

La résistance aux maladies fongiques de lignées de blé transgénique en plein champ

Fabio Mascher¹, Caterina Matasci^{1,2}, Yvan Kneubuehler¹, Stefan Kellenberger¹, Carolina Diaz Quijano³, Beat Keller⁴, Christof Sautter³ et Arnold Schori¹.

¹Station de recherche Agroscope Changins-Wädenswil ACW, 260 Nyon 1

²Delley Semences et Plantes DSP, 1567 Delley

³Ecole Polytechnique de Zurich, 8093 Zurich

⁴Université de Zurich, 8008 Zurich

Renseignements: Fabio Mascher, e-mail: fabio.mascher@acw.admin.ch, tél. +41 22 363 47 33



Semis du test de résistance à Pully.

Introduction

Les plantes disposent d'une part de barrières physiques et biochimiques limitant ou empêchant leur colonisation par les agents pathogènes. Ces barrières agissent de manière non spécifique, mais n'apportent qu'une protection partielle contre les infections (Hückelhoven 2007). Les plantes possèdent d'autre part des résistances spécifiques leur permettant de reconnaître certaines races d'agents pathogènes et d'activer rapidement une batterie de défense biochimiques (Slusarenko *et al.* 2000; Niu & He 2009). Ces systèmes de défense induits par l'infection se déclenchent à chaque infection. La protection complète dépend de la rapidité du temps de réaction. Lors de cette réaction induite, la plante produit notamment des protéines PR (*pathogenesis-related proteins*; van Loon *et al.* 2006), par exemple des glucanases et chitinases. Ces enzymes dégradent les glucanes et chitines, composants importants des parois cellulaires du

champignon (Kasprzewska 2003; Liu *et al.* 2009). Ainsi, les glucanases et chitinases affaiblissent le pathogène et perturbent le processus d'infection (Liu *et al.* 2009; Ferreira *et al.* 2007).

Au cours de ces dernières décennies, la recherche a fait de grands progrès dans la connaissance de la fonction des gènes impliqués dans le mécanisme de défense décrit ci-dessus. Plusieurs gènes de résistance ont été clonés (isolés) et peuvent être transmis par transgénèse à des plantes ne possédant pas ces gènes. L'intégration de ces gènes de résistance dans une nouvelle plante permet aussi de comprendre et contrôler sa fonction et ses interactions avec d'autres gènes. Les connaissances acquises sont très utiles à la sélection classique des cultures modernes et peuvent également être utilisées pour le développement de lignées transgéniques.

Ce travail examine la résistance envers différents agents pathogènes fongiques sur blé transgénique ou non. L'impact de deux types de résistance est examiné: résistance quantitative (non spécifique) et résistance qualitative (spécifique à la souche). La résistance quantitative a été obtenue par transfert sur la variété de blé de printemps Frisal de gènes de la chitinase et de la glucanase issus de l'orge (Bieri *et al.* 2003). Le gène spécifique de résistance à l'oïdium *Pm3b* a été transféré sur la variété Bobwhite (Brunner *et al.* 2011). Quatre lignées transgéniques distinctes issues de Bobwhite-Pm3b ainsi que les lignées sœurs non-transgéniques correspondantes sont intégrées à cette étude (Foetzki *et al.* 2012). Ces lignées permettent d'étudier les effets du processus de transformation sur la plante (Sharp *et al.* 2002). Tant les lignées transgéniques chitinase/glucanase que les lignées transgéniques *Pm3b* ont précédemment montré en serre un niveau de résistance à l'oïdium amélioré (Bieri *et al.* 2003; Brunner *et al.* 2011). Les lignées transgéniques *Pm3* ont de plus montré au champ une résistance à l'oïdium également fortement améliorée (Foetzki *et al.* 2011; Brunner *et al.* 2011). Ce travail examine l'effet de

diverses résistances transgéniques à l'oïdium, la rouille jaune et la fusariose sur épi sous une forte pression d'infection avec des tests de résistance après infection artificielle.

Matériel et méthodes

Variétés et lignées de blé examinées

Toutes les variétés et lignées de blé utilisées dans ces expériences sont décrites dans le tableau 1. Les contrôles sont constitués par les variétés d'origine Bobwhite et Frisal ainsi que les variétés commerciales de blé de printemps Toronit, Fiorina, Casana et Rubli. Pour mieux appréhender la pression d'infection dans les tests de résistance, une variété sensible et une variété résistante ont été également semées dans chaque test de résistance.

Implantation des essais

Les essais ont été semés sur la parcelle 51 du domaine du site de Pully de la station de recherche Agroscope Changins-Wädenswil, en 2009 et 2010. Un test distinct pour chaque maladie a été implanté séparément. Deux lignes de la variété de triticales Trado ont été semées pour séparer chaque test individuel des autres. Les variétés ont été semées en poquets de 40 graines avec une distance entre les poquets d'environ 30×30 cm. Chaque répétition de chaque test de résistance était également isolée par une ligne de variétés particulièrement sensibles (ligne d'infection; tabl. 1). Aucun traitement fongicide n'a été effectué. Dès que la population de mouches de Frit (*Oscinella frit*) a dépassé le seuil de tolérance (soit la présence de 1 œuf/m²), la culture a été protégée par trois applications à une semaine d'intervalle avec Karate Zeon (Lambda-Cyhalothrin 9,43 %; Syngenta Agro AG, Dielsdorf, Suisse; 75 l dans 300 l d'eau/ha).

Infections artificielles

Les infections artificielles sont décrites par Michel (2002). Tous les isolats pathogènes utilisés proviennent de Suisse et représentent bien les virulences présentes sur le territoire national (Mascher *et al.* 2010; Mascher *et al.* 2012). Les plantes des variétés sensibles à l'oïdium Kanzler et Oi2- ont été pré-cultivées en serre et infectées avec l'oïdium. Après 2 semaines, les plantes fortement infectées ont été transplantées dans la ligne d'infection à l'oïdium du test de résistance. Les isolats de rouille jaune ont été multipliés en serre sur les variétés sensibles Coker et Eridano (tabl. 1). Les plantes présentant une forte sporulation ont été transplantées dans la ligne d'infection correspondante du test de résistance. En complément, des spores en suspension dans du pétrole ont été pulvérisées sur les lignées d'infection. >

Résumé

Le transfert de gènes de résistance supplémentaires par transgénèse permet de mieux comprendre le fonctionnement de ces gènes et leur interaction avec d'autres gènes de la plante. Cette étude examine la résistance de différentes lignées de blé contre l'oïdium, la rouille jaune et la fusariose sur épi. Il étudie d'une part le gène de résistance spécifique *Pm3b* provenant de la variété locale Chul transféré à la variété Bobwhite et, d'autre part, la résistance quantitative, non-spécifique, apportée par les gènes chitinase et glucanase provenant de l'orge et transférés sur la variété de blé Frisal. Les expériences ont été conduites sous très forte pressions d'infection afin de comparer le niveau de résistance de la lignée transgénique avec la variété d'origine non modifiée. Dans le cas des descendants *Pm3b* de Bobwhite, il a été possible d'inclure des lignées sœurs non-transgéniques. Ces lignées sœurs ont subi le même processus de transformation, mais ont ensuite perdu le transgène par ségrégation après régénération par semence de la plante.

Les résultats montrent que le gène supplémentaire *Pm3b* améliore considérablement la résistance envers les infections provoquées par l'oïdium, tant sur feuille que sur épi. De manière inattendue, une lignée transgénique montre également une résistance améliorée vis-à-vis de la rouille jaune. La résistance contre la fusariose sur épi n'est, par contre, guère influencée par la présence ou l'absence du transgène. Les gènes supplémentaires chitinase et glucanase n'ont pas montré d'efficacité sur la résistance des plantes transgéniques. Les connaissances acquises par ces essais sont très utiles pour la sélection classique de variétés résistantes.

Tableau 1 | Description des variétés et lignées de blé utilisées

Nom	Liste des variétés et lignées de blé	
	Description	Origine, Obtenteur
Pm3b-1tg	Lignée transgénique avec le gène <i>Pm3b</i>	Université de Zurich, B. Keller
Pm3b-1sl	Lignée sœur de Pm1tg, non-transgénique	Université de Zurich, B. Keller
Pm3b-2tg	Lignée transgénique avec le gène <i>Pm3b</i>	Université de Zurich, B. Keller
Pm3b-2sl	Lignée sœur de Pm2tg, non-transgénique	Université de Zurich, B. Keller
Pm3b-3tg	Lignée transgénique avec le gène <i>Pm3b</i>	Université de Zurich, B. Keller
Pm3b-3sl	Lignée sœur de Pm3tg, non-transgénique	Université de Zurich, B. Keller
Pm3b-4tg	Lignée transgénique avec le gène <i>Pm3b</i>	Université de Zurich, B. Keller
Pm3b-4sl	Lignée sœur de Pm4tg, non-transgénique	Université de Zurich, B. Keller
Bobwhite	Variété d'origine pour les transformations <i>Pm3b</i>	CIMMYT, Mexique
A9	Lignée transgénique avec gène chitinase et glucanase	EPF de Zurich, C. Sautter, W Gruissem
A13	Lignée transgénique avec gène chitinase et glucanase	EPF de Zurich, C. Sautter, W Gruissem
Frisal	Variété d'origine pour les transformations chitinase et glucanase	Agroscope/DSP
Toronit	Variété commerciale, pour comparaison	Agroscope/DSP
Fiorina	Variété commerciale, pour comparaison	Agroscope/DSP
Casana	Variété commerciale, pour comparaison	Agroscope/DSP
Rubli	Variété commerciale, pour comparaison	Agroscope/DSP
Oï--	Lignée expérimentale, comparaison pour l'oïdium	Agroscope
OïS	Lignée expérimentale, comparaison pour l'oïdium	Agroscope
Eridano	Variété commerciale, comparaison pour la rouille jaune	SPS Bologna, Italie
Aletsch	Variété commerciale, comparaison pour la rouille jaune	Agroscope/DSP
Nadro	Variété commerciale, comparaison pour la fusariose sur épi	Agroscope/DSP
Sonalika	Variété commerciale, comparaison pour la fusariose sur épi	CIMMYT, Mexique

L'inoculum pour les tests de résistance de la fusariose sur épi était composé de différentes souches de *Fusarium culmorum*. Les spores ont été produites sur graines de blé et une concentration de 10⁶ spores/ml a été employée pour infecter les plantes en début de floraison (Haller Gärtner *et al.* 2008).

Notations

La sévérité de l'infection a été notée sur une échelle logarithmique comme pourcentage de la surface foliaire atteinte (tabl. 2). La sévérité de l'infection d'oïdium sur épi a été évaluée sur 20 épis notés individuellement sur la base d'une échelle de 1 à 9. La notation de l'incidence (fréquence de l'infection) de la rouille jaune se base sur le comptage de la présence de symptômes sur les feuilles de 20 tiges. L'incidence de la fusariose sur épi a été évaluée sur 25 à 30 épis par poquet. Selon la durée de l'infection, chaque maladie a été notée en moyenne 5 fois mais au minimum 2 fois.

Le dosage de la mycotoxine DON a été effectué avec le kit Ridascreen FAST DON (r-biopharm, Darmstadt, Allemagne) selon les indicateurs du producteur.

Evaluation statistique

Les essais ont été mis en place en tant que blocs complètement randomisés (*complete randomized blocks*) de 4 répétitions par maladie et durant 2 ans. Chaque bloc est une répétition et contient le set complet des 18 variétés.

Les notes de la sévérité et de l'incidence ainsi obtenues ont été intégrées sur la durée de l'observation et exprimées comme surface sous la courbe de progression de la maladie (AUDPC; en anglais: *area under the disease progress curve*). Cette valeur a été obtenue par la formule $AUDPC = \sum [(x_i + x_{i+1})/2] \cdot t_i - \sum t_i$. Pour faciliter la comparaison inter-années de valeurs obtenues, l'AUDPC a été divisée par le nombre de jours entre la première et la dernière notation pour obtenir une valeur AUDPC par jour (AUDPC relative).

Tableau 2 | Echelle de notation pour les infections sur feuille et sur épi

Note	Surface atteinte
1	0
2	2,5%
3	12,5%
4	25%
5	50%
6	75%
7	87,5%
8	97,5%
9	100%

Les données ainsi récoltées ont été analysées avec le logiciel statistique SigmaPlot 11.0 (Systat Software Inc, Chicago, USA). Après testage de la distribution normale des résidus, une analyse de variance à un facteur a été effectuée pour déterminer la différence de comportement entre les lignées. Les différences statistiquement significatives entre les variétés ont été décelées par le test post-hoc HSD de Tukey ($P < 0,02$).

Résultats

Dans le test de résistance à l'oïdium sous infection artificielle, les quatre lignées transgéniques incluant *Pm3b* se sont montrées plus résistantes que la variété d'origine

Bobwhite (fig. 1). Les lignées sœurs non-transgéniques montrent des infections significativement plus élevées que lignées incluant ce gène *Pm3b*. Cette différence de comportement démontre que le gène supplémentaire a bien augmenté la capacité de résistance de la plante. Certains des isolats d'oïdium utilisés possédaient la virulence *Pm3b* permettant au pathogène de surmonter la résistance *Pm3b* (données non présentées; liste des virulences dans Matasci *et al.*, en préparation). Nos résultats suggèrent que le transgène *Pm3b* ajouté dans les lignées Bobwhite confère également une protection contre des pathogènes capables d'infecter les plantes porteuses du gène *Pm3b* non-transgéniques. En 2010, les conditions de l'infection ont été particulièrement

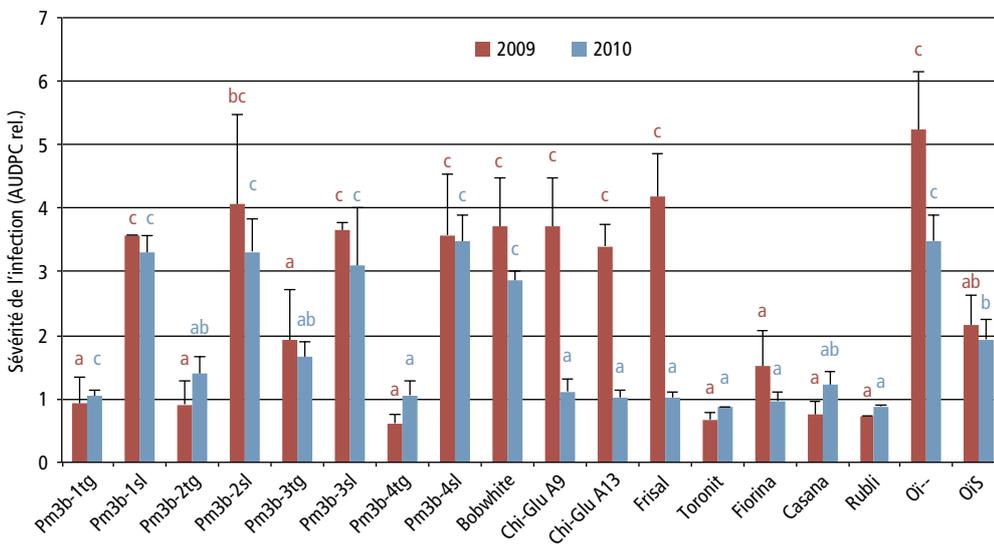


Figure 1 | Sévérité de l'oïdium en 2009 (colonnes rouges) et 2010 (colonnes bleues). L'analyse statistique (ANOVA) a été effectuée pour chaque année indépendamment. Les lettres sur les colonnes indiquent les différences statistiques entre les variétés pour chaque année (Tukey HSD, $P < 0,02$).

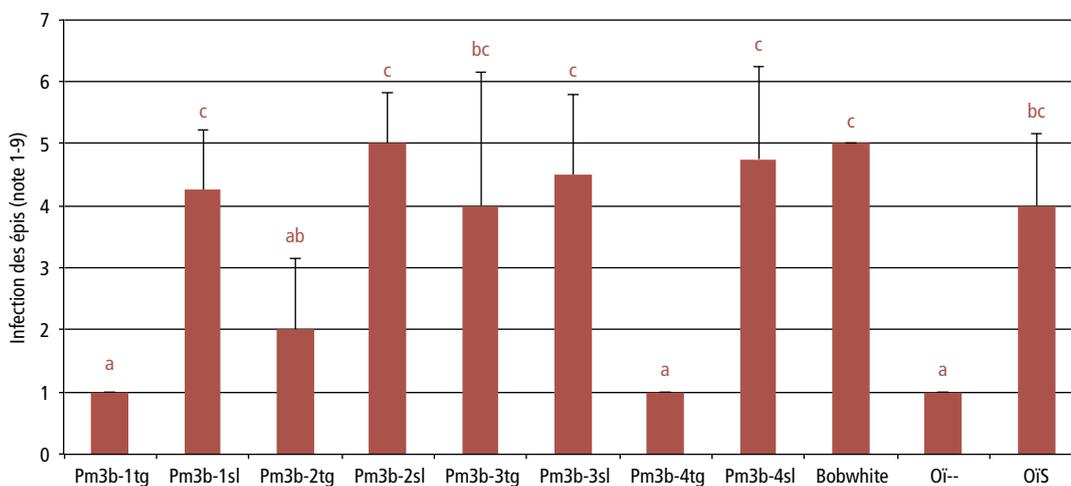


Figure 2 | Infections des épis par l'oïdium sur Bobwhite et les lignées dérivées transgéniques et non-transgéniques. Les lettres sur les colonnes indiquent les différences statistiques entre les génotypes (Tukey HSD, $P < 0,02$).

élevées et ont autorisé l'oïdium à infecter également les épis de la variété Bobwhite, comme ceux de quelques-uns de ses descendants. L'infection d'oïdium était particulièrement sévère sur Bobwhite et sur les 4 lignées sœurs non-transgéniques (fig. 2). Les lignées transgéniques Pm3b-1tg, Pm3b-2tg et Pm3b-4tg montraient toutefois une infection significativement plus faible. L'infection de la lignée transgénique Pm3b-3tg montrait de très larges fluctuations de niveau. Statistiquement, le niveau de résistance de cette lignée était comparable à la fois avec la variété sensible d'origine Bobwhite et la lignée résistante Pm3b-2tg.

Frisal et les lignées transgéniques dérivées A9 et A13 ont montré un niveau élevé d'infections par l'oïdium en 2009 et aucun symptôme en 2010. La forte infection en 2009 est probablement due à la présence de souches virulentes. Les gènes chitinase et glucanase supplémen-

taires ne contribuaient donc aucunement à la résistance dans les conditions expérimentales présentes. Aucune infection de l'épi n'a été décelée.

La figure 3 présente la sévérité de l'infection de la rouille jaune pendant les deux années d'expérimentation. Frisal et les dérivés transgéniques n'ont montré qu'un très faible niveau d'infection alors que Bobwhite présentait des symptômes chaque année. La sévérité de l'infection à la rouille jaune n'était pas différente entre descendants transgéniques et non-transgéniques à l'exception de la lignée Pm3b-2tg. La lignée transgénique Pm3b-2tg montrait chaque année le niveau d'infection le plus faible dans tout le groupe Bobwhite. Toutefois, seule la différence en 2010 était statistiquement assurée. Afin de mieux comprendre les différences de comportement au sein du groupe Bobwhite, l'incidence de la rouille jaune, c'est-à-dire la fréquence de tiges présen-

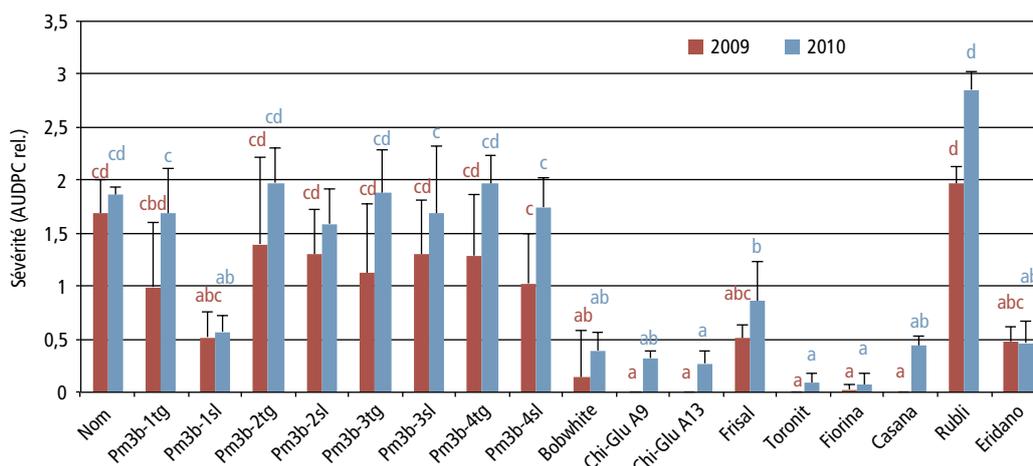


Figure 3 | Sévérité de la rouille jaune dans les tests de résistance en 2009 et 2010. Les lettres sur les colonnes indiquent les différences statistiques entre les génotypes (Tukey HSD, $P < 0,02$).

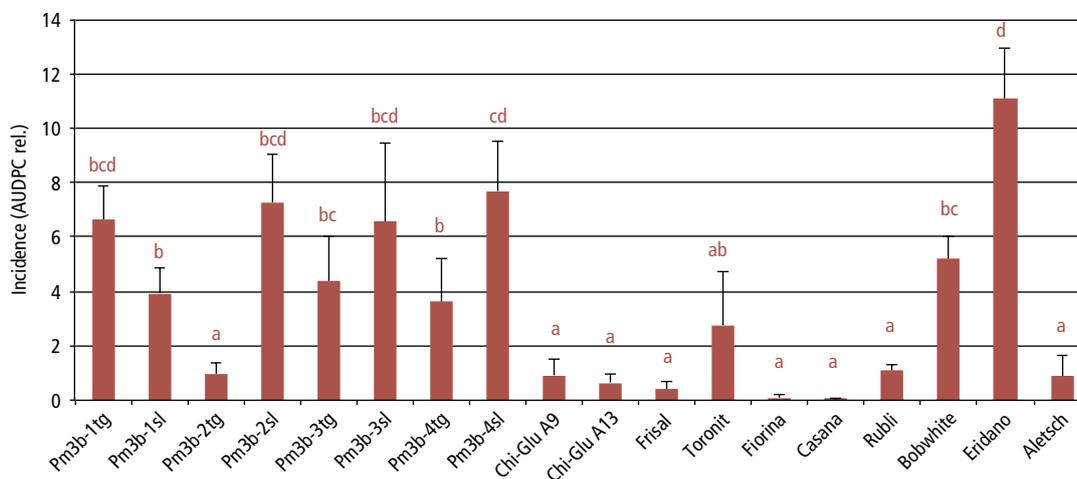


Figure 4 | Incidence de la rouille jaune sur les talles. Les lettres sur les colonnes indiquent les différences statistiques entre les génotypes (Tukey HSD, $P < 0,02$).

Tableau 3 | Qualité des graines après infection artificielle avec *Fusarium* sur épi. Analyse statistique (par analyse de variance ANOVA) pour déterminer les différences entre variétés et lignées transgéniques et non-transgénique de Bobwhite et Frisal. Les lignées et variétés montrant un niveau de résistance au-dessus de la moyenne sont indiquées

	Bobwhite		Frisal	
	2009	2010	2009	2010
Contamination mycotoxine (DON)	p=0,006	p=0,476 ns	p=0,004	p=0,003
	Pm3b-1tg, Pm3b-4tg	-/-	Frisal	Frisal
Proportion de graines déformées	p=0,029	p=0,021	p=0,227	p=0,166
	-/-	Pm3b-1sl, Pm3b-4tg	-/-	-/-
Poids de mille grains	p=0,004	p=0,172	p=0,068	p=0,019
	Pm3b-2sl, Pm3b-4sl	-/-	-/-	A9

tant des symptômes, a été relevée en 2010. Ici aussi, les résultats montrent une résistance supérieure de la lignée Pm3b-2tg en comparaison avec Bobwhite et ses autres dérivés (fig. 4).

L'incidence des infections de *Fusarium* en 2009 est présentée à la figure 5*. Les infections ne diffèrent pas entre variétés et lignées, à l'exception des deux variétés de comparaison Nadro (très résistante) et Sonalika (très sensible). Les lignées transgéniques Pm3b-1tg et Pm3b-2tg montrent une faible augmentation de la fréquence d'infection par rapport à leurs lignées sœur respectives. Ces différences, bien que statistiquement non-significatives, se sont toutefois réexprimées en 2010 dans la combinaison Pm3b-1tg et Pm3b-1sl (données non présentées). L'infection par *Fusarium* peut également engendrer une baisse de la qualité des grains, si bien que les grains récoltés ont été analysés pour leur taux de grains malformés, le poids mille grains et la contamination par la mycotoxine déoxynivalénol (DON). L'analyse statistique des données montre d'effectives différences à l'intérieur des groupes Bobwhite et Frisal (tabl. 3). Dans le cas de la contamination en DON du groupe de Frisal, il est mis en évidence que la variété d'origine Frisal accumule moins de DON que ses descendants transgéniques. A l'intérieur du groupe Bobwhite, les seules différences de comportement concernent l'année 2009. Les lignées transgéniques accumulaient moins de mycotoxines que les autres lignées du groupe.

Discussion

Cet article étudie les effets de gènes insérés dans l'amélioration du niveau de résistance du blé. Il se base sur deux modèles différents: le gène *Pm3b* issu du blé transféré sur la variété Bobwhite et les gènes de la chitinase/glucanase issus de l'orge sur la variété Frisal. Les

lignées transgéniques sont comparées avec la variété d'origine de laquelle elles sont issues. Pour les lignées Pm3b, la comparaison inclut les lignées sœurs obtenues lors du processus de transformation et ayant perdu le transgène par ségrégation. Les lignées transgéniques et leurs lignées sœurs sont donc équivalentes, car issues du même embryon transformé de Bobwhite et du même processus de transformation, mais différent par la seule présence ou absence du transgène. Par ces lignées sœurs, il est possible de séparer l'effet direct du transgène lui-même de l'effet des éventuelles variations somaclonales ou mutations survenues lors du processus de transformation. Les résultats présentés ici démontrent que l'insertion du gène *Pm3b* dans une variété sensible à l'oïdium permet d'augmenter sa résistance au champ, en comparaison avec sa lignée sœur qui, elle, présente le même niveau de sensibilité que la variété d'origine Bobwhite. Cet effet positif a été plusieurs fois démontré dans des essais indépendants réalisés par différents auteurs et est confirmé ici dans un autre milieu (Brunner *et al.* 2011; Foetzki *et al.* 2011; Alvarez-Alfageme *et al.* 2011). La survenue de maladies de l'épi permet de mieux comprendre le comportement de résistance des plantes modifiées. Les infections de l'épi surviennent lors de conditions d'infection particulièrement favorables et s'observent sur les génotypes les plus sensibles (Cunfer 2002). Elles impliquent sans doute des pertes de rendement importantes (Mascher *et al.* 2006). La présence du gène *Pm3b* sur la variété visiblement très sensible Bobwhite bloque ou ralentit l'infection de manière effective. La lignée Pm3b-3tg réagit de manière très hétérogène en présentant un écart-type élevé (fig. 2). Dans cette lignée Pm3b-3tg, l'expression du transgène varie entre les différents individus le composant. Brunner *et al.* (2011) ont observé sur la lignée Pm3b-3tg une sous-régulation de l'activité du transgène (*gene silencing*). La fluctuation du niveau de résistance observée ici pourrait également s'expli-

*La figure 5 est disponible sur le lien http://tiny.cc/2012RAS_supplement

quer par une activité réduite du transgène. Les bases scientifiques de la résistance envers les infections de l'épi ne sont pas encore connues et dans les faits, les résistances monogénétiques ne le protègent pas toujours des infections (Tyryshkin et Gashimov 2009). L'action combinée de résistances quantitatives et qualitatives joue probablement un rôle majeur dans l'évitement de l'infection de l'épi. De plus, des gènes *Pm3b* fonctionnels confèrent à l'évidence un niveau de résistance suffisant dans les conditions environnementales de cette expérimentation.

La lignée transgénique Pm3b-2tg présente dans ces essais une résistance à la rouille jaune substantiellement améliorée. Cette résistance limite non seulement l'intensité et la dissémination de l'infection sur les feuilles, mais empêche également son implantation sur la feuille. Brunner *et al.* (2011) ont montré que la lignée transgénique Pm3b-2tg est celle exprimant le plus le gène *Pm3b*. Il est envisageable que lors d'une très forte expression du gène, un autre pathogène soit alors capable d'induire un mécanisme secondaire de résistance. Cette hypothèse se limite toutefois à la rouille jaune, car ni les fusarioses de l'épi, ni d'autres pathogènes comme la rouille brune (*P. tritricina*) ou la septoriose sur feuille ou sur épi (*Phaeosphaeria nodorum*, *Mycosphaerella graminicola*) n'ont été inhibés (données non présentées). Cette constatation d'une action positive conjointe du gène *Pm3b* sur la résistance à la rouille jaune est une base de départ intéressante pour des études complémentaires de comparaisons et d'étude d'interactions entre les résistances envers divers pathogènes.

Les gènes de chitinase et glucanase ajoutés à la variété Frisal n'ont permis aucune amélioration significative du comportement de résistance par rapport à la variété d'origine. Ces informations sur le comportement de résistance à l'oïdium sont confirmées par les données obtenues en serre semi-confinée (Alvarez-Alfageme *et al.* 2011). En serre confinée, les transgènes chitinase et glucanase élevaient significativement la résistance à l'oïdium des lignées porteuse, les rendant significativement plus résistantes à l'oïdium que la variété d'origine Frisal. De fait, cette variété Frisal peut être qualifiée de résistante à l'oïdium. Les gènes supplémentaires ne présentent pas d'efficacité sous une forte pression de souches virulentes, comme cela a été vraisemblablement le cas en 2009. Une action bénéfiques de ces transgènes sur la résistance à la rouille jaune n'a pas été constatée, Frisal étant de fait déjà résistante aux isolats de rouille jaune utilisés.

La résistance à la fusariose de l'épi étant de type quantitatif, elle nécessite une étude détaillée sur plusieurs paramètres. Dans cette étude, l'intensité et la fré-

quence de l'infection ont été mesurées durant toute la saison. La formation du grain (grains mal formés, échaudés), le poids de mille grains et l'accumulation en mycotoxine déoxynivalénol (DON) ont été mesurés sur la récolte. Les gènes de la chitinase et de la glucanase insérés n'ont eu pratiquement aucun effet bénéfique sur ces paramètres, Frisal accumulant même visiblement moins de DON que ses descendants modifiés. La résistance à la fusariose de l'épi a été également observée sur les lignées transgéniques de Bobwhite possédant des gènes supplémentaires de chitinase et glucanase (Mackintosh *et al.* 2007). Cette étude reposait sur les mêmes paramètres que ceux utilisés ici et montrait de manière intéressante différents types et combinaisons de résistance.

L'amélioration moderne du blé repose grandement sur la sélection pedigree (Fossati et Brabant 2003) et les enseignements de la génomique prennent de l'importance dans le choix des géniteurs et dans le tri des descendances (Moulet *et al.* 2008). Les enseignements de cette étude soutiennent la compréhension du mode d'action des gènes de résistance et facilitent leur transposition dans la pratique de la sélection. Des gènes de résistance comme *Pm3b* sont utilisés en routine dans les programmes actuels d'amélioration et l'intégration de résistances quantitatives représente un défi important pour l'avenir. La mise en évidence ici de l'instabilité de l'effet des gènes additionnels de chitinase et glucanase démontre que le fondement génétique des résistances quantitatives est plus complexe que supposé jusqu'alors.

Conclusions

- L'intégration du gène *Pm3b* améliore le niveau de résistance à l'oïdium des variétés de blé printemps dérivées de Bobwhite.
- Il est intéressant de constater un effet de ce gène également contre les infections de l'épi par l'oïdium.
- La lignée transgénique Pm3b-2tg issue de Bobwhite présente une nette amélioration de résistance envers la rouille jaune (*Puccinia striiformis*).
- Dans nos conditions expérimentales, les gènes de glucanase et chitinase ne permettent pas d'amélioration notoire de la résistance.
- La résistance pour la fusariose de l'épi n'est pas influencée.
- Ces travaux permettent une meilleure compréhension des fonctions et limites des gènes de résistance et soutiennent par ce biais la sélection végétale classique. ■

Riassunto**La resistenza di linee transgeniche di frumento contro malattie crittogamiche in prove in campo**

Il trasferimento di geni di resistenza supplementari attraverso la transgenesi permette di meglio comprendere il funzionamento di questi geni e la loro interazione con altri geni della pianta. Questo studio esamina la resistenza di diverse linee di frumento contro oidio, ruggine gialla e fusariosi della spiga. Esso studia da un lato il gene di resistenza specifica *Pm3b* proveniente dalla varietà locale Chul trasferito alla varietà Bobwhite e, da l'altro, la resistenza quantitativa, non-specifica, apportata dai geni chitinasi e glucanasi provenienti dall'orzo e trasferiti sulla varietà di frumento Frisal. Le prove sono state condotte sotto forte pressione d'infezione in modo da confrontare il livello di resistenza della linea transgenica con la varietà di origine non modificata. Nel caso dei discendenti *Pm3b* di Bobwhite, è stato possibile inoculare le linee sorelle non transgeniche. Queste linee sorelle hanno subito lo stesso processo di trasformazione, ma hanno in seguito, perso il transgene attraverso segregazione dopo rigenerazione con semente della pianta. I risultati mostrano che il gene supplementare *Pm3b* migliora considerevolmente la resistenza verso le infezioni provocate dall'oidio, sia su foglia, sia su spiga. In modo inatteso una linea transgenica mostra anche una migliore resistenza verso la ruggine gialla. Per contro, la resistenza alla fusariosi della spiga non è assolutamente influenzata dalla presenza o dall'assenza del transgene. I geni supplementari chitinasi e glucanasi non hanno mostrato alcuna efficacia sulla resistenza delle piante transgeniche. Le conoscenze acquisite attraverso queste prove sono molto utili per la selezione classica di varietà resistenti.

Summary**The resistance of transgenic wheat lines against fungal infections in field trials**

The transfer of additional resistance genes by transgenesis allows to better understand their function and interactions with the other genes of the plant. This study examines the resistance of different wheat lines against powdery mildew, stripe rust and *Fusarium* head blight. On the one hand, the race specific resistance gene *Pm3b* of the wheat landrace Chul has been transferred to the variety Bobwhite, on the other hand, non specific, quantitative resistance provided by chitinase and glucanase genes has been added to the variety Frisal. The trials have been realized under strong infection pressure in order to compare the resistance level of the transgenic lines with their original varieties. In the case of *Pm3b* descendants, it was possible to include non-transgenic sister lines. The sister lines underwent the same transformation process as the transgenic lines but the transgene was lost after regeneration of the plant by seeds due to segregation. The results show that the additional *Pm3b* improves considerably the resistance against powdery mildew infections on leaves but also on the ears. Surprisingly, one of the transgenic lines displays improved resistance against stripe rust. Resistance against *Fusarium* head blight is not affected by the presence or absence of the transgene. Additionally introduced chitinase and glucanase genes did not improve the resistance improvement under the present experimental conditions. The new insight obtained with the present trials are useful for the classical breeding of resistant varieties.

Key words: powdery mildew, stripe rust, *Fusarium* head blight, somaclonal variations, efficiency, side effects.

Bibliographie

Bibliographie et informations supplémentaires sur http://tiny.cc/2012RAS_supplement.