel « Breedwheat ».....	III
ANNEXE III : Vérification des conditions d'applications .....	IV
ANNEXE IV : Valeur d'inertie des dix premières composantes de l'ACP et leurs représentation graphique .....	VI
ANNEXE V: Cotation du panel variétal « Breedwheat » .....	VII
ANNEXE VI : Dendrogramme du panel variétal « Breedwheat » .....	XII



# Liste des illustrations

## **Figures :**

<b>Figure 1</b> – Cycle de développement de <i>F. graminearum</i> (Trail et al., 2009).....	3
<b>Figure 2</b> – Culture in vitro de <i>F. graminearum</i> sur milieu PDA (Photo personnelle, Maule, 2014). ....	10
<b>Figure 3</b> – <i>Sporodochia</i> visibles par diascopie sur une culture de <i>Fusarium</i> sur SNA.....	10
<b>Figure 4</b> – Macroconidies produites en <i>sporodochia</i> de <i>F. graminearum</i> sur milieu SNA (LNPV, 2008). .....	10
<b>Figure 5</b> – Sporulation de <i>F. graminearum</i> sur milieu PDA (Photo personnelle, Maule, 2014).....	11
<b>Figure 6</b> – Quadrillage de la cellule de Nageotte (J.Cruziat, BIOLTRIP 2011). ....	11
<b>Figure 7</b> – Symptôme de fusariose sur un épi de blé (Photo personnelle, Maule, 2014).....	14
<b>Figure 8</b> – Observation d'un liseré rose-orangé sur un épillet de blé due à la sporulation de <i>F. graminearum</i> (Photo personnelle, Maule, 2014).....	14
<b>Figure 9</b> – Taux d'infection moyen de chaque bloc du dispositif expérimental, exprimé en pourcentage (%), classé selon le test de Tuckey à l'issue d'une ANOVA. ....	18
<b>Figure 10</b> – Classement des 220 variétés du panel Breedwheat en fonction de la cotation attribuée. L'échelle de cotation s'étend de 1.5 (sensible) à 7.5 (résistant). ....	20
<b>Figure 11</b> – Densité de marquage sur l'ensemble du génome du blé, issue de la puce à ADN. ....	20
<b>Figure 12</b> – Analyse en composante principale (ACP) de la population d'étude du programme Breedwheat. ....	21
<b>Figure 13</b> – Représentation du déséquilibre de liaison des chromosomes 3B et 4B. ....	21
<b>Figure 14</b> – Diagramme du quantile-quantile obtenu sur les données du chromosome 3B avec a) le modèle linéaire général(GLM) et b) le modèle linéaire mixte (MLM). ....	22
<b>Figure 15</b> – Manhattan plot du chromosome 3B représentant les valeurs logarithmiques négatives en fonction de la distance génétique, obtenues avec le modèle GLM. a) résultats sur les données de 2014 et b) compilation des résultats sur les données de 2014 et 2013 .....	22
<b>Figure 16</b> – Diagramme du quantile-quantile obtenu sur les données du chromosome 4B avec a) le modèle linéaire général(GLM) et b) avec le modèle linéaire mixte (MLM). ....	23
<b>Figure 17</b> – Manhattan plot du chromosome 4B représentant les valeurs logarithmiques négatives en fonction de la distance génétique, obtenues avec le modèle MLM. a) résultats sur les données de 2014 et b) compilation des résultats sur les données de 2014 et 2013 .....	23
<b>Figure 18</b> – Histogramme des effets alléliques des marqueurs associés à la résistance à FHB sur a) le chromosome 3B et sur b) le chromosome 4B.....	24



# Liste des tableaux

## **Tableaux :**

<b>Tableau I</b> – Itinéraire technique de la pépinière maladie sur l'année 2013-2014. ....	12
<b>Tableau II</b> – Résultat ANOVA de l'effet Bloc sur le taux d'infection des trois témoins. SCE : Somme des Carrés des Ecart ; CM : Carré Moyen ; F : loi de Fischer ; Pr : Probabilité. ....	18
<b>Tableau III</b> – Taux d'infection moyen de chaque témoin dans chacun des blocs du dispositif expérimental, exprimé en pourcentage (%). ....	18
<b>Tableau IV</b> – Résultat ANOVA de l'effet de la date de notation sur le taux d'infection de chaque témoin du dispositif expérimental. SCE : Somme des Carrés des Ecart ; CM : Carré Moyen ; F : loi de Fischer ; Pr : Probabilité. ....	19
<b>Tableau V</b> – Taux d'infection moyen de chaque témoin du dispositif comparé à la cotation officielle du CTPS. L'échelle de cotation s'étend de 1 (sensible) à 9 (résistant). ....	19
<b>Tableau VI</b> – Résultat de la régression linéaire sur le taux d'infection moyen en fonction de la date de floraison. T : loi de Student ; F : loi de Fischer ; Pr : Probabilité ; $R^2$ : Coefficient de corrélation. ....	19





# **I. Introduction**

## **1. Les perspectives agricoles**

Les productions agricoles sont essentielles à l'élévation économique des pays en complément de l'agriculture vivrière qui participent au confort de vie des populations. Ces productions sont soumises à des contraintes socio-économiques et agro-environnementales limitant les quantités produites chaque année.

Les céréales sont la base alimentaire de la majorité des populations à travers le monde. En 2013, la production mondiale de céréales représente moins de 2000 millions de tonnes dont 703 millions de tonnes de blé. La demande mondiale en céréales ne cesse d'augmenter d'année en année, d'une part, à cause de la croissance linéaire de la population mondiale depuis les années 1970, avec les prévisions des Nations Unies évoquant une augmentation de près de 2 milliards d'habitants d'ici à 2050, et d'autre part, par un changement des comportements alimentaires de certaines populations adoptant un cadre de vie occidental.

Cette demande mondiale, toujours plus forte, remet en cause les capacités des pays producteurs à fournir les ressources agricoles nécessaires pour nourrir la population mondiale dans un contexte où le changement climatique impacte de plus en plus les cultures.

Les brusques variations climatiques des cinq dernières années, avec des hivers doux, des canicules répétées, des années gélives, etc. ont une influence négative sur le développement des plantes qui limite les rendements agricoles. On note que la réduction des précipitations de plus de 50% amène à un abaissement des rendements en blé dans 90% des cas (Schaller, 2014). Ces variations climatiques masquent la progression génétique observée depuis 15 ans au sein des nouvelles variétés. L'INRA (Savini, 2009) estime le gain génétique de 1 qx/ha/an, indépendamment des facteurs environnementaux, mais les mauvaises conditions climatiques font stagner les rendements en blé aux alentours de 73 qx/ha depuis 1996 en France (Renaud, 2010).

Ce changement climatique est accéléré par les activités humaines dont l'agriculture a une grande part de responsabilité. Les pouvoirs publics ont pris conscience de l'impact des activités agricoles sur l'environnement et mettent, aujourd'hui l'accent sur la préservation des écosystèmes. Un des axes de la PAC, mais également le plan EcoPhyto2018 s'inscrivent dans cette politique de réduire les intrants dans les parcelles, sans altérer les rendements. Pour cela, l'optimisation des composantes du rendement telles que l'efficacité de l'utilisation de l'azote par les plantes, la tolérance à la sécheresse, les résistances aux maladies et surtout l'amélioration génétique variétale sont nécessaires pour produire autant en limitant l'usage des ressources extérieures.

## **2. Contexte de l'étude**

Face à des perspectives agricoles contrastées, le programme d'investissement d'avenir Breedwheat a été lancé en 2011 afin de soutenir la compétitivité de la filière française de sélection du blé en répondant aux enjeux sociétaux d'une production durable et de qualité de



blé. Il met en jeu une collaboration entre sélectionneurs du secteur privé tel que Bayer Crop Science, Syngenta, Limagrain, Biogemma, les instituts techniques Arvalis, le GEVES et les chercheurs français de l'INRA impliqués dans la recherche et la sélection du blé. Il est financé à hauteur de 34 millions d'euros sur une période de 9 ans.

Le but de ce projet est de mieux appréhender les connaissances sur le blé pour ensuite les valoriser à des fins de création variétale. Ainsi, le projet génétique est au cœur des travaux engagés afin d'optimiser les performances technologiques et agro-environnementales des variétés.

Ce projet pluridisciplinaire combine des données de génétique, de génomique et d'écophysiologie avec un grand volume de notations phénotypiques. Ces données aident à identifier des marqueurs et/ou gènes candidats responsables de caractères d'intérêts agronomiques.

Breedwheat se compose de plusieurs groupes de travail (WP:Work packages) ayant des objectifs différents. Quatre grands groupes se distinguent, à savoir : WP1-Le séquençage et le génotypage du génome du blé, WP2-Les études génétiques et écophysiologiques de l'adaptation du blé aux stress, WP3-La caractérisation et l'exploitation de la diversité génétique au service du prebreeding, et WP4-le développement de nouvelles stratégies de sélection. Tous les WP sont interconnectés entre eux pour permettre la libre circulation d'informations nécessaires aux analyses de compréhension des mécanismes métaboliques et génétiques nécessaires à l'amélioration variétale.

C'est au sein du WP2 que sont développées les thématiques de stress biotiques et abiotiques impactant le rendement et la qualité du blé, dans un contexte de changement climatique et d'agriculture durable. Ce groupe combine des études de modélisation et des analyses d'association entre données génomiques et phénotypiques pour comprendre les bases moléculaires, génétiques et écophysiologiques qui influencent les caractères agronomiques. Les principaux stress étudiés sont la tolérance au déficit hydrique, au choc thermique, l'efficacité d'utilisation des sources azotées par la plante et les résistances aux maladies fongiques.

### 3. Étude bibliographique

La culture du blé tendre est sujette à une dizaine de maladies causées par des champignons phytopathogènes (Arvalis, 2013). Parmi ces maladies, certaines sont plus difficiles à appréhender en culture, car la réponse variétale face au champignon est variable et les contournements de résistances sont accélérés par l'usage répétitif de certaines familles de molécules chimiques. La Septoriose et la Fusariose de l'épi de blé font partie des maladies complexes à maîtriser en champ avec des pertes de rendements estimées à 1.5 et 0.2 tonne/an/ha respectivement (BW, document d'information). Ces deux maladies d'importance sont traitées dans le WP2 du projet Breedwheat pour caractériser la résistance de l'hôte à ces deux maladies.

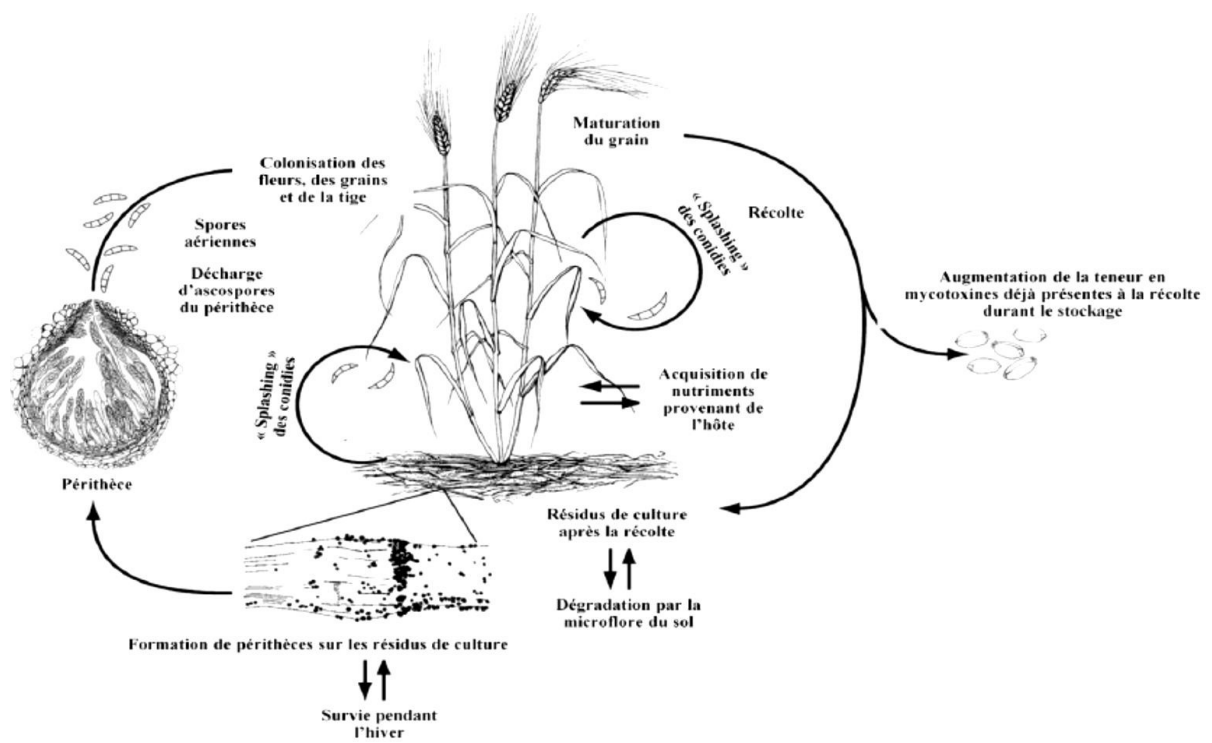


Figure 1 – Cycle de développement de *F. graminearum* (Trail et al., 2009).

Étant chargée par la société SECOBRA Recherches, de la conduite et de l'analyse de l'essai expérimental sur la Fusariose de l'épi de blé, je traiterai uniquement de cette maladie au cours de ce rapport.

### 3.1 La fusariose de l'épi de blé

La Fusariose est une maladie des céréales présente partout sur le globe (Parry *et al.*, 1995) dont les pertes de rendements peuvent être de diverses sources : avortements des fleurs, diminution du nombre et du poids des grains et altère la qualité sanitaire du blé, qui est très importante pour les sociétés de transformations industrielles.

Tous les stades de développement de la plante, des racines jusqu'à l'épi, peuvent être atteints avec une distinction de trois formes de symptômes :

- Les brûlures de semis, causées par les semences contaminées, provoquent des manques à la levée ou des fontes de semis ;
- Le piétin dû aux nécroses des tissus du collet de la plante ;
- La fusariose de l'épi, ou FHB : *Fusarium Head Blight*, en anglais, provoquant un échaudage de l'épi. Cette dernière se caractérise par la sénescence prématurée de l'épi, à l'aspect rose-blanchâtre, ayant pour conséquence l'obtention de petits grains, ridés, légers avec du duvet blanchâtre-saumonné.

Complexe à sélectionner, la résistance à FHB anime plusieurs projets de recherche au sein du programme Breedwheat.

Il a été recensé 17 agents pathogènes responsables de la FHB chez les céréales appartenant à deux genres principaux qui sont *Fusarium* et *Microdochium* (Parry *et al.*, 1995). Pour le blé, on dénombre 16 espèces du genre *Fusarium* avec une prédominance pour l'espèce *F.graminearum* dans beaucoup de régions (Osborne and Stein, 2007). En effet, cette espèce est majoritairement retrouvée sur blé avec des taux d'infection de plus de 20% (Arvalis, 2013).

Cet agent pathogène est un champignon ascomycète ayant une forme parfaite téléomorphe du nom scientifique de *Gibberella zeae*. Il est spécifique aux céréales et possède comme plantes-hôtes principales : le triticale, l'orge, le riz, l'avoine, le maïs et le blé (Goswami and Kistler, 2004).

Cette espèce a des propriétés d'adaptation très large, car elle peut se développer dans des gammes de températures allant de 10 à 30°C avec un optimum de 20-25°C. Sa sporulation est favorisée par des conditions d'humidité élevée (85%HR) et prolongée sur 48h.

Son cycle de développement (Figure 1), est dit polycyclique avec plusieurs sources d'inoculum primaire possible. Le vent, la pluie (phénomène de « splashing ») et certains insectes sont des facteurs de dispersion de la maladie, mais les résidus de cultures infectés restent la principale source d'inoculum primaire. Le champignon se conserve tout l'hiver grâce à sa forme de conservation que sont les périthèces, présents sur les résidus de cultures. Les conditions favorables du printemps rendent cette période critique aux attaques depuis l'épiaison jusqu'à la fin de la floraison, car les périthèces s'ouvrent et libèrent les ascospores transportées par le vent, allant contaminer les fleurs. Son mode de contamination est passif,



car il n'a pas la capacité de pénétrer l'épiderme. Il passe par les pièces florales, des blessures ou des tissus sénescents pour infecter la plante. Une fois entré, le champignon se répand par les faisceaux vasculaires du rachis, colonise le xylème et le phloème amenant à un dysfonctionnement d'alimentation nutritive, ce qui dessèche prématurément l'épi. Sous les conditions favorables d'humidité et de températures, le développement mycélien peut se répandre à l'extérieur de l'épi, sur les glumes et glumelles des épillets (Trail, 2009).

Le développement intercellulaire est la phase asymptomatique du champignon qui établit une relation biotrophe avec la plante-hôte. Le changement du stade biotrophe à nécrotrophe s'associe à une augmentation de vigueur de colonisation de la part du champignon. La colonisation sature complètement le substrat de l'hôte et engendre la mort des tissus (Goswami and Kistler, 2004). L'apparition de nécroses sur la tige et une décoloration des tissus signale le début de la phase symptomatique de la maladie (Ballois, 2012)

Pour *F.graminearum*, l'infection active des gènes liés à la virulence et à la pathogénicité. Des gènes codant pour des lipases sont directement impliqués. D'autres codent pour la production de mycotoxines.

Pour la plante, diverses stratégies de défenses sont mises en place face aux attaques des pathogènes. L'une des plus rapides consiste à produire des dérivés actifs d'oxygène, ou encore appelés ROS, qui induisent une réaction d'hypersensibilité éliminant les cellules infectées. Ainsi, la réaction limite l'installation de l'infection et active d'autres voies de signalisation liées aux réactions de défenses. Les voies de l'acide jasmonique (AJ), l'acide salicylique (AS) et l'éthylène (ET) sont bien connues. L'AJ induit la production de métabolites secondaires, les terpénoïdes, toxiques pour la progression des champignons et l'ET réduit le développement de la FHB chez le blé (Li and Yen, 2008). Les lysats issus de la dégradation des parois cellulaires lors de l'infection jouent le rôle d'éliciteurs activant les mécanismes de défense et participent au renforcement pariétal (Montibus, 2013); (Bily *et al.*, 2004).

### 3.2 Les mycotoxines produites par *F.graminearum*

Classé en 2012, par Dean et ses collaborateurs, au 4<sup>ème</sup> rang mondial des champignons phytopathogènes d'importance économique majeure, *F.graminearum* a la capacité de produire des mycotoxines nocives pour l'homme et les animaux. En effet, ces mycotoxines peuvent causer des diarrhées, des vomissements, et des problèmes hépatiques avec des répercussions sur les fonctions du système immunitaire, et reproductif des mammifères (Pestka and Smolinski, 2005). Les mycotoxines sont produites en cours de culture et s'accumulent dans les grains récoltés. La quantité de mycotoxine est variable d'un fond génétique à l'autre, car les variétés plus résistantes ont moins de toxines que les variétés sensibles au pathogène.

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires synthétisées par les *Fusarium* dont les plus fréquents sont les tricothécènes, les fumonisines, et la zéoléanone. L'espèce *F.graminearum* produit essentiellement des tricothécènes de type B, notamment le déoxynivalénol (DON) et le nivalénol (NIV). Le DON est une mycotoxine réglementée dans la chaîne alimentaire humaine avec des seuils de toxicité fixés en µg/Kg pour chaque type de





produit alimentaire issu de la transformation du blé. L'alimentation infantile et la biscuiterie ont les seuils les plus bas avec 200 et 500 µg/Kg de DON autorisés (Donnat, 2011). Une relation directe a été établie à ce jour, entre la sévérité de la maladie FHB et le taux de mycotoxines accumulées dans les grains (P.Girardeau, communication personnelle). Néanmoins, le DON et ses dérivés sont les mycotoxines les plus fréquentes sur blés et elles sont produites par *F.graminearum* prédominant en culture (Bottalico and Perrone, 2002). Pour Desmond et ses collaborateurs, la présence de la maladie ne dépendrait pas de la présence de la toxine, mais celle-ci affecterait le niveau d'infection. Ainsi, les travaux menés sur la résistance à la toxine peuvent conduire à la résistance à FHB, et inversement.

Les effets phytotoxiques du DON se traduisent par un retard de croissance et une dégénérescence des plantules. La plante est impactée au niveau de sa synthèse d'ADN/ARN, et de ses fonctionnalités protéiques, en particulier dans la production de callose au niveau du rachis qui constitue une barrière physique à la progression du champignon. Toutes les fonctions mitochondriales, la division cellulaire et l'intégrité membranaire de la plante sont altérées. Lors de l'infection, les tricothécènes du champignon sont fortement induits au niveau du rachis et semblent être tissus-spécifiques (Montibus, 2013)(Rocha *et al.*, 2005).

### 3.3 Les études de cartographie QTL sur la résistance à la fusariose

La résistance à FHB est un caractère polygénique donc quantitatif, ce qui signifie que les réponses variétales au pathogène sont variables et étendues en termes de sévérité de la maladie. Chez le blé, ce caractère est assez peu héritable et est propice aux études génétiques quantitatives qui ciblent les régions chromosomiques impliquées dans les variations phénotypiques (Miedaner *et al.*, 2011).

Il a été répertorié 52 études QTLs (Quantitative Trait Loci) à la résistance à FHB, dont 46 ont été menées sur du blé tendre hexaploïde (Buerstmayr *et al.*, 2009). Ces études ont mis en évidence plus de 176 QTLs de résistance, répartis sur l'ensemble du génome, excepté sur le chromosome 7D (Miedaner *et al.*, 2011).

Plusieurs contraintes sont liées à la pratique des études de cartographie QTL. La première réside dans la construction génétique du blé. En effet, le blé est constitué de trois génomes d'origine différente (A, B, et D) possédant chacun 7 paires de chromosomes homéologues. Cette structure génétique rend le marquage de haute densité du génome plus complexe. La seconde contrainte concerne le caractère étudié. La réponse à FHB est modulée par les facteurs génétiques de l'hôte et du pathogène, mais également par les effets d'interactions génotype x environnement. Par conséquent, la séparation entre les effets pléiotropiques des gènes impliqués dans le développement ou la morphologie de la plante et la réponse à FHB est très complexe. De plus, la résistance à FHB est répertoriée de deux manières différentes:

- La résistance de type 1, concernant la capacité à résister à la pénétration du pathogène lors de l'infection initiale ;
- La résistance de type 2, qui concerne la progression du champignon à travers le rachis.



De manière générale, la résistance de type 2 est la plus étudiée, car sa mesure est facilitée par les techniques d'inoculation de souche de *Fusarium* en champ, qui permettent ensuite de noter la sévérité de la maladie.

La troisième contrainte concerne la détection de QTLs à effets mineurs de façon significative. En effet, pour détecter ce type de QTLs un nombre important de lignées recombinantes est nécessaire. Cependant, pour des raisons pratiques et de coûts, les études comportant plus de 300 lignées recombinées sont rares; elles sont généralement de 100 à 200 lignées. Il est considéré qu'en dessous de 100 lignées recombinantes, les régions chromosomiques détectées sont uniquement des régions à effet fort et que le nombre de marqueurs nécessaire doit couvrir le génome avec un espacement entre marqueurs inférieur à 20cM (Buerstmayr *et al.*, 2009).

Parmi la centaine de QTLs répertorié, deux QTLs majeurs de résistance à FHB ont été découverts dans le germoplasme de variétés exotiques. Provenant du cultivar « *Sumai 3* », une variété asiatique, un QTL majeur nommé *Qfhs.ndsu-3BS* puis *Fhb1* par la suite, a été détecté sur le chromosome 3B. Il aurait un effet sur la progression du champignon, car l'hypothèse énoncée par Anderson et ses collaborateurs est qu'il coderait pour une DON-glucosyltranférase et/ou modulerait l'expression ou l'activité de certaines enzymes.

Le second QTL majeur provient également de lignées dérivées de « *Sumai 3* ». C'est un QTL situé sur le chromosome 6B, nommé *Fhb2*. Ce QTL serait stable et relié également à la résistance de type 2. De nombreuses variétés asiatiques ont des niveaux de résistance à FHB élevés, mais ces résistances sont facilement contournées.

Ces deux QTLs majeurs ont été utilisés dans les programmes de sélection européens, mais leurs introgressions au sein des pools génétiques européens ont montré des limites d'adaptation, notamment un impact négatif sur le rendement des variétés. Par conséquent, les sélectionneurs européens favorisent plus les sources de résistance provenant de germoplasme européen déjà adapté à leurs conditions, plutôt que des sources exotiques (Miedaner *et al.*, 2011).

Au sein des variétés européennes, la recherche de QTL a permis de déterminer que les allèles de résistance expliquent 4 à 13% de la variabilité phénotypique des variétés (Miedaner *et al.*, 2011). Les descendances issues de lignées précoces (croisement des variétés Renan x Recital) ont permis de mettre en évidence des QTLs de résistance situés sur les chromosomes 2A, 2B, et 5A. Ces QTLs ont un large effet sur la résistance, mais certains d'entre eux sont co-localisés avec d'autres gènes impliqués dans la période de floraison et la hauteur des plantes. En effet, la co-localisation avec les gènes de nanisme a fait l'objet d'étude plus avancée, car la présence des gènes *Rht-B1* et *Rht-D1* accroît la sensibilité à FHB (Buerstmayr *et al.*, 2009). Srinivasachary et ses collaborateurs, évoquent une interaction génétique avec les allèles *Rht-B1* et *Rht-D1*, situés sur des loci homologues des chromosomes 4B et 4D respectivement. Les fonctions des loci homologues peuvent être différentes et influencer la résistance à FHB, d'où les écarts d'infection observés en champ, selon les conditions climatiques. L'étude montre que la position des marqueurs entre *Rht-D1* et la résistance FHB est distante de moins de 10cM, d'où la forte corrélation entre ces loci. Miedaner, énonce que la présence de l'allèle sauvage *Rht-D1a* est associée à une augmentation de la résistance à



FHB et qu'il expliquerait plus de 40 % de la variation phénotypique. De récents travaux, issus d'un programme de recherche français nommé INSPYR, ont démontré que l'allèle *Rht-D1b* est un facteur de sensibilité à FHB car il diminue la résistance à FHB (P.Girardeau, communication personnelle).

Sur le chromosome 5A, il a été découvert une région, nommée *Qfhs.ifa-5A*, ayant un plus faible impact sur la résistance à FHB après inoculation. Les auteurs interprètent cet effet comme étant un QTL de résistance de type 1 (Buerstmayr *et al.*, 2009).

Cependant, nous pouvons noter que de manière générale, les résultats issus d'études QTLs sont de résolution moyenne pour de multiples raisons à savoir : 1) la construction de descendance dédiées pour réaliser l'étude, 2) l'analyse est faite sur les allèles présents uniquement chez les parents de la descendance, 3) les effets des QTLs sont atténués puisqu'ils sont identifiés dans un fond génétique spécifique, souvent issu de matériel en sélection par rapport à une population en ségrégation par exemple, 4) la délimitation des régions QTLs est approximative étant donné que la résolution de détection dépend du taux de recombinaison présent dans la descendance.

### 3.4 Les études de génétique d'association pour le caractère FHB

Face aux contraintes des études QTLs, une autre forme d'analyse génétique a suscité de l'intérêt pour relier des caractères phénotypiques à des variations génétiques.

La génétique d'association, GWAS, Genome Wide Association, ou Association mapping, est une nouvelle approche d'étude génétique, rendue possible grâce au développement des nouveaux systèmes de marquage à haute densité. Issue de l'épidémiologie génétique humaine, le principe de cette méthode est de rechercher des associations entre une variabilité aux marqueurs et une variabilité d'un caractère donné sur l'ensemble d'une population d'individus apparentés ou pas. Cette technique n'exclut pas les risques statistiques, car le manque de puissance dû au niveau d'informativité des marqueurs utilisés peut être insuffisant pour mettre en évidence une différence génétique, ou bien elle peut donner de faux-positifs en trouvant des associations entre marqueurs distants, ou situés sur des chromosomes différents.

Sur blé tendre, plusieurs études de GWAS sont répertoriées, dont la plupart étudient les caractères d'intérêt agronomique tels que le rendement, la qualité, la précocité, la hauteur, etc...mais également la résistance aux maladies fongiques. Peu de publications font référence à la FHB, sur laquelle les premières approches GWAS ont été réalisées sur l'orge.

Kollers et ses collaborateurs ont étudié la résistance de type 2 à FHB au sein d'une population de 372 variétés européennes. Le protocole de l'étude a consisté à effectuer une contamination artificielle des variétés avec une solution d'inoculum de *F.graminearum* et de *F.culmorum* à une concentration de  $5.10^4$  spores/ml. La sévérité de la maladie a été notée en prenant le pourcentage d'infection de l'épi sur 50 épis consécutifs de la même variété. Sept cent trente-deux marqueurs SSR ont été utilisés. Ce protocole a permis de mettre en évidence 877 associations significatives, localisées sur l'ensemble des chromosomes du génome. Seuls quelques loci sur le chromosome 3B ont été trouvés spécifiques à la résistance de type 2. Une



prise en compte de la structure de la population d'étude a été faite, afin d'éviter les fausses associations, mais aucune structuration n'a été trouvée. La comparaison des régions QTLs publiées et de la localisation des associations obtenues a permis de confirmer la position des QTLs majeurs, notamment *Fhb1* du chromosome 3B, et de valider certaines co-localisations avec d'autres gènes, notamment celle avec *Rht-D1*. Ce résultat renforce l'hypothèse que la présence *Rht-D1* augmente la sensibilité à FHB de façon directe. Concernant l'autre gène de nanisme, *Rht-B1*, aucune association n'a été trouvée sur le chromosome 4B.

Pour Miedaner et ses collaborateurs, la taille de la population d'étude est de 455 individus de blé tendre d'hiver européens. Le génotypage des variétés a été effectué avec 115 marqueurs SSR et une inoculation artificielle a été appliquée à raison d'une concentration de  $2.10^5$  spores/ml de l'agent pathogène *F.culmorum*. Cette étude met en avant 7 régions chromosomiques significativement corrélées et concordent avec les régions publiées des études QTLs. Les régions se situent sur les chromosomes 1B, 1D, 2D, 2B, 3A, 4D, 7A et sont issues de résultats statistiques non corrigés. La correction appliquée révèle uniquement la présence d'une région supplémentaire sur le chromosome 1D. Dans cette étude, l'effet épistasique des régions détectées sur la résistance à FHB est évoqué. En effet, la combinaison des effets principaux et épistatiques des QTLs expliquerait plus de 50 % de la variation phénotypique. De ce constat, les auteurs argumentent sur le gène *Rht-B1b*, dont l'effet principal est retrouvé non significatif. Ce gène a une interaction épistasique significative avec un marqueur, *barc147*, située sur le chromosome 3B. Ce marqueur est proche de seulement 0.2cM du marqueur *Fhb1*, au sein de variétés européennes. Ainsi, cette étude montre qu'il est possible de trouver un idéotype de blé européen, à haut rendement, utilisant l'effet d'un des gènes de nanisme, avec une plus grande résistance à FHB.

De manière plus ciblée, l'étude d'association de Hao et son équipe a mis en évidence une région de 2,9 kb sur le chromosome 3B impliquée dans la résistance à FHB. La taille de la population d'étude est de 266 variétés avec 157 variétés d'origine asiatique et 91 d'origine européenne. Dans cette étude 42 marqueurs (32 SSR et 10 SNP) ont été utilisés pour génotyper les variétés. L'étude révèle 12 associations significatives parmi lesquelles un marqueur, nommé *cfb6059*, permet d'expliquer plus de 6% de la variation phénotypique.

#### 4. Problématique de l'étude

Les deux précédentes études montrent bien la puissance d'une analyse de génétique d'association dans le traitement des caractères complexes. Par conséquent, les partenaires du projet Breedwheat ont entrepris une étude GWAS sur un panel de 220 variétés de blés tendres d'origine européenne et Syrienne. Le but de cette étude est d'analyser la variabilité génétique du blé pour la résistance à la fusariose de l'épi.

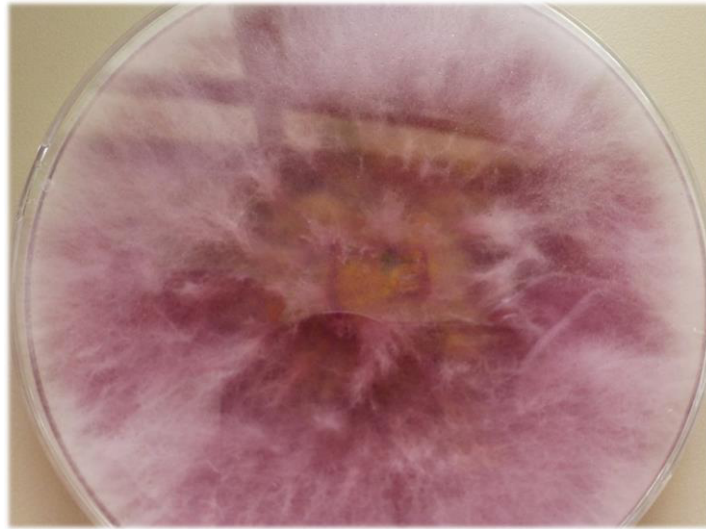
L'essai expérimental est conduit sur plusieurs années dans des localités françaises différentes. La société Secobra Recherches avec deux autres partenaires du réseau Breedwheat, participe à la mise en œuvre de cet essai cette année. Les contrastes pédoclimatiques de chaque région permettent d'appréhender les variations phénotypiques de la résistance à FHB. L'essai est inoculé avec une souche de *F.graminearum*, et noté sur la



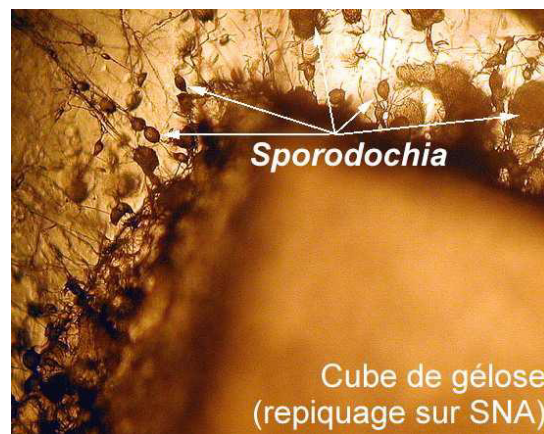


sévérité de la maladie. En parallèle, les 220 variétés ont été génotypées avec la technologie Affymetrix, utilisant une puce à ADN de haute densité comportant plus de 420 000 spots SNP. La combinaison des données de phénotypage et de génotypage va alors permettre la réalisation de l'étude GWAS.

Dans ce rapport, j'évoquerai les méthodologies utilisées pour produire l'inoculum de *Fusarium*, acquérir les notations de fusariose de l'épi, et définir les paramètres importants pour la réalisation de la GWAS. Issus de ces travaux, les résultats présenteront de façon globale les notations de l'essai puis les associations potentielles trouvées avec la résistance à FHB.



**Figure 2** – Culture in vitro de *F. graminearum* sur milieu PDA (Photo personnelle, Maule, 2014).



**Figure 3** – *Sporodochia* visibles par diascopie sur une culture de *Fusarium* sur SNA (LNPV, 2008).



**Figure 4** – Macroconidies produites en *sporodochia* de *F. graminearum* sur milieu SNA (LNPV, 2008).

## **II. Matériels et méthodes**

### **1. Production d'inoculum de la souche *F. graminearum***

#### *1.1 Description de la souche Fusarium T10008*

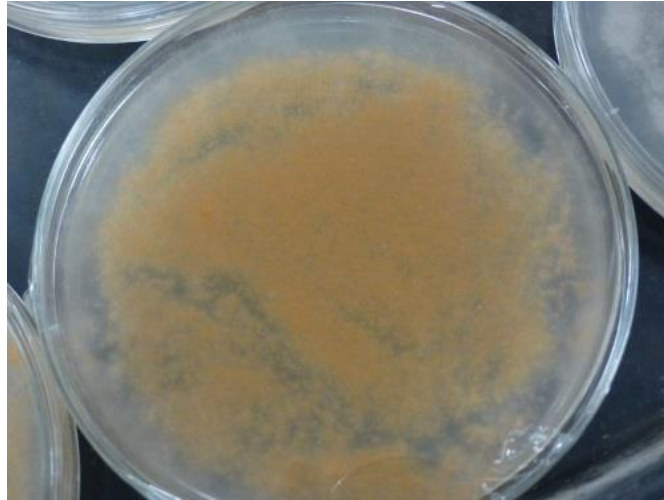
La souche *F. graminearum* T10008 est fournie par le laboratoire pathologie d'Arvalis Institut du Végétal à Grignon. C'est une souche qui a été choisie pour son efficacité d'infection importante et qui a été utilisée dans les essais officiels du CTPS. Ce micro-organisme fongique appartient au genre *Fusarium*, et a été cultivé sur un milieu synthétique (PDA) dans les conditions de multiplication *in vitro*. Le développement mycélien de ce dernier est abondant et rapide, il se caractérise par une couleur blanc-rosé en début de culture puis rouge carmin avec des reflets jaunes sur les cultures plus âgées (Figure 2). Cette pigmentation est due aux anthocyanes produites par le champignon et la couleur peut varier selon le pH du milieu ainsi que les conditions de culture. L'observation directe du mycélium sous une loupe binoculaire permet de distinguer des structures fongiques appelées sporodochies, apparaissant sous forme d'agglomérats translucides gélatineux (Figure 3). Ces structures renferment les macroconidies, encore appelés spores (Figure 4), qui sont de forme allongée, arquée et comportant 3 à 6 cloisons. Elles peuvent aller d'une taille de 25 à 60µm.

#### *1.2 Protocole de multiplication*

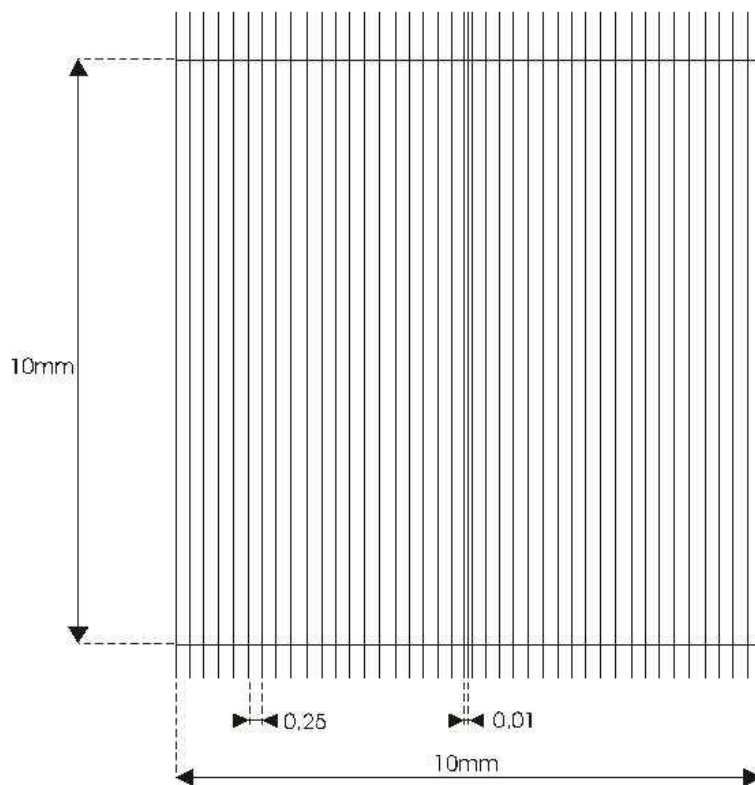
Le protocole de multiplication suivi lors de cette étude est issu d'un protocole de laboratoire réalisé en routine à l'institut technique Arvalis. L'intérêt de ce protocole est de multiplier à grande échelle la souche *F. graminearum* T10008 et de favoriser sa sporulation afin d'obtenir une solution d'inoculum concentrée. La multiplication de micro-organismes fongiques nécessite des conditions de travail strictes et exemptes de tout autre micro-organisme que celui que nous cherchons à cultiver. Ainsi, le matériel et les milieux de culture utilisés sont stérilisés, et toutes les manipulations sont effectuées sous bec bunsen. En outre, le genre *Fusarium* ne requiert pas de conditions de cultures particulières et se multiplie aisément sur milieu PDA à pH neutre en chambre d'incubation. La chambre d'incubation est paramétrée avec une humidité relative de 70%, une température de 20°C et une alternance d'éclairement jour/nuit de 12h. Sur les conseils de l'institut Arvalis, le type de néons d'éclairage sont des OsramL 58w/640 white et OsramL 58w/76 Natural. Le protocole est conçu en cinq étapes, à partir d'une culture isolée de *Fusarium* sur milieu gélosé.

#### **❖ 1<sup>ère</sup> étape : Mise en place des cultures mères**

Un cube de gélose, environ 1cm de côté, issu de la culture isolée de *F. graminearum* T10008 (envoyé par Arvalis) est déposé au centre de la boîte de pétri. Les boîtes inoculées sont mises en chambre d'incubation pendant une période de 8 à 10 jours. Les boîtes sont observées régulièrement pour voir l'apparition de sporodochies et moduler le temps d'incubation en fonction de l'état d'avancement.



**Figure 5** – Sporulation de *F. graminearum* sur milieu PDA (Photo personnelle, Maule, 2014).



**Figure 6** – Quadrillage de la cellule de Nageotte (J.Cruziat, BIOLTROP 2011).

#### ❖ 2ème étape : Mise en place des cultures filles

À partir des cultures mères, les sporodochies sont récupérées à l'aide d'un scalpel ou un râteau en verre et 200µl d'eau osmosée stérile. La suspension de sporodochies est récupérée avec un pipetman puis dissoute à 50ml d'eau osmosée. Sur chaque boîte fille, 200µl de solution diluée de sporodochies est étalée au râteau sur l'ensemble de la boîte. Les boîtes filles inoculées sont placées en chambre d'incubation, directement sous l'éclairage sans les caches de protection des néons, durant 8 jours. La sporulation des boîtes est observable quand elles ont un aspect marron-orangé (Figure 5) avec parfois un développement mycélien plus ou moins abondant. Selon l'état d'avancement, cette sporulation peut être observée dès le sixième jour d'incubation.

#### ❖ 3ème étape : Récupération des spores

Les spores de *Fusarium* sont récupérées à l'aide d'une solution de Tween20 à 0.05%. Fortement dilué, le Tween20 est un détergent qui permet d'éviter la formation d'agrégats de spores. Ces agrégats perturbent le comptage à la titration de l'inoculum et bouchent les buses du pulvérisateur lors de l'application. Le Tween20 est un produit très visqueux et difficile à prélever, sa dilution est approximative en ajoutant une à deux gouttes de produit dans 500 ml d'eau osmosée.

De 2 à 5 ml de solution de Tween20 à 0.05% ont été déposés dans chaque boîte fille, selon la quantité de mycélium présente. La solution est répartie sur l'ensemble de la boîte puis la gélose est raclée à l'aide d'un râteau en verre afin de récupérer les spores. La suspension de spores est récupérée, sans prendre le mycélium, avec une pipette et placée dans une bouteille en verre, préalablement stérilisée. En cas de mycélium trop abondant, un tamis stérile est utilisé pour récupérer uniquement la solution d'inoculum.

Une deuxième récupération peut être effectuée selon l'état de sporulation de la boîte avec l'ajout d'un millilitre de solution Tween à 0.05%.

#### ❖ 4ème étape : Titration de la solution d'inoculum

Afin de déterminer la concentration en spores de la solution d'inoculum récupérée, une titration sur cellule de Nageotte est effectuée. Au préalable, une dilution au 1/10<sup>e</sup> ou 1/100<sup>e</sup> de l'inoculum dans de l'eau est souvent nécessaire afin de permettre le dénombrement des spores. La solution est placée entre la lame et la lamelle de la cellule puis le dénombrement des spores s'effectue sous microscope au grossissement x100. Le dénombrement est réalisé selon une méthodologie précise consistant à compter les spores présentes dans un espace quadrillé, défini par 40 bandes de dimensions 10x0,25x0,50 mm (Figure 6).

Ainsi la concentration finale de la solution sera déterminée par la formule suivante :  $C = (N/V) \times D$  ; où C est la concentration en spores/ml, N est le nombre de spores, V le volume de comptage et D la dilution effectuée.

**Tableau I – Itinéraire technique de la pépinière maladie sur l'année 2013-2014.**

Précédent:Maïs / Sol: Argileux / Surface: 945m <sup>2</sup>				
Date	Opération	Intrant	Cible	Matière active
17/10/2013	Labour+Herse			
25/10/2013	Anti-limaces	Mesuroi	Mollusques escargot	Methiocarbe
23/10/2013	Semis classique			
05/11/2013	Anti-limaces	Mesuroi	Mollusques escargot	Methiocarbe
19/02/2014	Fertilisation	31-20 NS	50 U	
20/02/2014	Désherbage	Berhing	Adventices	Diflufénicanil
				Isoproturon
24/02/2014	Désherbage	Primus	Dicotylédones annuelles	Florasulame
07/03/2014	Fertilisation	Ammo 33.5	80 U	
28/03/2014	Fongicide	Unix Max	Pietin verse	Cyprodinyl
02/04/2014	Désherbage	Harmony Extra	Adventices	Thifensulfuronmethyl
				Tribénuronmethyle
09/04/2014	Fongicide	Acanto	Rouille jaune	Picoxystrobine
28/04/2014	Brumisation			

## ❖ 5ème étape : Conservation de l'inoculum

Afin de préserver au mieux la viabilité des spores et limiter les lésions membranaires causées par les conditions de congélation à -20°C, la solution d'inoculum doit être mélangée à un milieu de congélation composé de lait et de glycérol. Le lait sert de support nutritif aux spores en sortie de décongélation afin d'assurer une bonne reprise de l'activité germinative et infectieuse. La préparation du lait est réalisée à partir de 30 mg de lait écrémé en poudre, ajouté à 276 ml d'eau osmosée. Le lait réhydraté est stérilisé à l'autoclave 20 min à 120°C.

Le glycérol doit représenter 10% du volume total de lait soit 30ml de glycérol pour 300ml de lait réhydraté. Une fois le milieu de congélation prêt, il est ajouté à volume égal de la solution d'inoculum puis congelé à -20°C.

## 2. Essai expérimental

### 2.1 *Matériel végétal (220 variétés)*

L'étude est menée sur 220 variétés de blé tendre d'hiver (*Triticum aestivum*) cultivées en Europe. Ces variétés proviennent de diverses entreprises semencières et ont été inscrites au catalogue officiel français ou européen entre 1974 et 2012 ; avec une majorité de variétés inscrites à partir de 2007 (Annexe I). Ces variétés ont été sélectionnées pour leurs performances agronomiques diverses telles que leur rendement, leur résistance aux maladies : rouilles jaunes et brunes, septoriose, oïdium, fusariose ; leur précocité, leurs besoins en intrants, leur qualité technologique (du blé améliorant au blé fourrager), etc

Le choix de ces variétés est représentatif des conditions agro-climatiques françaises.

### 2.2 *Dispositif Expérimental*

Le dispositif expérimental a été mené en France durant deux années consécutives dans trois localités différentes. Il a été mis en place en 2013 au centre de l'INRA de Clermont Ferrand, puis en 2014 chez Bayer CropScience à Milly la Forêt (91) et chez Secobra Recherches à Maule (78). Le dispositif est constitué de 220 variétés de blé tendre répétées 3 fois, soit 720 parcelles au total. Pour correctement évaluer la Fusariose de l'épi (FHB), la précocité des variétés a été prise en compte dans la construction du dispositif en le divisant en 6 blocs de précocité différente. Chaque bloc comporte 36 variétés plus 4 témoins, qui sont bien caractérisés pour la FHB, placées aléatoirement (Annexe II).

### 2.3 *Itinéraire technique*

L'ensemble du dispositif expérimental a été conduit selon un itinéraire technique spécifique afin de maximiser le développement et l'apparition de symptôme FHB (Tableau I).

Le précédent de la parcelle d'implantation est une culture de maïs. Des travaux profonds et superficiels du sol ont été effectués pendant la période automnale précédent le semis réalisé le 23 octobre 2013 sur une surface totale de 945m<sup>2</sup>.





Afin d'éviter les erreurs de diagnostic lors de la notation de la FHB, un traitement anti-piétin verse a été appliqué. En effet, le piétin verse provoque un dessèchement de la plante qui peut être confondu avec les symptômes de FHB. De plus, l'année a été particulièrement favorable au développement de la rouille jaune, qui peut perturber la progression de la FHB sur les variétés très attaquées. Pour limiter l'infestation, un traitement fongique anti-rouille a été appliqué courant avril, avec une durée d'efficacité compatible avec l'inoculation à floraison de l'essai.

Un système d'irrigation a été mis en place sur le dispositif expérimental afin d'optimiser les conditions de germination et d'infection des spores de *Fusarium* lors de la floraison des blés. Le système a été installé une semaine avant la floraison des variétés les plus précoces et a été maintenu jusqu'à la pré-maturation des grains des variétés les plus tardives, à raison d'une brumisation de 3 min toutes les demi-heures sur une plage horaire de 12h par jour.

### 3. Inoculation Parcellaire

Les symptômes de FHB sur épi de blé sont très aléatoires selon les années et l'aire d'implantation de la culture. Pour s'affranchir du phénomène incertain de contamination et garantir l'apparition de symptômes dus à l'agent pathogène *Fusarium graminearum*, une inoculation parcellaire a été appliquée sur le dispositif expérimental. Cette dernière a pour but d'inoculer les variétés selon leur degré de précocité, ce qui garantit une infection par l'agent pathogène au bon stade végétatif, mais aussi limite par des phénomènes de compétition la propagation du *Microdochium nivale*, également responsable de symptômes de FHB.

Après décongélation de la solution d'inoculum préparée précédemment, l'inoculation est réalisée à l'aide d'un pulvérisateur manuel, avec une pression inférieure à 2 bars et une buse d'application à projection ciblée. L'inoculum a été appliqué à une concentration de  $2.10^5$  spores/ml sur les variétés en floraison, c'est-à-dire tous les 2 à 3 jours. Afin d'éviter la dérive de l'inoculum, les applications ont été effectuées à partir de 20h quand les rafales de vent sont minimales.

### 4. Notations

Plusieurs types de notations sont effectués sur le dispositif expérimental au cours de son déroulement.

#### 4.1 *Épiaison/Floraison*

Les dates d'épiaison et de floraison ont été relevées sur les 720 parcelles. Une variété est considérée comme épiée quand 100% des épis ont émergé de plus de la moitié de la gaine foliaire ; et comme fleurie quand les étamines sont sorties des glumes, de couleur jaune, à hauteur de 50% de l'épi sur plus de 20% de la ligne de semis.



**Figure 7** – Symptôme de fusariose sur un épi de blé (Photo personnelle, Maule, 2014).



**Figure 8** – Observation d'un liseré rose-orangé sur un épillet de blé due à la sporulation de *F. graminearum* (Photo personnelle, Maule, 2014).

Ces deux notations dépendent directement de la précocité de la variété et des conditions climatiques.

#### 4.2 Symptômes et méthodologie de notation de la maladie FHB

Les premiers symptômes de FHB se caractérisent par la présence d'une décoloration d'un ou plusieurs épillets puis se déshydratent. La décoloration est progressive et s'étend aux épillets voisins en suivant le sens de l'alimentation nutritive de l'épi (Figure 7). Lors d'une sporulation abondante, nous observons un liseré rose-orangé sur les bords des glumes des épillets infectés (Figure 8). Ces symptômes sont visibles deux à trois semaines après floraison.

Pour noter correctement la FHB, dont les symptômes évoluent en fonction de la somme de températures après infection, des groupes de notation prenant en compte la précocité des variétés ont été constitués. Initialement, ces groupes de notation sont déterminés par la date de floraison des variétés. Cependant, à cause des conditions froides du mois de mai (inférieur à 15°C), la notation de la floraison a été difficile, voire incorrecte. Ainsi, les groupes de notations ont été définis à partir de la date d'épiaison, à laquelle il a été rajouté la somme de température de 70°C jour pour obtenir une date estimée de la floraison, permettant de constituer 7 groupes de notations. La notation a été déclenchée quand la somme de température était entre 418 et 556 degrés-jour pour la première note et 456 et 603 degrés-jour pour la deuxième note. Les notes sont effectuées selon une méthode de comptage qui consiste à dénombrer le pourcentage d'infection de l'épi sur 25 épis consécutifs par variété.

### 5. Analyses statistiques des données phénotypiques

Les notations de FHB effectuées sur les 720 parcelles constituent la matrice de données de phénotypage. Des analyses de variance (ANOVA) ont été effectuées sur cette matrice, avec le logiciel R, afin de déterminer le contrôle des effets terrains, de valider l'évaluation des témoins et les groupes de notations ainsi que de définir un classement variétal vis-à-vis de la sensibilité à l'infection par *F. graminearum*. Les conditions de normalité, d'homoscédasticité et d'indépendance des résidus ont été vérifiées pour l'application de l'ANOVA, et les effets principaux sont jugés significatifs si la valeur de probabilité (p-value) est supérieure au seuil de 5% (Annexe III). De plus, nous avons appliqué une transformation des données brutes par cotation afin de pouvoir comparer les données entre les différents sites d'expérimentation (INRA et Maule), mais également pour s'affranchir d'un effet du groupe de notation sur la note attribuée aux variétés et pouvoir établir un classement. Cette cotation est réalisée selon la méthodologie du CTPS qui consiste à attribuer une note sur une échelle de 1(variété sensible) à 9 (variété résistante) selon le pourcentage d'attaque de la variété. L'attribution de la note est guidée par les témoins de références, qui sont bien caractérisés pour leur réponse à la FHB.



## 6. Démarche de la génétique d'association (GWAS)

### 6.1 *Principe général et Concepts de base*

Inspirée de l'épidémiologie génétique humaine, la génétique d'association (Genome Wide Association (GWAS)) est une méthode d'analyse génétique visant à identifier des polymorphismes de séquence responsable de variations de nature qualitative ou quantitative d'un caractère donné au sein d'une population. Ainsi, la GWAS compare la distribution des allèles chez les individus d'une population qui sont apparentés ou non.

La structure de la population d'étude et le déséquilibre de liaison sont les concepts de base sur lesquels repose la GWAS ; ils sont explicités dans les paragraphes suivants. Prendre en compte dans l'analyse la structure et le déséquilibre de liaison dans la population limite les fausses associations, c'est-à-dire des marqueurs qui semblent statistiquement liés à des QTLs dont nous connaissons la fonction biologique, alors qu'ils ne le sont pas en réalité.

### 6.2 *Données de Génotypages*

Partenaire du projet Breedwheat, les équipes de Biogemma et de l'INRA de Clermont Ferrand ont élaboré une puce à ADN comportant 420000 marqueurs SNP. Sur cette puce, nous retrouvons 124 gènes majeurs, 9570 gènes candidats, 140 000 marqueurs de zones intergéniques et 14000 marqueurs SNP issus d'autres projets de recherche. Les gènes majeurs sont liés à la précocité variétale, l'efficacité de la nutrition azotée, les stress biotiques et abiotiques, et le développement du grain. La couverture du génome par l'ensemble des marqueurs SNP représente 38% du génome A, 41% du génome B et 22% du génome D.

Le génotypage a été réalisé avec la technique d'Affymetrix à l'aide des automates Biomek FXp et Gene Titan.

A ce jour, il nous a été possible de traiter 79000 marqueurs pour lesquels une information de cartographie génétique était disponible pour la GWAS; les premières données ayant été publiées en juin 2014.

### 6.3 *Déséquilibre de liaison*

La notion de déséquilibre de liaison (DL ou LD pour Linkage Disequilibrium) définit une corrélation, non aléatoire, entre les allèles à des loci différents dans une population. Ainsi, le LD permet de mesurer si les allèles ont tendance à être présents ensemble sur le même gamète ou non, lors de la méiose.

La mesure de ce LD est fonction des fréquences haplotypiques et des fréquences alléliques dans une population. Par exemple, dans un cas biallélique, si l'on prend deux loci, A et B, ayant chacun deux allèles, a/a' et b/b' alors la situation d'équilibre de liaison correspondra  $f_{ab}=p_a p_b$ , où  $f_{ab}$  est la fréquence haplotypique et  $p_a, p_b$  le produit des fréquences alléliques. Si cette fréquence haplotypique ( $f_{ab}$ ) n'est pas égale au produit des fréquences alléliques ( $p_a, p_b$ ) alors nous sommes en déséquilibre de liaison. Ainsi, le LD traduira la différence entre le



produit des fréquences alléliques attendues et la fréquence haplotypique observée, d'où  $D_{AB} = f_{ab} - p_a p_b$ .

En pratique, deux mesures normalisées, le  $D'$  et le  $r^2$ , sont utilisées pour permettre la comparaison des valeurs entre plusieurs paires de loci. La plus fréquente est le  $r^2$ , correspondant au coefficient de corrélation entre les allèles de loci bialléliques et calculée de manière suivante :  $r^2 = D^2 / (p_a p_a' p_b p_b')$ . Ce coefficient varie entre 0 et 1 et peut être interprété en termes de prédiction. C'est-à-dire que si un allèle à un locus donné permet de prédire un second allèle à un deuxième locus alors il y a déséquilibre de liaison entre ses deux allèles. Donc, nous pouvons dire que la valeur du  $r^2$  renseigne sur le degré de déséquilibre entre paires d'allèles et que l'étendue du LD renseigne sur la distance entre paires d'allèles qui sont en déséquilibre. Cette distance est variable, car elle est influencée par le taux de recombinaison. En effet, le taux de recombinaison est irrégulier sur le génome, faisant apparaître des segments chromosomiques moins fréquemment soumis à la recombinaison. Ces zones vont alors présenter une forte valeur de LD.

À partir de la matrice de génotypage détaillée, la valeur et l'étendue du LD sont obtenues à l'aide du logiciel TASSEL et de la fonction graphique du logiciel R. L'étude du LD est réalisée pour chaque chromosome homéologue du génome du blé, soit 21 analyses.

#### *6.4 Structuration de la population d'étude*

L'histoire démographique d'une population a des répercussions directes sur les fréquences alléliques des individus de la population. En effet, les pressions évolutives telles que la domestication, le mélange de population, la sélection, et la dérive génétique modifient la répartition des allèles puisqu'elle ne se fait plus de façon aléatoire, mais bien de façon corrélée aux groupes génétiques. Nous appelons stratification d'une population l'existence de groupes génétiquement différents. Ainsi, au sein de la population il peut exister des sous-populations aux fréquences alléliques différentes, qui augmentent ou réduisent le LD entre un marqueur et le « vrai » QTL, ce qui augmente le nombre de résultats faux positif. Pour limiter ce nombre, nous utilisons l'information portée par les marqueurs neutres, mais également le pedigree, pour inférer la structure de la population.

Dans notre cas, la population d'étude représente les 220 variétés du panel Breedwheat. L'appréhension de sa structure a été déterminée par une analyse en composante principale (ACP) et un dendrogramme, avec l'appui du sélectionneur de SECOBRA connaissant le pedigree de la majorité du panel. Ces deux analyses ont été faites à partir de 1500 marqueurs SNP de type ISBP qui représentent 85% du génome du blé, et qui sont distribués de façon homogène le long des chromosomes avec une forte densité, et un fort taux de polymorphisme (Choulet, 2014)

La matrice des ISBP est convertie en fréquence allélique à partir de laquelle sont réalisés l'ACP et le dendrogramme à l'aide du package FactomineR et de la fonction hclust du logiciel R.





### 6.5 Modèles statistiques d'association

L'analyse des relations entre les données de génotypage et de phénotypage se fait à l'aide de modèles statistiques ayant comme hypothèse nulle  $H_0$  = « il n'existe aucune association entre les marqueurs et la variation phénotypique ».

Sous cette hypothèse, les modèles statistiques vont tester des milliers de fois l'association Génomotype-Phénotype. Les valeurs de probabilité (p-value) de ces tests multiples doivent être uniformément distribuées entre 0 et 1. Cette distribution est observée sous un diagramme quantile-quantile (ou QQplot), représentant les p-values attendues en fonction des p-values observées. Les p-values sont souvent traduites en échelle logarithmique améliorant la lisibilité de la distribution. La vérification de ces diagrammes permet de valider ou non le modèle statistique employé.

Deux types de modèle statistiques ont été utilisés dans cette étude :

- le modèle linéaire général (GLM)

Ce modèle s'écrit :  $y = \mu + \alpha_m + e$  où  $y$  représente le phénotype,  $\mu$  la moyenne,  $\alpha_m$  est la variation génétique des marqueurs et  $e$  est la résiduelle aléatoire.

- le modèle linéaire mixte (MLM)

Ce modèle s'écrit :  $y = \mu + \alpha_m + K + e$  où  $y$  représente le phénotype,  $\mu$  la moyenne,  $\alpha_m$  est la variation génétique des marqueurs,  $K$  la matrice d'apparentement entre les individus et  $e$  est la résiduelle aléatoire. La matrice d'apparentement  $K$  est calculée à partir des IBS et générée sous le logiciel TASSEL.

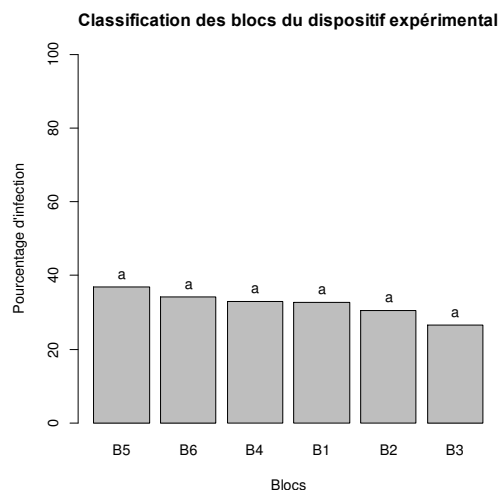
Dans cette étude, le seuil de significativité des associations est de 5% soit  $P < 0,05$  et  $-\text{Log}P > 1,30$ . Ce seuil a été choisi sur la base de la publication de Hao et *al.*, 2012 et de Bordes et *al.*, 2014, qui utilisent les mêmes outils d'analyse concernant des études sur le blé.

**Tableau II** – Résultat ANOVA de l'effet Bloc sur le taux d'infection des trois témoins. SCE : Somme des Carrés des Ecartés ; CM : Carré Moyen ; F : loi de Fischer ; Pr : Probabilité.

	Degré de liberté	SCE	CM	F	Pr(>F)
Blocs	5	54	10.89	0.053	0.998
Residuals	52	10634	204.50		

**Tableau III** – Taux d'infection moyen de chaque témoin dans chacun des blocs du dispositif expérimental, exprimé en pourcentage (%).

Blocs	APACHE	CHARGER	RENAN
B1	32,59	49,64	16,52
B2	32,04	50,97	16,13
B3	22,88	54,51	14,60
B4	26,94	52,40	13,37
B5	31,66	47,47	18,33
B6	28,44	44,54	19,17



**Figure 9** – Taux d'infection moyen de chaque bloc du dispositif expérimental, exprimé en pourcentage (%), classé selon le test de Tuckey à l'issue d'une ANOVA.

### ***III. Résultats***

#### ***1. Analyse des données de phénotypages :***

Le dispositif expérimental a été conduit sur 10 mois pendant lesquels divers travaux culturaux ont été appliqués pour optimiser les observations des symptômes de la fusariose de l'épi (FHB). Cependant au cours de l'étude une erreur au niveau du dispositif a été commise, en effet la variété ROYSSAC, témoin dans ce dispositif, a été remplacée par la variété BOREGAR. Ainsi, nous avons 3 témoins au lieu de 4, ce qui ramène la population d'étude à 219 variétés au lieu de 220.

L'observation de la FHB a été effectuée sur 25 épis consécutifs de la même variété à deux dates différentes sur chacune des 3 répétitions : la première en début d'infection, soit trois à quatre semaines après inoculation ; et la seconde avant maturation des grains. Une moyenne des 25 observations de chaque date a été effectuée pour constituer les notes 1 et 2, représentant le pourcentage moyen d'infection observé par variété aux dates 1 et 2. Étant donné que la deuxième notation permet de mieux discriminer les variétés entre elles, il sera uniquement évoqué les résultats sur cette dernière. Cependant, les analyses évoquées sont reproduites de manière identique sur la première notation.

##### ***1.1 Vérification de l'effet terrain :***

Le dispositif expérimental a été construit en blocs complets, au sein duquel les variétés ont été placées aléatoirement. La division du dispositif en 6 blocs de précocité variétale différente a deux objectifs : évaluer la FHB au bon stade de développement des blés ; et contrôler l'hétérogénéité du terrain. Cet effet terrain a été vérifié sur les 3 témoins du dispositif, nommé APACHE, CHARGER et RENAN, et qui sont répétés dans les 6 blocs.

L'ANOVA présentée sur le Tableau II, montre l'effet principal des blocs sur le taux d'infection des témoins. Le Tableau III présente le taux d'infection moyen par témoin en fonction du bloc.

Après vérification des conditions d'application à une analyse de variance (Annexe III), les résultats de l'ANOVA montrent qu'il n'y a pas d'effet bloc sur le taux d'infection des témoins, indiquant que l'hétérogénéité du terrain a été correctement maîtrisée. Le classement des 6 blocs les positionne au sein d'un seul et même groupe de notation (Figure 9). Par conséquent, nous pouvons traiter les 6 blocs du dispositif ensemble pour la suite de l'analyse des données phénotypiques.

**Tableau IV – Résultat ANOVA de l’effet de la date de notation sur le taux d’infection de chaque témoin du dispositif expérimental. SCE : Somme des Carrés des Ecarts ; CM : Carré Moyen ; F : loi de Fischer ; Pr : Probabilité.**

	Degré de liberté	SCE	CM	Résiduelle	F	Pr(>F)
APACHE	5	202.2	40.44	17.45	2.317	0.121
RENAN	5	71.66	14.33	10.27	1.395	0.299
CHARGER	1	39.76	39.76	16.51	2.409	0.143

**Tableau V – Taux d’infection moyen de chaque témoin du dispositif comparé à la cotation officielle du CTPS. L’échelle de cotation s’étend de 1 (sensible) à 9 (résistant).**

	Pourcentage moyen d'infection (2 <sup>ème</sup> note)	Ecart type moyen	Cotation officielle du CTPS
APACHE	29,06	5,01	7
CHARGER	49,65	4,24	2
RENAN	16,34	3,39	6,5

**Tableau VI – Résultat de la régression linéaire sur le taux d’infection moyen en fonction de la date de floraison. T : loi de Student ;Pr : Probabilité ; R<sup>2</sup> : Coefficient de détermination.**

	Estimation standard	Résiduelle	T	Pr(> t )
Date de floraison	0.6950	0.1246	5.578	3.69e-08***
R <sup>2</sup>	0.04922,			
R <sup>2</sup> ajusté	0.04763			
Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1				

### 1.2 Validité des témoins :

Afin de valider la cohérence de la deuxième notation de fusariose sur l'ensemble des 219 variétés, une vérification de la contamination des témoins est réalisée en termes de comportement variétal par rapport à la cotation donnée par le CTPS lors de l'inscription et d'un effet de la date de notation sur les notes.

Le Tableau IV, montre les résultats de l'effet de la date de notation sur le taux d'infection de chaque témoin. Le Tableau V décrit le taux d'infection moyen enregistré comparé à la notation officielle du CTPS.

Pour chaque témoin, l'ANOVA montre qu'il n'y a aucun effet de la date de notation sur le taux d'infection enregistré.

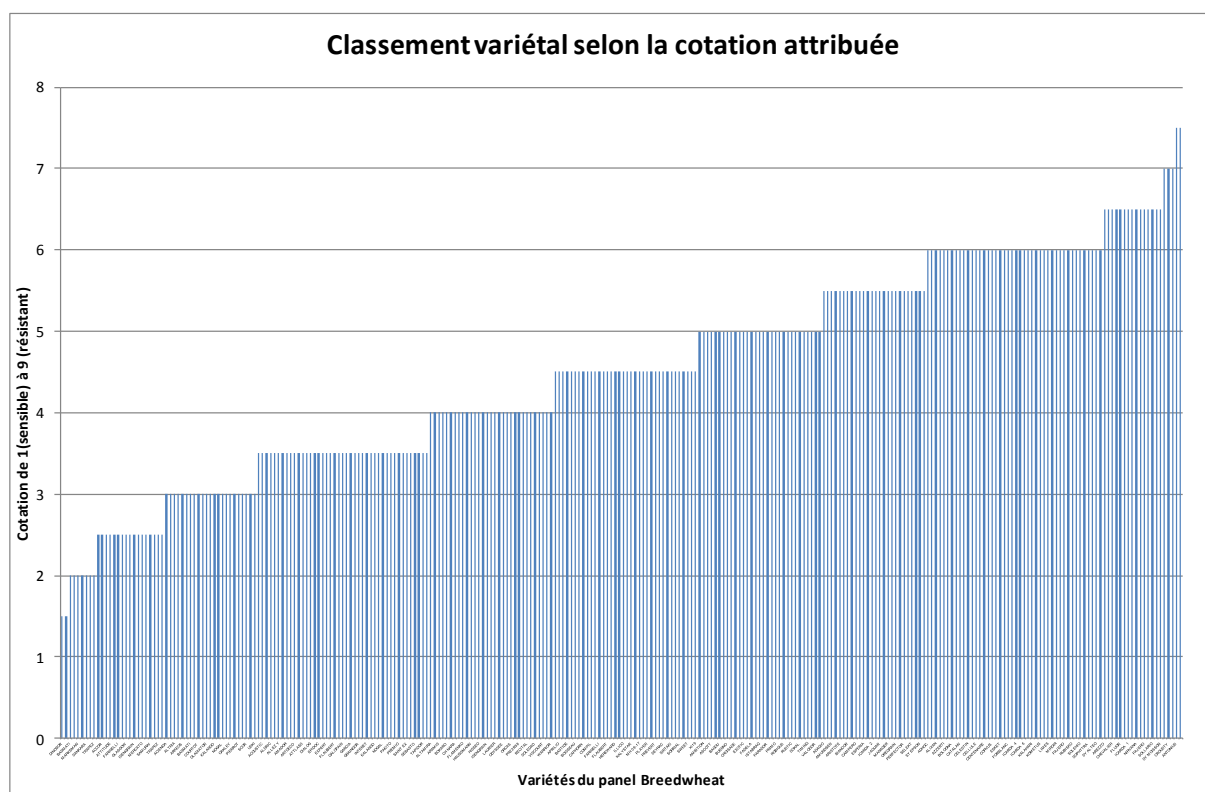
Concernant la sensibilité des témoins, nous pouvons voir que les variétés APACHE et RENAN sont parmi les variétés les plus résistantes puisque leurs taux d'infections sont faibles avec 29 et 16% respectivement, et que ces résultats sont en accord avec la cotation officielle du CTPS avec une cote de 7 et 6,5. La variété témoin la plus sensible est CHARGER avec un taux d'infection de 49% en moyenne, ayant une cotation de 2 au CTPS. Par conséquent, le comportement des témoins vis-à-vis de l'infection à *F. graminearum* est conforme aux attentes, et traduit une contamination correcte du dispositif expérimental.

### 1.3 Cotation et classification variétale

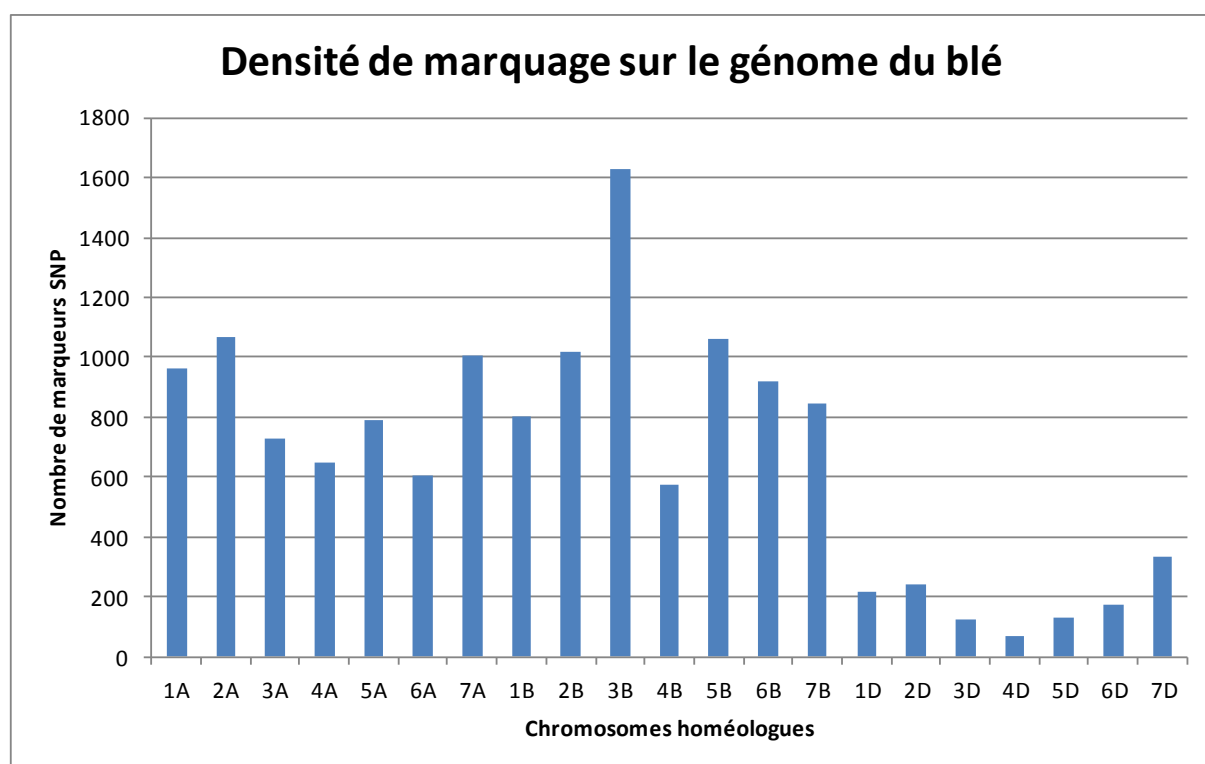
Prenant en compte la date de floraison des variétés, un effet des groupes de notation sur le taux d'infection enregistré est prévisible. Le Tableau VI présente les résultats de la régression linéaire appliquée sur le pourcentage d'infection en fonction de la date de floraison des variétés. Un effet significatif ( $P < 0.05$ ) de la date de floraison sur le taux d'infection est présent dans l'analyse avec une p valeur de  $3.69 \times 10^{-8}$  sans que cet effet soit positivement corrélé ( $R^2 = 0,05$ ).

Ainsi, ces résultats confirment que la précocité des variétés influence le niveau d'attaque du champignon et qu'il y a une adéquation entre son cycle de développement et la période de floraison des variétés. Plus une variété sera précoce ou très tardive dans notre essai, moins elles seront attaquées par le champignon, car sa floraison est en dehors de la période d'attaque optimale du pathogène.

Par conséquent, pour s'affranchir de l'effet de la précocité sur les notations du panel variétal, des groupes de notations ont été déterminés initialement et une cotation des variétés en fonction du pourcentage moyen d'infection a été appliquée pour chaque groupe (Annexe V). Basé sur cette cotation, le traitement de l'ensemble des variétés entre elles est possible ainsi qu'un classement de sensibilité vis-à-vis de FHB. La classification des variétés en fonction de la cotation attribuée, présentée sur la Figure 10, montre une large gamme de réponses vis-à-vis de *F. graminearum* puisque les cotations s'étendent de 1,5 (sensible) à 7,5 (résistant). Nous remarquons que la distribution est continue et qu'il y a la présence de deux grands groupes ayant un comportement antagoniste avec 44 variétés présentant une résistance



**Figure 10** – Classement des 220 variétés du panel Breedwheat en fonction de la cotation attribuée. L'échelle de cotation s'étend de 1.5 (sensible) à 7.5 (résistant).



**Figure 11** – Densité de marquage sur l'ensemble du génome du blé, issue de la puce à ADN.

importante à FHB avec une cotation supérieure ou égale à 6, et à contrario, 43 variétés montrant une importante sensibilité avec une cotation inférieure ou égale à 3,5.

## 2. Structuration de la population.

Quatorze mille marqueurs SNP de type ISBP ont été sélectionnés pour obtenir la matrice des fréquences alléliques des 220 variétés du panel. Les ISBP sélectionnés permettent de couvrir l'ensemble du génome du blé avec en moyenne 638 marqueurs par chromosome. Néanmoins, nous pourrions noter une faible densité de marquage sur le génome ancestral D avec seulement une moyenne de 184 marqueurs par chromosome (Figure 11). Ces résultats sont jugés suffisants pour entreprendre une Analyse en Composante Principale (ACP) afin de voir la structuration de la population selon les fréquences alléliques des 220 variétés.

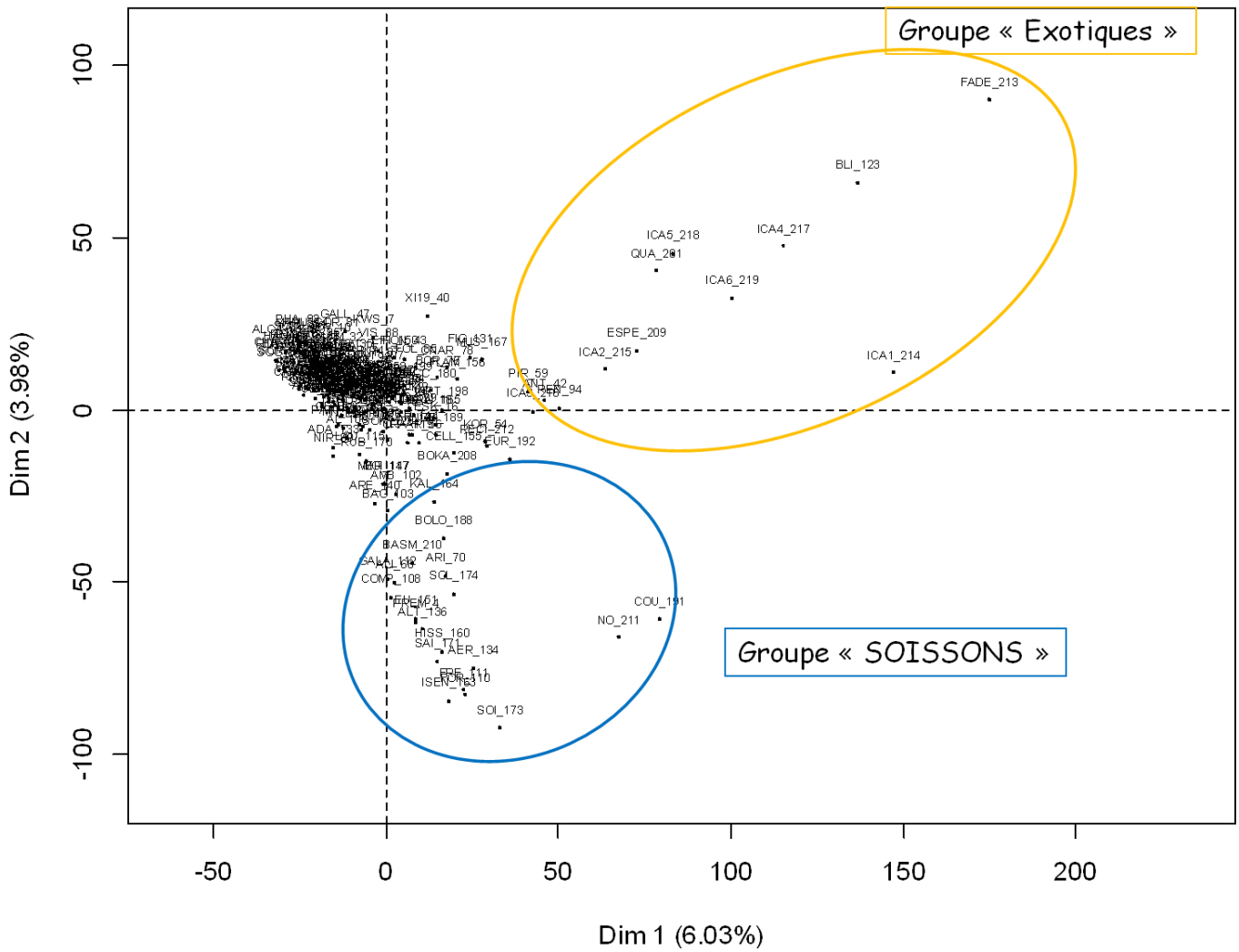
L'ACP présentée en Figure 12 permet d'expliquer 10% de la variabilité totale de la population avec 6% d'inertie en première composante et 4% d'inertie en deuxième composante. D'après le diagramme de l'ensemble des composantes proposées par l'analyse (Annexe IV), les deux premiers axes sont les plus pertinents pour expliquer la variabilité de la population d'étude. Nous remarquons que la population se divise en trois groupes distincts : le premier étant visible sur la première composante, formé de variétés exotiques dont le fond génétique est éloigné du pool européen. Nous appellerons ce groupe : « le groupe Exotiques ». Le deuxième groupe est observable selon la deuxième composante, et représente les variétés issues de croisements avec le parent fondateur SOISSONS. Nous appellerons ce groupe : « le groupe Soissons ». Concernant le reste de la population, elle est regroupée au centre de l'ACP et forme le troisième groupe. Sur la base de ces résultats, nous pouvons dire que la répartition alléliques des deux premiers groupes n'est pas aléatoire et que la variabilité génétique est corrélée au groupes génotypiques. Par conséquent, ces deux groupes ont été enlevés de la population d'étude.

Afin d'être plus précis sur l'apparentement des variétés, un dendrogramme a été réalisé à partir de la même matrice des fréquences alléliques. Au préalable une épuration de la matrice a été faite pour éliminer les marqueurs redondants créant des clusters de gènes dans le génome. En raison du format important du dendrogramme et de la lisibilité des noms des variétés, l'accès au graphique est mis à disposition en annexe VI sur plusieurs pages successives.

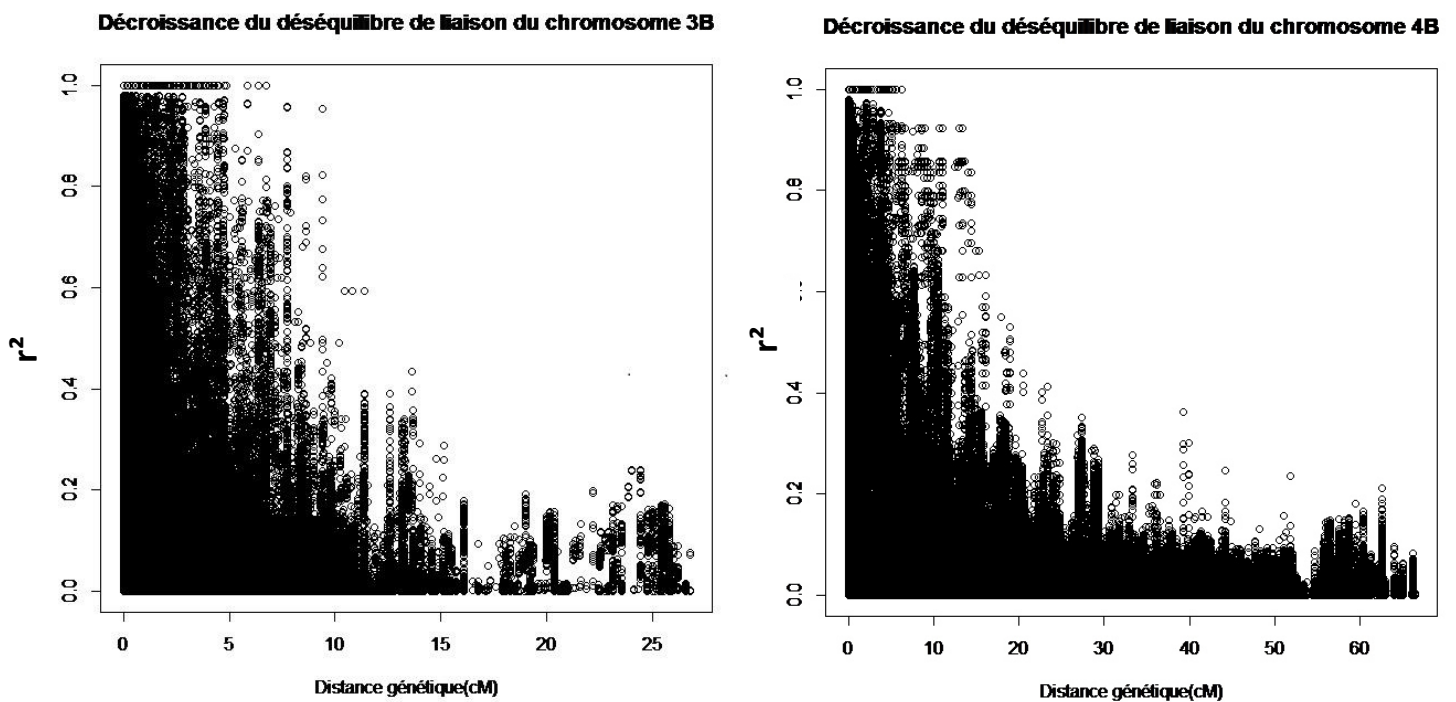
Le dendrogramme permet de repérer les deux premiers groupes mis en évidence par l'ACP. En effet, le groupe Soissons et le groupe Exotiques sont issus d'un embranchement différent du reste de la population, ce qui permet de confirmer la variabilité génétique corrélée aux groupes génotypiques selon une parenté éloignée du reste de la population. Sur le reste de la population, nous pouvons distinguer 6 groupes variétaux aux caractéristiques phénotypiques et/ou ayant un apparentement expliqué par le pedigree.

- Le premier groupe contient la plupart des variétés du panel, issues du parent fondateur APACHE. Ces variétés ont un phénotype marqué avec des gros épis un tallage important, sans aucun gène de nanisme, pour la majeure partie d'entre eux. De plus, le parent fondateur APACHE possède une forte résistance à FHB, coté 7 par le CTPS.

### Individuals factor map (PCA)



**Figure 12 – Analyse en composante principale (ACP) de la population d'étude du programme Breedwheat.**



**Figure 13** – Représentation du déséquilibre de liaison des chromosomes 3B et 4B.



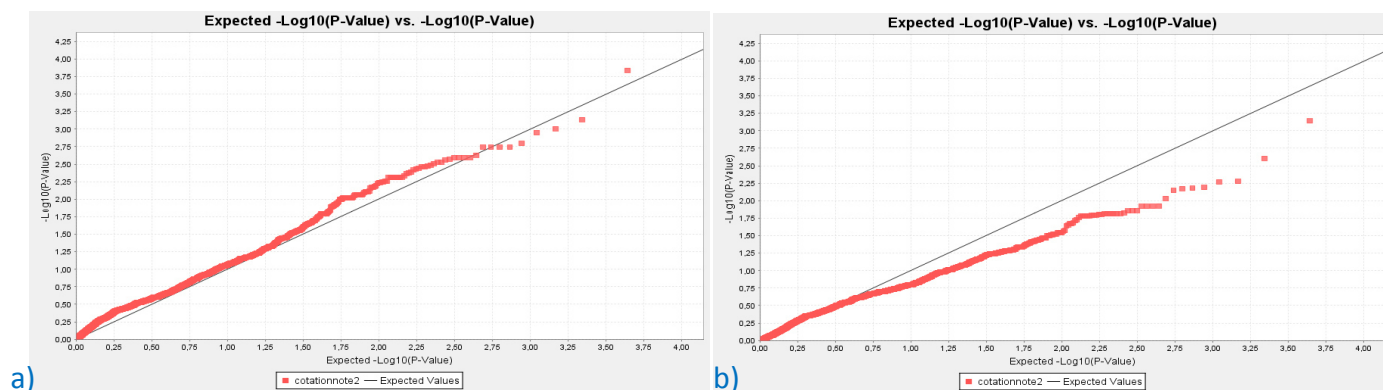
- Les variétés du deuxième groupe sont issues du parent fondateur MOULIN. Les variétés CHARGER, TREMIE et CAPHORN sont les variétés principales de ce groupe où figurent nombre de leurs descendants. Une grande sensibilité à FHB, coté 2 à 3 par le CTPS et la présence du gène *Rht-D1* sont les caractéristiques du groupe.
- Un troisième groupe se distingue par la présence de variétés britanniques. CLAIRE est l'une des variétés principales de ce groupe avec la variété ROBIGUS qui est issu de blés synthétiques.
- Issue d'un fond génétique français, les variétés de cet embranchement constituent un quatrième groupe avec comme variétés principales ANDALOU, PRIMO et CROISADE.
- Le cinquième groupe se caractérise par des variétés plus ou moins hautes, à fond génétique allemand, belge et de l'Europe de l'Est. Les variétés les plus connues sont OXEBO, MANAGER, et EPHOROS.
- Les variétés du sixième groupe ont comme point commun la présence du gène *Pch1* pour la plupart, lié à la résistance au piétin-verse. Ce gène a été introduit dans le pool génétique français à l'aide d'une variété VPM, élaborée par l'INRA dans les années 70 et dérivé du parent ancestral du blé *Aegilops ventricosa*. Les variétés de ce groupe présentent une sensibilité importante à FHB car leur cotation du CTPS est de 2 à 4.

L'analyse de l'apparentement du panel a ainsi permis de connaître la structuration génétique des individus entre eux qui impacte directement la dynamique du déséquilibre de liaison et le nombre de fausse association induite. Issu du même embranchement d'origine, les six groupes identifiés constitueront la population sur laquelle la génétique d'association va être appliquée, d'où une taille de population ramenait à 189 individus.

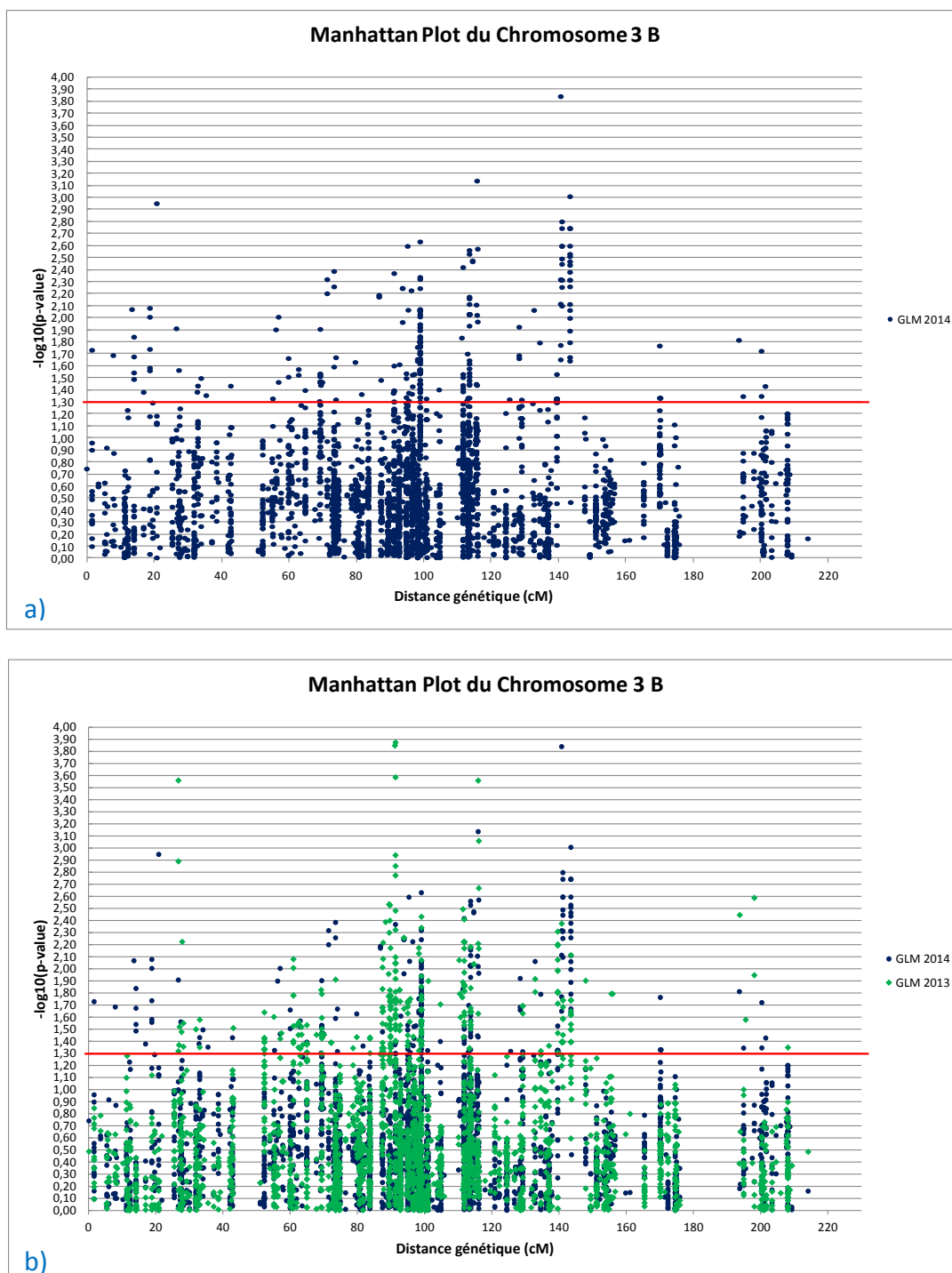
Seuls les résultats de l'étude d'association sur les chromosomes 3B et 4B seront montrés dans ce rapport pour de multiples raisons : 1) de récentes publications ont montrées l'implication de régions chromosomiques appartenant aux 3B et 4B dans la résistance à FHB par analyse d'association génétique, 2) le chromosome 3B possède une forte densité de marquage, 3) le chromosome 4B possède le gène de nanisme *Rht-B1*, avec lequel de nombreuses interactions avec les QTLs de résistance à FHB ont été publiés et 4) le maniement des jeux de données des chromosomes 3B et 4B permettra d'effectuer l'analyse des autres chromosomes de manière plus pertinente.

### 3. Déséquilibre de liaison des chromosomes 3B et 4B

La Figure 13 représentent la décroissance du déséquilibre de liaison (DL) sur les chromosomes 3B et 4B. Nous observons que le DL est décroissant de façon continue en fonction de la distance génétique, et qu'il n'y a pas de forte valeur de DL pour des distances



**Figure 14** – Diagramme du quantile-quantile obtenu sur les données du chromosome 3B avec a) le modèle linéaire général(GLM) et b) le modèle linéaire mixte (MLM).



**Figure 15** – Manhattan plot du chromosome 3B représentant les valeurs logarithmiques négatives en fonction de la distance génétique, obtenues avec le modèle GLM. a) résultats sur les données de 2014 et b) compilation des résultats sur les données de 2014 et 2013

élevées. Pour le chromosome 3B, 67% des marqueurs SNP sont significativement en DL ( $p < 0.05$ ) avec un coefficient moyen de  $r^2 = 0.29$  entre paires de marqueurs voisins. En dessous de 10 cM, le coefficient moyen entre paires de marqueurs est de  $r^2 = 0.04$ . Sur le chromosome 4B, le nombre de marqueurs en DL est plus faible avec 58%, ce qui est cohérent avec la densité de marquage (3279 SNP contre 4394 SNP pour le chromosome 3B). La moyenne du  $r^2$  est de 0.14 entre paires de marqueurs voisins avec une forte décroissance à partir de 20cM avec en moyenne un  $r^2 = 0.03$  en dessous de cette distance.

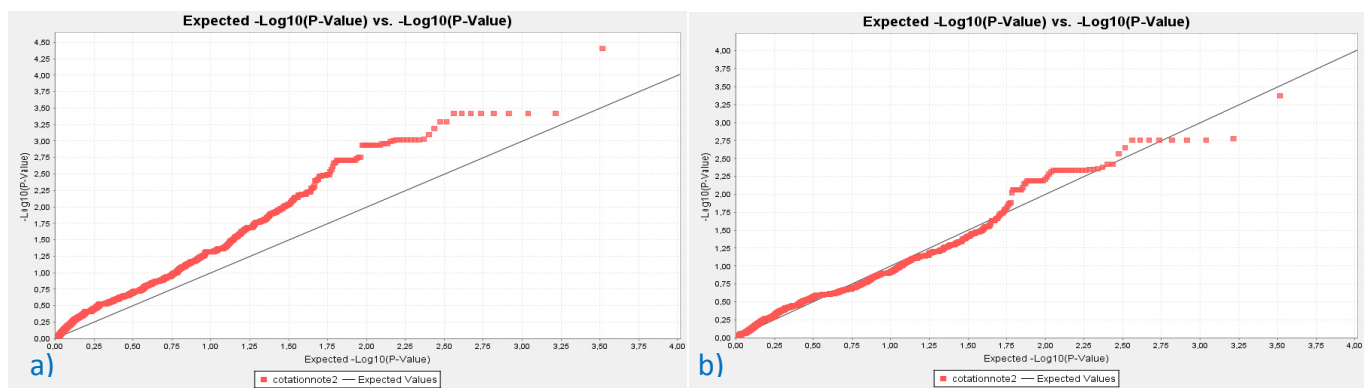
#### 4. Résultats d'association génétique sur le chromosome 3B

Plusieurs modèles statistiques ont été testés sur les données génotypiques et phénotypiques du panel Breedwheat. A l'aide du diagramme quantile-quantile, ou QQplot en anglais, présenté par la Figure 14, nous pouvons vérifier la validité des modèles. Les diagrammes montrent la distribution des valeurs de probabilités attendues (expected p-value) sur une échelle logarithmique négative en fonction des valeurs de probabilités observées, également en échelle logarithmique négative. La diagonale représente la distribution sous l'hypothèse nulle qu'aucun marqueur SNP n'est associé au caractère étudié. Sur la Figure 14, nous observons que le modèle linéaire général (GLM) est plus adapté que le modèle linéaire mixte (MLM) prenant en compte l'apparement des variétés, car les p valeurs du modèle GLM suivent la diagonale de distribution sous l'hypothèse nulle. Avec le MLM, nous observons une nette déviation de la distribution des p-valeurs, ce qui suggère que ce modèle statistique n'est pas valide et que les associations données par ce modèle ne sont pas fiables. En revanche, avec le modèle GLM, nous pouvons noter que quelques marqueurs s'écartent de la diagonale quand les p-valeurs espérées sont élevées. Ainsi, ces déviations à la diagonale traduisent que ces quelques marqueurs sont associés au phénotype. Contrairement à ce que l'on pouvait attendre, ce résultat montre qu'il est plus pertinent de ne pas prendre en compte l'apparement des variétés entre elles pour obtenir des associations génétiques fiables sur le chromosome 3B.

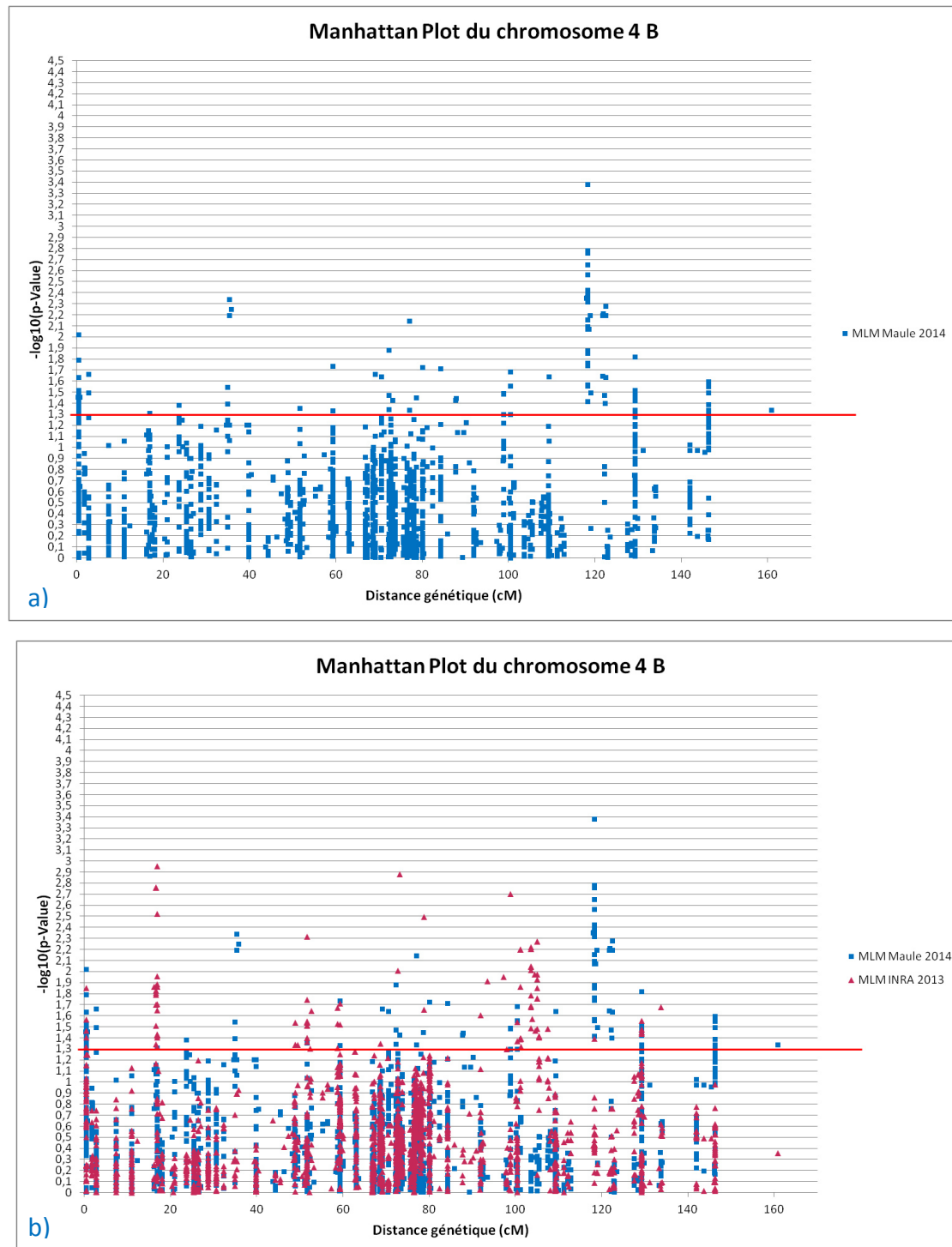
Après validation du modèle statistique, nous pouvons désormais nous intéresser aux marqueurs SNP associés à la fusariose et par conséquent aux régions chromosomiques impliquées dans la résistance à la fusariose.

Le Manhattan plot, présenté en Figure 15, permet de représenter les associations des marqueurs SNP selon leur position génétique le long du chromosome en fonction des p-valeurs exprimés en logarithmique négative. Dans notre cas, une association a été jugée significative au seuil de 5%, soit  $-\text{Log}P > 1,30$  et  $P < 0,05$ .

L'analyse GLM permet de trouver 247 associations significatives, soit 5,6% de marqueurs SNP associés à la fusariose sur le chromosome 3B avec des valeurs logarithmiques allant de 1,30 à 3,83. Quarante-deux pour cent des associations se trouvent aux alentours de 99 à 111 cM, et 19% à une distance de 114cM. Trois marqueurs (AX-89453826, AX-89583468, AX-89475919) sont hautement significatifs avec des  $-\text{Log}P = 3,84$  ; 3,14 et 3,01 et situés à 21, 140 et 116 cM respectivement. Ces marqueurs expliquent 9, 7 et 5% de la variance phénotypique observée.



**Figure 16** – Diagramme du quantile-quantile obtenu sur les données du chromosome 4B avec a) le modèle linéaire général (GLM) et b) avec le modèle linéaire mixte (MLM).



**Figure 17** – Manhattan plot du chromosome 4B représentant les valeurs logarithmiques négatives en fonction de la distance génétique, obtenues avec le modèle MLM. a) résultats sur les données de 2014 et b) compilation des résultats sur les données de 2014 et 2013

De plus, la comparaison avec les données de l'INRA de 2013 effectué dans un environnement différent a été réalisée avec le même modèle GLM. Cette comparaison permet d'obtenir les mêmes zones chromosomiques associées avec les p valeurs plus élevées. Quatre cent trente-sept associations significatives ont été trouvées avec 22,6% des associations situées à 99-111cM, 4% situées à 113 cM et 11% situées à 140 cM (Figure 15).

## 5. Résultat d'association génétique sur le chromosome 4B

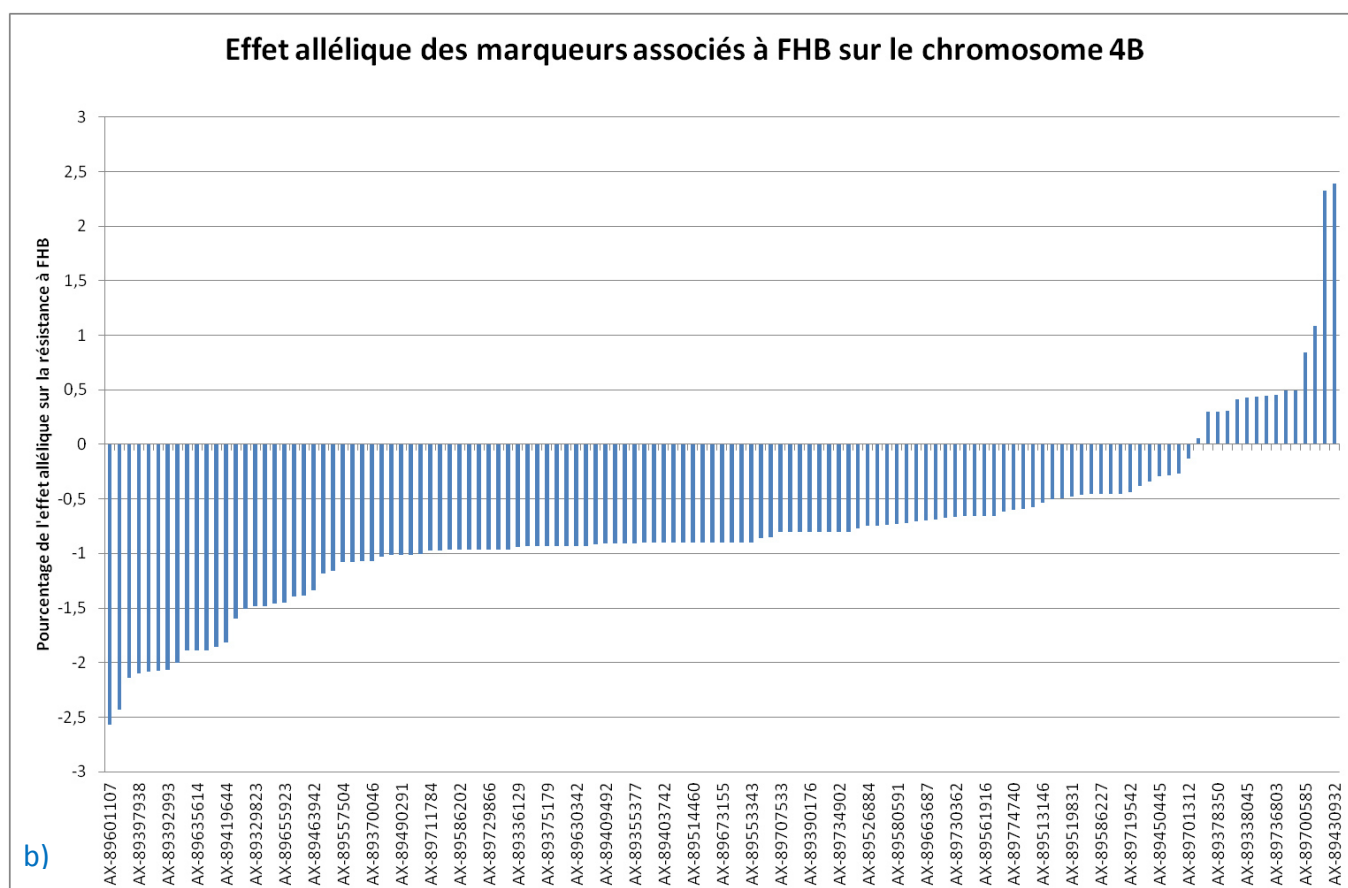
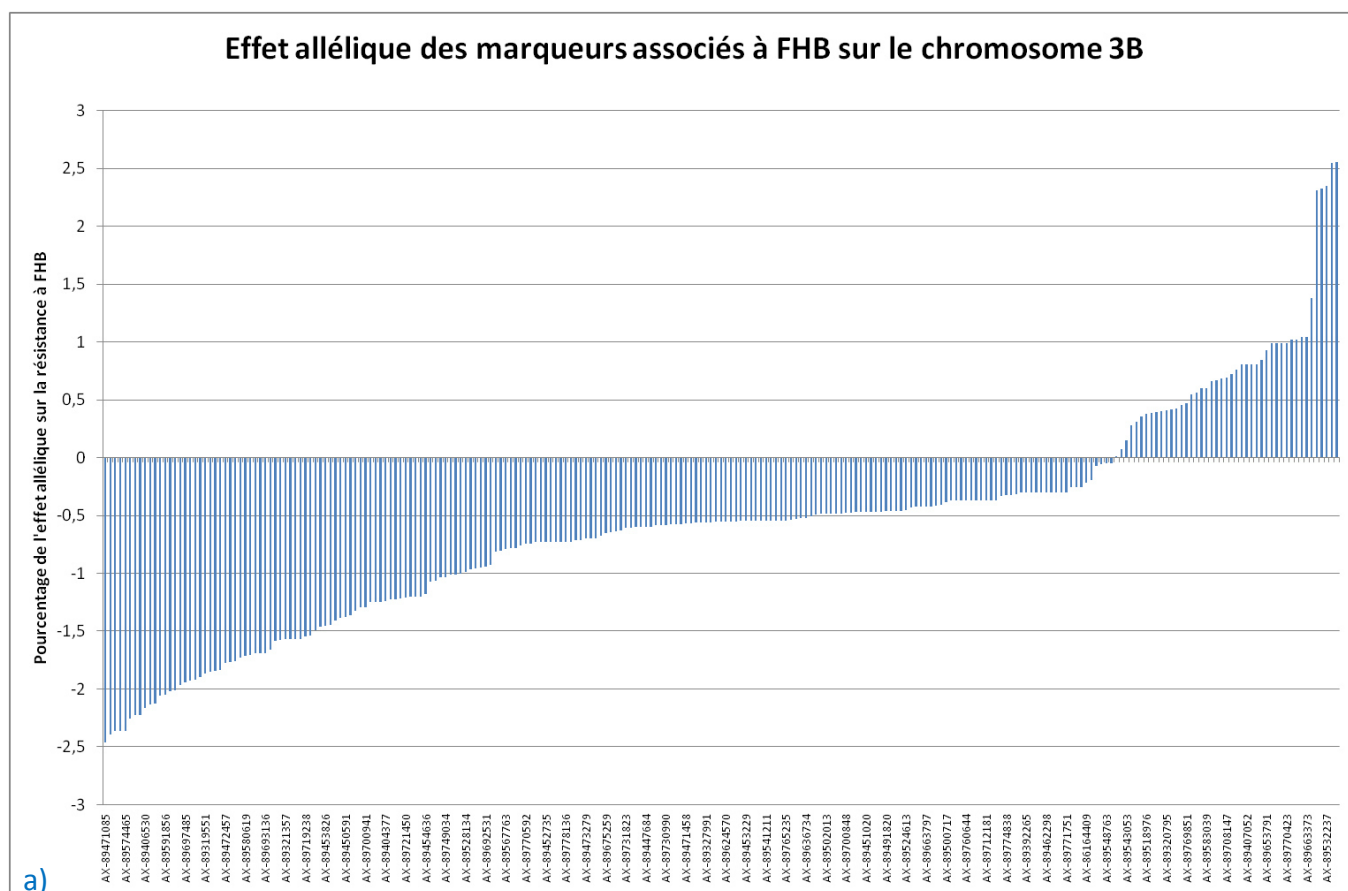
L'observation des QQ plot, représentés sur la Figure 16, permet de valider le modèle MLM pour l'analyse des données du chromosome 4B. La distribution des p valeurs du modèle MLM suit la diagonale sous l'hypothèse nulle, avec quelques marqueurs déviés lors de forte p-valeurs espérées. Le modèle MLM est donc retenu.

Le Manhattan plot, présenté en Figure 17, nous permet de distinguer trois zones chromosomiques associées au caractère. Cent vingt-sept associations significatives sont trouvées avec 36% des marqueurs associés aux alentours de 118 cM, 9% aux alentours de 70-87 cM, et 13% situés entre 0 et 2 cM. Les associations sont plus faibles, car les valeurs logarithmiques vont de 1,30 à 3,37. Toutefois, la proportion de variances phénotypiques expliquée par marqueurs associés varie de 2 à 9%. Il est couramment estimé (J.Bordes, communication personnelle) qu'à partir de 5% d'explication de la variance phénotypique, les marqueurs associés sont jugés très intéressants à étudier de façon plus spécifique.

La comparaison avec les données de l'INRA de 2013 ne permet pas de retrouver les mêmes zones chromosomiques associées. En effet, 151 associations sont trouvées sur trois zones majeures situées à 16, 51 et 100-103 cM avec 23, 18, 23,4% de marqueurs associés, respectivement. Les associations sont faibles puisque l'association la plus significative a une valeur logarithmique de  $-\log P=2,95$  (figure 17).

## 6. Effet allélique des marqueurs associés

Les analyses GLM et MLM ont également permis d'obtenir l'information de l'effet allélique des marqueurs associés au phénotype. En effet, sur la Figure 18, nous pouvons voir que 82 et 88% des marqueurs associés à la résistance à la fusariose sur le chromosome 3B et 4B respectivement ont un allèle à effet négatif sur la résistance. Nous pouvons voir que la majorité des allèles ont un effet défavorable inférieure à 1% sur la résistance des variétés à FHB mais certains allèles peuvent avoir jusqu'à 2,5% d'effet négatif sur la résistance. Néanmoins, quelques allèles favorables sont présents, avec un bénéfice maximum de 2,5%, ce qui représentent 4 et 1,5% des marqueurs associés sur les chromosomes 3B et 4B respectivement.



**Figure 18 – Histogramme des effets alléliques des marqueurs associés à la résistance à FHB sur a) le chromosome 3B et sur b) le chromosome 4B**



## **IV. Discussion**

### **1. Variabilité du caractère étudié**

La fusariose de l'épi de blé est un caractère complexe à étudier tant vis-à-vis des paramètres environnementaux favorisant l'infection, que du timing très précis permettant la notation de la fusariose. La conduite de l'essai expérimental de Maule a permis d'optimiser les attaques du pathogène sur les épis de blés puisque le système de brumisation a maintenu une humidité élevée lors de la période de floraison des blés. Au cours de cette période, les températures froides et les pluies du mois de mai ont rallongé de 5 à 6 jours le cycle de floraison causant des imprécisions sur les notations. De plus, malgré la disposition en bloc de précocité, le stade de floraison des variétés n'a pas été correctement identifié ce qui a entraîné une difficulté sur la constitution des groupes de notation pour la fusariose.

Concernant la contamination artificielle de l'essai, elle a été jugée correcte selon le comportement infectieux des 3 témoins répétés sur l'ensemble du dispositif. Ainsi, nous pouvons supposer que la préparation de l'inoculum a bien été réalisée et que le processus de congélation n'a pas totalement altéré les spores, laissant au minimum 50% de spores viables lors de l'aspersion. Cependant, les conditions de préparation de l'inoculum sont à améliorer puisque 10 à 20% des boîtes inoculées n'ont pas eu de sporulation. Des paramètres de la chambre d'incubation sont principalement en cause : l'alternance jour/nuit de 12h a été installée en cours de culture, et il n'a pas été possible de retirer les caches des néons pour raison de sécurité. De plus, le pH des milieux de culture n'a pas été ajusté lors de la fabrication des milieux. Néanmoins, la qualité de spores produites a été suffisante pour inoculer l'ensemble du dispositif.

L'analyse des 3 témoins a également permis de valider le contrôle de l'hétérogénéité du terrain. Les six blocs de précocité ont pu être traités de la même façon, mais pas les groupes de notations de la fusariose. En effet, nous avons vu que la précocité des variétés avait un impact important sur la notation de la fusariose. Cet effet a été corrigé par la méthodologie de notation, en vigueur au CTPS, pour l'inscription des variétés au catalogue officiel. Ainsi, la comparaison des variétés entre elles a été possible et un classement variétal a été établi. Ce classement nous a permis de voir que les réponses vis-à-vis du pathogène sont très variables selon les variétés, ce qui confirme la nature quantitative de la résistance à FHB et que ce caractère est assez peu héritable, comme énoncé par Miedaner et ses collaborateurs, en 2011.

### **2. Stratification de la population d'étude**

Face au comportement variable des variétés vis-à-vis de FHB, l'étude de diversité génétique sur le panel Breedwheat a tenté de regrouper les variétés en catégorie ayant un ou des dénominateurs communs afin de mieux appréhender la structure génétique de la population. Pour cela, les marqueurs ISBP sont jugés comme marqueurs neutres et composent plus de 80% du génome du blé, d'où l'assurance d'une bonne couverture sur l'ensemble du





génomique. Dans notre cas, seul le génome ancestral D a une couverture insuffisante qui s'explique par l'origine de ce génome provenant du blé ancestral diploïde *Aegilops tauschii*, dont on a peu d'information sur la structure génétique. Néanmoins, ce constat est en accord avec les études quantitatives réalisées sur le blé (Buerstmayr *et al.*, 2009). Les résultats de l'ACP ont mis en évidence l'existence de trois groupes comme étant génétiquement éloignés avec une variabilité génétique corrélée aux groupes d'individus et non de façon aléatoire. Le premier groupe concerne des variétés Exotiques, non cultivées en Europe. Ces variétés sont syriennes, destinées à des terroirs aux sols asséchant avec des précocités avancées, de type blé de printemps d'où une croissance rapide, sans sensibilité à la photopériode. Le deuxième groupe est issu d'une variété fondatrice : SOISSONS. Cette variété a été inscrite en 1988 par l'obteneur Florimond Desprez, et provient de fond génétique américain. Les variétés issues de croisement avec cette variété ont conservé une partie du fond génétique américain, malgré leur adaptation aux conditions climatiques et culturelles françaises puisque les marqueurs IBSP mettent en relief une variabilité génétique fortement corrélée aux individus de ce groupe.

Au vu des résultats de l'ACP, il semble évident d'écarter les deux groupes identifiés de l'analyse GWAS. Cependant, l'élimination du groupe SOISSONS interroge puisque ce groupe représente une grande partie des ressources génétiques françaises, utilisé aujourd'hui par les sélectionneurs comme géniteurs pour les futures variétés. De plus, la variabilité en termes de sensibilité à la FHB semble être intéressante dans ce groupe, car l'étendue des réponses à FHB semble proche de celle observée sur le reste de la population.

Malgré que l'inertie de l'ACP explique uniquement 10% de la variabilité de la population totale, les marqueurs IBSP montrent bien une différence des fréquences alléliques de ce groupe par rapport au reste de la population. Par conséquent, inclure ce groupe dans l'analyse GWAS augmenterait la probabilité de fausses associations. Au final, nous avons pris le parti de limiter le risque des fausses associations en éliminant les deux groupes génétiquement éloignés de l'étude. Toutefois, la mise à l'écart des deux groupes ramène la taille de la population d'étude pour une analyse GWAS à 189 individus. Cette taille de population a pour conséquence directe une diminution de la puissance des associations obtenues. En effet, il est préconisé de travailler sur des populations de taille égale aux études de QTLs, c'est-à-dire minimum entre 300 et 500 individus afin de garantir une puissance statistique suffisante aux associations obtenues (Jacques BORDES, communication personnelle). Par rapport à d'autres études similaires, la taille de notre population est donc plus petite que celle étudiée par Kollers avec 372 individus et par Miedaner avec 455 individus. Ainsi, la réalisation du même type d'étude sur une population comportant des centaines d'individus ayant le même fond génétique semblerait plus pertinente en termes de significativité des associations obtenues, même si la grande taille de cette population amène des contraintes vis-à-vis de la caractérisation phénotypique de celle-ci.



### 3. Résolution du déséquilibre de liaison

Nous pouvons dire que pour les chromosomes 3B et 4B, l'absence de marqueurs en fort déséquilibre de liaison sur de longues distances signifie que la population d'étude ne présente pas de mélange de plusieurs sous populations et qu'il n'y pas de co-sélection de loci influençant un caractère adaptatif (Wang *et al.*, 2005). L'étendue du DL de 10 et 20 cM entre marqueurs en déséquilibre sur les chromosomes 3B et 4B respectivement est en accord avec les publications de (Hao *et al.*, 2012)(Kollers *et al.*, 2013), traduisant une résolution modérée adaptée à une approche de génétique d'association sur génome complet.

### 4. Associations génétiques établies sur les chromosomes 3B et 4B

Deux modèles statistiques ont été utilisés dans cette étude pour effectuer les analyses d'association génétique sur les chromosomes 3B et 4B. L'application de ces deux modèles a donné des résultats différents sur les deux chromosomes. En effet, nous avons pu voir selon les QQplot que le modèle GLM était plus adapté à l'analyse du chromosome 3B et inversement, le modèle MLM était plus adapté aux prédictions du chromosome 4B. Cette différence de modèle statistique entre les deux chromosomes soulève des interrogations sur la pertinence des modèles employés. La structure génétique des chromosomes pourrait être l'une des raisons possibles expliquant cette différence. Nous avons vu que l'étendue du DL est plus grande sur le chromosome 4B que sur le chromosome 3B, ce qui traduirait un taux de recombinaison plus important sur le chromosome 3B. Cette explication est toutefois à nuancer, car le chromosome 3B a une plus forte densité de marquage que le 4B. La seconde hypothèse évoquée pour améliorer la fiabilité des prédictions serait l'intégration de données de structuration via le logiciel STRUCTURE par exemple. Au vu des résultats de la stratification de la population, ces données jouent un rôle important dans les prédictions d'association.

Malgré ces différences l'analyse effectuée sur le chromosome 3B, met en évidence 247 et 437 associations significatives sur les données de 2014 et de 2013. Les mêmes zones chromosomiques impliquées dans la résistance à la fusariose sont retrouvées sur deux années consécutives, aux conditions pédoclimatique différentes. Ces résultats suggèrent que les associations mises en évidence sont significatives.

La région située entre 13 et 21cM, est une zone déjà répertoriée par plusieurs études QTLs (Löffler *et al.*, 2009) mais nous ne pouvons pas affirmer la concordance de cette zone avec ces études. En effet, l'ordonnancement des marqueurs n'est pas connu à ce jour et une vérification de la position génétique des marqueurs associés par rapport aux marqueurs déjà cartographiés et connus dans la littérature est nécessaire à la validation des concordances.

Sur le chromosome 4B, les associations sont plus discutables, car les zones chromosomiques impliquées dans la résistance sont différentes entre 2014 et 2013. Il est avéré que la présence du gène de nanisme, *Rht-B1*, sur le chromosome 4B influence fortement les réponses phénotypiques à FHB (Miedaner *et al.*, 2011) ; (Srinivasachary *et al.*, 2009). Par



conséquent, on pourrait s'attendre à ce que l'effet de ce gène modifie les résultats d'association, ce qui expliquerait la différence entre les résultats d'association obtenus pour 2014 et 2013. Une fois de plus, l'ordonnancement des marqueurs associés pourrait valider l'hypothèse de la co-localisation de *Rht-B1* avec les régions chromosomiques de résistance à FHB. Cependant, nous ne pourrions pas voir l'effet d'interaction entre *Rht-B1* et les régions chromosomiques.

Parmi les associations obtenues, certains marqueurs sont trouvés hautement significatifs et expliquent plus de 5% de la variation phénotypique. Ces marqueurs semblent intéressants dans une perspective d'approche gène candidat sous réserve de confirmation des zones impliquées dans le caractère étudié.

Enfin, les effets alléliques démontrés dans cette étude ont permis de mettre en avant que la majorité des allèles associés ont un effet défavorable vis-à-vis de la résistance à FHB. L'amplitude de ces effets est variable, mais certains allèles apparaissent comme étant favorables à la résistance à FHB, comme énoncé dans les travaux de Hao de 2012. Ainsi, cette observation évoque une perspective encourageante de sélection assistée par marqueur à intégrer dans les programmes de sélection pour aboutir à des variétés de blé plus résistantes à FHB, sans les effets néfastes des gènes de nanisme.



## Conclusion

Au niveau mondial, le blé est la base alimentaire de plus de deux milliards d'individus. L'une des maladies fongiques la plus importante est la fusariose de l'épi, appelée FHB pour *Fusarium Head Blight*. Cette maladie est induite par de nombreux agents pathogènes fongiques dont le principal genre est *Fusarium*. L'espèce *Fusarium graminearum* est le champignon majoritairement responsable des symptômes de FHB sur épi dont la particularité est d'échauder les grains de blé et de produire une mycotoxine, appelée déoxynivalénol (DON). Cette toxine est dangereuse pour la santé humaine et a la particularité de s'accumuler dans les grains infectés par le champignon. La lutte contre ce champignon est essentiellement basée sur le choix des variétés ayant une résistance correcte à la fusariose. Cependant, le nombre de variétés de blé qui ont une bonne résistance à FHB est très restreinte sur le marché français. En effet, la génétique de cette maladie semble impliquer de nombreux QTLs à effet mineur reflétant le caractère quantitatif de cette maladie. Le caractère complexe de la résistance à la fusariose est propice aux études de génétique quantitative, qui ont été menées dans de nombreux projet de recherche pour créer de nouvelles variétés plus résistantes. C'est notamment le cas au sein du programme « Breedwheat » qui est un projet collaboratif de recherche dont l'objectif est d'améliorer la compétitivité de la France à travers une production durable de blé de qualité. La résistance à la fusariose de l'épi est l'une des thématiques de recherche abordée dans ce programme avec comme méthodologie d'approche une étude de génétique d'association (GWAS) sur un panel variétal de 220 variétés.

Cette étude a impliqué la mise en place d'un dispositif expérimental visant à caractériser les variétés vis-à-vis de leur sensibilité à FHB, ce qui constitue les données de phénotypage. La conduite du dispositif a nécessité l'installation d'un système de brumisation afin de favoriser le développement du champignon, mais également de réaliser une contamination artificielle par aspersion pour garantir la présence de l'espèce *F. graminearum*, responsable des symptômes notés en cours de culture. Dépendantes de la précocité des variétés, les notations enregistrées ont été transformées par la méthode de cotation, permettant ainsi la comparaison de la sensibilité des variétés entre elles. L'analyse de ce dispositif nous a permis de voir que les réponses aux attaques de *F. graminearum* sont très variables d'une variété à l'autre, avec une étendue très importante de sensibilité, ce qui a confirmé le caractère quantitatif de la maladie.

Pour relier ce caractère quantitatif à une variabilité génétique dans une approche GWAS, la structuration de la population d'étude est importante à considérer. L'ACP et le dendrogramme nous ont permis d'exclure deux groupes génétiquement distincts de la majorité des variétés du panel. En effet, les variétés du premier groupe « Exotiques » ont une variabilité génétique liée à l'origine syrienne des individus et les variétés du deuxième groupe ont une variabilité génétique corrélée avec le parent fondateur SOISSONS, d'origine américaine. Ainsi, le panel variétal a été réduit à 189 variétés au lieu de 220 au départ.

Les résultats des associations obtenues entre les données de phénotypage et de génotypage sur les chromosomes 3B et 4B ont permis de mettre en évidence respectivement 247 et 127 associations significatives. Les régions associées du chromosome 3B sont





similaires entre les résultats obtenus avec les données de l'INRA de Clermont Ferrand et ceux de l'essai de Maule, ce qui n'est pas le cas pour le chromosome 4B. En effet, les résultats divergents entre les deux lieux ce qui a soulevé l'hypothèse de la co-localisation du gène de nanisme Rht-B1, situé sur le chromosome 4B, pourrait avoir un effet sur le résultat des associations obtenues.

A ce jour, il est difficile de savoir si les régions chromosomiques obtenues correspondent à des QTLs identifiées dans la littérature scientifique, car l'ordonnement des marqueurs employés sur les chromosomes n'est pas connu. Il est donc nécessaire de vérifier cette information et connaître éventuellement les fonctions biologiques assignées aux marqueurs pour d'affirmer ou non la significativité des associations obtenues.

Lors de l'analyse, nous avons pu remarquer que les prédictions les plus pertinentes étaient données par deux modèles statistiques différents. Sur le chromosome 3B, le modèle GLM est plus adapté que le modèle MLM et inversement pour le chromosome 4B. Cette différence nous amène à réfléchir aux paramètres des modèles statistiques utilisés. Il semble évident qu'il faut ajuster les modèles, notamment par la structuration de la population qui n'a pas été prise en compte comme facteur fixe dans les modèles utilisés. Ces modifications devraient permettre d'éviter les faux positifs et de conforter les résultats.

Un point important est à souligné dans cette étude, c'est la taille de la population jugée trop petite. En effet, la réduction de la population à 189 individus a un impact direct sur la puissance des analyses réalisées. Ainsi, Il serait intéressant de mener la même étude sur une population plus grande, comportant 300 à 1000 individus pour augmenter le niveau de significativité des associations et limiter les faux positifs.

Toutefois, pour certains marqueurs associés, la proportion de la variance phénotypique expliquée est supérieure à 5%. Ces marqueurs semblent intéressants dans une perspective d'approche de gène candidat.

Nous avons également constaté que parmi les marqueurs associés, l'effet allélique sur la résistance à FHB est majoritairement négatif, et peut varier de -0,3 à -2,5%. Parmi ces effets, certains allèles sont associés favorablement à la résistance à FHB. Quelques-uns ont un effet pouvant atteindre jusqu'à 2.5% de la variance phénotypique.

L'ensemble de ces résultats montre qu'il est évident d'améliorer les prédictions afin d'aboutir à des associations fiables. Le maniement des jeux de données sur ces deux premiers chromosomes va permettre l'analyse des 5 autres de manière plus sûre. De plus, les données phénotypiques de l'essai de Bayer CropScience situé à Milly la Forêt (91) devraient ou non renforcer les prédictions établies. Il semble donc possible de sélectionner des segments chromosomiques aux effets favorables à la résistance génétique à FHB, et qu'une application en sélection assistée par marqueurs au sein des programmes de sélection est envisageable, sous réserve de confirmation des régions chromosomiques impliquées par d'autres études d'association réalisée sur de grandes populations.



## Références Bibliographiques

**Ballois, N.** (2012) Caractérisation de la diversité des espèces de *Fusarium* et de leur potentiel mycotoxigène sur les céréales françaises., Nancy: Université de Lorraine. 33p.

**Bily, A.C., Burt, A.J., Ramputh, A.-I., Livesey, J., Regnault-Roger, C., Philogène, B.R. and Arnason, J.T.** (2004) HPLC-PAD-APCI/MS assay of phenylpropanoids in cereals. *Phytochem. Anal.*, **15**, 9–15.

**Bordes, J., Goudemand, E., Duchalais, L., et al.** (2014) Genome-wide association mapping of three important traits using bread wheat elite breeding populations. *Mol. Breed.*, **33**, 755–768.

**Bottalico, A. and Perrone, G.** (2002) Toxigenic *Fusarium* species and Mycotoxins Associated with Head Blight in Small-Grain Cereals in Europe. *Eur. J. Plant Pathol.*, **108**, 611–624.

**Buerstmayr, H., Ban, T. and Anderson, J.A.** (2009) QTL mapping and marker-assisted selection for *Fusarium* head blight resistance in wheat: a review. *Plant Breed.*, **128**, 1–26.

**Dean, R., Kan, J.A.L. Van, Pretorius, Z.A., et al.** (2012) The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Mol. Plant Pathol.*, **13**, 414–430.

**Desmond, O.J., Manners, J.M., Stephens, A.E., Maclean, D.J., Schenk, P.M., Gardiner, D.M., Munn, A.L. and Kazan, K.** (2008) The *Fusarium* mycotoxin deoxynivalenol elicits hydrogen peroxide production, programmed cell death and defence responses in wheat. *Mol. Plant Pathol.*, **9**, 435–445.

**Goswami, R.S. and Kistler, H.C.** (2004) Heading for disaster: *Fusarium graminearum* on cereal crops. *Mol. Plant Pathol.*, **5**, 515–525.

**Hao, C., Wang, Y., Hou, J., Feuillet, C., Balfourier, F. and Zhang, X.** (2012) Association Mapping and Haplotype Analysis of a 3.1-Mb Genomic Region Involved in *Fusarium* Head Blight Resistance on Wheat Chromosome 3BS. *PLoS ONE*, **7**.

**Kollers, S., Rodemann, B., Ling, J., et al.** (2013) Whole Genome Association Mapping of *Fusarium* Head Blight Resistance in European Winter Wheat (*Triticum aestivum* L.). *PLoS ONE*, **8**.

**Li, G. and Yen, Y.** (2008) Jasmonate and Ethylene Signaling Pathway May Mediate *Fusarium* Head Blight Resistance in Wheat. *Crop Sci.*, **48**, 1888.

**Löffler, M., Schön, C.-C. and Miedaner, T.** (2009) Revealing the genetic architecture of FHB resistance in hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) by QTL meta-analysis. *Mol. Breed.*, **23**, 473–488.

**Miedaner, T., Würschum, T., Maurer, H.P., Korzun, V., Ebmeyer, E. and Reif, J.C.** (2011) Association mapping for *Fusarium* head blight resistance in European soft winter wheat. *Mol. Breed.*, **28**, 647–655.



- Montibus, M.** (2013) *Mécanismes moléculaires impliqués dans la modulation de la production de trichothécènes de type B par Fusarium graminearum en réponse au stress oxydant*. Doctorat. Université Sciences et Technologies - Bordeaux I. 424p
- Osborne, L.E. and Stein, J.M.** (2007) Epidemiology of Fusarium head blight on small-grain cereals. *Int. J. Food Microbiol.*, **119**, 103–108.
- Parry, D.W., Jenkinson, P. and McLEOD, L.** (1995) Fusarium ear blight (scab) in small grain cereals—a review. *Plant Pathol.*, **44**, 207–238.
- Pestka, J.J. and Smolinski, A.T.** (2005) Deoxynivalenol: toxicology and potential effects on humans. *J. Toxicol. Environ. Health B Crit. Rev.*, **8**, 39–69.
- Rocha, O., Ansari, K. and Doohan, F.M.** (2005) Effects of trichothecene mycotoxins on eukaryotic cells: A review. *Food Addit. Contam.*, **22**, 369–378.
- Srinivasachary, Gosman, N., Steed, A., Hollins, T.W., Bayles, R., Jennings, P. and Nicholson, P.** (2009) Semi-dwarfing Rht-B1 and Rht-D1 loci of wheat differ significantly in their influence on resistance to Fusarium head blight. *Theor. Appl. Genet.*, **118**, 695–702.
- Trail, F.** (2009) For Blighted Waves of Grain: Fusarium graminearum in the Postgenomics Era. *Plant Physiol.*, **149**, 103–110.
- Wang, W.Y.S., Barratt, B.J., Clayton, D.G. and Todd, J.A.** (2005) Genome-wide association studies: theoretical and practical concerns. *Nat. Rev. Genet.*, **6**, 109–118.

### Site Internet

- Arvalis** (2013) Fusarioses 2013. [http://www.arvalisinstitutduvegetal.fr/\\_plugins/WMS\\_BO\\_Gallery/page/getElementStream.jsp?id=23553&prop=file](http://www.arvalisinstitutduvegetal.fr/_plugins/WMS_BO_Gallery/page/getElementStream.jsp?id=23553&prop=file) (consulté le 20 avril 2014)
- Choulet, F.** (2014) Marqueurs moléculaires. <https://www6.clermont.inra.fr/umr1095/Equipes/Recherches/SEVEN/Marqueurs-moleculaires> (consulté le 20 août 2014)
- Cuziat, J.** (2011) Cellule de Nageotte - BIOLTROP. *Biol. Trop.* <http://www.bioltrop.fr/spip.php?article359> (consulté le 4 avril 2014)
- Donnat, E.** (2011) Mycotoxines. Comment prévenir et gérer afin de respecter les limites réglementaires. <http://www.acta.asso.fr/apps/accesbase/bindocload.asp?d=7685&identobj=u4OkjOAQ> (consulté le 8 avril 2014)
- Laboratoire National de la Protection des Végétaux** (2008) Toutes Céréales, Détection et Identification des espèces de Fusarium spp. et Microdochium Nivale sur grains de céréales par isolement mycologique semi-selectif et étude microbiologique. [http://draaf.lorraine.agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/55\\_02\\_MH-03-16\\_vb\\_cle07c29a.pdf](http://draaf.lorraine.agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/55_02_MH-03-16_vb_cle07c29a.pdf) (consulté le 14 avril 2014)
- Renaud, A.** (2010) Exportation records pour les Etats-Unis et la France, en l'absence de la Russie sur le marché du blé tendre. *Agreste Synthèses*. [http://agreste.agriculture.gouv.fr/IMG/pdf\\_synthese1291010.pdf](http://agreste.agriculture.gouv.fr/IMG/pdf_synthese1291010.pdf). (consulté le 8 avril 2014)



**Schaller N.** (2014) Une méta-analyse des prédictions des effets du changement climatique sur les rendements du blé dans le monde. <http://veilleagri.hautetfort.com/archive/2014/04/24/une-meta-analyse-des-predictions-des-effets-du-changement-cl-5358271.html> (consulté le 27 avril 2014)

**Savini, I.** (2009) Les rendements des grandes cultures stagnent-ils? <http://prodinra.inra.fr/ft?id=D5F3F12A-4C52-4862-8568-0237EE064CF4> (consulté le 8 avril 2014)





# ANNEXES



# ANNEXE I : Panel variétal du projet « Breedwheat »

Code BW	Nom de la variété	Année d'inscription	Obtenteur	Abréviation	Code BW	Nom de la variété	Année d'inscription	Obtenteur	Abréviation
BW001	APACHE	1998	Limagrain Europe	APA_1	BW061	RACINE	2010	Secobra	RAC_61
BW002	ALTIGO	2007	Limagrain Europe	ALTi_2	BW062	SANKARA	2004	Desprez	SAN_62
BW003	BERMUDE	2007	Desprez	BER_3	BW063	SCOR	2009	Arvalis	SCOR_63
BW004	PREMIO	2007	RAGT	PREM_4	BW064	SOGOOD	2006	Caussade Semences	SOG_64
BW005	EINSTEIN	UK 2002	Limagrain Europe	EINS_5	BW065	SPONSOR	1995	Arvalis	SPO_65
BW006	CENTENAIRE	Belgium 2002	Arvalis	CENT_6	BW066	SY EPSON	UK 2011	Syngenta	EPS_66
BW007	KWS PODIUM	UK 2010	Momont	KWS_7	BW067	TRAPEZ	2009	Arvalis	TRA_67
BW008	AMBITION	Danemark 2004	Arvalis	AMBI_8	BW068	ALIZEO	2010	RAGT	ALI_68
BW009	CORVUS	Belgium 1998	Momont	CORV_9	BW069	ALLEZ Y	2010	Limagrain Europe	ALY_69
BW010	HEREWARD	UK 1989	RAGT	HER_10	BW070	ARISTOTE	2010	Limagrain Europe	ARI_70
BW011	LEAR	UK 2007	Limagrain Europe	LEA_11	BW071	ATTITUDE	2009	Limagrain Europe	ATT_71
BW012	OAKLEY	UK 2006	Momont	OAK_12	BW072	ATTLASS	2005	Arvalis	ATTL_72
BW013	ALCHEMY	UK 2005	Limagrain Europe	ALC_13	BW073	AZZERTI	2010	RAGT/SERASEM	AZZE_73
BW014	AMUNDSEN	2007	Limagrain Europe	AMU_14	BW074	BAROK	2009	Agri-Obtentions	BAR_74
BW015	CLAIRE	UK 1997	Limagrain Europe	CLA_15	BW075	BOISSEAU	2007	Arvalis	BOI_75
BW016	ESKET	Germany 2007	RAGT	ESK_16	BW076	BOREGAR	2007	RAGT/SERASEM	BOR_76
BW017	GALVANO	Danemark 2008	Momont	GALV_17	BW077	CAMP REMY	1980	Arvalis	CRE_77
BW018	GARANTUS	Poland 2007	RAGT/SERASEM	GARA_18	BW078	CH NARA	Switzerland 2009	Arvalis	CNAR_78
BW019	HAUSSMANN	2006	Desprez	HAU_19	BW079	CHARGER	1997	RAGT	CHA_79
BW020	ISTABRAQ	UK 2003	Limagrain Europe	IST_20	BW080	CHEVALIER	Austria 2006	Arvalis	CHE_80
BW021	JB DIEGO	UK 2006	Arvalis	DIE_21	BW081	CORDIALE	2005	RAGT/SERASEM	COR_81
BW022	LIMES	2002	Limagrain Europe	LIM_22	BW082	CROUSTY	1995	Secobra	CRO_82
BW023	MANAGER	2006	Secobra	MAN_23	BW083	DIALOG	2007	Momont	DIA_83
BW024	OXEBO	2010	Secobra	OXE_24	BW084	DINOSOR	2005	Arvalis	DIN_84
BW025	PAJERO	Belgium 1995	Arvalis	PAJ_25	BW085	FOLKLOR	2010	Agri-Obtentions	FOL_85
BW026	SY TOLBIAC	2012	Syngenta	TOL_26	BW086	INSTINCT	2006	Syngenta	INS_86
BW027	PIERROT	Danemark 2009	Arvalis	PIE_27	BW087	INTERET	2008	Syngenta	INT_87
BW028	PR22R20	2002	Syngenta	PR20_28	BW088	MARCELIN	2009	Desprez	MARCE_88
BW029	RAZZANO	2010	RAGT	RAZ_29	BW089	NIRVANA	2001	RAGT	NIR_89
BW030	ROBIGUS	UK 2002	Momont	ROB_30	BW090	ORCAS	Germany 2010	Secobra	ORCS_90
BW031	ROSARIO	2004	Secobra	ROS_31	BW091	PAPAGENO	Austria 2007	Caussade Semences	PAPA_91
BW032	SAMURAI	2005	Arvalis	SAM_32	BW092	PHARE	2007	Desprez	PHA_92
BW033	FAIRPLAY	2012	Secobra	FAY_33	BW093	PLAYER	2010	Syngenta	PLAY_93
BW034	SELEKT	2007	Momont	SEL_34	BW094	RENAN	1989	Agri-Obtentions	REN_94
BW035	SEYRAC	2006	RAGT/SERASEM	SEYC_35	BW095	SEBASTO	2007	RAGT/SERASEM	SEB_95
BW036	SOPHYTRA	2007	Limagrain Europe	SOP_36	BW096	SOLUTION	2007	Caussade Semences	SOLU_96
BW037	TIMING	2010	Arvalis	TIM_37	BW097	TAPIDOR	2001	RAGT/SERASEM	TAP_97
BW038	VISCOUNT	UK 2007	Momont	VIS_38	BW098	TOISONDOR	2004	RAGT/SERASEM	TOI_98
BW039	WARRIOR	UK 2009	RAGT	WAR_39	BW099	ODYSSEE	2012	Arvalis	ODY_99
BW040	XI19	UK 2001	Limagrain Europe	XI19_40	BW100	ALDRIC	2007	Desprez	AL_100
BW041	ALCAZAR	2004	Secobra	ALCA_41	BW101	ALIXAN	2005	Limagrain Europe	ALIX_101
BW042	ANTONIUS	2006	Syngenta	ANT_42	BW102	AMBELLO	2010	RAGT	AMB_102
BW043	RONCARD	2012	Secobra	RON_43	BW103	BAGOU	2007	Arvalis	BAG_103
BW044	EPHOROS	2004	Agri-Obtentions	EPH_44	BW104	BIANCOR	2010	Limagrain Europe	BIA_104
BW045	EXPERT	2007	Syngenta	EXP_45	BW105	CAMPERO	2006	Secobra	CAM_105
BW046	FLAUBERT	2010	Secobra	FLA_46	BW106	CAPHORN	2000	Desprez	CAP_106
BW047	GALLANT	UK 2007	Syngenta	GALL_47	BW107	CATALAN	2002	Momont	CAT_107
BW048	GLADIATOR	UK 2002	RAGT	GLA_48	BW108	COMPIL	2010	Desprez	COMP_108
BW049	GLASGOW	UK 2004	Arvalis	GLAS_49	BW109	FLUOR	2010	Arvalis	FLU_109
BW050	IRIDIUM	2007	Momont	IRI_50	BW110	FORBLANC	2009	Momont	FOR_110
BW051	KALAHARI	Germany 2010	Limagrain Europe	KAHA_51	BW111	FRELON	2000	RAGT	FRE_111
BW052	KALYSTAR	2010	Momont	KALY_52	BW112	GALACTIC	2007	Secobra	GALA_112
BW053	KOMETUS	Germany 2011	Secobra	KOM_53	BW113	HEKTO	2009	RAGT	HEK_113
BW054	KORELI	2007	Agri-Obtentions	KOR_54	BW114	KARILLON	2010	Agri-Obtentions	KAR_114
BW055	MARKSMAN	UK 2006	RAGT	MAR_55	BW115	LORD	2009	Syngenta	LAU_115
BW056	PARADOR	2000	Secobra	PAR_56	BW116	LAURIER	2012	Desprez	LOR_116
BW057	PEPIDOR	2007	RAGT/SERASEM	PEP_57	BW117	MERCATO	2005	Desprez	MER_117
BW058	PERFECTOR	2004	Arvalis	PER_58	BW118	NUCLEO	2010	RAGT	NUC_118
BW059	PIRENEO	Austria 2005	Arvalis	PIR_59	BW119	ORATORIO	1996	Syngenta	ORA_119
BW060	BERGAMO	2012	RAGT	BERG_60					



Code BW	Nom de la variété	Année d'inscription	Obtenteur	Abréviation
BW120	ORVANTIS	2000	Syngenta	ORV_120
BW121	PAKITO	2010	RAGT	PAK_121
BW122	PREVERT	2010	Secobra	PRE_122
BW123	BLINI	inconnu	Desprez	BLI_123
BW124	RUSTIC	Belgium 2005	Momont	RUS_124
BW125	MOSKITO	2012	Arvalis	MOS_125
BW126	SOKAL	2010	Caussade Semences	SOK_126
BW127	SORRIAL	2009	Caussade Semences	SOR_127
BW128	SWEET	2010	Momont	SWE_128
BW129	SWINGGY	2009	Agri-Obtentions	SWI_129
BW130	SY MATTIS	2010	Syngenta	MAT_130
BW131	FIGARO	2011	Momont	FIG_131
BW132	ACOUSTIC	2010	Arvalis	ACOU_132
BW133	ADAGIO	2009	RAGT	ADA_133
BW134	AEROBIC	2009	Arvalis	AER_134
BW135	ALIGATOR	2010	Arvalis	ALIG_135
BW136	ALTAMIRA	2009	Limagrain Europe	ALT_136
BW137	AMADOR	2010	Arvalis	AMA_137
BW138	APRILIO	2010	Limagrain Europe	APR_138
BW139	ARAMIS	2009	Limagrain Europe	ARA_139
BW140	AREZZO	2007	RAGT	ARE_140
BW141	ARKEOS	2010	Limagrain Europe	ARK_141
BW142	ARLEQUIN	2007	Limagrain Europe	ARL_142
BW143	ATHLON	2010	Arvalis	ATH_143
BW144	AUBUSSON	2001	Limagrain Europe	AUB_144
BW145	BASTIDE	2002	Secobra	BAS_145
BW146	BUENNO	2007	Syngenta	BUE_146
BW147	SY MOISSON	2012	Syngenta	MOI_147
BW148	CELESTIN	2010	RAGT/SERASEM	CEL_148
BW149	CROISADE	2010	Desprez	CROI_149
BW150	EPIDOC	2006	RAGT/SERASEM	EPI_150
BW151	EUCLIDE	2007	Desprez	EU_151
BW152	EXELCIOR	2007	Arvalis	EXEL_152
BW153	FARINELLI	2010	Momont	FAR_153
BW154	OREGRAIN	2012	Desprez	OR_154
BW155	CELLULE	2012	Desprez	CELL_155
BW156	FLAMENKO	2010	Agri-Obtentions	FLAM_156
BW157	GALPINO	Spain 2010	RAGT	GALP_157
BW158	GONCOURT	2009	RAGT/SERASEM	GON_158
BW159	GRAINDOR	2006	Arvalis	GRAIN_159
BW160	HISSEO	Italy 2010	Momont	HISS_160
BW161	ILLICO	2010	Syngenta	ILL_161
BW162	INNOV	2005	Syngenta	IN_162
BW163	ISENGRAIN	1997	Desprez	ISEN_163
BW164	KALANGO	Italy 2002	Desprez	KAL_164
BW165	GALIBIER	inconnu		GALI_165
BW166	MH 09-17	inconnu	Momont	MH_166
BW167	MUSIK	2010	Agri-Obtentions	MUS_167
BW168	ASCOTT	2012	Limagrain Europe	ASC_168
BW169	PALEDOR	2005	Secobra	PAL_169
BW170	RUBISKO	2012	RAGT	RUB_170
BW171	SAINT EX	2010	Secobra	SAI_171
BW172	SCENARIO	2010	RAGT	SCE_172
BW173	SOISSONS	1988	Desprez	SOI_173
BW174	SOLEHIO	2009	Momont	SOL_174
BW175	SY ALTEO	2010	Syngenta	ALTE_175
BW176	TREMIE	1992	RAGT/SERASEM	TRE_176
BW177	TULIP	2010	Arvalis	TUL_177
BW178	USKI	2009	Momont	US_178
BW179	VALODOR	2007	RAGT/SERASEM	VAL_179

Code BW	Nom de la variété	Année d'inscription	Obtenteur	Abréviation
BW180	ACCOR	2007	RAGT/SERASEM	ACC_180
BW181	ACCROC	2010	RAGT/SERASEM	ACRO_181
BW182	ACIENDA	2004	Secobra	ACIE_182
BW183	ADHOC	2010	Momont	ADH_183
BW184	ALTRIA	1996	RAGT/SERASEM	ALTR_184
BW185	ANDALOU	2001	Momont	AND_185
BW186	AUTAN	2000	Limagrain Europe	AUT_186
BW187	AZIMUT	2004	Limagrain Europe	AZI_187
BW188	BOLOGNA	Spain 2002	Syngenta	BOLO_188
BW189	CCB INGENIO	Spain 2006	Syngenta	INGE_189
BW190	CEZANNE	1998	Limagrain Europe	CEZ_190
BW191	COURTOT	1974	Agri-Obtentions	COU_191
BW192	EUREKA	1992	Agri-Obtentions	EUR_192
BW193	EXOTIC	2005	Momont	EXO_193
BW194	GALOPAIN	2009	Secobra	GALO_194
BW195	GARCIA	2005	Secobra	GAR_195
BW196	JAGUAR	Italy 2009	Agri-Obtentions	JAG_196
BW197	MIROIR	2010	Arvalis	MIR_197
BW198	ARTDECO	2012	Limagrain Europe	ART_198
BW199	PR22R58	Italy 2002	Syngenta	PR58_199
BW200	PRIMO	Italy 2009	Agri-Obtentions	PRI_200
BW201	QUALITY	Italy 2002	Momont	QUA_201
BW202	RIMBAUD	2010	Secobra	RIM_202
BW203	ROYSSAC	2002	RAGT/SERASEM	ROY_203
BW204	SIRTAKI	Italy 2008	Momont	SIR_204
BW205	SOBBEL	2009	Caussade Semences	SOB_205
BW206	SOLEDAD	Italy 2008	Caussade Semences	SOLE_206
BW207	SOLLARIO	2007	Caussade Semences	SOLL_207
BW208	BOKARO	Italy 2002	Desprez	BOKA_208
BW209	ESPERIA	Italy 2002	Momont	ESPE_209
BW210	BASMATI	Italy 2011	Momont	BASM_210
BW211	NOGAL	Spain 2006	Desprez	NO_211
BW212	RECITAL	1986	Syngenta	RECI_212
BW213	FADELA	Morocco 2008	Desprez	FADE_213
BW214	Icarda 1	inconnu	ICARDA	ICA1_214
BW215	Icarda 2	inconnu	ICARDA	ICA2_215
BW216	Icarda 3	inconnu	ICARDA	ICA3_216
BW217	Icarda 4	inconnu	ICARDA	ICA4_217
BW218	Icarda 5	inconnu	ICARDA	ICA5_218
BW219	Icarda 6	inconnu	ICARDA	ICA6_219
BW220	AVENUE	Serbia 2011	Limagrain Europe	AV_220



## ANNEXE II: Dispositif expérimental du panel

### « Breedwheat »

Bloc 1	Bordure	Répétition n°1		Bordure	Allée	Bloc 5	Bordure	Répétition n°1		Bordure
		Répétition n°1	Répétition n°2					Répétition n°1	Répétition n°2	
		Répétition n°3	Répétition n°2					Répétition n°3	Répétition n°2	
Bloc 2		Répétition n°1				Bloc 6		Répétition n°1		
		Répétition n°1	Répétition n°2					Répétition n°1	Répétition n°2	
		Répétition n°3	Répétition n°2					Répétition n°3	Répétition n°2	
Bloc 3		Répétition n°1						Répétition n°1		
		Répétition n°1	Répétition n°2					Répétition n°1	Répétition n°2	
		Répétition n°3	Répétition n°2					Répétition n°3	Répétition n°2	
Bloc 4		Répétition n°1						Répétition n°1		
		Répétition n°1	Répétition n°2					Répétition n°1	Répétition n°2	
		Répétition n°3	Répétition n°2					Répétition n°3	Répétition n°2	

Chaque répétition comporte 40 variétés randomisées. La surface totale du dispositif est de 945m<sup>2</sup>.





# ANNEXE III : Vérification des conditions d'applications

## I. Analyse du taux d'infection des 3 témoins sur les 6 blocs du dispositif:

Vérification de la normalité de la distribution

Shapiro-Wilk normality test

$W = 0.9486$ ,  $p\text{-value} = 0.0565$

Vérification de l'homoscédasticité

Bartlett test of homogeneity of variances

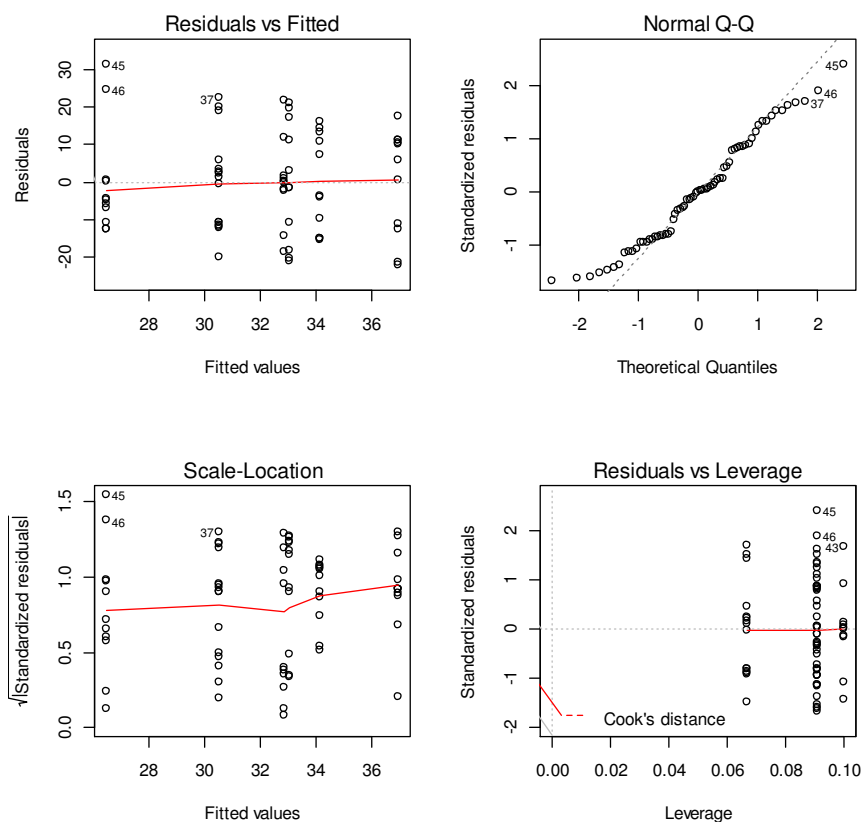
Bartlett's K-squared = 4.0948,  $df = 3$ ,  $p\text{-value} = 0.2514$

Indépendance des résidues

Durbin-Watson test

$DW = 0.1318$ ,  $p\text{-value} < 2.2e-16$

alternative hypothesis: true autocorrelation is not 0





## **II. Analyse de la date de notation sur le taux d'infection de chaque témoin du dispositif**

Vérification de la normalité

Shapiro-Wilk normality test

RENAN :  $W = 0.9843$ ,  $p\text{-value} = 0.9859$

CHARGER :  $W = 0.9913$ ,  $p\text{-value} = 0.9996$

APACHE :  $W = 0.9367$ ,  $p\text{-value} = 0.2076$

Vérification de l'homoscédasticité

Bartlett test of homogeneity of variances

RENAN: Bartlett's K-squared = 4.7355,  $df = 5$ ,  $p\text{-value} = 0.449$

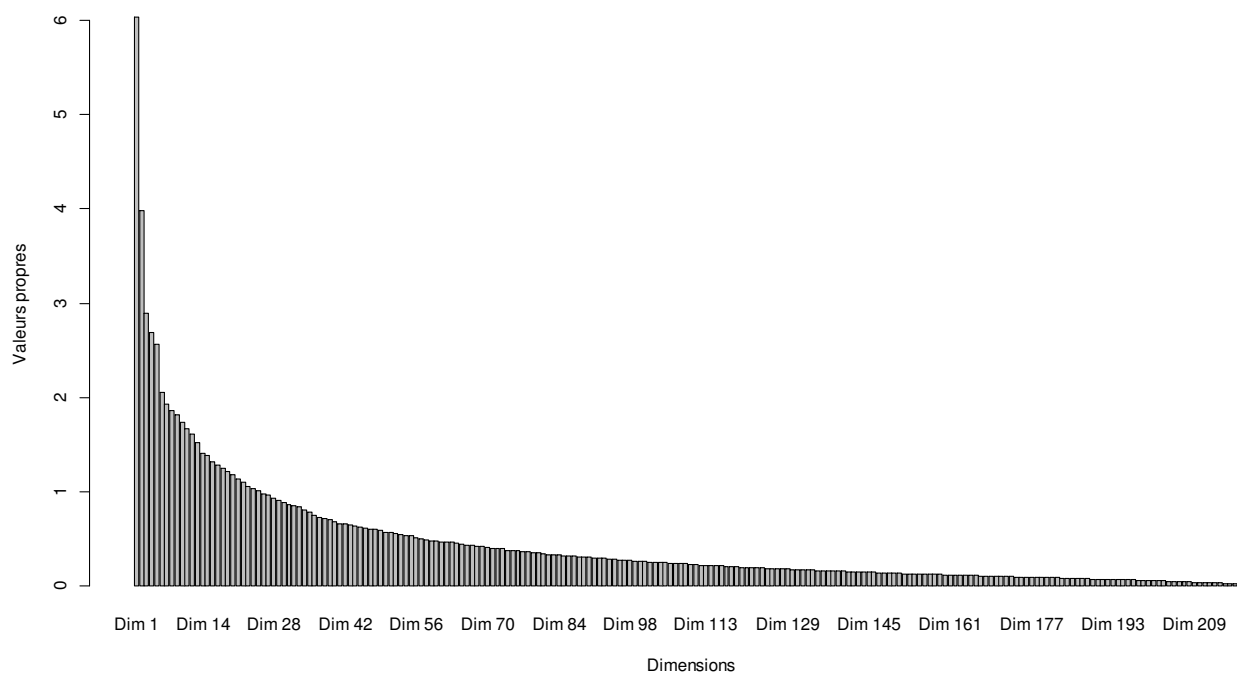
CHARGER: Bartlett's K-squared = 4.0274,  $df = 1$ ,  $p\text{-value} = 0.04977$

APACHE: Bartlett's K-squared = 7.9175,  $df = 1$ ,  $p\text{-value} = 0.0523$



## **ANNEXE IV : Valeur d'inertie des dix premières composantes de l'ACP et leurs représentation graphique**

Composantes	Valeurs propres	Pourcentage d'inertie
comp 1	845.16	6.03
comp 2	557.5	3.98
comp 3	405.78	2.89
comp 4	376.47	2.69
comp 5	360.18	2.57
comp 6	288.26	2.06
comp 7	270.47	1.93
comp 8	260.89	1.86
comp 9	254.45	1.82
comp 10	242.85	1.73





## **ANNEXE V: Cotation du panel variétal « Breedwheat »**

Groupe de notation	Nom de la variété	Abréviation	Taux d'infection moyen	Classement (Test de Tuckey)	Cotation attribuée	Cotation officielle du CTPS
Groupe1	NOGAL	NO_211	56,83	a	3	4
Groupe1	AVENUE	AV_220	46,27	b	3,5	NA
Groupe1	RECITAL	RECI_212	39,78	b	4	3
Groupe1	FADELA	FADE_213	27,38	c	5	NA
Groupe1	INGENIO	INGE_189	23,67	cd	5,5	4,5
Groupe1	ESPERIA	ESPE_209	22,82	cd	5,5	4
Groupe1	ICARDA 4	ICA4_217	15,98	d	6	NA
Groupe1	ICARDA 6	ICA6_219	18,10	d	6	NA
Groupe1	MIROIR	MIR_197	15,01	d	6	5
Groupe2	BLINI	BLI_123	81,03	a	2	NA
Groupe2	ACCOR	ACC_180	70,67	ab	2,5	4
Groupe2	KALANGO	KAL_164	64,40	bc	3	4
Groupe2	GARCIA	GAR_195	54,00	cd	3,5	3,5
Groupe2	NOGAL	NO_211	54,33	cd	3,5	4
Groupe2	QUALITY	QUA_201	46,48	de	4	6
Groupe2	SOLEDAD	SOLE_206	45,01	de	4	4
Groupe2	EUREKA	EUR_192	41,53	ef	4,5	4
Groupe2	ICARDA 3	ICA3_216	41,99	ef	4,5	NA
Groupe2	AZIMUT	AZI_187	36,29	fg	5	5
Groupe2	EXOTIC	EXO_193	34,39	fg	5	3,5
Groupe2	ADAGIO	ADA_133	30,82	fgh	5,5	5,5
Groupe2	ICARDA 2	ICA2_215	29,20	gh	5,5	NA
Groupe2	BOLOGNA	BOLO_188	21,84	h	6	NA
Groupe2	INGENIO	INGE_189	20,58	h	6	4,5
Groupe2	ICARDA 5	ICA5_218	23,35	h	6	NA
Groupe2	SOLEHIO	SOL_174	22,53	h	6	5
Groupe3	ACCOR	ACC_180	73,30	a	2,5	4
Groupe3	ACIENDA	ACIE_182	75,27	a	2,5	4
Groupe3	GALIBIER	GALI_165	74,22	a	2,5	6
Groupe3	ALTRIA	ALTR_184	62,31	bc	3	4
Groupe3	AUTAN	AUT_186	67,13	ab	3	4
Groupe3	KALANGO	KAL_164	68,00	ab	3	4
Groupe3	ACCROC	ACRO_181	55,36	cd	3,5	4
Groupe3	ALTAMIRA	ALT_136	52,87	de	3,5	3,5
Groupe3	ARTDECO	ART_198	54,21	cd	3,5	5
Groupe3	EPIDOC	EPI_150	56,54	bcd	3,5	4
Groupe3	GALOPAIN	GALO_194	53,55	d	3,5	3,5
Groupe3	GARCIA	GAR_195	50,93	def	3,5	3,5
Groupe3	BOKARO	BOKA_208	43,47	efg	4	NA
Groupe3	PR22R58	PR58_199	44,58	ef	4	2
Groupe3	SAINT EX	SAI_171	40,73	efgh	4,5	5
Groupe3	SIRTAKI	SIR_204	41,13	efgh	4,5	4
Groupe3	ADAGIO	ADA_133	33,14	hi	5	5,5
Groupe3	ANDALOU	AND_185	34,19	hi	5	5
Groupe3	BUENNO	BUE_146	34,27	hi	5	4,5
Groupe3	EXOTIC	EXO_193	37,47	fghi	5	3,5
Groupe3	PRIMO	PRI_200	34,98	ghi	5	NA
Groupe3	RIMBAUD	RIM_202	34,90	ghi	5	4,5
Groupe3	APRILIO	APR_138	29,29	hij	5,5	4,5
Groupe3	OREGRAIN	OR_154	29,40	hij	5,5	5,5
Groupe3	ADHOC	ADH_183	22,75	jk	6	4
Groupe3	CELESTIN	CEL_148	23,44	ijk	6	5,5
Groupe3	JAGUAR	JAG_196	26,24	ijk	6	4
Groupe3	SOLEHIO	SOL_174	24,90	ijk	6	5
Groupe3	SY ALTEO	ALTE_175	20,53	jk	6	5
Groupe3	SOLLARIO	SOLL_207	17,13	k	6,5	4,5





Groupe de notation	Nom de la variété	Abréviation	Taux d'infection moyen	Classement (Test de Tuckey)	Cotation attribuée	Cotation officielle du CTPS
Groupe4	AUBUSSON	AUB_144	80,71	a	2,5	4
Groupe4	MUSIK	MUS_167	79,02	a	2,5	4
Groupe4	ACIENDA	ACIE_182	73,60	abcd	3	4
Groupe4	ARKEOS	ARK_141	72,99	abcd	3	3,5
Groupe4	BASMATI	BASM_210	75,67	abc	3	4,5
Groupe4	CEZANNE	CEZ_190	76,13	ab	3	4
Groupe4	COURTOT	COU_191	74,44	abc	3	4
Groupe4	USKI	US_178	68,78	bcde	3	4
Groupe4	ACOUSTIC	ACOU_132	58,93	efghi	3,5	3,5
Groupe4	ALDRIC	AL_100	53,83	hijkl	3,5	4
Groupe4	AMADOR	AMA_137	62,12	cdefghi	3,5	5
Groupe4	ARLEQUIN	ARL_142	56,11	fghijk	3,5	6
Groupe4	EPIDOC	EPI_150	57,00	efghij	3,5	4
Groupe4	EUCLIDE	EU_151	53,40	hijkl	3,5	5
Groupe4	GONCOURT	GON_158	56,33	efghijk	3,5	4
Groupe4	GRAINDOR	GRAIN_159	55,59	fghijkl	3,5	7
Groupe4	KALANGO	KAL_164	65,33	bcdefgh	3,5	4
Groupe4	LAURIER	LAU_115	56,04	fghijkl	3,5	4
Groupe4	PAKITO	PAK_121	65,40	bcdefg	3,5	5
Groupe4	PREMIO	PREM_4	54,11	ghijkl	3,5	3,5
Groupe4	SAINT EX	SAI_171	65,82	bcdef	3,5	5
Groupe4	SOISSONS	SOI_173	60,67	defghi	3,5	5
Groupe4	ALTAMIRA	ALT_136	45,54	jklmnop	4	3,5
Groupe4	ARAMIS	ARA_139	46,08	jklmn	4	4,5
Groupe4	BASTIDE	BAS_145	44,68	jklmnopq	4	3
Groupe4	CAPHORN	CAP_106	43,08	jklmnopqr	4	3
Groupe4	FLAMENKO	FLAM_156	42,72	jklmnopqr	4	4
Groupe4	GALACTIC	GALA_112	45,88	jklmno	4	4
Groupe4	HISSEO	HISS_160	43,29	jklmnopq	4	NA
Groupe4	ISENGRAIN	ISEN_163	42,64	jklmnopqr	4	3
Groupe4	MERCATO	MER_117	49,90	ijklm	4	5
Groupe4	ORATORIO	ORA_119	43,48	jklmnopq	4	4
Groupe4	SOBBEL	SOB_205	45,31	jklmnop	4	4
Groupe4	SWINGGY	SWI_129	45,12	jklmnopq	4	3,5
Groupe4	AEROBIC	AER_134	39,92	mnopqrst	4,5	4
Groupe4	APRILIO	APR_138	40,08	lmnopqrst	4,5	4,5
Groupe4	COMPIL	COMP_108	42,05	klmnopqrs	4,5	4
Groupe4	FARINELLI	FAR_153	42,12	jklmnopqrs	4,5	4,5
Groupe4	ILLICO	ILL_161	41,86	lmnopqrs	4,5	6
Groupe4	SIRTAKI	SIR_204	41,02	lmnopqrs	4,5	4
Groupe4	ASCOTT	ASC_168	34,92	pqrstu	5	4
Groupe4	BAGOU	BAG_103	31,92	qrstu	5	4
Groupe4	CROISADE	CROI_149	36,45	nopqrstu	5	5
Groupe4	EXELCIOR	EXEL_152	34,75	pqrstu	5	4,5
Groupe4	RONCARD	RON_43	32,55	qrstu	5	5,5
Groupe4	SY MATTIS	MAT_130	38,40	mnopqrstu	5	5,5
Groupe4	TULIP	TUL_177	33,63	qrstu	5	5
Groupe4	VALODOR	VAL_179	35,83	opqrstu	5	4
Groupe4	ALIXAN	ALIX_101	28,12	rstuvw	5,5	5,5
Groupe4	BIANCOR	BIA_104	29,80	rstuvw	5,5	3,5
Groupe4	CAMPERO	CAM_105	29,12	rstuvw	5,5	4
Groupe4	JAGUAR	JAG_196	29,93	qrstuvw	5,5	4
Groupe4	OREGRAIN	OR_154	30,36	qrstuv	5,5	5,5
Groupe4	CATALAN	CAT_107	24,79	uvw	6	6
Groupe4	CELESTIN	CEL_148	23,70	uvwxy	6	5,5
Groupe4	CELLULE	CELL_155	23,04	uvwxy	6	5



Groupe de notation	Nom de la variété	Abréviation	Taux d'infection moyen	Classement (Test de Tuckey)	Cotation attribuée	Cotation officielle du CTPS
Groupe4	FORBLANC	FOR_110	24,44	uvwx	6	4
Groupe4	GALPINO	GALP_157	27,84	stuvw	6	4,5
Groupe4	PALEDOR	PAL_169	27,07	tuvw	6	4,5
Groupe4	RUBISKO	RUB_170	24,32	uvwx	6	5,5
Groupe4	SCENARIO	SCE_172	26,48	tuvw	6	3,5
Groupe4	ICARDA 1	ICA1_214	18,22	wx	6,5	NA
Groupe4	SY ALTEO	ALTE_175	20,40	vwx	6,5	5
Groupe4	SY MOISSON	MOI_147	20,31	vwx	6,5	6
Groupe4	ALIGATOR	ALIG_135	14,16	x	7	5
Groupe5	BASMATI	BASM_210	90,00	a	2	4,5
Groupe5	TOISONDOR	TOI_98	89,61	a	2	3
Groupe5	FARINELLI	FAR_153	81,40	ab	2,5	4,5
Groupe5	GONCOURT	GON_158	78,50	abc	2,5	4
Groupe5	ISENGRAIN	ISEN_163	75,67	bc	2,5	3
Groupe5	MERCATO	MER_117	78,68	abc	2,5	5
Groupe5	TREMIE	TRE_176	76,62	bc	2,5	4
Groupe5	ALTIGO	ALT_2	67,89	cd	3	4
Groupe5	AMADOR	AMA_137	67,20	cde	3	5
Groupe5	ALIZEO	ALI_68	64,03	de	3,5	4
Groupe5	ATTLASS	ATTL_72	61,16	defg	3,5	4,5
Groupe5	FRELON	FRE_111	60,85	defg	3,5	6
Groupe5	INNOV	IN_162	64,14	cde	3,5	NA
Groupe5	ORVANTIS	ORV_120	64,83	cde	3,5	3,5
Groupe5	SEBASTO	SEB_95	62,54	def	3,5	4,5
Groupe5	TAPIDOR	TAP_97	62,72	de	3,5	3
Groupe5	AMBELLO	AMB_102	54,68	efgh	4	5,5
Groupe5	HEKTO	HEK_113	58,39	defgh	4	4,5
Groupe5	LAURIER	LAU_115	57,92	defgh	4	4
Groupe5	PAKITO	PAK_121	59,76	defgh	4	5
Groupe5	BASTIDE	BAS_145	48,46	ghij	4,5	3
Groupe5	CAPHORN	CAP_106	45,88	hijk	4,5	3
Groupe5	CHARGER	CHA_79	49,65	fghij	4,5	2
Groupe5	FLAMENKO	FLAM_156	46,33	ghijk	4,5	4
Groupe5	MH 09-17	MH_166	51,13	fghi	4,5	NA
Groupe5	NUCLEO	NUC_118	46,55	ghij	4,5	4
Groupe5	PREVERT	PRE_122	47,08	ghij	4,5	3,5
Groupe5	SORRIAL	SOR_127	52,31	fghi	4,5	3
Groupe5	SWEET	SWE_128	46,01	hijk	4,5	4
Groupe5	SWINGGY	SWI_129	48,34	ghij	4,5	3,5
Groupe5	LORD	LOR_116	43,68	ijk	5	4
Groupe5	RUSTIC	RUS_124	43,96	ijk	5	5
Groupe5	SOKAL	SOK_126	43,13	ijk	5	6
Groupe5	ATHLON	ATH_143	36,13	jkl	5,5	5,5
Groupe5	BOREGAR	BOR_76	34,21	jklm	5,5	4
Groupe5	INSTINCT	INS_86	37,14	jkl	5,5	4,5
Groupe5	SY MATTIS	MAT_130	36,44	jkl	5,5	5,5
Groupe5	ALIXAN	ALIX_101	29,28	lmno	6	5,5
Groupe5	ARISTOTE	ARI_70	31,66	klm	6	4
Groupe5	AZZERTI	AZZE_73	31,08	klmn	6	3
Groupe5	CAMPERO	CAM_105	29,68	lmn	6	4
Groupe5	CELLULE	CELL_155	27,86	lmno	6	5
Groupe5	DIALOG	DIA_83	25,88	lmnop	6	4
Groupe5	FORBLANC	FOR_110	29,00	lmno	6	4
Groupe5	KARILLON	KAR_114	30,24	lmn	6	4
Groupe5	PAJERO	PAJ_25	26,08	lmnop	6	6
Groupe5	AREZZO	ARE_140	21,47	mnop	6,5	5,5



Groupe de notation	Nom de la variété	Abréviation	Taux d'infection moyen	Classement (Test de Tuckey)	Cotation attribuée	Cotation officielle du CTPS
Groupe5	FLUOR	FLU_109	20,99	mnop	6,5	5,5
Groupe5	NIRVANA	NIR_89	21,89	mnop	6,5	4,5
Groupe5	PIRENEO	PIR_59	18,68	nop	6,5	7
Groupe5	CROUSTY	CRO_82	16,08	op	7	5
Groupe5	RENAN	REN_94	16,35	nop	7	6,5
Groupe5	ANTONIUS	ANT_42	12,65	p	7,5	6
Groupe5	FIGARO	FIG_131	12,21	p	7,5	5,5
Groupe6	DINOSOR	DIN_84	91,00	a	1,5	3,5
Groupe6	INSTINCT	INS_86	90,00	ab	1,5	4,5
Groupe6	MOSKITO	MOS_125	86,08	ab	2	4
Groupe6	SANKARA	SAN_62	87,33	ab	2	3,5
Groupe6	ATTITUDE	ATT_71	80,33	bcd	2,5	5
Groupe6	GLASGOW	GLAS_49	81,07	bcd	2,5	3
Groupe6	MARKSMAN	MAR_55	83,50	abc	2,5	2,5
Groupe6	TRAPEZ	TRA_67	82,20	abcd	2,5	3
Groupe6	EINSTEIN	EINS_5	72,71	defgh	3	NA
Groupe6	GLADIATOR	GLA_48	72,93	cdefgh	3	(5)
Groupe6	MARCELIN	MARCE_88	74,73	cdef	3	4,5
Groupe6	OAKLEY	OAK_12	77,90	bcde	3	2,5
Groupe6	PHARE	PHA_92	74,07	cdefg	3	2
Groupe6	SY TOLBIAC	TOL_26	75,64	cde	3	3,5
Groupe6	ALCAZAR	ALCA_41	67,43	efghij	3,5	4
Groupe6	ALLEZ Y	ALY_69	67,87	efghij	3,5	3
Groupe6	ATTLASS	ATTL_72	68,20	defghij	3,5	4,5
Groupe6	DIALOG	DIA_83	67,40	efghij	3,5	4
Groupe6	EXPERT	EXP_45	70,47	defghi	3,5	3
Groupe6	INTERET	INT_87	67,67	efghij	3,5	3
Groupe6	SEBASTO	SEB_95	69,00	defghij	3,5	4,5
Groupe6	CH NARA	CNAR_78	65,20	fghijk	4	NA
Groupe6	CORDIALE	COR_81	65,87	fghijk	4	3,5
Groupe6	IRIDIUM	IRI_50	65,73	fghijk	4	4
Groupe6	ODYSSEE	ODY_99	65,87	fghijk	4	4
Groupe6	ORCAS	ORCS_90	65,69	fghijk	4	5
Groupe6	VISCOUNT	VIS_38	66,20	efghijk	4	NA
Groupe6	WARRIOR	WAR_39	65,42	fghijk	4	3
Groupe6	BAROK	BAR_74	64,89	ghijk	4,5	6,5
Groupe6	BERMUDE	BER_3	61,07	ijkl	4,5	3,5
Groupe6	CAMP REMY	CRE_77	63,81	hijk	4,5	5
Groupe6	FLAUBERT	FLA_46	62,66	hijk	4,5	4,5
Groupe6	GALLANT	GALL_47	64,69	ghijk	4,5	(5)
Groupe6	JB DIEGO	DIE_21	64,02	ghijk	4,5	NA
Groupe6	KALYSTAR	KALY_52	64,70	ghijk	4,5	5
Groupe6	KORELI	KOR_54	61,73	ijkl	4,5	(4)-5
Groupe6	PLAYER	PLAY_93	63,49	hijk	4,5	NA
Groupe6	PR22R20	PR20_28	62,36	hijkl	4,5	3
Groupe6	SOLUTION	SOLU_96	65,00	ghijk	4,5	4
Groupe6	BOISSEAU	BOI_75	51,00	klmn	5	3
Groupe6	GALVANO	GALV_17	54,69	klm	5	NA
Groupe6	PARADOR	PAR_56	56,67	jklm	5	6
Groupe6	PEPIDOR	PEP_57	54,49	klm	5	4
Groupe6	SEYRAC	SEYC_35	52,80	klmn	5	NA
Groupe6	XI19	XI19_40	50,20	lmn	5	NA
Groupe6	ARISTOTE	ARI_70	44,60	mno	5,5	4
Groupe6	FOLKLOR	FOL_85	44,13	no	5,5	4
Groupe6	PAPAGENO	PAPA_91	47,07	mn	5,5	6
Groupe6	PERFECTOR	PER_58	41,89	no	5,5	4

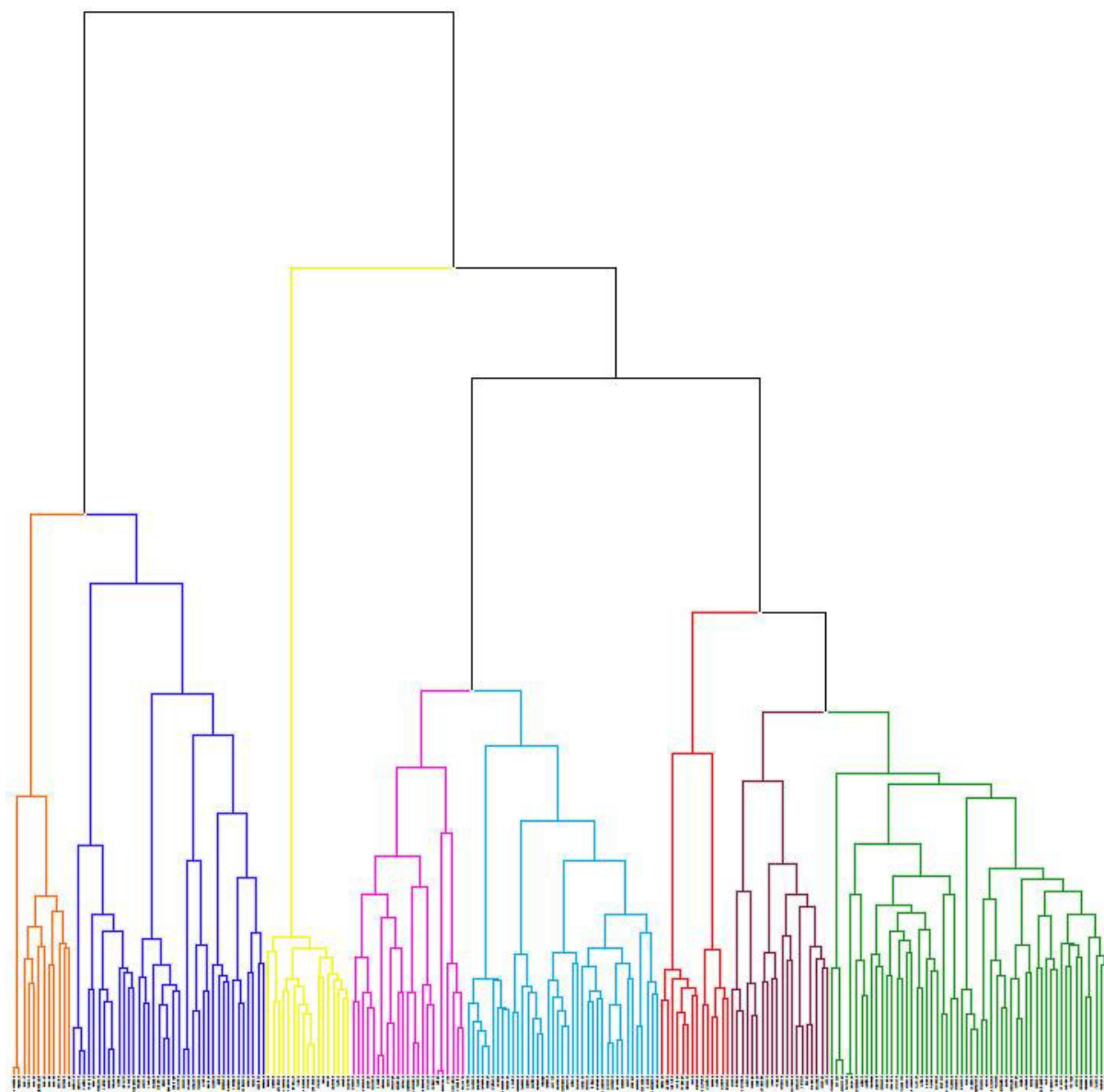


Groupe de notation	Nom de la variété	Abréviation	Taux d'infection moyen	Classement (Test de Tuckey)	Cotation attribuée	Cotation officielle du CTPS
Groupe6	SELEKT	SEL_34	42,72	no	5,5	4
Groupe6	AZZERTI	AZZE_73	35,94	op	6	3
Groupe6	CORVUS	CORV_9	31,40	opq	6	3,5
Groupe6	KALAHARI	KAHA_51	32,01	opq	6	6
Groupe6	KWS PODIUM	KWS_7	34,44	op	6	3,5
Groupe6	LIMES	LIM_22	32,48	opq	6	5
Groupe6	MANAGER	MAN_23	34,08	opq	6	6
Groupe6	SOPHYTRA	SOP_36	37,80	nop	6	7
Groupe6	SPONSOR	SPO_65	28,08	pq	6	5
Groupe6	SY EPSON	EPS_66	35,32	op	6	(5)
Groupe6	BERGAMO	BERG_60	25,97	pq	6,5	5,5
Groupe6	CHEVALIER	CHE_80	25,21	pq	6,5	6
Groupe6	EPHOROS	EPH_44	21,43	q	6,5	5
Groupe6	OXEBO	OXE_24	21,14	q	6,5	5,5
Groupe6	PAJERO	PAJ_25	24,80	pq	6,5	6
Groupe7	MARKSMAN	MAR_55	87,60	a	2	2,5
Groupe7	TRAPEZ	TRA_67	86,76	a	2	3
Groupe7	SAMURAI	SAM_32	82,89	ab	2,5	3
Groupe7	SOGOOD	SOG_64	84,47	a	2,5	3
Groupe7	OAKLEY	OAK_12	73,00	bcd	3	2,5
Groupe7	PIERROT	PIE_27	74,55	abc	3	3,5
Groupe7	ROSARIO	ROS_31	74,35	bc	3	3
Groupe7	SCOR	SCOR_63	74,60	abc	3	3,5
Groupe7	FAIRPLAY	FAY_33	70,60	cd	3,5	4
Groupe7	FLAUBERT	FLA_46	66,60	cdef	3,5	4,5
Groupe7	JB DIEGO	DIE_21	67,04	cdef	3,5	NA
Groupe7	PR22R20	PR20_28	67,20	cde	3,5	3
Groupe7	RAZZANO	RAZ_29	68,16	cde	3,5	2,5
Groupe7	WARRIOR	WAR_39	67,04	cdef	3,5	3
Groupe7	HAUSSMANN	HAU_19	61,47	def	4	5
Groupe7	KALYSTAR	KALY_52	61,64	cdef	4	5
Groupe7	VISCOUNT	VIS_38	64,30	cdef	4	NA
Groupe7	BOISSEAU	BOI_75	55,50	fg	4,5	3
Groupe7	HEREWARD	HER_10	55,65	fg	4,5	NA
Groupe7	SEYRAC	SEYC_35	54,54	fg	4,5	NA
Groupe7	SPONSOR	SPO_65	56,80	efg	4,5	5
Groupe7	XI19	XI19_40	53,96	fgh	4,5	NA
Groupe7	AMBIION	AMBI_8	43,43	hi	5	3,5
Groupe7	CLAIRE	CLA_15	48,19	gh	5	4
Groupe7	ISTABRAQ	IST_20	43,57	hi	5	4,5
Groupe7	ROBIGUS	ROB_30	45,36	ghi	5	4,5
Groupe7	TIMING	TIM_37	43,84	ghi	5	3
Groupe7	AMUNDSEN	AMU_14	38,25	ij	5,5	3
Groupe7	LIMES	LIM_22	37,20	ijk	5,5	5
Groupe7	MANAGER	MAN_23	37,88	ijk	5,5	6
Groupe7	RACINE	RAC_61	33,85	jkl	5,5	4,5
Groupe7	SOPHYTRA	SOP_36	31,96	jkl	5,5	7
Groupe7	SY EPSON	EPS_66	36,04	ijkl	5,5	(5)
Groupe7	ALCHEMY	ALC_13	25,93	lm	6	NA
Groupe7	CENTENAIRE	CENT_6	24,88	lm	6	5,5
Groupe7	CORVUS	CORV_9	26,92	klm	6	3,5
Groupe7	ESKET	ESK_16	24,36	lm	6	3
Groupe7	KOMETUS	KOM_53	26,69	lm	6	5,5
Groupe7	OXEBO	OXE_24	26,52	lm	6	5,5
Groupe7	GARANTUS	GARA_18	18,93	m	6,5	5
Groupe7	LEAR	LEA_11	17,40	m	6,5	4,5





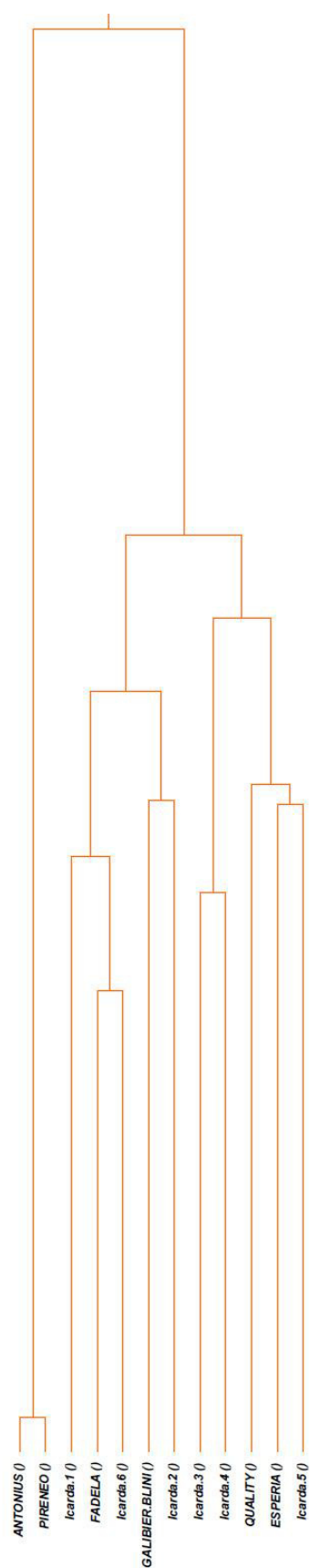
## **ANNEXE VI : Dendrogramme du panel variétal** **« Breedwheat »**



Arbre phylogénétique représentant l'ensemble des variétés du panel « Breedwheat »

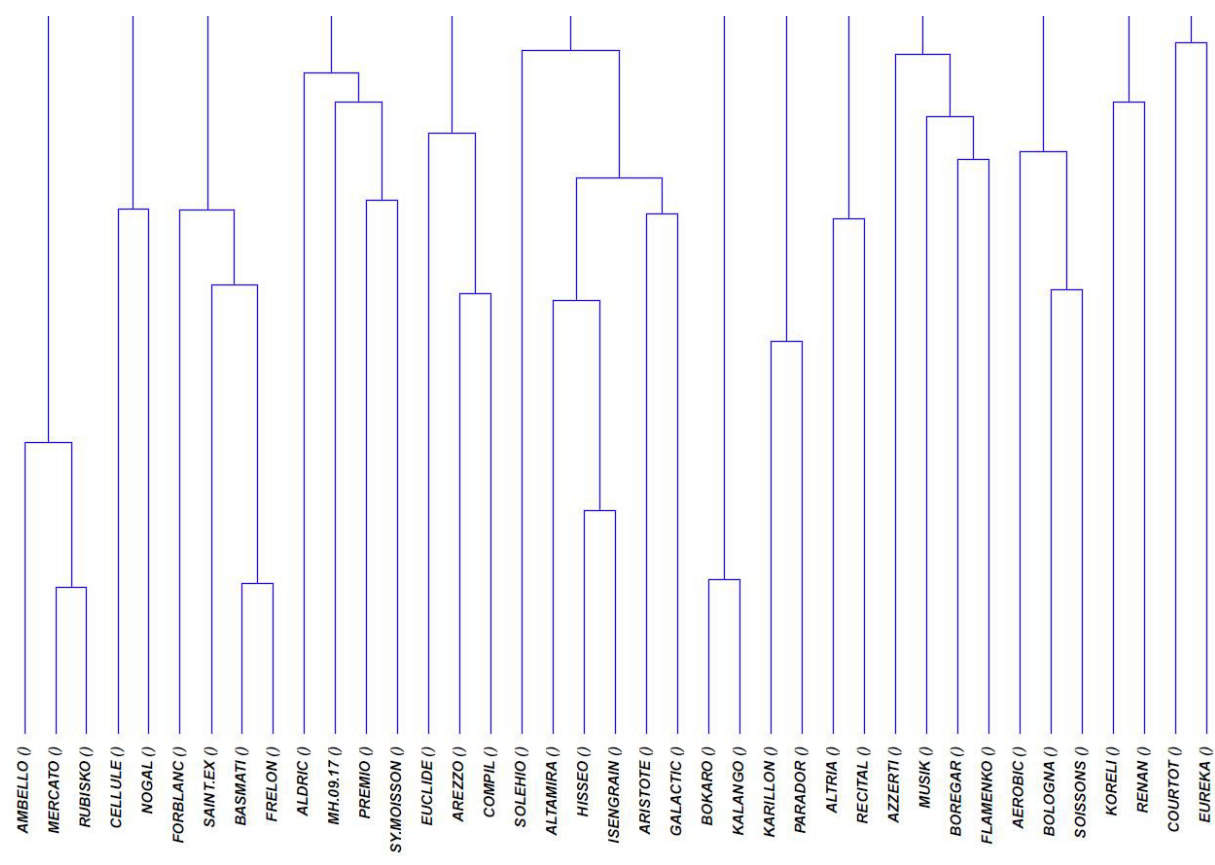
Ce dendrogramme est issu d'une matrice des fréquences alléliques de 220 variétés de blé tendre d'hiver. Chaque couleur représente une catégorie variétale aux caractéristiques communes.





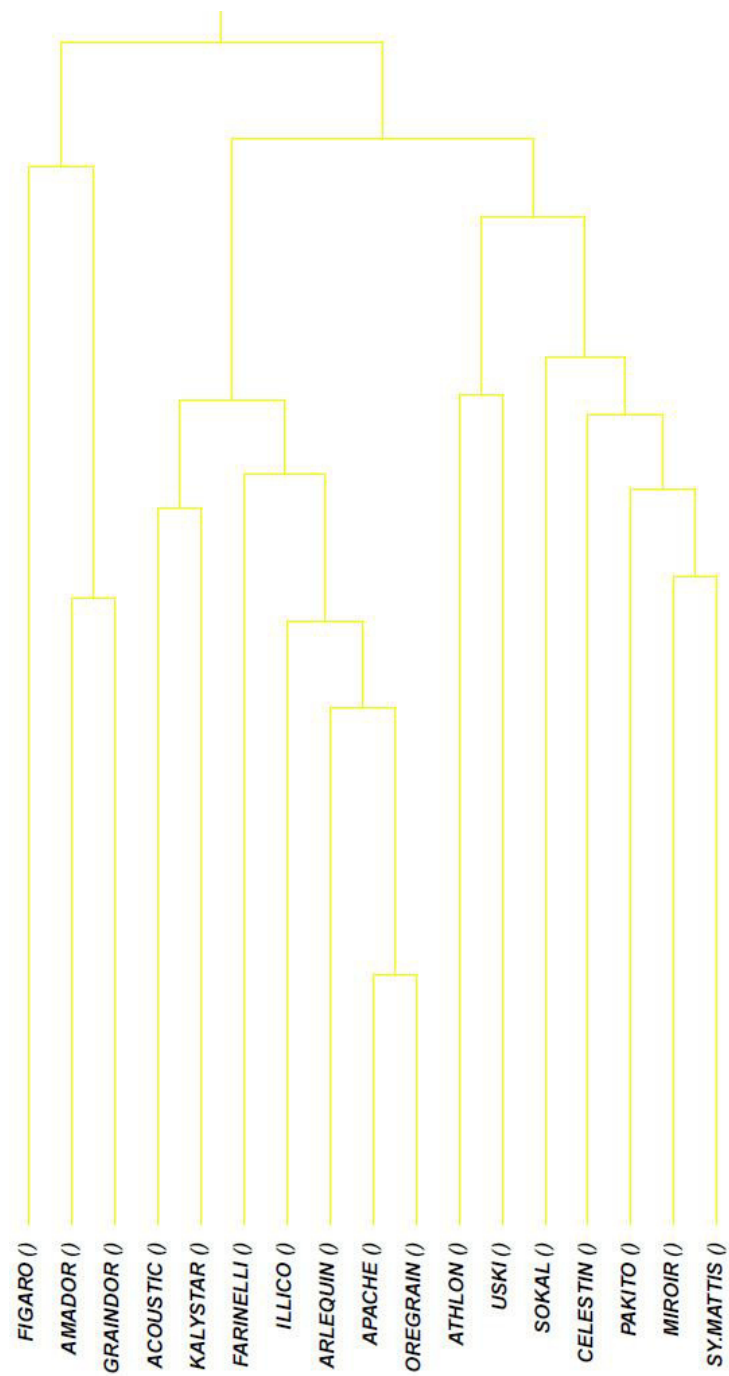
Ensemble des variétés constituant le groupe « Exotiques »





Ensemble des variétés constituant le groupe «SOISSONS»

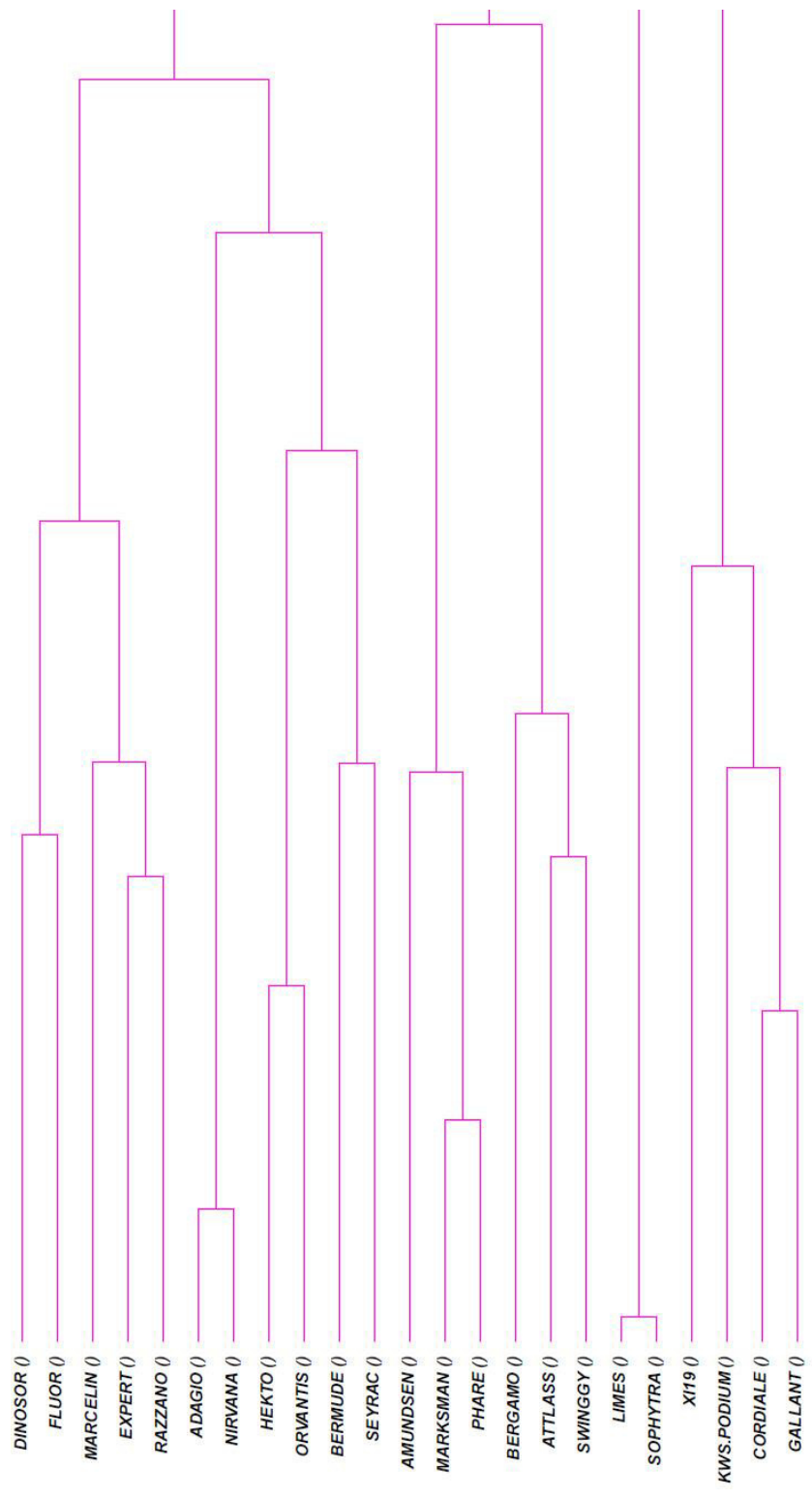




Ensemble des variétés constituant le groupe «APACHE»

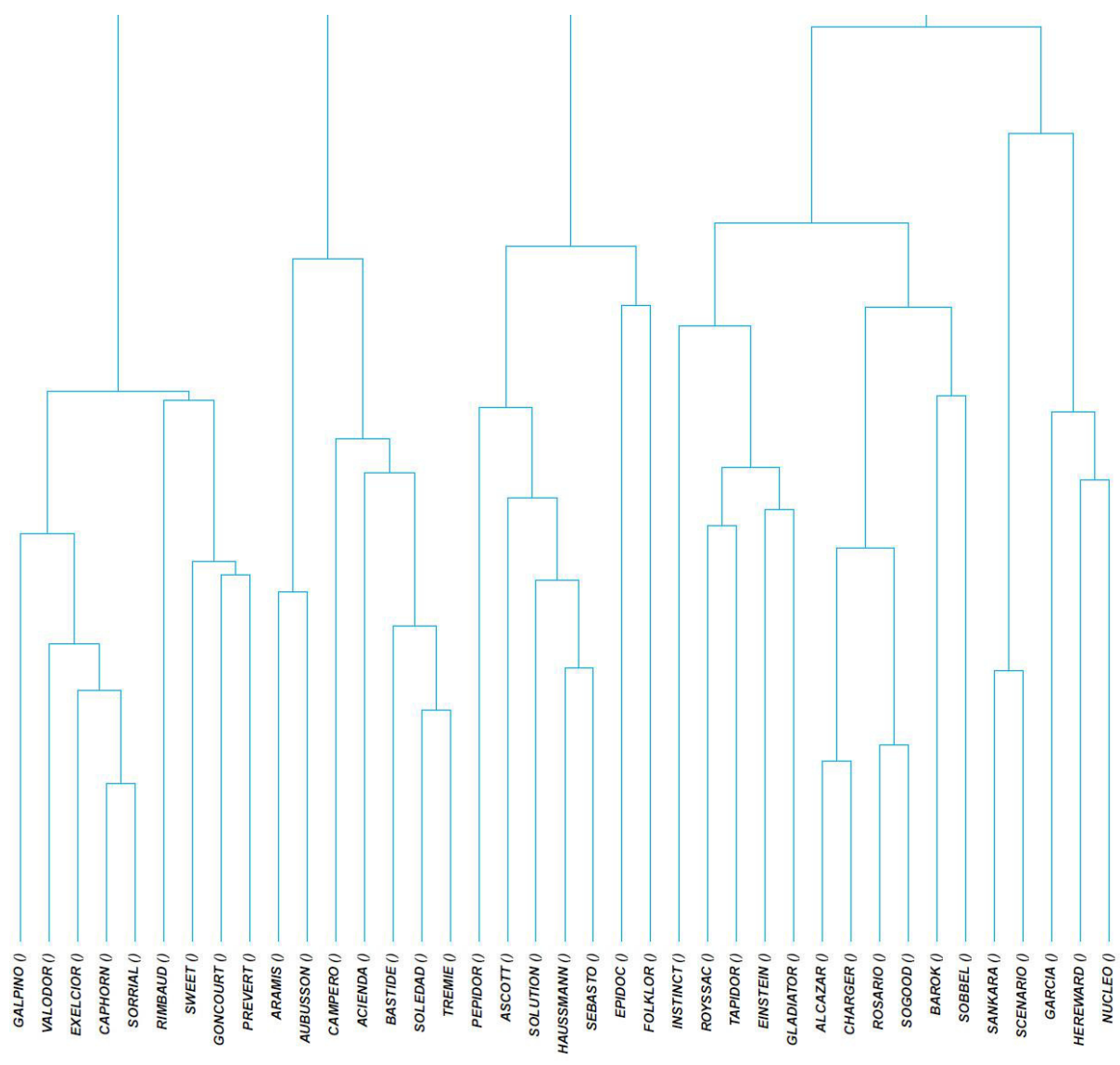






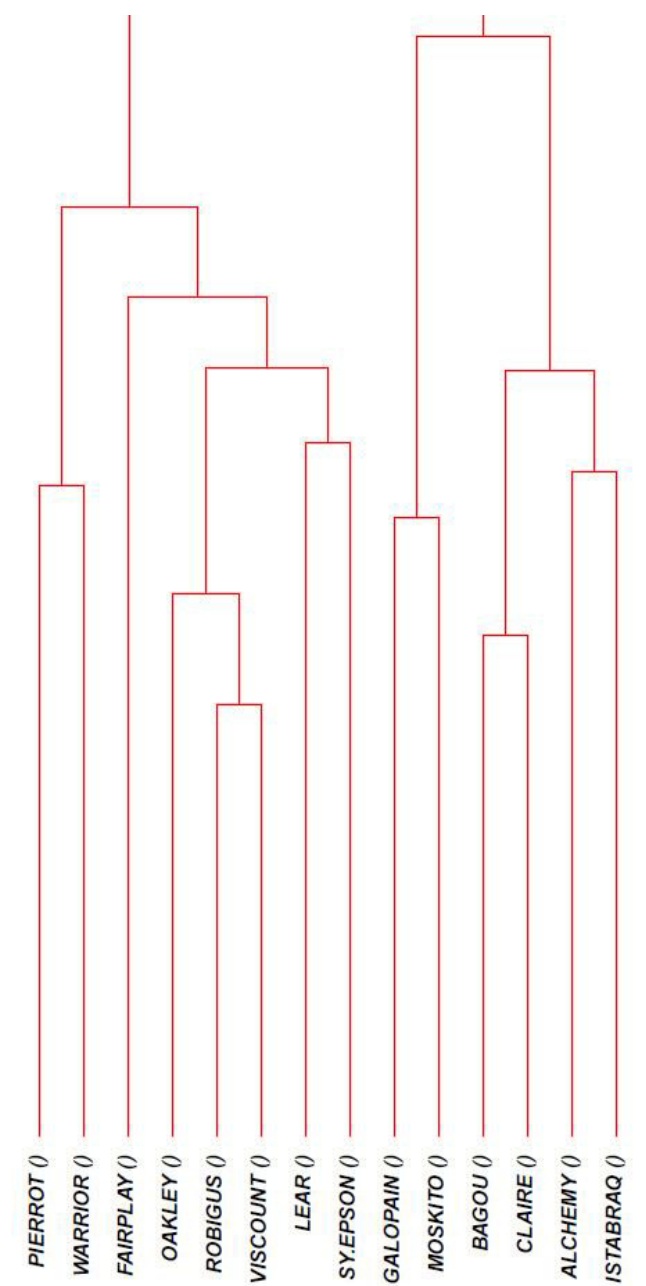
Ensemble des variétés constituant le groupe sensible à FHB





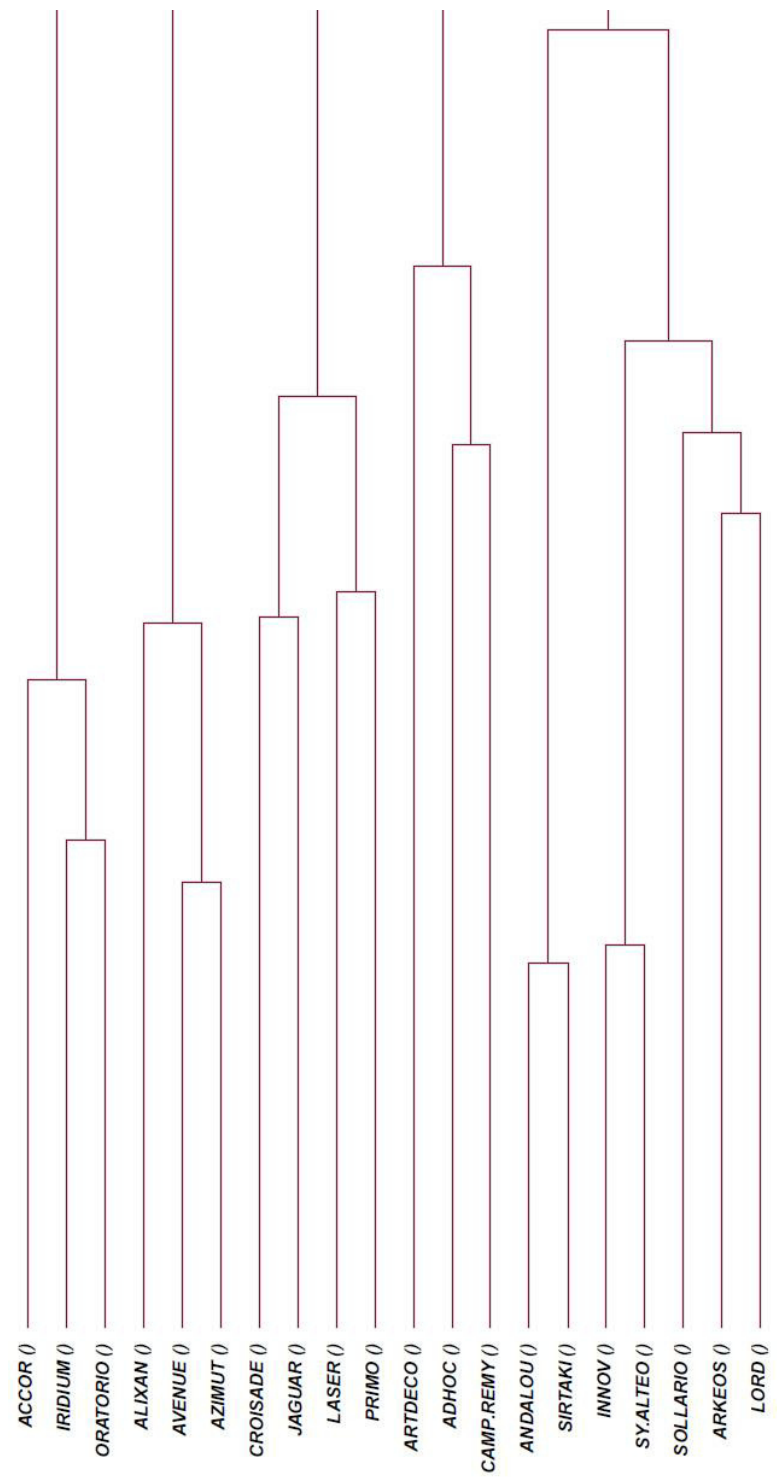
Ensemble des variétés constituant le groupe issu du parent fondateur MOULIN





Ensemble des variétés constituant le groupe britannique

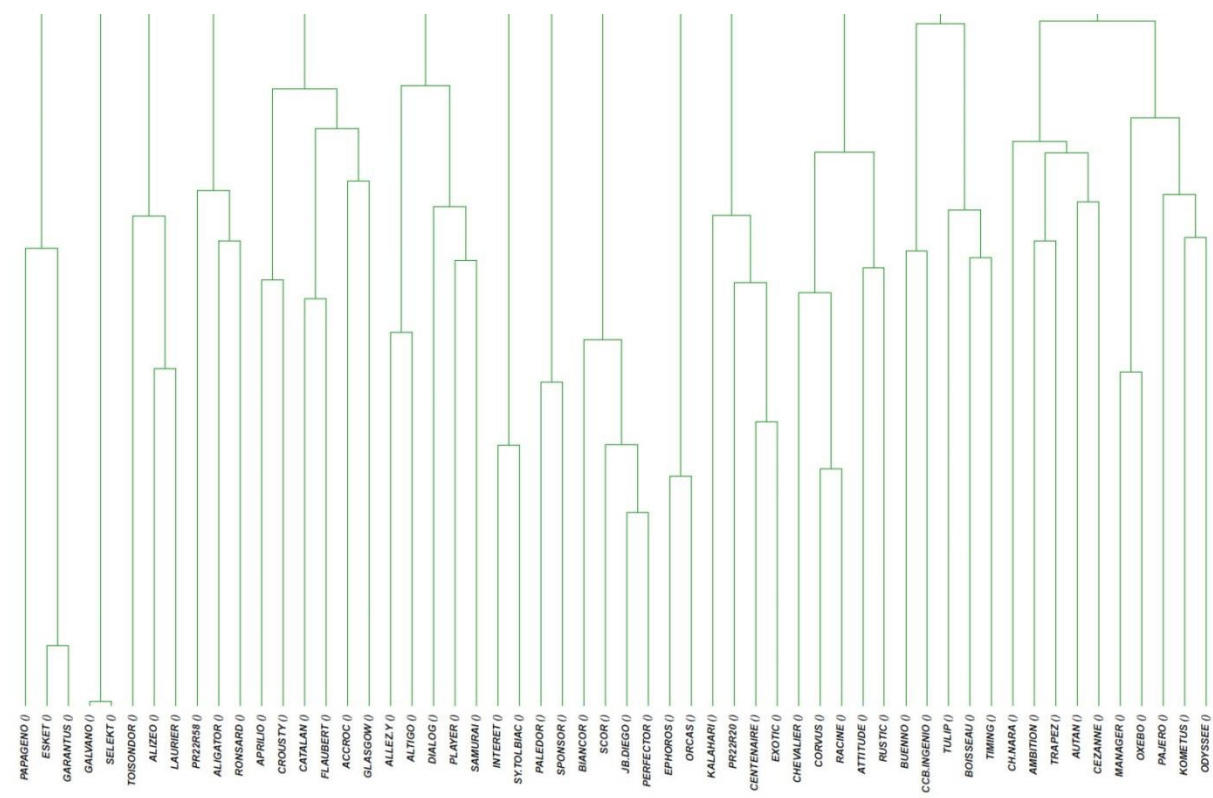




Ensemble des variétés constituant le groupe de « fond génétique français »










Ensemble des variétés constituant le groupe à fond génétique allemand, belge et de l'Europe de l'Est



  		Diplôme / Mention : Biologie et Technologie du Végétal Spécialité : Production et Technologie du Végétal (ProTeV) Parcours : Productions Végétales Spécialisées Option : Semences et Plants
Auteur(s) : ROQUES Caroline Date de naissance : 05 mars 1986		Organisme d'accueil : SECOBRA Recherches Adresse : Centre de Bois-Henry 78580 MAULE  Maître de stage : Pascal GIRAUDEAU
Nb pages : 32      Annexe(s) : 20		
Année de soutenance : 2014		
Titre français : Analyse de la variabilité génétique du blé pour la résistance à la fusariose de l'épi Titre anglais : Analysis of wheat genetic variability for resistance to <i>Fusarium</i> head blight		
<p>Résumé:</p> <p>La fusariose de l'épi (FHB) est une des maladies fongiques les plus importantes du blé pouvant entraîner jusqu'à 30% de pertes de rendement, et altérer la qualité boulangère de la farine. Parmi les champignons responsables de la fusariose, certains d'entre eux produisent des mycotoxines, notamment le désoxynivalénol (DON). Ces mycotoxines sont dangereuses pour la santé et sont réglementées dans la chaîne alimentaire. De nos jours, la lutte contre cette maladie est essentiellement variétale, mais le choix de l'agriculteur est très restreint en termes de variétés ayant une bonne résistance à la FHB. La génétique de cette maladie est de nature quantitative et semble impliquer de très nombreux QTL à effet mineur. De plus, il a été découvert que la présence de gènes de nanisme, présents dans 95% des blés français, conférait une plus forte sensibilité à la FHB. Enfin, le phénotypage de cette maladie est complexe, car la contamination par le champignon s'effectue à la floraison et le développement du champignon est fortement dépendant des conditions météorologiques. Au sein du programme de Recherche collaboratif Investissements d'Avenir « Breedwheat », la caractérisation de la résistance à FHB est une des thématiques abordées. L'objectif est d'analyser la variabilité génétique du blé pour la résistance à la FHB dans un panel de 220 variétés de blés françaises et européennes. Réalisé au sein de la société SECOBRA Recherches, partenaire du programme « Breedwheat », le stage a pour objectif de caractériser les variétés pour leur résistance à FHB à travers la mise en place d'un essai expérimental, mais également d'effectuer une analyse d'association entre le génotypage à très haute densité et le phénotypage effectué pour identifier des régions QTLs et les comparer à celles rapportées dans la littérature.</p>		
<p>Abstract</p> <p>The <i>Fusarium</i> Head Blight (FHB) is one of the most important wheat fungal diseases which may cause a loss of 30% of yield and affect the baking quality of the flour. Among the fungus responsible of the FHB, many produce mycotoxins including the deoxynivalenol (DON). These mycotoxins are dangerous to human health and strict mycotoxin rules apply in the food chain. Today, the control of this disease is mainly based on the choice of resistant varieties. However, the number of varieties with good resistance to FHB on the market is limited. The genetics of this disease is quantitative and seems to imply a lot of QTLs with minor effects. On the other hand, it has been discovered that dwarfing genes which are included in 95% of French wheat germplasm increase the FHB susceptibility. At last, phenotyping this disease is complex for two reasons: first, the fungal contamination occurs during flowering time; second, the fungal growth is highly dependent on the weather condition. Within "Breedwheat" collaborative research program, the characterization of resistance to FHB is one of the topics covered. The aim is to analyze the genetic variability of wheat for FHB resistance across a panel of 220 varieties of French and European wheat. The present study performed within the company SECOBRA Recherches, aims to : i) characterize FHB response of these varieties in an experimental field trial and ii) perform a genome wide association using high density genotyping and phenotyping data to eventually identify and compare QTLs regions with the literature.</p>		
Mots-clés : Fusariose de l'épi ; Breedwheat, Génétique d'association, maladies fongiques sur blé Key Words: <i>Fusarium</i> Head Blight (FHB), Genome Wide Association, wheat fungus diseases		

