HAL open science

Caractérisation de sources de résistance à la fusariose chez le blé dur

Maxime Trottet, V. Atanosova-Penichon, J. Ferreyrolle, L. Gervais, Laetitia Pinson-Gadais, Pierre Roumet

To cite this version:

Maxime Trottet, V. Atanosova-Penichon, J. Ferreyrolle, L. Gervais, Laetitia Pinson-Gadais, et al.. Caractérisation de sources de résistance à la fusariose chez le blé dur. Innovations Agronomiques, 2014, 35, pp.173-180. 10.17180/zz4f-se17 . hal-01190059

HAL Id: hal-01190059

https://hal.science/hal-01190059v1

Submitted on 1 Sep 2015

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

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

Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

Caractérisation de sources de résistance à la fusariose chez le blé dur

Trottet M.[1], Atanosova-Penichon V.[2], Ferreyrolle J.[3], Gervais L.[4], Pinson Gadais L.[2], Roumet P.[5]

[1] INRA, UMR IGEPP, BP 35327, 35653 Le Rheu
[2] INRA, UMR INRA Mycsa, BP 81, 33883 Villenave d'Ornon
[3] Arvalis Institut du végétal, 78850 Thiverval Grignon
[4] Syngenta Seeds, 31790 Saint Sauveur
[5] INRA, UMR AGAP, Campus Supagro, 2 Place Viala, 34060 Montpellier Cedex 2

Correspondance : pierre.roumet@supagro.inra.fr

Résumé

Face au problème croissant chez le blé dur de la fusariose des épis causée par différentes espèces de *Fusarium sp*., une étude a été entreprise, avec le concours du Ministère chargé de l'Agriculture. Cette étude a permis d'évaluer la résistance de différentes sous-espèces de *Triticum turgidum*. Les populations contenant le plus d'individus résistants sont issues de la sous-espèce *T. turgidum dicoccum*. Une étude plus approfondie a permis de montrer cette résistance était de type 2 : faible progression des symptômes après la contamination d'un épillet par épi. Un géniteur, TRI2215, montre un niveau de résistance particulièrement intéressant, mais est très haut et très tardif, ce qui le rendra difficile à utiliser. C'est pourquoi une recherche de QTL a été entreprise sur ce géniteur.

L'analyse des déterminants de l'agressivité des *Fusarium* confirme qu'elle vient en grande partie des mycotoxines. Différents composés phénoliques semblent aussi jouer un rôle dans la résistance de la plante. Une analyse qualitative de la flore fusarienne des épis a permis d'identifier six espèces majeures de *Fusarium* et de les associer avec les différentes mycotoxines, et qu'un genre proche, *Microdochium,* ne produisait pas de mycotoxines. Il a montré aussi que la quantité de mycotoxines dans un organe était proportionnelle à la quantité d'ADN du champignon dans l'organe.

Mots-clés : Blé dur, *Triticum turgidum ssp.*, *Fusarium*, mycotoxines, résistance, marquage moléculaire

Abstract: **Characterization of new sources of resistance to Fusarium ear blight in durum wheat**

Facing the increasing problem of Fusarium head blight with durum wheat caused by different species of *Fusarium*, a study was undertaken with the help of the Ministry in charge for agriculture. This study made it possible to assess the resistance of different sub-species of *Triticum turgidum*. The populations with the most resistant accessions belong to the sub-species *T. turgidum dicoccum*. Going deeper into this study showed that this resistance was a type 2 one: slow progression of necrosis after contamination of one spikelet per spike. One accession, TRI2215, exhibited very high level of resistance, but it is very high and very late accession, this will make this accession difficult to be used in breeding. This justifies a QTL search for Fusarium resistance.

The analysis of the determinant for *Fusarium* aggressiveness confirmed that a great part was linked with the production of mycotoxins. Several phenol compounds seemed to play a part in the resistance of the plant. A qualitative analysis of the *Fusarium* flora on the spikes allowed identifying six major *Fusarium* species and to associate them with the different mycotoxins. A close genus, *Microdochium*, did not produce mycotoxins. We also showed that the amount of mycotoxins in an organ was related to the fungus DNA in the organ.

Keywords: Durum wheat, *Triticum turgidum*, *Fusarium*, mycotoxins, resistance, molecular markers

Introduction

La fusariose de l'épi est une maladie causée par un complexe d'espèces fongiques des genres *Fusarium* et *Microdochium* (avec comme espèce majoritaire *F. graminearum)* qui constitue l'un des ensembles pathogènes les plus dangereux pour les céréales ; la quasi-totalité des graminées de grande culture sont affectées par ces champignons (Blés, Avoine, Orge, Seigle, Maïs...). La prévalence de cette maladie s'étend à l'ensemble des régions tempérées du globe.

Parmi les céréales à paille, le blé dur est l'espèce pour laquelle la fusariose pose le plus de problèmes : son niveau de sensibilité à cette maladie, en moyenne plus élevé que celui des autres espèces, et son utilisation, essentiellement destinée à l'alimentation humaine, rendent sensibles les aspects contamination par les fusariotoxines. Par ailleurs, le dispositif de recherche sur cette espèce est beaucoup moins développé que sur le blé tendre. Ainsi, le nombre de publications consacrées à l'étude de la résistance à la fusariose est beaucoup plus faible pour le blé dur (7 / 48 publications - données Février 2012 pour le blé dur/ blé tendre depuis 1999). Notre objectif était d'identifier la flore fusarienne présente sur les grains de blé dur et de développer des outils de diagnostic de la présence de cette flore, d'identifier une variabilité disponible au sein de l'espèce *T turgidum* pour la résistance au champignon et l'accumulation de fusariotoxines, et, enfin, de donner les éléments sur les déterminants génétiques de la résistance à la fusariose.

1. Caractérisation qualitative et quantitative de la flore fusarienne présente sur les grains de blé dur.

Le développement du champignon dans le grain a été évalué par la quantification du gène *TRI5* (ADN). *TRI5* est le premier gène impliqué dans la voie de biosynthèse des trichothécènes (TCT). Il permet donc de quantifier tous les *Fusarium* producteurs de TCT. Pour normaliser cette quantification, nous avons également quantifié le gène Rubisco du blé. Cette analyse a été effectuée sur les grains à deux stades de maturation (5 jours post-inoculation à floraison et récolte) de plantes témoins et contaminées (Figure 1). Les 17 échantillons étudiés sont issus d'essais réalisés dans des conditions favorisant *F. graminearum*, avec ajout à la parcelle de cannes de maïs simulant un précédent à risque pour la fusariose. Ainsi, la composition de la population observée n'est pas le miroir de celle réellement présente dans les conditions naturelles de culture du blé dur, mais reflète celle présente dans les essais réalisés pour le classement des variétés face à la fusariose des épis.

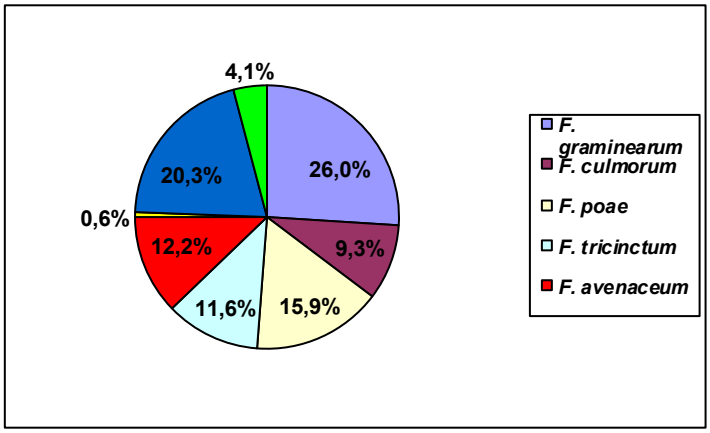

Figure 1. Répartition des espèces responsables de la fusariose des épis sur blé dur (en %)

Les corrélations entre la quantité d'ADN de *F. graminearum,* notations visuelles et les teneurs en DON des échantillons (6 variétés, 4 essais) ont également été analysées, révélant une très bonne cohérence entre DON et ADN du champignon (R^2 = 0.88) et entre symptômes et ADN du champignon (R^2 = 0.60). Les classements variétaux sont systématiquement conservés, quelle que soit la méthode d'analyse employée. Ces méthodes d'analyses, fiables et cohérentes, permettront, dans le cadre de

futurs projets d'amélioration génétique, un phénotypage fin et en adéquation avec les diverses questions pouvant se poser dans le cadre de la sélection variétale.

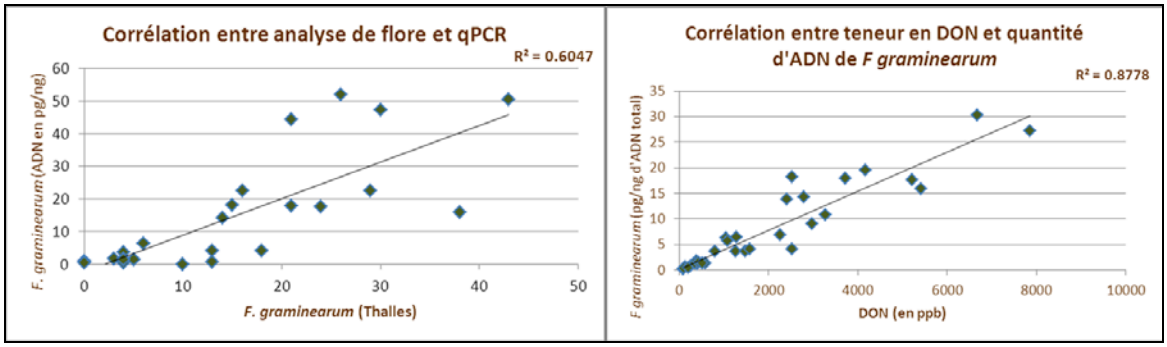

Figure 2 : Relations entre qPCr et analyse de flore et qPCR et teneur en mycotoxines (DON)

2. Caractérisation phénotypique des sources de résistance à la fusariose chez le blé dur.

Une variabilité phénotypique pour la résistance au Fusarium a été observée au sein d'un échantillon d'accessions représentant les différentes sous espèces de *T. turgidum*. En moyenne, le bon niveau de résistance des meilleures accessions a été reproductible au cours des deux années d'expérimentations : les variétés cultivées s'avérant sensibles à très sensibles au Fusarium alors que des accessions des sous espèces *T turgidum dicoccum* ou *carthlicum* étaient notées résistantes.

Sur une année donnée, les lignées les plus résistantes développaient peu de symptômes avec des scores inférieurs d'au moins un écart-type à la moyenne de l'essai (Tableau 1). La concordance entre les lieux d'essais était satisfaisante sauf dans un lieu où le niveau d'attaque par la fusariose était extrêmement élevé (Figure 2).

Tableau 1. Notes de fusariose observées dans 6 expérimentations. Les données ont été centrées réduites sur chaque lieu pour homogénéiser le poids de chaque lieu dans la moyenne. Les valeurs négatives désignent les génotypes les plus résistants et les valeurs positives aux plus sensibles.

Code	génotypes	Rennes	Eurodur	Serasem	Syngenta	Ragt-R2n	Desprez	moyenne
1	TRI2215	-1.55	-1.07	-2.89	-1.82	-1.99	-0.94	**-1.71**
2	Cwi44150	-1.12	-0.99	-1.37	-0.98	-0.86	-1.53	**-1.14**
3	DIC45239	-1.12	-0.99	-1.25	-0.15	-0.54	-1.53	**-0.93**
4	CA947753	-0.83	-1.07	-1.46	-0.15	-1.08	-1.53	**-1.02**
5	Joyau	0.04	0.48	0.11	-0.15	-0.66	-0.05	**-0.04**
6	Neodur	0.62	-0.18	0.63	-0.15	-0.30	0.54	**0.19**
7	Orjaune	0.18	0.48	0.15	0.69	0.57	-0.64	**0.24**
8	Pescadou	0.62	0.27	0.63	0.69	-0.35	-0.35	**0.25**
9	Silur	1.48	-0.10	1.05	2.37	1.01	0.39	**1.03**
10	Byblos	2.06	1.97	1.23	-0.15	2.34	0.39	**1.31**
11	Nefer	2.35	2.53	1.15	1.53	1.74	0.54	**1.64**
12	Kirsehir	0.47	0.15	0.50	-0.15	0.67	2.02	**0.61**
13	Adiyaman	0.33	0.87	0.55	0.69	1.20	1.87	**0.92**
14	Istanbul	0.33	1.63	0.76	-0.15	0.80	1.57	**0.82**
15	Mugan	0.18	-0.33	0.21	-0.15	0.42	0.54	**0.15**
16	Griechenland Grosskornig	-0.54	-0.18	-0.25	-1.82	0.36	0.10	**-0.39**
17	Uruguay 106 B	-1.12	-0.95	-0.14	-0.98	-0.54	0.39	**-0.55**
18	Iran 2	-0.68	-0.80	0.38	0.69	-0.76	-0.35	**-0.25**
19	Durumbuck	-0.54	-0.16	-0.90	-0.15	-0.72	-0.94	**-0.57**
20	Biancuccia	0.18	-0.51	1.02	1.53	0.35	0.54	**0.52**
21	Min Ni 2707	-0.83	-0.96	-0.15	-0.15	-0.70	-0.94	**-0.62**
22	Robaforte	-0.40	0.47	-0.15	-0.15	-0.63	-0.05	**-0.15**
23	Prosp Maroc Monneveux	-0.11	-0.57	0.18	-0.98	-0.34	-0.05	**-0.31**

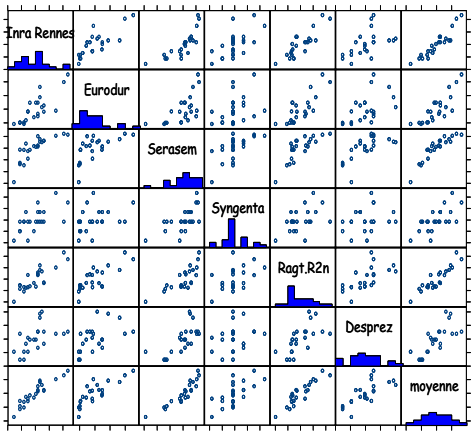

Figure 2. Quantité de symptômes produits (AUDPC) dans 6 sites expérimentaux (année 2010). Les histogrammes sur la diagonale permettent d'estimer le niveau d'attaque par la fusariose sur les épis. (Données centrées et réduites). La moyenne des sites est présentée dans la colonne de droite et la dernière ligne.

La résistance de type II qui permet de limiter l'extension des symptômes après qu'un épillet ait été contaminé a été précisée pour les génotypes les plus résistants. Cette résistance II explique une part importante de la résistance globale (Figure 2) ; elle donne une bonne prédiction du niveau de résistance des génotypes évalués. Ces résultats confirment que Tri2215 est la meilleure lignée non seulement pour la résistance globale, mais aussi pour la résistance à l'expansion des symptômes dans l'épi après attaque d'un épillet. La lignée DIC45239 (Figure 3) est beaucoup plus résistante que ne laisse penser sa note de résistance de type 2. Ceci est probablement dû à sa hauteur, 134 cm, plus importante que celle des variétés cultivées (85 cm à 108 cm). De fait, la hauteur des plantes explique 57 % de la variation de la moyenne des notes de développement de la fusariose sur les épis au champ (résultats non montrés). Néanmoins il reste possible que le bon niveau de résistance de cette accession soit contrôlé par d'autres phénomènes et que sa résistance soit de nature différente de celle des autres génotypes testés.

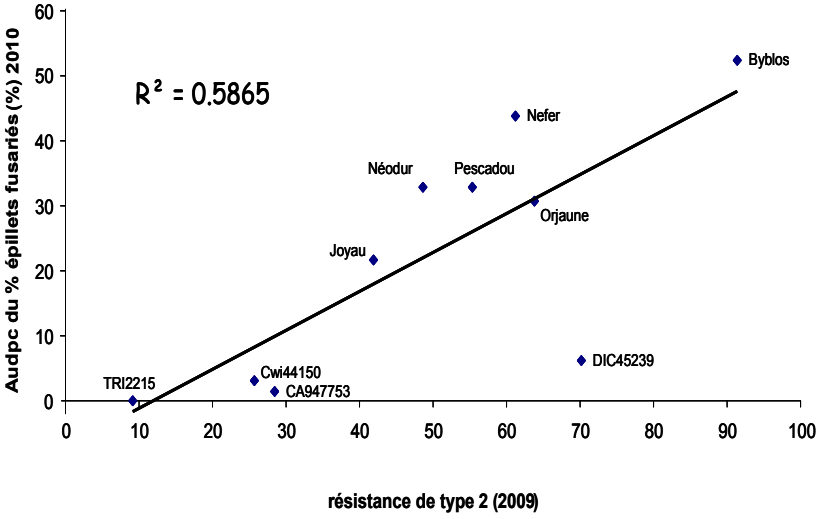

Figure 3. Relation entre la résistance de type 2 en 2009 et l'AUDPC du pourcentage d'épillets fusariés en 2010.

La précocité explique également une part importante de la résistance au champ : 59 % pour la moyenne des essais 2010 (Figure 4). Les quatre génotypes les plus résistants sont presque sur la droite de régression et contribuent pour une très forte part au R^2. Ces résultats sur les relations entre l'expression de la résistance avec la hauteur des plantes et la précocité démontrent que, d'une part, au cours du processus d'introgression de la résistance au sein du pool cultivé, il est possible que l'on perde une partie de la résistance, et que, d'autre part, il faudra veiller à ne pas dériver vers des types hauts et tardifs.

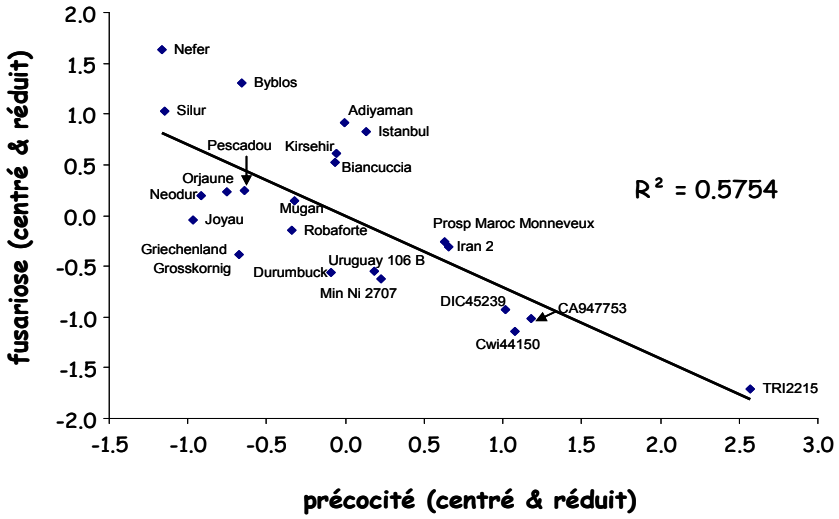

Figure 4. Relation entre la précocité et développement de la fusariose sur les épis (moyennes centrées et réduites de 3 lieux pour la précocité et de 6 lieux pour le développement de la fusariose.

3. Accumulation de fusariotoxines : Variabilité génotypique & composés modulateurs

Des travaux antérieurs menés sur blé tendre inoculé par *Fusarium culmorum*, ont montré que l'expression de TRI5, le premier gène de voie de biosynthèse des TCTB était détectée dès cinq jours post-inoculation à floraison. Par la suite, l'accumulation des fusariotoxines résulte de deux types de mécanisme: (i) la transformation ou « détoxification » des Fusariotoxines et, en particulier, la glycosylation du déoxynivalénol (DON) (Berthiller *et al.,* 2005; Lemmens *et al.,* 2005), et (ii) une accumulation moindre de mycotoxines par inhibition de leur biosynthèse en présence de composés biochimiques antioxydants, comme les composés phénoliques (Ponts *et al*., 2006 ; Ponts *et al.*, 2007; dont la composition évolue quantitativement et qualitativement au cours du développement du grain en réponse à l'installation de *Fusarium spp (*Boutigny, 2007).

Quatre lignées (une « résistante » (TRI2215), une « intermédiaire » (Néodur), et deux « sensibles » (Byblos et Nefer)) ont été étudiées. Les épis de ces quatre lignées, contaminés à la floraison par pulvérisation d'une suspension de spores de *Fusarium culmorum* (Souche R964 de chémotype DON/15ADON) et non contaminés, ont été prélevés cinq jours après floraison et à la récolte. La variété TRI2215 limite fortement le développement et/ou la progression de Fusarium dans les grains (Figure 5a) ; ce génotype accumule entre 4 et 10 fois moins d'ADN de Fusarium que la variété sensible Byblos, et entre 2 et 4 fois moins que les variétés Nefer et Néodur. Corrélativement à cette plus faible contamination, la teneur en TCTB des grains de TRI2215 était très inférieure à celles des autres lignées (Figure 5b).

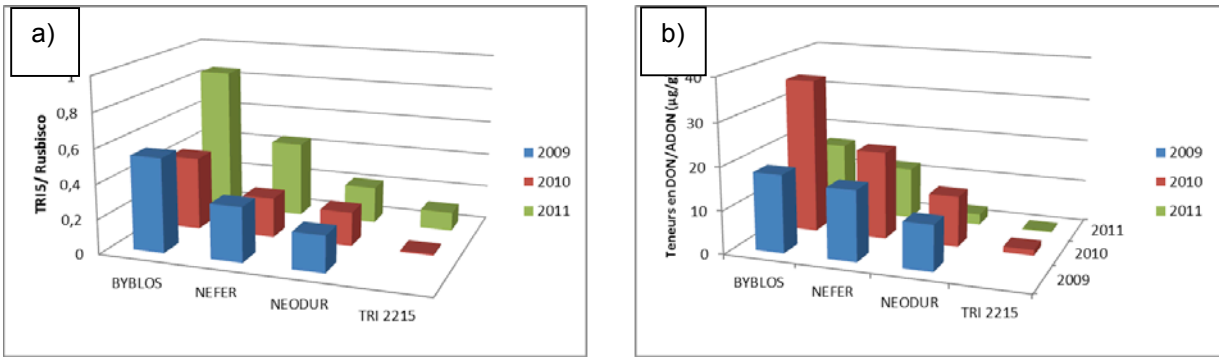

Figure 5. Quantification ADN Tri5 (champignon)/ ADN Rubisco (blé) de grains matures inoculés en plein champ (Figure 5a) et teneurs en TCTB (DON+ADONs) des grains matures inoculés en plein champ (Figure 5b) en 2009, 2010, 2011. Les données de l'année 2009 pour TRI2215 sont manquantes

Une variabilité importante pour la relation contamination fongique et accumulation de mycotoxines (DON/ADON) a été observée au sein d'un échantillon de 18 lignées (Figure 6) suggérant que le degré de contamination fongique ne permettait qu'une approximation moyenne du taux de mycotoxines présentes.

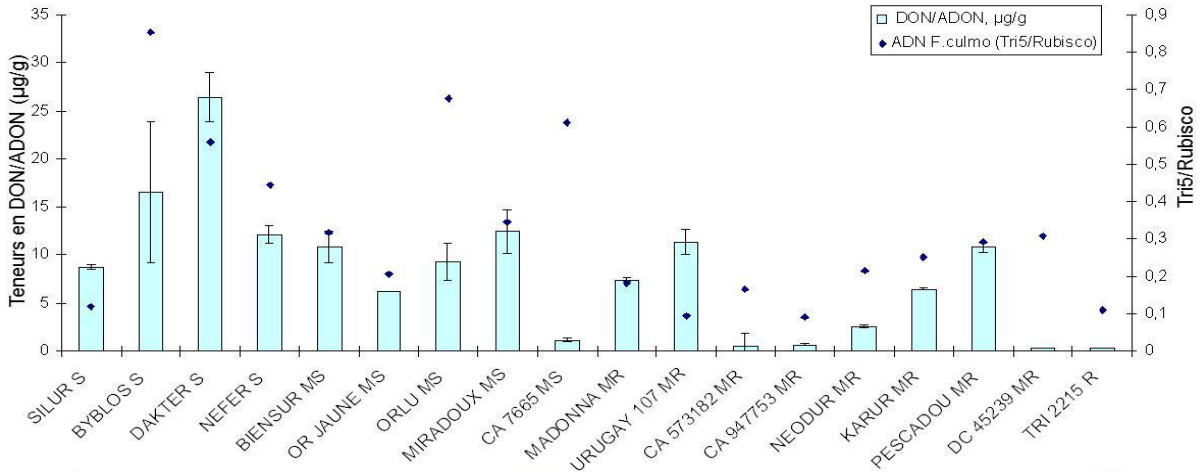

Figure 6. Relation entre accumulation entre contamination fongique et accumulation de mycotoxines sur des grains matures pour 18 génotypes.

L'accumulation d'acides phénoliques dans les grains immatures (notamment de composés de type flavone, vitexin, orientin et isoscoparin) a été observée pour les lignées les plus résistantes (Figure 7) à un stade où s'initient l'infection et la production de toxines par *Fusarium culmorum*. Ces composés ne sont pas détectés (ou uniquement sous forme de traces, i.e. en dessous du seuil de quantification de la méthode analytique) dans les lignées sensibles.

En résumé, ces travaux ont démontré d'une part, que la lignée TRI2215 limitait fortement le développement fongique et suggéré, d'autre part, que l'accumulation des mycotoxines pouvait être modulée par des composés de type phénoliques.

Figure 7. Teneurs en composés phénoliques libres de type flavone des grains immatures inoculés de 18 accessions de blé dur (2011).

4. Bases génétiques de la résistance à la fusariose à partir de l'accession Tri2215

Une population de lignées recombinantes (170 RILs) a été développée à partir du croisement entre Tri2215 et Silur. Ces lignées ont été phénotypées dans 3 essais inoculés par spray (*F culmorum*, Grisolles 2010 et 2011) ou par inoculum présent sur cannes de maïs (Monbéqui, 2011). Une variabilité conséquente, bien supérieure à celle observée au sein des variétés commerciales a été observée pour différents traits incluant la résistance de l'épi à la fusariose (Figure 8). Cette population a été cartographiée à l'aide de marqueurs de type SSRs et DArT®. Au total, 904 marqueurs ont pu être cartographiés ; ils ont défini 28 groupes de liaison représentant une longueur de carte totale de 2660 cM. Une approche QTL a été réalisée pour détecter les régions chromosomiques 'expérimentation spécifique' contrôlant cette résistance à la fusariose (Figure 9). Une de ces zones chromosomiques co-localisait avec Rht1 (hauteur de plante, chr. 4B) ; les autres zones chromosomiques recoupaient des régions préalablement identifiées chez le blé tendre (1B, 2A, 4B, 5A, & 6B, Liu et al. 2009 ; Löffleur et al. 2009) ou des zones chromosomiques spécifiques à cette population (2A, 3B)

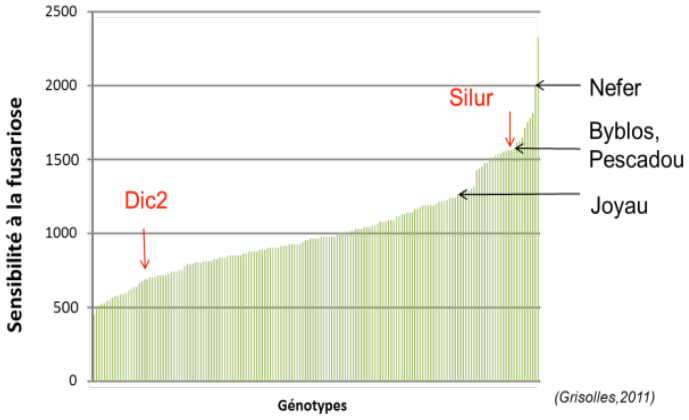

Figure 8. Variabilité de la résistance à la fusariose au sein de la descendance Tri2215*Silur (170 Rils, Notes AUDPC, Grisolles, 2011)

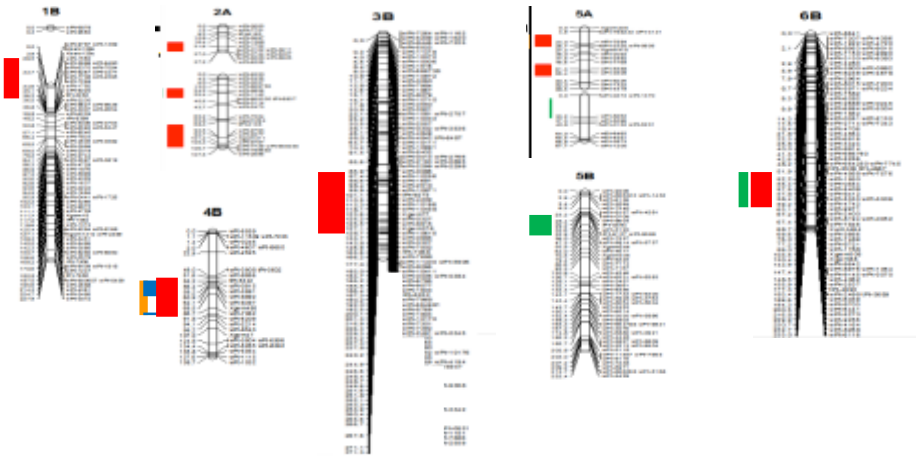

Figure 9. Zones chromosomiques détectées contrôlant l'expression de la résistance sur épi à la fusariose dans 3 expérimentations (Grisolles, 2010 – code couleur jaune-, Grisolles, 2011 -rouge-, Monbéqui, 2011-vert-).

Conclusions et perspectives.

Cette étude a mis en évidence le niveau de résistance exceptionnel de différentes accessions appartenant aux sous-espèces *T. turgidum, carthlicum et dicoccum*. Ce bon niveau de résistance

souligne, en creux, l'extrême sensibilité des variétés du pool cultivée au *Fusarium* sp. Elle a aussi mis en évidence une relation entre la présence de certains composés phénoliques qui pourraient intervenir dans la modulation de la synthèse de composés toxicogènes. Le niveau de résistance particulièrement élevé d'une accession Tri2215 a été régulièrement observé au cours des différentes expérimentations, à la fois en terme de résistance aux attaques fongiques et à l'accumulation de fusariotoxines. Toutefois compte tenu des faibles performances agronomiques de cette accession qui appartient à la première forme domestiquée (*T turgidum dicoccum*), il est indispensable de préciser les zones du génome impliquées dans le contrôle de la résistance et l'accumulation des mycotoxines (DON) afin de générer des outils d'aide à la sélection pour aider à la construction de génotypes résistants. L'amélioration du phénotypage en utilisant un protocole homogène dans les différents lieux d'essais est nécessaire afin d'identifier de façon plus précise les différentes régions chromosomiques impliquées dans l'expression de la résistance.

Les initiatives en cours ont pour objet de confirmer le rôle de certaines molécules dans la modulation de la toxinogénèse, de cartographier cette résistance, et de développer des marqueurs plus faciles à utiliser que les DArT® pour faciliter le transfert de cette résistance vers les programmes de sélection.

Références bibliographiques

Boutigny A., 2007. *Identification dans les grains de blé dur de composés inhibiteurs de la biosynthèse des trichothécènes B par* Fusarium. Thèse Université de Bordeaux 1, France

Liu S.Y., Hall M.D., Griffey C.A. McKendry A.L., 2009. Meta-analysis of QTL associated with Fusarium head blight resistance in wheat. Crop Science 49, 1955-1968.

Löffler M., Schön C.C., 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.

Lemmens M., Scholz U., Berthiller F., Dall'Asta C., Koutnik A., Schuhmacher R., Adam G., Buerstmayr H., Mesterhazy A., Krska R., Ruckenbauer P., 2004. The ability to detoxify the mycotoxin deoxynivalenol colocalizes with a major quantitative trait locus for fusarium head blight resistance in wheat. Mol. Plant-Microbe Interact. 18, 1318-1324.

Ponts N., Pinson-Gadais L., Barreau C., Richard-Forget F. Ouellet T., 2007. Exogenous H_2O_2 and catalase treatment interfere with *Tri* genes expression in liquid culture of *Fusarium graminearum.* FEBS Letters 581, 443-447.

Ponts N., Pinson-Gadais N., Verdal-Bonin M-N., Barreau C., Richard-Forget F. 2006. Accumulation deoxynivalenol and its 15-acetylatedform is significantly modulated by oxidative stress in liquid cultures of *Fusarium graminearum*. FEMS Microbiology Letters 258, 102-107.