

Applications des marqueurs moléculaires dans l'amélioration du blé tendre pour la résistance aux maladies et aux insectes

Bouchra Najimi ^(1, 3), Samir El Jaafari ⁽¹⁾, Mohamed Jlibène ⁽²⁾, Jean-Marie Jacquemin ⁽³⁾

⁽¹⁾ Faculté des Sciences. Université Moulay Ismail. B.P. 4010. 50000 Meknès (Maroc). E-mail : najimima@yahoo.fr

⁽²⁾ Institut national de la Recherche agronomique. B.P. 578. 50000 Meknès (Maroc).

⁽³⁾ Département de Biotechnologie. Centre de Recherches agronomiques. Chaussée de Charleroi, 234. 5030 Gembloux (Belgique).

Reçu le 17 février 2003, accepté le 24 mars 2003.

Le développement des marqueurs moléculaires durant les dernières années offre la possibilité d'établir de nouvelles approches pour améliorer les stratégies de sélection. Les marqueurs moléculaires deviennent un outil essentiel dans les programmes de sélection du blé tendre (*Triticum aestivum* L.) pour les résistances aux maladies et insectes en offrant des solutions alternatives aux problèmes inhérents à l'utilisation des marqueurs phénotypiques traditionnels. Les marqueurs moléculaires liés aux gènes cibles peuvent être utilisés dans les programmes de sélection assistée par marqueurs (MAS) qui est particulièrement avantageuse dans le cas de l'amélioration des résistances aux maladies et aux insectes. En effet, le sélectionneur peut inférer la présence d'un gène par la recherche du marqueur qui lui est étroitement lié et pourra ainsi sélectionner les individus résistants avant même que le caractère considéré ne soit exprimé et en absence du pathogène. En outre, les marqueurs moléculaires sont d'un grand intérêt lors du pyramidage de deux gènes ou plus dans une même variété permettant ainsi une résistance plus constante et à large spectre. L'amélioration des résistances aux maladies et aux insectes chez le blé, *via* les marqueurs moléculaires associés aux gènes cibles, contribuera à l'amélioration du rendement de cette culture céréalière à grande importance économique. Nous présentons dans cet article, une brève description des différents types de marqueurs moléculaires, ensuite une synthèse sur les utilisations courantes et potentielles de ceux-ci dans l'amélioration du blé tendre pour les résistances aux maladies et aux insectes.

Mots-clés. *Triticum aestivum*, marqueur moléculaire, blé tendre, MAS, résistance aux maladies, résistance aux insectes.

Applications of molecular markers in bread wheat breeding for pest and disease resistance. The development in recent years of DNA markers offers the possibility of developing new approaches to improving the efficiency of selection strategies. The molecular markers are becoming essential tools in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) breeding since they offer alternative solutions to many breeding problems resulting from the traditional phenotypic markers that are difficult and/or time-consuming to select by plant breeders. Availability of tightly linked molecular markers can now be used in marker-assisted selection (MAS) programs, specially for disease and pest resistance gene where it is possible to infer the gene by the marker without depending on the natural pest or pathogen occurrence or waiting for its phenotypic expression. Moreover, these markers have potential importance in facilitating selection procedure, particularly for pyramiding two or more different genes aiming at a more durable and broad-spectrum resistance. Breeding for disease and pest resistance gene can contribute to improving quality yield in wheat plants by carrying out indirect selection through molecular markers linked to the traits of interest. We first provide a brief description of main molecular markers technologies currently being employed. Next, we review some of the current and potential uses of molecular markers in breeding for disease and pest resistance genes in bread wheat.

Keywords. *Triticum aestivum*, molecular marker, bread wheat, MAS, disease resistance, pest resistance.

1. INTRODUCTION

Le blé tendre (*Triticum aestivum* L.) compte parmi les espèces les plus anciennement cultivées et constitue la base de l'alimentation d'une grande partie de l'humanité, d'où son importance économique. Cependant, cette culture est très sensible aux insectes nuisibles dont la mouche de Hesse et le puceron (qui peut en outre, transmettre au blé des maladies virales), et aux maladies causées principalement par les champignons parasites dont la rouille jaune, la rouille brune, la rouille noire, le piétin-verse, l'oïdium et le charbon. L'amélioration de la production du blé passe donc par un meilleur contrôle de ces parasites. En effet, le développement de variétés à grande production avec une qualité adéquate du grain reste le principal objectif du sélectionneur. Toutefois, à ces besoins classiques s'ajoutent aujourd'hui des exigences découlant d'une grande prise de conscience sociale en matière de protection de l'environnement, menant à la limitation des traitements phytosanitaires et de la fertilisation chimique. Les techniques nouvelles, en particulier les marqueurs moléculaires, apparaissent comme des outils indispensables d'appui aux programmes classiques d'amélioration pour relever ces défis.

L'utilisation de variétés résistantes constitue une composante essentielle pour la majorité des programmes de sélection et un moyen de contrôle efficace qui prend en considération l'aspect écologique aussi bien qu'économique. Cependant, la pression de sélection exercée par les variétés à résistance monogénique favorise le développement de nouveaux biotypes capables de contourner ces résistances, ce qui nécessite la recherche continue et rapide de nouvelles sources de résistance. Cette recherche a été largement facilitée par l'avènement des techniques de marquage moléculaire durant ces dernières années. En effet, plusieurs gènes de résistance aux insectes et aux maladies ont été récemment localisés dans le génome du blé tendre par l'établissement de liaisons entre ces derniers et des marqueurs moléculaires sur les différentes cartes génétiques (Gupta *et al.*, 1999 ; Yencho *et al.*, 2000 ; Langridge *et al.*, 2001).

Contrairement aux marqueurs traditionnels (morphologiques et biochimiques), les marqueurs moléculaires ne sont pas influencés par les fluctuations de l'environnement et sont indépendants de l'organe analysé et du stade de développement de la plante. Ces marqueurs moléculaires deviennent aujourd'hui un outil essentiel d'amélioration des plantes et ouvrent de nouvelles perspectives pour le sélectionneur. La recherche de marqueurs moléculaires étroitement liés aux gènes de résistance est une étape importante avant leur exploitation

pratique pour accélérer et améliorer l'efficacité des programmes de sélection (Hospital, 2001 ; Moreau *et al.*, 2001 ; Eagles *et al.*, 2001 ; Dekkers, Hospital, 2002).

La sélection assistée par marqueurs (MAS) est particulièrement avantageuse dans le cas de l'amélioration des résistances aux maladies et aux insectes (Michelmore RW., 1995 ; Yencho *et al.*, 2000 ; Langridge *et al.*, 2001). Elle peut se faire sans avoir recours aux tests d'inoculation, permettant ainsi d'éviter les erreurs associées à l'utilisation de ces procédures et de mener l'amélioration de la résistance même dans les aires où le pathogène n'existe pas. De même, les marqueurs moléculaires permettent le cumul rapide de plusieurs gènes dans une seule variété élite en vue d'une résistance plus efficace, et la maîtrise de la taille des fragments chromosomiques introduits par rétro-croisements, ce qui élimine les effets défavorables susceptibles d'être transmis avec les gènes cibles introgressés (Hospital, 2001). Ainsi, les schémas de sélection seront accélérés puisque le sélectionneur peut inférer la présence du gène par la présence du marqueur avant même l'expression du phénotype.

Cette sélection assistée par marqueurs est donc d'un intérêt certain pour le sélectionneur puisqu'elle offre l'avantage d'une sélection efficace, rapide et précoce, et devient alors un complément nécessaire aux méthodes traditionnelles d'amélioration génétique des céréales.

Outre leur intérêt dans le domaine de la sélection, les marqueurs moléculaires constituent des outils puissants pour la caractérisation moléculaire des gènes de résistance *via* la cartographie fine des régions contenant ces gènes menant à leur clonage (Tanksley *et al.*, 1989 ; Michelmore RW., 1995). L'approche de cartographie des RGA (Resistance Gene Analogs)/gènes candidats ouvre potentiellement la voie à l'identification de gènes de résistance chez le blé. Cette caractérisation devrait permettre de comprendre les mécanismes de défense mis en place par la plante lors de l'interaction avec le pathogène ou l'insecte.

Le présent article a pour objectif de décrire les principaux systèmes de marquage moléculaire appliqués chez le blé tendre, puis d'évaluer les applications courantes et potentielles de ces marqueurs dans l'amélioration de cette culture pour les résistances aux maladies et aux insectes.

2. PRINCIPAUX TYPES DE MARQUEURS MOLÉCULAIRES APPLIQUÉS POUR L'AMÉLIORATION DU BLÉ

Un marqueur moléculaire est un locus polymorphe qui renseigne sur le génotype de l'individu qui le porte. Un bon marqueur doit être à hérédité simple, multi-

allélique et co-dominant. Les marqueurs moléculaires correspondent donc au polymorphisme révélé au niveau de l'ADN. L'analyse de ce polymorphisme par les techniques de biologie moléculaire s'adresse à l'ensemble du génome, qu'il soit ou non traduit en protéines, et est indépendante des conditions de l'environnement. En outre, le nombre de marqueurs observables est théoriquement illimité et le génotype d'une plante peut être déterminé à un stade très précoce, aussitôt que le matériel est disponible pour l'extraction de l'ADN. Ces marqueurs seront d'une grande importance dans l'amélioration des cultures à valeur agronomique et dans les programmes de sélection assistée par marqueurs chez les céréales (Eagles *et al.*, 2001 ; Langridge *et al.*, 2001 ; Dekkers, Hospital, 2002).

De nombreuses techniques de marquage moléculaire sont aujourd'hui disponibles, et de nouvelles sont régulièrement publiées (Gupta *et al.*, 2001 ; Langridge *et al.*, 2001 ; Rafalski, 2002a, b). Les caractéristiques de chacune de ces techniques, ses domaines d'applications, son principe et son coût sont largement détaillés dans plusieurs articles de synthèse (Gupta *et al.*, 1999 ; Santoni *et al.*, 2000 ; Langridge *et al.*, 2001). Ces méthodes peuvent être regroupées en deux grandes catégories : les marqueurs de type RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) et les marqueurs basés sur la méthode de PCR (Polymerase Chain Reaction). Le choix du système de marquage dépend de l'objectif précis fixé, des moyens et des compétences disponibles au laboratoire. Nous décrivons brièvement les principaux systèmes de marquage moléculaire appliqués chez le blé.

2.1. Marqueurs RFLP

La technique RFLP développée par Botstein *et al.* (1980) repose sur la mise en évidence de la variabilité de la séquence nucléotidique de l'ADN génomique après digestion par des enzymes de restriction. Une multitude de fragments d'ADN de tailles variables est générée par digestion enzymatique, puis séparée sur gel d'agarose et transférée par capillarité sous forme dénaturée sur une membrane de nylon. Cette membrane est mise en contact avec une solution contenant un fragment d'ADN ou sonde qui permet de repérer, par hybridation moléculaire, des fragments d'ADN génomique qui lui sont homologues. La différence entre deux génotypes est révélée par autoradiographie si la sonde est marquée par le phosphore radioactif ou par réaction colorée si elle est associée à un conjugué enzymatique. Le polymorphisme détecté est dû à des mutations au niveau des sites de restriction de l'enzyme (polymorphisme de site de restriction) et/ou à des délétions/insertions d'un fragment d'ADN au

voisinage de la zone génomique reconnue par la sonde. C'est le couple enzyme/sonde qui constitue le marqueur.

Bien que cette technique soit co-dominante et permette une analyse génétique complète, elle est lente et laborieuse. Les étapes de transfert et d'hybridation empêchent une automatisation du travail.

2.2. Marqueurs de type PCR

Le développement de la technique PCR offre l'avantage d'analyser les marqueurs moléculaires en un temps court tout en utilisant des concentrations faibles d'ADN. Les marqueurs basés sur la technique PCR tendent à remplacer les systèmes classiques (les marqueurs morphologiques, iso-enzymatiques et RFLP) et deviennent très nombreux. Les plus largement utilisés chez le blé sont les microsatellites ou SSR (Simple Sequence Repeat) ; l'AFLP, (Amplified Fragment Length Polymorphism) et la RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA).

Les microsatellites ou SSR (Morgante, Olivieri, 1993). Ils sont constitués de séquences de di-, tri- ou tétra-nucléotides répétés en tandem. Ces éléments sont uniformément répartis en plusieurs exemplaires sur l'ensemble du génome d'une espèce et présentent un taux de polymorphisme élevé. Ce polymorphisme repose sur la variation du nombre d'unités de répétition constituant le microsatellite. Les séquences flanquant ces éléments répétés permettent de définir les amorces qui seront utilisées pour l'amplification PCR. L'analyse des produits amplifiés s'effectue sur gel d'acrylamide. C'est la paire d'amorces spécifiques des bordures droite et gauche du microsatellite qui constitue le marqueur.

Si les SSR constituent de bons marqueurs moléculaires (reproductibles, co-dominants et aisés d'utilisation), leur caractérisation initiale est toutefois assez lourde. En effet, leur production doit passer d'abord par le clonage et le séquençage de ces éléments répétés.

La technique AFLP (Vos *et al.*, 1995). Elle est fondée sur la mise en évidence conjointe de polymorphisme de sites de restriction et d'hybridation d'amorces arbitraires. Cette technique utilise à la fois les enzymes de restriction et l'amplification PCR. L'ADN génomique est clivé par deux enzymes de restriction. Des adaptateurs de séquences connues et spécifiques des enzymes de restriction utilisées sont ajoutés aux extrémités des fragments de restriction générant ainsi une matrice pour l'amplification. Une première amplification, dite pré-amplification, est réalisée à l'aide d'amorces de séquences complé-

mentaires à la séquence des adaptateurs et des sites de restriction. La deuxième amplification, dite sélective, utilise des amorces identiques aux premières mais prolongées à l'extrémité 3' de quelques nucléotides arbitraires (de 1 à 3 nucléotides). Ainsi, seuls sont amplifiés les fragments possédant les bases complémentaires de ces bases arbitraires. Ces amorces sélectives permettent de réduire le nombre de fragments amplifiés à une centaine. Ces fragments sont séparés par électrophorèse sur gel d'acrylamide dénaturant puis visualisés par coloration au nitrate d'argent ou révélés grâce à un marquage radioactif ou fluorescent réalisé lors de l'amplification sélective. C'est la combinaison enzyme de restriction/amorce qui permet de révéler le polymorphisme entre les individus et constitue donc le marqueur AFLP.

Cette technique est puissante, stable et rapide. En outre, l'AFLP ne nécessite aucune connaissance préalable de séquences du génome de la plante étudiée ni la construction des banques génomiques ou cDNA, à l'encontre des SSR ou des RFLP. Elle connaît une large application dans le fingerprinting, l'identification des cultivars et la détermination de leur relation phylogénétique, la cartographie des génomes et le clonage. Toutefois, la dominance, le coût élevé (elle est couverte par un brevet de la société néerlandaise Keygene qui a mis au point cette technique) et les difficultés techniques liées au marquage par AFLP limitent son utilisation à grande échelle pour des applications comme la sélection assistée par marqueurs.

La technique RAPD (Williams *et al.*, 1990). Elle consiste en l'amplification par PCR de fragments de l'ADN génomique en utilisant des amorces arbitraires de taille courte (10 pb). Une amorce RAPD permet généralement l'amplification d'une dizaine de fragments correspondant à des locus dominants. Les produits d'amplification sont généralement visualisés par électrophorèse sur gel d'agarose. Le polymorphisme décelé est dû à des mutations soit dans les régions amplifiées soit au niveau des sites de fixation des amorces. Le polymorphisme révélé est un polymorphisme de sites d'hybridation d'amorce. Les amorces constituent donc les marqueurs.

Cette technique est simple, rapide et ne nécessite ni un marquage radioactif ni une connaissance préalable de la séquence nucléotidique. Néanmoins, la RAPD manque de reproductibilité puisqu'elle est très sensible à la concentration de l'ADN et aux conditions d'amplification.

En résumé, les marqueurs RFLP et microsatellites sont spécifiques de locus, co-dominants et sont utilisés généralement pour la cartographie et la détection de QTL (Quantitative Trait Loci) tandis que les marqueurs RAPD et AFLP sont dominants, non

spécifiques de locus et servent essentiellement à la saturation d'une région du génome au voisinage d'un gène d'intérêt en vue de son clonage.

La comparaison des principales techniques de marquage moléculaire est illustrée dans la **figure 1**.

Chaque technique de marquage moléculaire présente des avantages et des inconvénients mais toutes, excepté les SSR, restent mal adaptées aux utilisations à grande échelle. Ainsi, la conversion des marqueurs de type RFLP, AFLP et RAPD en marqueurs PCR de type SCAR (Sequence Characterized Amplified Regions) (Paran, Michelmore, 1993) ou STS (Sequence Tagged Site) (Olson *et al.*, 1989) devient nécessaire. En effet, cette nouvelle classe de marqueurs (SCAR/STS) correspond à des marqueurs simples, rapides, reproductibles, co-dominants, non radioactifs et peu coûteux qui pourraient favoriser l'utilisation et l'intégration des marqueurs moléculaires dans les programmes d'amélioration des plantes dans un avenir proche (Hernandez *et al.*, 1999).

Si les études visant à convertir les différents types de marqueurs moléculaires en marqueurs simples sont nombreuses, très peu ont pu atteindre cet objectif chez le blé. Quelques exemples de succès de la transformation de marqueurs RFLP ou RAPD en marqueurs STS/SCAR peuvent néanmoins être cités, notamment la conversion de marqueurs RFLP liés aux gènes *Pm4a* et *Pm17* de résistance à l'oïdium et aux gènes *Lr35* et *Lr47* de résistance adulte à la rouille brune (Liu DJ. *et al.*, 1998 ; Seyfarth *et al.*, 1999 ; Helguera *et al.*, 2000 ; Mohler *et al.*, 2001). Par ailleurs, pour pallier au problème lié au manque de reproductibilité des marqueurs de type RAPD chez le blé, des marqueurs RAPD liés aux gènes *Lr9* et *Lr24* de résistance à la rouille brune, *Dn2* de résistance au puceron russe et *Pm13* et *Pm21* de résistance à l'oïdium ont été transformés avec succès en marqueurs SCAR (Schachermayr *et al.*, 1994, 1995 ; Myburg *et al.*, 1998 ; Cenci *et al.*, 1999 ; Liu *et al.*, 1999).

Le clonage et le séquençage de marqueurs moléculaires de type AFLP ont été reportés dans un nombre limité de travaux (Qu *et al.*, 1998 ; Shan *et al.*, 1999 ; Parker, Langridge, 2000 ; Prins *et al.*, 2001). Sur 26 marqueurs AFLP identifiés chez l'orge et le blé, six uniquement ont pu être convertis en marqueurs SCAR (Shan *et al.*, 1999). Plus récemment, un marqueur STS a été développé à partir d'un marqueur AFLP lié au gène *Lr19* de résistance à la rouille brune (Prins *et al.*, 2001). Toutefois, tous les travaux précités ont reporté que la conversion des marqueurs AFLP n'est pas facile et que les problèmes liés à la conversion restent à élucider. Pour les marqueurs de petite taille, certains auteurs suggèrent une étape supplémentaire qui consiste en une PCR inverse pour obtenir les séquences bordant les fragments

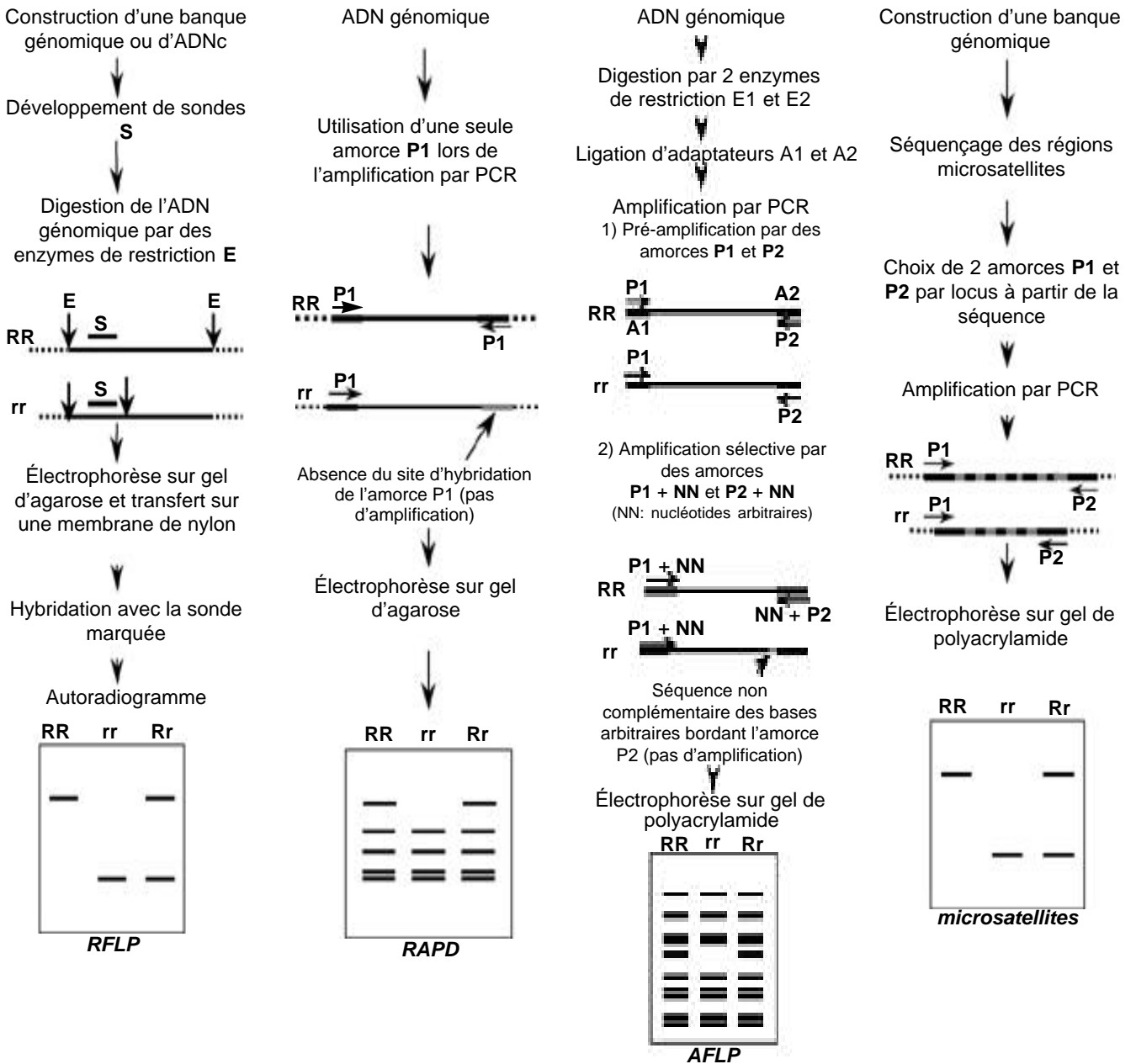


Figure 1. Comparaison des principales techniques de marquage moléculaire — *Comparison of main molecular marker technologies.*

polymorphes détectés par l'AFLP (Brigneti *et al.*, 1997 ; Bradeen, Simon, 1998). Tandis que pour les marqueurs de grande taille, si aucun polymorphisme n'est détecté après amplification par les nouvelles amorces choisies, les fragments amplifiés pourraient être soumis à des digestions enzymatiques pour détecter des RFLP à l'intérieur de ces fragments (Mohan *et al.*, 1997 ; Helguera *et al.*, 2000 ; Laroche *et al.*, 2000 ; Venter, Botha, 2000). Prins *et al.* (2001) ont rapporté que les difficultés liées à la conversion de marqueurs AFLP en marqueurs PCR sont dues principalement à la présence de bandes contaminatrices. Ces auteurs suggèrent une étape de pré-clonage et de

vérification des clones pour réduire le nombre des faux positifs et identifier le clone correct avant de procéder à son séquençage.

3. APPORT DES MARQUEURS MOLÉCULAIRES À L'AMÉLIORATION DU BLÉ

L'essor des techniques de marquage moléculaire au cours des dernières années a induit des changements considérables dans plusieurs branches de la biologie, notamment la biologie moléculaire (clonage positionnel), la génétique évolutive (cartographie

comparative), la génétique quantitative (détection et identification des locus contrôlant les caractères quantitatifs (QTL)) et l'amélioration des espèces (sélection assistée par marqueurs).

Les marqueurs de l'ADN ont des applications importantes en sélection, ils permettent d'une part, de positionner sur une carte génétique des gènes/QTL codant pour des caractères d'intérêt et d'autre part, de les suivre dans un schéma de sélection.

3.1. Cartographie des gènes cibles

La localisation des gènes au sein d'un génome se fait soit par étiquetage direct de régions particulières du génome, soit par construction d'une carte génétique de liaison.

Étiquetage direct de la région cible. Cette stratégie est essentiellement limitée aux caractères monogéniques puisqu'elle consiste en l'étiquetage d'une région restreinte du génome codant pour le caractère étudié.

En effet, le marquage de l'ensemble du génome lorsque l'on ne cherche des marqueurs que dans une région spécifique ne se justifie pas, et les chances de détecter dans ce cas, des marqueurs liés au gène cible seront négligeables.

La localisation de ces gènes majeurs a été facilitée par l'utilisation, dans un premier temps, de lignées quasi-isogéniques (Muehlbauer *et al.*, 1988) puis, dans un second temps, de mélanges d'ADN (analyse de ségrégations en mélange ou BSA : Bulk Segregant Analysis) (Michelmore *et al.*, 1991). La première approche consiste à croiser l'hybride F₁ issu du croisement de deux parents homozygotes et celui des générations suivantes au parent récurrent. La contribution génétique du parent donneur est ainsi réduite de moitié à chaque génération. Il en résulte un individu d'une constitution génétique identique à celle du parent récurrent à l'exception du segment chromosomique portant le gène d'intérêt (**Figure 2**). Ainsi, le polymorphisme détecté entre le parent récurrent et les lignées quasi-isogéniques développées est potentiellement lié au segment introgressé.

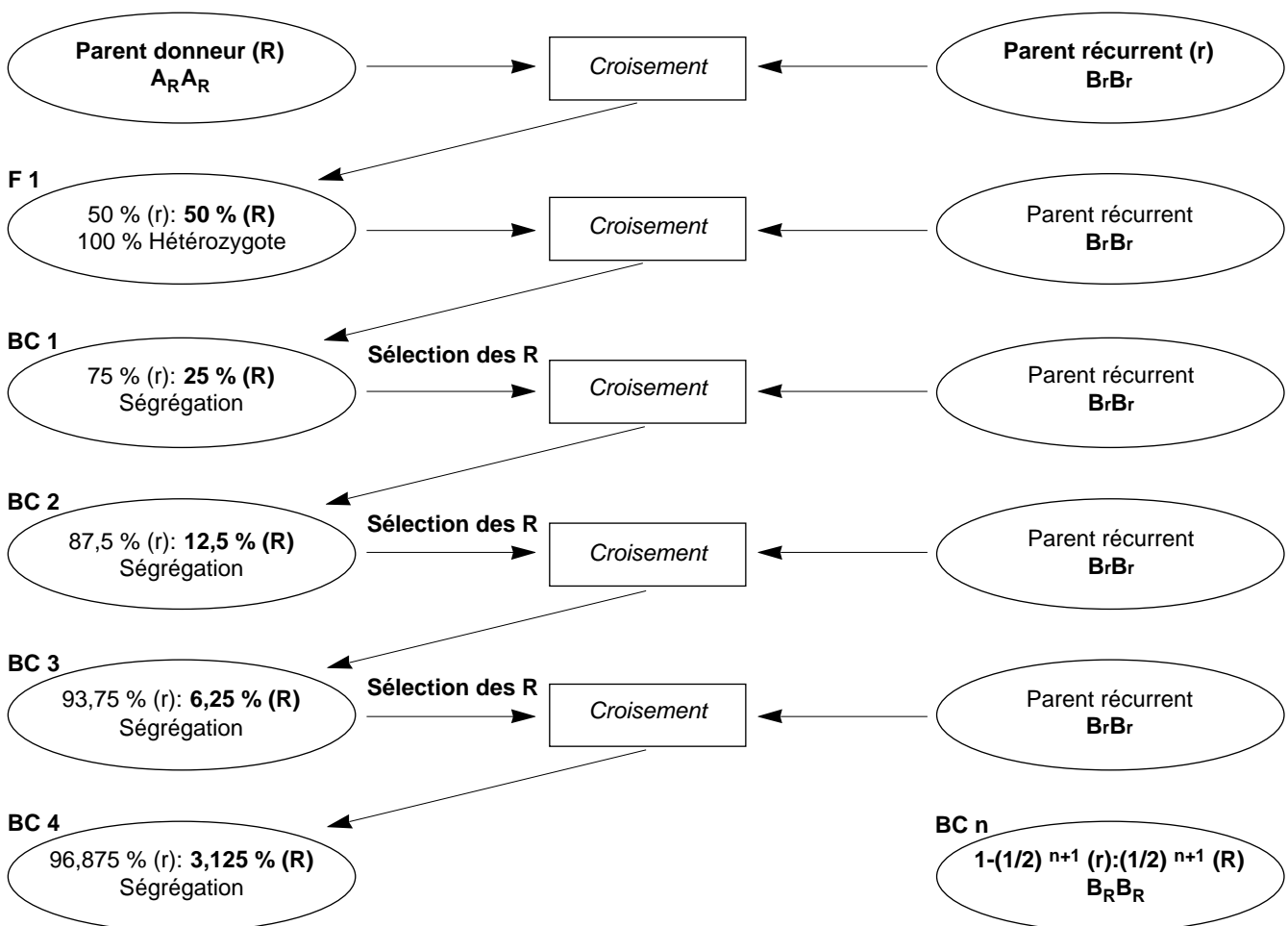


Figure 2. Principe de création de lignées quasi-isogéniques — *Principle of near-isogenic lines production.*

La BSA consiste, à partir d'une population en ségrégation pour un gène majeur, à regrouper l'ADN des individus de même phénotype (résistants ou sensibles) et à comparer ces mélanges. Ainsi, à l'intérieur de chaque pool, les individus présenteront des profils identiques pour la région cible qui contient le gène d'intérêt mais arbitraires pour les autres séquences non liées à cette région (**Figure 3**).

Établissement des cartes de liaisons génétiques.

L'une des applications majeures des marqueurs moléculaires est la construction de cartes génétiques qui peuvent être utilisées pour la localisation des gènes affectant des caractères simples ou complexes. Ces cartes sont développées en analysant un grand nombre de marqueurs dans une population en ségrégation issue de deux parents homozygotes. Les populations de cartographie les plus couramment utilisées sont : les descendances F₂ (F₂), les populations issues de retro-croisements ou backcross (BC), les haploïdes doublés (HD) et les populations de lignées recombinantes (LR).

Plusieurs cartes génétiques de liaison du blé tendre ont été construites et publiées au cours des dernières années (Nelson *et al.*, 1995a, b, c ; Van Deynze *et al.*, 1995 ; Marino *et al.*, 1996 ; Röder *et al.*, 1998 ; Mingeot, Jacquemin, 1999 ; Weng *et al.*, 2000). Ces cartes permettent de mettre en évidence des gènes impliqués dans l'expression de caractères d'intérêt à déterminisme simple ou polygénique.

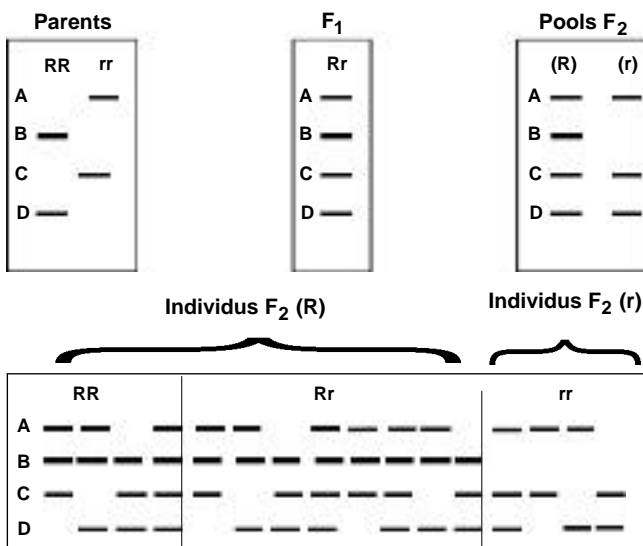


Figure 3. Principe de la méthode BSA appliquée sur une population F₂ en ségrégation pour le gène de résistance R/sensibilité r (Michelmore *et al.*, 1991). La bande épaisse correspond au locus dominant lié à l'allèle de résistance — Principle of BSA applied to a F₂ population segregating for resistance R/susceptibility r gene (Michelmore *et al.*, 1991). The thick band shows the dominant locus linked to the resistant allele.

Le **tableau 1** rassemble les récentes publications décrivant les liaisons mises en évidence entre des marqueurs moléculaires et les principales résistances monogéniques du blé tendre, résistance à la mouche de Hesse (*Mayetiola destructor* Say), au puceron russe (*Diuraphis noxia* Mordvilko), aux rouilles brune (*Puccinia recondita* Rob.), jaune (*Puccinia striiformis* West.) et noire (*Puccinia graminis* Pers.), à l'oïdium (*Erysiphe graminis* Em. Marchal), aux caries (*Tilletia tritici* Bjerck. et *T. laevis* Kühn) et à la septoriose (*Septoria tritici* ex Desm.).

On peut distinguer pour certaines maladies, comme l'oïdium et les rouilles brune et jaune, deux types de résistance : la résistance spécifique et la résistance non spécifique.

La résistance spécifique est généralement monogénique et dominante (Michelmore R., 1995). Elle s'exprime dès le stade plantule et se caractérise par une très grande spécificité race/cultivar. Cette résistance résulte d'une interaction spécifique entre un gène de résistance de la plante hôte et un gène d'avirulence du pathogène. Elle a l'inconvénient d'être rapidement surmontée par le pathogène et donc d'être peu durable.

La résistance non spécifique (appelée encore résistance adulte) est caractérisée par la sensibilité des jeunes plantules mais la résistance des plantes adultes lorsqu'elles sont inoculées par un mélange de races actuelles du pathogène. Cette résistance s'exprime donc au stade adulte de certaines variétés et conduit à un ralentissement du développement de la maladie. Ces variétés conservent généralement un bon niveau de résistance durant plusieurs années de culture en différents lieux. Cette résistance a été détectée chez les cultivars de blé qui ne possèdent aucun gène majeur connu ou ayant des gènes majeurs devenus inefficaces. Bien que la génétique de la résistance non spécifique, soit principalement quantitative, Börner *et al.* (2000) ont rapporté que des gènes majeurs uniques peuvent être impliqués dans cette résistance. En effet, ces auteurs ont montré dans leur étude que la résistance adulte à la rouille jaune est contrôlée par un seul gène majeur *Yrns-B1* localisé sur le chromosome 3BS. Le nombre de gènes majeurs impliqués dans les résistances adultes aux maladies qui sont bien caractérisés (*Lr12*, *Lr13*, *Lr34*, *Lr35*, *Lr46*, *Yr18*, *Yr28*, *Yrns-B1*, *Sr2*, *Sr22*) reste faible en comparaison avec les gènes à résistance spécifique. D'autres auteurs ont montré que la résistance adulte à l'oïdium et à la rouille brune est gouvernée par 2 à 3 gènes à effets additifs prédominants (Keller *et al.*, 1999 ; Messmer *et al.*, 2000 ; Liu SX. *et al.*, 2001).

Contrairement aux caractères à déterminisme simple, les caractères quantitatifs polygéniques sont soumis aux influences conjointes de différents facteurs génétiques (QTL) et de facteurs environnementaux.

Tableau 1. Exemples de gènes majeurs de résistance aux maladies et aux insectes cartographiés au cours des cinq dernières années, au moyen des marqueurs moléculaires chez le blé tendre — *Recent publications describing the association of molecular markers linked with pest and disease resistance major genes in bread wheat.*

Caractère	Gènes de résistance	Nombre et Type de marqueurs	Localisation chromosomique	Type de population	Références
Résistance à la mouche de Hesse	<i>H3</i>	1 RAPD	5A	(Liso)	Dweikat <i>et al.</i> , 1997
	<i>H5</i>	2 RAPD	1A	"	"
	<i>H6</i>	3 RAPD	5A	"	"
	<i>H9</i>	2 RAPD	5A	"	"
	<i>H10</i>	2 RAPD	5A	"	"
	<i>H11</i>	2 RAPD	1A	"	"
	<i>H12</i>	2 RAPD	5A	"	"
	<i>H13</i>	1 RAPD	6D	"	"
	<i>H14</i>	1 RAPD	5A	"	"
	<i>H16</i>	1 RAPD	5A	"	"
	<i>H17</i>	1 RAPD	5A	"	"
<i>H21</i>	1 RAPD	2RL	"	Seo <i>et al.</i> , 1997	
Résistance au puceron russe	<i>Dn1</i>	1 SSR	7DS	(Liso) et (F ₂)	Liu XM. <i>et al.</i> , 2001
	<i>Dn2</i>	1 RFLP	7DL	(F ₂)	Ma <i>et al.</i> , 1998
		4 RAPD / 2 SCAR	"	(Liso) et (F ₂)	Myburg <i>et al.</i> , 1998
		RAPD	"	(F ₂)	Venter <i>et al.</i> , 1998
	<i>Dn4</i>	1 SSR	7DS	(Liso) et (F ₂)	Liu XM. <i>et al.</i> , 2001
		1 SSR	7DS	(F ₂)	Miller <i>et al.</i> , 2002
		1 RFLP	1DS	(F ₂)	Ma <i>et al.</i> , 1998
	<i>Dn5</i>	1 RFLP	1DS	(F ₂)	Liu XM. <i>et al.</i> , 2001
		SSR	1DS	(F ₂)	Liu XM. <i>et al.</i> , 2002
		3 RAPD	7DS	(F ₂)	Venter <i>et al.</i> , 1998
	<i>Dn6</i>	RAPD/ SCAR	"	(Liso) et (F ₂)	Venter, Botha, 2000
PCR-RFLP		"	(F ₂)	Venter, Botha, 2000	
1 SSR		7DS	(Liso) et (F ₂)	Liu XM. <i>et al.</i> , 2001	
<i>Dn8</i>	SSR	7DS	(F ₂)	Liu XM. <i>et al.</i> , 2002	
<i>Dn9</i>	1 SSR	7DS	(Liso) et (F ₂)	Liu XM. <i>et al.</i> , 2001	
Résistance à la rouille jaune	<i>Yr10</i>	1 SSR	1DL	(Liso) et (F ₂)	"
	<i>Yr15</i>	RFLP	1BS	(Liso)	Spielmeyer <i>et al.</i> , 2000
		1 RFLP	1BS	(Liso)	Sun <i>et al.</i> , 1997
		1 RAPD	1B	(Liso)	"
		1 SSR	1B	(Liso)	Fahima <i>et al.</i> , 1997
	<i>Yr17</i>	SSR/ RAPD	1B	(Liso)	Chague <i>et al.</i> , 1999
		1 RAPD/1 SCAR	2A	(Liso)	Robert <i>et al.</i> , 1999
	<i>Yr18</i> (APR)	RFLP	7DS	(LR)	Singh <i>et al.</i> , 2000
	<i>Yr26</i>	3 SSR	1BS	(F ₂)	Ma <i>et al.</i> , 2001
	<i>Yr28</i> (APR)	RFLP	4DS	(LR)	Singh <i>et al.</i> , 2000
	<i>YrH52</i>	SSR	1B	(F ₂)	Peng <i>et al.</i> , 1999, 2000
1 RFLP		1B	(F ₂)	Peng <i>et al.</i> , 1999	
<i>Yrns-B1</i> (APR)	SSR	3BS	(F ₃)	Börner <i>et al.</i> , 2000	
Résistance à la rouille brune	<i>Lr3</i>	1 RFLP	6BL	(F ₂)	Sacco <i>et al.</i> , 1998
	<i>Lr10</i>	1 RFLP	1AS	cartographie	Nelson <i>et al.</i> , 1997
		1 STS	1AS	(Liso)	Schachermayr <i>et al.</i> , 1997
	<i>Lr13</i> (APR)	3 RFLP, 3 SSR	2B	(F ₂)	Seyfarth <i>et al.</i> , 1998
	<i>Lr19</i>	AFLP/1STS	7DL	délétion/ recombinaison	Prins <i>et al.</i> , 2001
	<i>Lr21</i>	RFLP	1DS	(Liso)	Spielmeyer <i>et al.</i> , 2000
	<i>Lr23</i>	2 RFLP	2BS	(Liso)	Nelson <i>et al.</i> , 1997
	<i>Lr27</i>	2 RFLP	3BS	(F ₂)	Nelson <i>et al.</i> , 1997

Tableau 1. Suite — *continued.*

Caractère	Gènes de résistance	Nombre et Type de marqueurs	Localisation chromosomique	Type de population	Références
	<i>Lr28</i>	1 RAPD/1 STS		(F ₃)	Naik <i>et al.</i> , 1998
	<i>Lr31</i>	2 RFLP	4BL	(F ₃)	Nelson <i>et al.</i> , 1997
	<i>Lr34</i> (APR)	1 RFLP	7DS	cartographie	Nelson <i>et al.</i> , 1997
		3 RFLP, RAPD	7BL, 1DS	(LR)	William <i>et al.</i> , 1997
	<i>Lr35</i> (APR)	3 RFLP/ 1STS	2B	(F ₂)	Seyfarth <i>et al.</i> , 1999
	<i>Lr39</i>	3 SSR	2DS	(F ₂)	Raupp <i>et al.</i> , 2001
	<i>Lr47</i>	1 PCR	7A	(BC)	Helguera <i>et al.</i> , 2000
	<i>LrTr</i>	SSR	4BS	(F ₂)	Aghaee-Sarbarzeh <i>et al.</i> , 2001
Résistance durable à la rouille noire	<i>Sr2</i> (APR)	1 STS	3B	lignées en sélection	Bariana <i>et al.</i> , 1998
		2 RFLP	3BS, 6DS	(LR)	Johnston <i>et al.</i> , 1998
Résistance à l'oïdium	<i>Pm</i>	1 RFLP	2B	(LR)	Rong <i>et al.</i> , 1998
	<i>Pm1</i>	1 RFLP	7AL	(Liso)	Jahoor, 1998
		1 RAPD/STS	7AL	(Liso)	Hu <i>et al.</i> , 1997
	<i>Pm1c</i>	1 AFLP	7AL	(Liso)	Hartl <i>et al.</i> , 1999
	<i>Pm4a</i>	1 AFLP	2AL	(F ₃)	Hartl <i>et al.</i> , 1999
	<i>Pm4a</i> & <i>Pm4b</i>	1 STS	2AL	(F ₂)	Liu DJ. <i>et al.</i> , 1998
	<i>Pm4b</i>	6 AFLP	2AL	(HD)	Hartl <i>et al.</i> , 1998
	<i>Pm6</i>	3 RFLP	2B	(Liso)	Liu DJ. <i>et al.</i> , 1998
		RFLP	2BL	(Liso)	Tao <i>et al.</i> , 2000
	<i>Pm13</i>	RAPD, RFLP, STS	3B, 3D	(LR)	Cenci <i>et al.</i> , 1999
	<i>Pm21</i>	RAPD/2 SCAR	6AL/ 6VS	(F ₂)	Liu <i>et al.</i> , 1999
	<i>Pm24</i>	2 AFLP, 3 SSR	1DS	(F ₂)	Huang <i>et al.</i> , 2000
	<i>Pm26</i>	RFLP	2BS	(F ₂) et (LR)	Rong <i>et al.</i> , 2000
	<i>MIRE</i>	SSR	6AL	(F ₃)	Chantret <i>et al.</i> , 2000
Résistance aux caries (<i>Tilletia tritici</i> et <i>T. laevis</i>)	<i>Bt-10</i>	1 PCR		(F ₂)	Laroche <i>et al.</i> , 2000
	<i>Bt-11</i>	1 RAPD		(F ₄ , F ₅)	Linott <i>et al.</i> , 1998
Résistance à la septoriose (<i>Septoria tritici</i>)		1 AFLP	non déterminée	(LR)	Goodwin <i>et al.</i> , 1998

(Liso) = Lignées quasi-isogéniques — *Near-isogenic lines*; (F₂) et (F₃) = Les descendances F₂ et F₃ respectivement — *F₂ and F₃ progeny respectively*; (HD) = Les haploïdes doublés — *Doubled haploid lines*; (LR) = Les populations de lignées recombinantes — *Recombinant inbred lines*; (BC) = Les populations issues de rétro-croisements ou backcross — *Backcross populations*; (APR) = Gène de résistance adulte — *Adult plant resistance gene*.

L'analyse de la variance et la cartographie d'intervalle (Lander, Botstein, 1989) sont les méthodes statistiques les plus utilisées pour la mise en évidence d'associations entre les locus polymorphes et le caractère étudié. Des exemples récents d'associations entre des marqueurs moléculaires et des locus impliqués dans l'expression de certains caractères quantitatifs (QTL) chez le blé tendre telle que la résistance aux rouilles brune (*Puccinia recondita* Rob. ex Desm.) et jaune (*Puccinia striiformis* West.), à l'oïdium (*Erysiphe graminis* Em. Marchal), à la tache bronzée (*Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechs.) et à la fusariose (*Fusarium graminearum* Schwabe)

sont présentés au **tableau 2**. Ces travaux concernent les résistances quantitatives polygéniques où une bonne partie de la variation phénotypique est expliquée par la ségrégation de quelques QTL à effets majeurs.

Dans le cas de la rouille brune, plusieurs régions génomiques du blé impliquées dans l'expression quantitative de la maladie portent également des gènes *Lr* spécifiques (Messmer *et al.*, 2000). Ces auteurs ont suggéré que le QTL identifié sur le chromosome 2BS pourrait être allélique au gène *Lr13* de résistance adulte à la rouille brune cartographié dans la même région par Seyfarth *et al.* (1998). De même pour le

Tableau 2. Exemples de QTL de résistance aux maladies cartographiés, au cours des cinq dernières années, au moyen des marqueurs moléculaires chez le blé tendre — *Recent publications describing the association of molecular markers with disease resistance QTL in bread wheat.*

Caractère	Nombre et Type de marqueurs	Localisation chromosomique	Type de population	Références
Résistance à la rouille brune	RFLP	7DS, 7BL	cartographie	Nelson <i>et al.</i> , 1997
	RAPD	7BL, 1DS ou 1BS	(LR) (F ₈)	William <i>et al.</i> , 1997
	3 RFLP, 3 SSR	2B	(F ₂)	Seyfarth <i>et al.</i> , 1998
	1 RFLP/1 STS	2B	(F ₂)	Seyfarth <i>et al.</i> , 1999
Résistance à la rouille jaune	RFLP, SSR	2B, 7D, 5A, 3D, 6D	(LR)	Boukhatem <i>et al.</i> , 2002
	RFLP, SSR	2B, 2A	(LR)	Boukhatem <i>et al.</i> , 2002
Résistance à l'oïdium	2 SSR, 2 RFLP	non déterminée	(F ₃)	Liu SX. <i>et al.</i> , 1998
	RFLP, SSR	5A, 7B	(LR)	Keller <i>et al.</i> , 1999
	SSR	5D, 6A	(F ₃)	Chantret <i>et al.</i> , 2000
	RFLP, SSR	5D, 4A, 6A	(HD)	Chantret <i>et al.</i> , 2001
	RFLP, SSR	5D, 4A, 6A, 7A, 7B	F ₂ : F ₃	"
	RFLP, SSR	1B, 2A, 2B	(LR)	Liu SX. <i>et al.</i> , 2001
	RFLP, SSR	4A, 5D, 6A	(HD)	Mingeot <i>et al.</i> , 2002
	RFLP, SSR	2B, 5D, 6A, 1A, 2A, 3A, 7B	(HD)	Mingeot <i>et al.</i> , 2002
Résistance à la tache bronzée	RFLP	1AS/2DL, 4AL, 4AS, 3BL, 1BL, 2DL et 1AS/2DL	(LR)	Faris <i>et al.</i> , 1997
	RFLP	1AS	(LR)	Effertz <i>et al.</i> , 1998
Résistance à la fusariose	RAPD	5AL	(HD)	Ban, Suenaga, 1997
	1 AFLP	3BS	(F ₂)	Anderson <i>et al.</i> , 1998
	4 RFLP	2AL, 6BS, 4AL, 6BS	(F ₂)	"
	11 AFLP	non déterminée	(LR)	Bai <i>et al.</i> , 1999
	RFLP	3BS, 6BS, 4BS, 2AL	(LR) (F ₅)	Waldron <i>et al.</i> , 1999
	AFLP, RFLP, SSR	3AL, 6AS	(LR)	Anderson <i>et al.</i> , 2001
SSR, AFLP	3BS, 5A, 1B	(HD)	Buerstmayr <i>et al.</i> , 2002	

(F₂) et (F₃) = Les descendances F₂ et F₃ respectivement — *F₂ and F₃ progeny respectively*; (HD)= Les haploïdes doublés — *Doubled haploid lines*; (LR) = Les populations de lignées recombinantes — *Recombinant inbred lines*.

QTL détecté dans la région chromosomique 7DS contenant le gène de résistance adulte *Lr34*. Ces deux locus (le QTL et le gène *Lr34*) expliquent 45 % de la variation phénotypique pour la résistance à cette maladie (Nelson *et al.*, 1997). Toutefois, des travaux supplémentaires seront nécessaires pour vérifier si ces co-localisations sont dues au fait que le QTL et le gène ne sont que des formes alléliques d'un même locus ou au fait que le gène et le QTL sont étroitement liés.

Des QTL impliqués dans la résistance adulte à la rouille jaune ont été récemment identifiés en utilisant deux populations de lignées recombinantes de blé (Boukhatem *et al.*, 2002). Ces auteurs ont mis en relief l'importance de la région centromérique du chromosome 2B et télomérique des chromosomes 2AL et 7DS dans la résistance durable à la rouille jaune.

D'un autre côté, 18 QTL impliqués dans la résistance adulte à l'oïdium, distribués sur tout le génome du blé et expliquant 77 % de la variation phénotypique ont été détectés (Keller *et al.*, 1999). Deux QTL à effet majeur ont été maintenus dans les cinq environnements étudiés, dont un correspond au

locus *Pm5* situé sur le chromosome 7B. Le deuxième QTL est situé sur le chromosome 5A mais ne correspond à aucun gène *Pm* connu. Trois autres QTL localisés sur les chromosomes 1B, 2A et 2B et expliquant 17, 29 et 11 % respectivement de la variation totale de lignées de blé pour la résistance adulte à l'oïdium ont été identifiés (Liu SX. *et al.*, 2001). Chantret *et al.* (2001) ont détecté un QTL majeur impliqué dans la résistance à l'oïdium situé sur le chromosome 5D, stable dans tous les environnements testés et aux deux stades (adulte et plantule) de développement de la plante. De même, Mingeot *et al.* (2002) ont détecté deux QTL communs aux deux fonds génétiques de populations d'haploïdes doublés de blé utilisés ; un QTL situé sur le chromosome 5D et un autre localisé au locus *MIRE* (6A).

Cinq types de résistance à la fusariose ont été décrits chez le blé. La résistance de type II qui correspond à la résistance à la propagation de la maladie dans l'épi est la mieux étudiée. Plusieurs QTL majeurs de résistance à cette maladie ont été identifiés et cartographiés (Kolb *et al.*, 2001 ; Buerstmayr *et al.*,

2002). La majorité des études ont détecté au moins un QTL porté par le chromosome 3BS, ce qui pourrait suggérer que ce chromosome porte un gène à effet majeur pour la résistance à la fusariose (Waldron *et al.*, 1999 ; Anderson *et al.*, 2001 ; Buerstmayr *et al.*, 2002).

Les gènes majeurs et/ou les QTL majeurs impliqués dans la résistance adulte ou polygénique peuvent être combinés avec les gènes majeurs spécifiques *via* la sélection assistée par marqueurs dans le but de créer des variétés avec des niveaux de résistance élevés et efficaces pour une longue période.

3.2. Clonage des gènes

La localisation des gènes dans une carte de liaison, *via* les marqueurs moléculaires, offre une stratégie alternative de clonage de gènes contrôlant les caractères désirés et dont seul le phénotype est connu (Tanksley *et al.*, 1989 ; Michelmore RW., 1995) : on parle de clonage positionnel. Il consiste à isoler un gène à partir de marqueurs qui lui sont étroitement liés. Cette stratégie implique l'utilisation combinée d'une carte fine du fragment d'ADN contenant le gène cible et des outils moléculaires pour approcher le gène cible et le cloner sans connaître son produit. Elle a été appliquée avec succès pour isoler plusieurs gènes de résistance chez différentes espèces végétales (Mohan *et al.*, 1997 ; Lukowitz *et al.*, 2000).

Le clonage positionnel est particulièrement difficile pour l'isolation de locus impliqués dans l'expression de caractères quantitatifs (QTL). Cependant, durant les deux dernières années, des études séparées ont publié l'isolation *via* cette approche, de QTL impliqués dans le contrôle de la taille et du contenu en sucre chez la tomate (*Fw2.3*, *Brix9-2-5*), du temps de floraison chez l'*Arabidopsis* (*FRI*) et de la date d'épiaison chez le riz (*Hd1* et *Hd6*) (Remington *et al.*, 2001). Étant donné que cette approche est lourde et longue à appliquer dans les génomes complexes, elle est souvent associée à une approche de cartographie comparée (clonage du gène homologue du gène recherché dans une espèce voisine à génome simple) ou clonage d'analogues de gènes de résistance/gènes candidats.

Analogues de gènes de résistance. Les gènes de résistance aux maladies déjà clonés à partir du génome de différentes espèces végétales montrent une forte homologie de séquences ainsi que la conservation d'un certain nombre de motifs structuraux. Ces séquences sont réparties en 4 classes sur la base des différentes associations des domaines conservés (LRR, NBS, Tir et Ser/Thr Kinase) au sein des produits de gènes R (Hammond-Kosack, Jones, 1997).

Le domaine Sérine/Thréonine kinase (Ser/Thr kinase) peut se présenter seul, c'est le cas par exemple des produits des gènes *Pto* et *Fen* chez la tomate, ou associé à un domaine riche en leucines (LRR, leucine-rich repeat) comme c'est le cas du produit du gène *Xa21* chez le riz. La classe LRR est représentée par les gènes *Cf2*, *Cf4*, *Cf5* et *Cf9* de la tomate. La classe NBS-LRR caractérisée par la présence d'un site de liaison nucléotidique (Nucleotide Binding Site, NBS) et d'un domaine riche en leucines (LRR) est représentée par les produits des gènes *RPM1* et *RPS2* d'*Arabidopsis*, du gène *L* du lin et du gène *Cre3* qui confère la résistance aux nématodes à kyste (*Heterodera avenae* Woll.) chez le blé. Le gène *Hm1* qui contrôle à la fois la résistance au champignon pathogène (*Cochliobolus carbonum* Nelson) race 1 et l'expression d'une toxine réductase chez le maïs n'appartient à aucune de ces quatre classes. Ces travaux ont été repris dans plusieurs revues de synthèse (Mohan *et al.*, 1997 ; Langridge *et al.*, 2001).

La classe NBS-LRR constitue la principale classe de gènes clonés jusqu'à présent (Martin, 1999). Les séquences adjacentes à cette classe sont conservées et permettent de définir des amorces PCR consensus pour l'amplification d'analogues de gènes de résistance (RGA : Resistance Gene Analogs) étudiés (Leister *et al.*, 1999 ; Seah *et al.*, 1998 ; Collins *et al.*, 2001). La plupart de ces RGA sont organisés en clusters et co-localisés avec des gènes de résistance connus (Spielmeyer *et al.*, 1998 ; Rivkin *et al.*, 1999 ; Seah *et al.*, 1998). Ces RGA ont été employés comme sondes afin d'identifier et de localiser ces locus chez le blé. Ces locus étaient situés sur l'ensemble des sept groupes de chromosomes homéologues du blé (Spielmeyer *et al.*, 1998).

Le polymorphisme d'analogues de gènes de résistance (RGAP) a permis la cartographie de plusieurs gènes de résistance aux maladies chez le blé, notamment les gènes *Yr9*, *Yr10* et *Yr17* de résistance à la rouille jaune (Spielmeyer *et al.*, 2000 ; Seah *et al.*, 2001 ; Shi *et al.*, 2001), les gènes *Lr21*, *Lr37* et *Lr40* de résistance à la rouille brune (Spielmeyer *et al.*, 2000 ; Huang, Gill, 2001 ; Seah *et al.*, 2001) et des gènes de résistance aux nématodes à kystes (Seah *et al.*, 2000 ; Ogonnaya *et al.*, 2001a).

Cette approche de cartographie des RGA ouvre potentiellement la voie à l'identification de gènes de résistance chez le blé.

Gènes candidats. Pour certains caractères quantitatifs, l'étiquetage des gènes est plus facilement réalisable par la stratégie de "gènes candidats" que par le clonage positionnel. Cette stratégie consiste à cartographier des séquences d'ADN caractérisées comme susceptibles d'intervenir dans les mécanismes physiologiques régissant le caractère étudié. Ces

séquences peuvent rendre compte de l'effet de certains QTL et remplacer, après validation, le marqueur lié au QTL. Faris *et al.* (1999) ont rapporté l'intérêt de cette méthode pour l'identification de QTL impliqués dans les résistances à certaines maladies polygéniques comme la tache bronzée, les rouilles brune et noire et les caries.

Jusqu'à aujourd'hui, aucun gène de résistance n'a été isolé à partir du génome du blé bien que des gènes candidats codant pour la résistance aux nématodes à kystes (Lagudah *et al.*, 1997) et aux rouilles noire (Frick *et al.*, 1998) et brune (Feuillet *et al.*, 1997) aient été identifiés.

Les premiers exemples publiés de gènes candidats qui pourraient correspondre à des QTL sont les gènes *Sh2* intervenant dans la synthèse de l'amidon dans le grain et *Sh1* contrôlant le clivage du saccharose en glucose et fructose chez le maïs (Goldman *et al.*, 1993 ; Causse *et al.*, 1995).

3.3. Comparaison des cartes de liaisons génétiques

La génétique comparative constitue l'une des voies qui permet de mieux comprendre le génome du blé et son évolution. Bien que les génomes des différentes espèces céréalières diffèrent par leur taille, leur niveau de ploïdie et leur nombre de chromosomes, la comparaison des cartes génétiques des plantes modèles comme le riz et d'autres céréales a montré une grande similitude de la structure du génome et une conservation de l'ordre des gènes sur les chromosomes, un phénomène appelé synténie ou colinéarité (Gale, Devos, 1998). De fortes similitudes ont été observées entre le génome du blé et celui du riz (Kurata *et al.*, 1994). D'autres études ont montré des homologies entre les génomes du blé tendre et d'autres céréales comme le maïs (Devos *et al.*, 1994) et l'orge (Dunford *et al.*, 1995). Une carte consensus a été construite en comparant le génome de plusieurs espèces de graminées : le blé, l'orge, le maïs, le riz, l'avoine, le millet, le sorgho et la canne à sucre (Gale, Devos, 1998). Plus récemment, l'utilisation de sondes appartenant à différentes classes d'analogues de gènes de résistance (RAG) dans la cartographie des génomes du blé et de l'orge a montré une conservation des localisations des RAG orthologues chez les deux céréales (Collins *et al.*, 2001).

Cette homologie des séquences d'ADN au sein des différentes espèces permettrait l'étude de régions spécifiques d'une espèce au moyen des marqueurs moléculaires déjà localisés chez les autres espèces. La cartographie comparée chez les céréales peut être très utile, notamment pour les espèces à génome complexe comme le blé. Ainsi est apparue l'idée du séquençage intégral du génome du riz, plante modèle des Poacées (Goff *et al.*, 2002 ; Yu *et al.*, 2002). Ces résultats

permettent de dresser un inventaire de l'ensemble des gènes du riz pour étudier leur organisation, leurs fonctions, leurs régulations et leurs interactions (c'est la génomique), et de rechercher les gènes ayant la même fonction dans des espèces différentes grâce aux outils de la bioinformatique. Il devient alors possible de transférer les connaissances acquises sur une plante simple comme le riz aux espèces à génome complexe au travers du développement de marqueurs génétiques consensus.

Les premières analyses comparatives des séquences d'ADN ont montré que la colinéarité entre les génomes des graminées est bien maintenue au niveau moléculaire (micro-colinéarité). La micro-colinéarité a été vérifiée entre les génomes du blé et de l'orge au niveau de locus codant pour les analogues des récepteurs des kinases (Feuillet, Keller, 1999). Toutefois, certaines études ont montré qu'à l'intérieur de ces régions colinéaires, différents réarrangements comme les délétions et/ou translocations de petits fragments d'ADN, l'inversion d'un gène ou sa duplication, ou la combinaison de tous ces réarrangements, peuvent apparaître (Bennetzen, 2000 ; Feuillet, Keller, 2002). Si les micro-réarrangements (petites inversions et duplications d'un gène) peuvent être sans effet sur la micro-colinéarité, les délétions et les translocations peuvent, par contre, compliquer amplement les analyses. À titre d'exemple, l'insertion d'un fragment d'ADN de 10-15 kb au voisinage du gène *rpg1* de résistance à la rouille noire chez l'orge est à l'origine de la perte de micro-colinéarité entre ce gène et la région orthologue chez le riz (Kilian *et al.*, 1997). Ainsi, l'utilisation du riz comme plante modèle pour l'isolation de gènes à partir d'autres espèces de graminées pourrait être compliquée par ces réarrangements locaux.

Plusieurs travaux récents (Devos, Gale, 2000 ; Bennetzen, 2000 ; Feuillet, Keller, 2002 ; Laurie, Devos, 2002) ont été consacrés à la génétique comparative et ont montré l'intérêt de ces études pour la compréhension de l'organisation et de l'évolution du génome des graminées.

3.4. Intérêt des marqueurs moléculaires en sélection

Outre leurs intérêts fondamentaux, les marqueurs moléculaires suscitent un grand intérêt dans le domaine de la sélection (Hernandez, 1999 ; Eagles *et al.*, 2001 ; Moreau *et al.*, 2001 ; Dekkers, Hospital, 2002). Le développement considérable des marqueurs moléculaires au cours des dernières décennies a permis une meilleure compréhension du génome de blé et la cartographie de plusieurs dizaines de locus liés aux résistances aux maladies et insectes. Le prochain défi auquel seront confrontés les

sélectionneurs est l'application de ces marqueurs dans des programmes de sélection. L'utilisation d'un marqueur moléculaire dans un programme de sélection doit passer d'abord par sa validation, en examinant le polymorphisme détecté dans différents fonds génétiques et par l'évaluation du rapport efficacité attendue/coûts occasionnés.

La sélection assistée par marqueurs est basée sur la possibilité d'inférer la présence d'un gène par la recherche du marqueur qui lui est étroitement lié. Cette sélection est particulièrement avantageuse lorsque le gène cible est récessif et/ou lorsque son expression est tardive ou influencée par les conditions de l'environnement. Elle est également justifiée lorsque les tests d'infection sont fastidieux et/ou coûteux et lorsque l'importation du pathogène comporte un risque.

Les perspectives d'application des marqueurs moléculaires en sélection sont nombreuses.

Construction de génotypes assistée par marqueurs.

L'un des objectifs majeurs du sélectionneur est d'intégrer, dans un même génotype, différents gènes majeurs/QTL à valeur agronomique, provenant de plusieurs lignées élites. L'accumulation, *via* les marqueurs moléculaires, des différents gènes/QTL favorables dans un même génotype permet de créer des variétés stables et performantes. Cette approche permet un gain de temps considérable par rapport aux méthodes classiques de rétro-croisement.

Très peu de travaux visant à regrouper l'ensemble des allèles favorables des QTL à l'intérieur d'un même génotype ont été effectués. Le premier exemple publié concerne l'amélioration du rendement en grain du maïs par introgression d'allèles favorables dans des variétés élites (Stuber, Sisco, 1993). Plus récemment, Yousef et Juvik (2002) ont rapporté l'efficacité des marqueurs moléculaires pour l'identification et l'introgression de QTL favorables pour l'amélioration génétique du maïs.

Sélection contre le fonds génétique du parent donneur.

Outre leur intérêt pour contrôler les gènes majeurs/QTL introgressés, les marqueurs moléculaires peuvent permettre d'accélérer le retour au fonds génétique du parent récurrent et limiter la taille des segments introgressés lors d'un programme de rétro-croisement (Hospital, 2001). À chaque génération, les marqueurs peuvent être utilisés d'une part, pour identifier les individus porteurs des allèles favorables aux gènes/QTL considérés et d'autre part, pour choisir parmi ces individus celui qui présente le plus de ressemblance avec le parent récurrent pour le reste du génome.

Pyramidage des gènes. Un autre domaine d'intérêt des marqueurs moléculaires dans l'amélioration des

plantes aux résistances aux maladies et insectes est le pyramidage de plusieurs gènes de résistance au même pathogène ou insecte dans une seule variété (Tanksley *et al.*, 1989). Avec le développement rapide de nouveaux biotypes, les méthodes traditionnelles de la sélection deviennent lourdes et compliquées lorsque deux gènes ou plus sont à identifier simultanément. Le cumul de plusieurs gènes de résistance dans un seul cultivar, *via* les marqueurs moléculaires, permettrait l'obtention d'une résistance multigénique que l'on peut espérer être difficilement contournée par le pathogène ou l'insecte.

L'utilisation des marqueurs moléculaires dans les programmes de sélection, *via* MAS, est encore à ses débuts. Quelques exemples peuvent néanmoins être mentionnés, notamment le travail de Dweikat *et al.* (1997) qui ont pu suivre le pyramidage dans des variétés de blé sensibles à la mouche de Hesse des gènes de résistance *H5* et *H11* d'une part, et des gènes *H9* et *H16* d'autre part, grâce à l'utilisation de marqueurs moléculaires associés à chacun des gènes utilisés. Plus récemment, Liu *et al.* (2000) ont pu, de la même manière, pyramider les trois gènes *Pm2*, *Pm4a* et *Pm21* de résistance à l'oïdium dans des variétés de blé. D'autres travaux ont confirmé la validité de marqueurs liés à des gènes de résistance à l'oïdium chez le blé après leur transfert dans différents fonds génétiques et ont pu exploiter ces marqueurs avec succès dans les programmes d'amélioration du blé pour la résistance à cette maladie (Hartl *et al.*, 1995 ; Liu *et al.*, 1997). Par ailleurs, une population de blé en ségrégation pour deux gènes de résistance aux nématodes à kystes a été évaluée par trois marqueurs moléculaires. L'utilisation de ces marqueurs dans les programmes d'amélioration du blé pour la résistance aux nématodes à kystes a montré une grande fiabilité que ce soit lors de la sélection des plantes portant ces gènes ou lors du pyramidage de ces gènes dans une même variété (Ogbonnaya *et al.*, 1998 ; 2001b). Le même travail serait très difficile, voire impossible, avec les méthodes de sélection phénotypique.

4. CONCLUSION

Les efforts de recherche sur le blé tendre sont à la mesure de l'importance économique de cette culture. En effet, malgré le faible polymorphisme observé et la taille et la complexité du génome du blé tendre, des cartes génétiques ont été élaborées et plusieurs caractères ont été étiquetés en utilisant les différentes techniques de marquage moléculaire.

Aujourd'hui, avec le marquage moléculaire, de nouvelles perspectives s'ouvrent pour le sélectionneur. La mise en évidence de marqueurs moléculaires liés à des gènes de résistance aux maladies et insectes dans

des lignées de blé tendre en cours de sélection, ou servant de parents potentiels dans les croisements, permet d'intervenir précocement au niveau d'un schéma de sélection. Cette sélection permettra des constructions de génotypes qui sont difficilement réalisables par la sélection phénotypique. De plus, dans la sélection classique, les effets des gènes peuvent être masqués lors de l'accumulation de facteurs de résistance à une même maladie et le phénotype ne permet donc pas le choix, avec certitude, de la combinaison de gènes souhaités.

Cependant, les interactions potentielles entre les QTL et les conditions de l'environnement et/ou le fonds génétique réduisent l'efficacité de la sélection assistée par marqueurs (MAS) pour l'amélioration des caractères quantitatifs (Young, 1999 ; Moreau *et al.*, 2001 ; Dekkers, Hospital, 2002).

Par ailleurs, la création de variétés résistantes par des rétro-croisements assistés par marqueurs est une méthode qui reste économique et écologique et ne présente, contrairement aux organismes génétiquement modifiés (OGM), aucun risque ni problème éthique concernant leur acceptabilité puisque les ressources génétiques sont utilisées depuis le début de la sélection.

Les marqueurs moléculaires ont déjà fait leur preuve de robustesse et de précision pour l'étiquetage et la cartographie de caractères d'intérêt chez les plantes, particulièrement chez le blé. Toutefois, bien que leur utilisation devienne une réalité, la maîtrise du coût de marquage constitue encore un défi pour beaucoup d'utilisateurs. Ce coût peut être réduit d'une part, par la simplification et la robotisation des techniques de marquage moléculaire et d'autre part, par l'intégration d'outils de génomique développés chez le riz, plante modèle pour les monocotylédones/céréales et de bioinformatique qui permettent d'analyser les séquences des gènes chez cette plante simple, et de rechercher les gènes ayant la même fonction dans des espèces différentes.

Le développement de nouvelles technologies comme les SNP (Single Nucleotide Polymorphisms) (Rafalski, 2002a, b) qui permettent la recherche et l'exploitation du polymorphisme au nucléotide près ouvre de nouvelles voies d'applications pour la génétique végétale. Ces techniques s'avèrent très prometteuses pour les utilisations à grande échelle et peuvent être considérées comme les marqueurs moléculaires de demain (Gupta *et al.*, 2001 ; Rafalski, 2002a, b).

Ces nouvelles approches (génomique, bioinformatique, SNP) ainsi que l'accès aux banques de séquences EST (Expressed Sequence Tags) peuvent accélérer la cartographie génomique et l'étiquetage des gènes chez les cultures à génome complexe comme le blé tendre.

Bibliographie

- Aghaee-Sarbarzeh M., Harjit S., Dhaliwal HS. (2001). A microsatellite marker linked to leaf rust resistance transferred from *Aegilops triuncialis* into hexaploid wheat. *Plant Breed.* **120** (3), p. 259–261.
- Anderson JA., Waldron BL., Moreno-Sevilla B., Stack RW., Froberg RC. (1998). Detection of *Fusarium* head blight resistance QTL in wheat using AFLPs and RFLPs. In Slinkard AE. (ed.), *9th Int. Wheat Genet. Symp.* **1**. Saskatoon, Canada: Univ. Extension Press, Univ. of Saskatchewan, p. 135–137.
- Anderson JA., Stack RW., Liu S., Waldron BL., Fjeld AD., Coyne C., Moreno-Sevilla B., Fetch JM., Song QJ., Cregan PB., Froberg RC. (2001). DNA markers for *Fusarium* head blight resistance QTLs in two wheat populations. *Theor. Appl. Genet.* **102** (8), p. 1164–1168.
- Bai GH., Kolb FL., Shaner G., Domier LL. (1999). Amplified fragment length polymorphism markers linked to a major quantitative trait locus controlling scab resistance in wheat. *Phytopathology* **89** (4), p. 343–348.
- Ban T., Suenaga K. (1997). Inheritance of resistance to *Fusarium* head blight caused by *Fusarium graminearum* in wheat. *Cereal Res. Commun.* **25**, p. 727–728.
- Bariana HS., Kailasapillai S., Brown GN., Sharp PJ. (1998). Marker assisted identification of *Sr2* in The National Cereal Rust Control Program in Australia. In Slinkard AE. (ed.), *9th Int. Wheat Genet. Symp.* **3**, p. 89–91. Saskatoon, Canada: Univ. Extension Press, Univ. of Saskatchewan.
- Bennetzen JL. (2000). Comparative sequence analysis of plant nuclear genomes: microcolinearity and its many exceptions. *Plant Cell* **12**, p. 1021–1030.
- Börner A., Röder MS., Unger O., Meinel A. (2000). The detection and molecular mapping of a major gene for non-specific adult-plant disease resistance against stripe rust (*Puccinia striiformis*) in wheat. *Theor. Appl. Genet.* **100** (7), p. 1095–1099.
- Botstein D., White RL., Skolnick M., Dvies RW. (1980). Construction of genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. *Am. J. Hum. Genet.* **32**, p. 314–331.
- Boukhatem N., Baret PV., Mingeot D., Jacquemin JM. (2002). Quantitative trait for resistance against yellow rust in two wheat-derived recombinant inbred line populations. *Theor. Appl. Genet.* **104**, p. 111–118.
- Bradeen JM., Simon PW. (1998). Conversion of an AFLP fragment linked to the carrot Y2 locus to simple, codominant, PCR-based marker form. *Theor. Appl. Genet.* **97**, p. 960–967.
- Brigneti G., Garcia-Mas J., Baulcombe DC. (1997). Molecular mapping of the potato virus Y resistance gene *Ry_{sto}* in potato. *Theor. Appl. Genet.* **94**, p. 198–203.
- Buerstmayr H., Lemmens M., Hartl L., Doldi L., Steiner B., Stierschneider M., Ruckebauer P. (2002). Molecular mapping of QTLs for *Fusarium* head blight

- resistance in spring wheat. I. Resistance to fungal spread (type II resistance). *Theor. Appl. Genet.* **104** (1), p. 84–91.
- Causse MA., Rocher JP., Henry AM., Charcosset A., Prioul JL., De Vienne D. (1995). Genetic dissection of the relationship between carbon metabolism and early growth in maize, with emphasis on key-enzyme loci. *Mol. Breed.* **1**, p. 259–272.
- Cenci A., D'Ovidio R., Tanzarella OA., Ceoloni C., Porceddu E. (1999). Identification of molecular markers linked to *PM13*, an *Aegilops longissima* gene conferring resistance to powdery mildew in wheat. *Theor. Appl. Genet.* **98** (3–4), p. 448–454.
- Chague V., Fahima T., Dahan A., Sun GL., Korol AB., Ronin Y., Nevo E., Grama A., Röder MS. (1999). Isolation of microsatellite and RAPD markers flanking the *Yr15* gene of wheat using NILs and bulked segregant analysis. *Genome* **42**, p. 1050–1056.
- Chantret N., Sourdille P., Roder M., Tavaud M., Bernard M., Doussinault G. (2000). Location and mapping of the powdery mildew resistance gene MIRE and detection of a resistance QTL by bulked segregant analysis (BSA) with microsatellites in wheat. *Theor. Appl. Genet.* **100** (8), p. 1217–1224.
- Chantret N., Mingeot D., Sourdille P., Bernard M., Jacquemin JM., Doussinault G. (2001). A major QTL for powdery mildew resistance is stable over time and at two development stages in winter wheat. *Theor. Appl. Genet.* **103** (6–7), p. 962–971.
- Collins N., Park R., Spielmeier W., Ellis J., Pryor AJ. (2001). Resistance gene analogs in barley and their relationship to rust resistance genes. *Genome* **44** (3), p. 375–381.
- Dekkers JCM., Hospital F. (2002). The use of molecular genetics in the improvement of agricultural populations [Review]. *Natl. Rev. Genet.* **3** (1), p. 22–32.
- Devos KM., Chao S., Li QY., Siminetti MC., Gale MD. (1994). Relationship between chromosome 9 of maize and wheat homoeologous group 7 chromosome. *Genetics* **138**, p. 1287–1292.
- Devos KM., Gale MD. (2000). Genome relationships: the grass model in current research. *Plant Cell* **12**, p. 637–646.
- Dunford RP., Kurata N., Laurie DA., Money TA., Minobe Y., Moore G. (1995). Conservation of fine-scale DNA marker order in the genome of rice and the Triticeae. *Nucl. Acids Res.* **23**, p. 2724–2728.
- Dweikat I., Ohm H., Patterson F., Cambron S. (1997). Identification of RAPD markers for 11 Hessian fly resistance gene in wheat. *Theor. Appl. Genet.* **94**, p. 419–423.
- Eagles HA., Bariana HS., Ogonnaya FC., Rebetzke GJ., Hollamby GJ., Henry RJ., Henschke PH., Carter M. (2001). Implementation of markers in Australian wheat breeding. *Aust. J. Agric. Res.* **52** (11–12), p. 1349–1356.
- Effertz RJ., Anderson JA., Francl LJ. (1998). QTLs associated with resistance to chlorosis induction by *Pyrenophora tritici-repentis* in adult wheat. *Can. J. Plant Pathol.-Rev. Can. Phytopathol.* **20** (4), p. 438–439.
- Fahima T., Chague V., Sun G., Korol A., Ronin Y., Röder M., Grama A., Nevo E. (1997). Identification and potential use of PCR markers flanking the *Triticum dicoccoides*-derived stripe rust resistance gene *Yr15* in wheat. *5th Int. Congr. Plant Mol. Biol.*, 21–27 Sept 1997, Singapore (Abstr.), 249 p.
- Faris JD., Anderson JA., Francl LJ., Jordahl JG. (1997). RFLP mapping of resistance to chlorosis induction by *Pyrenophora tritici-repentis* in wheat. *Theor. Appl. Genet.* **94**, p. 98–103.
- Faris JD., Li WL., Liu DJ., Chen PD., Gill BS. (1999). Candidate gene analysis of quantitative disease resistance in wheat. *Theor. Appl. Genet.* **98**, p. 219–225.
- Feuillet C., Schachermayer G., Keller B. (1997). Molecular cloning of a new receptor-like kinase encoded at the *Lr10* leaf rust resistance locus in wheat. *Plant J.* **11**, p. 45–52.
- Feuillet C., Keller B. (1999). High gene density is conserved at syntenic loci of small and large grass genomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96**, p. 8665–8670.
- Feuillet C., Keller B. (2002). Comparative genomics in the grass family: molecular characterization of grass genome structure and evolution. *Ann. Bot.* **89** (3), p. 3–10.
- Frick MM., Huel R., Nykiforuk CL., Conner RL., Kusyk A., Laroche A. (1998). Molecular characterization of a wheat strip rust resistance gene in Moro wheat. In Slinkard AE. (ed.), *9th Int. Wheat Genet. Symp.* **3**. Saskatoon, Canada: Univ. Extension Press, Univ. of Saskatchewan, p. 181–182.
- Gale MD., Devos KM. (1998). Comparative genetics in the grasses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **95**, p. 1971–1974.
- Goff SA., Ricke D., Lan TH. *et al.* (2002). A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp. *Japonica*). *Science* **296**, p. 92–100.
- Goldman IL., Rocheford TR., Dudley JW. (1993). Quantitative trait loci influencing protein and starch concentration in the Illinois Long Term Selection maize strains. *Theor. Appl. Genet.* **87**, p. 217–224.
- Goodwin SB., Hu X., Shaner G. (1998). An AFLP marker linked to a gene for resistance to *Septoria tritici* blotch in wheat. In Slinkard AE. (ed.), *9th Int. Wheat Genet. Symp.* **3**. Saskatoon, Canada: Univ. Extension Press, Univ. of Saskatchewan, p. 108–110.
- Gupta PK., Varshney RK., Sharma PC., Ramesh B. (1999). Molecular markers and their applications in wheat breeding. *Plant Breed.* **118**, p. 369–390.
- Gupta PK., Roy JK., Prasad M. (2001). Single nucleotide polymorphisms: A new paradigm for molecular marker technology and DNA polymorphism detection with emphasis on their use in plants [Review]. *Curr. Sci.* **80** (4), p. 524–535.
- Hammond-Kosack KE., Jones JDG. (1997). Plant disease resistance genes. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol.*

- Biol.* **48**, p. 575–607.
- Hartl L., Stephan U., Zeller FJ., Jahoor A. (1995). Molecular identification of powdery mildew resistance genes in common wheat. *Theor. Appl. Genet.* **90**, p. 601–606.
- Hartl L., Mori S., Schweizer G. (1998). Identification of a diagnostic molecular marker for the powdery mildew resistance gene *Pm4b* based on fluorescently labelled AFLPs. In Slinkard AE. (ed.), *9th Int. Wheat Genet. Symp.* **3**. Saskatoon, Canada: Univ. Extension Press, Univ. of Saskatchewan, p. 111–113.
- Hartl L., Mohler V., Zeller FJ., Hsam SLK., Schweizer G. (1999). Identification of AFLP markers closely linked to the powdery mildew resistance genes *Pm1c* and *Pm4a* in common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Genome* **42**, p. 322–329.
- Helguera M., Khan IA., Dubcovsky J. (2000). Development of PCR markers for wheat leaf rust resistance gene *Lr47*. *Theor. Appl. Genet.* **101** (4), p. 625–631.
- Hernandez P., Martin A., Dorado G. (1999). Development of SCARs by direct sequencing of RAPD products: a practical tool for the introgression and marker-assisted selection of wheat. *Mol. Breed.* **5** (3), p. 245–253.
- Hospital F. (2001). Size of donor chromosome segments around introgressed loci and reduction of linkage drag in marker-assisted backcross programs. *Genetics* **158** (3), p. 1363–1379.
- Hu XY., Ohm HW., Dweikat I. (1997). Identification of RAPD markers linked to the gene *Pm1* for resistance to powdery mildew in wheat. *Theor. Appl. Genet.* **94**, p. 832–840.
- Huang XQ., Hsam SLK., Zeller FJ., Wenzel G., Mohler V. (2000). Molecular mapping of the wheat powdery mildew resistance gene *Pm24* and marker validation for molecular breeding. *Theor. Appl. Genet.* **101** (3), p. 407–414.
- Huang L., Gill BS. (2001). An RGA-like marker detects all known *Lr21* leaf rust resistance gene family members in *Aegilops tauschii* and wheat. *Theor. Appl. Genet.* **103** (6–7), p. 1007–1013.
- Jahoor A. (1998). Marker assisted breeding in cereals, specially with respect to synteny among loci for mildew resistance. In Gupta PK. (ed.), *Genetics and biotechnology in crop improvement*. Meerut, India: Rastogi Publ., p. 237–254.
- Johnston SJ., Sharp PJ., McIntoch RA. (1998). Molecular markers for the *Sr2* stem rust resistance gene. In Slinkard AE. (ed.), *9th Int. Wheat Genet. Symp.* **3**. Saskatoon, Canada: Univ. Extension Press, Univ. of Saskatchewan, p. 117–119.
- Keller M., Keller B., Schachermayr G., Winzeler M., Schmid JE., Stamp P., Messmer MM. (1999). Quantitative trait loci for resistance against powdery mildew in a segregating wheat x spelt population. *Theor. Appl. Genet.* **98** (6–7), p. 903–912.
- Kilian A., Chen J., Han FF., Steffenson B., Kleinhofs A. (1997). Towards map-based cloning of the barley stem rust resistance gene *Rpg1* and *Rpg4* using rice as a intergenomic cloning vehicle. *Plant Mol. Biol.* **35**, p. 187–195.
- Kolb FL., Bai GH., Muehlbauer GJ., Anderson JA., Smith KP., Fedak G. (2001). Host plant resistance genes for Fusarium head blight: mapping and manipulation with molecular markers. *Crop Sci.* **41**, p. 611–619.
- Kurata N., Moore G., Nagamura Y., Foote T., Yano M., Minobe Y., Gale M. (1994). Conservation of genome structure between rice and wheat. *Bio/Technology* **12**, p. 276–278.
- Lagudah ES., Moullet O., Appels R. (1997). Map based cloning of a gene sequence encoding a nucleotide binding domain and leucine rich region at the *Cre3* nematode resistance locus of wheat. *Genome* **40**, p. 659–665.
- Lander ES., Botstein D. (1989). Mapping mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics* **121**, p. 185–199.
- Langridge P., Lagudah ES., Holton TA., Appels R., Sharp PJ., Chalmers KJ. (2001). Trends in genetic and genome analyses in wheat: a review. *Aust. J. Agric. Res.* **52**, p. 1043–1077.
- Laroche A., Demeke T., Gaudet DA., Puchalski B., Frick M., McKenzie R. (2000). Development of a PCR marker for rapid identification of the *Bt-10* gene for common bunt resistance in wheat. *Genome* **43** (2), p. 217–223.
- Laurie DA., Devos KM. (2002). Trends in comparative genetics and their potential impacts on wheat and barley research. *Plant Mol. Biol.* **48**, p. 729–740.
- Leister D., Kurth J., Laurie DA., Yano M., Sasaki T., Devos K., Graner A., Schulze-Lefert P. (1999). RFLP- and physical mapping of resistance gene homologues in rice (*O. sativa*) and barley (*H. vulgare*). *Theor. Appl. Genet.* **98**, p. 509–520.
- Linott L., Davoren J., Gaudet D., Pichalski B., Laroche A. (1998). Development of molecular markers for resistance to common bunt in hexaploid wheats. In Slinkard AE. (ed.), *9th Int. Wheat Genet. Symp.* **3**. Saskatoon, Canada: Univ. Extension Press, Univ. of Saskatchewan, p. 126–127.
- Liu DJ., Liu JY., Tao WJ., Chen PD. (1998). Molecular markers and breeding wheat for powdery mildew resistance. In Slinkard AE. (ed.), *9th Int. Wheat Genet. Symp.* **3**. Saskatoon, Canada: Univ. Extension Press, Univ. of Saskatchewan, p. 128–131.
- Liu J., Liu D., Chen P., Qi L., Cheng S., Gao D., Wu R. (1997). A preliminary practice of molecular marker assisting breeding-breeding wheat for powdery mildew resistance using RFLP markers tightly linked to *Pm2* and *Pm4* genes. *J. Nanjing Agric. Univ.* **20**, p. 1–5.
- Liu J., Liu D., Tao W., Li W., Wang S., Chen P., Cheng S., Gao D. (2000). Molecular marker-facilitated

- pyramiding of different genes for powdery mildew resistance in wheat. *Plant Breed.* **119**, p. 21–24.
- Liu SX., Griffey CA., Saghai Maroof MA. (1998). Preliminary report on molecular marker analysis of adult plant resistance to powdery mildew in winter wheat Massey. In Slinkard AE. (ed.), *9th Int. Wheat Genet. Symp.* **3**. Saskatoon, Canada: Univ. Extension Press, Univ. of Saskatchewan, p. 132–134.
- Liu SX., Griffey CA., Saghai Maroof MA. (2001). Identification of molecular markers associated with adult plant resistance to powdery mildew in common wheat cultivar Massey. *Crop Sci.* **41** (4), p. 1268–1275.
- Liu XM., Smith CM., Gill BS., Tolmay V. (2001). Microsatellite markers linked to six Russian wheat aphid resistance genes in wheat. *Theor. Appl. Genet.* **102** (4), p. 504–510.
- Liu XM., Smith CM., Gill BS. (2002). Identification of microsatellite markers linked to Russian wheat aphid resistance genes *Dn4* and *Dn6*. *Theor. Appl. Genet.* **104**, p. 1042–1048.
- Liu Z., Sun Q., Ni Z., Yang T. (1999). Development of SCAR markers linked to the *Pm21* gene conferring resistance to powdery mildew in common wheat. *Plant Breed.* **118** (3), p. 215–219.
- Lukowitz W., Gillmor CS., Scheible WR. (2000). Positional cloning in *Arabidopsis*. Why it feels good to have a genome Initiative working for you. *Plant Physiol.* **123**, p. 795–805.
- Ma ZQ., Saidi A., Quick JS., Lapitan NLV. (1998). Genetic mapping of Russian wheat aphid resistance genes *Dn2* and *Dn4* in wheat. *Genome* **41**, p. 303–306.
- Ma JX., Zhou RH., Dong YS., Wang LF., Wang XM., Jia JZ. (2001). Molecular mapping and detection of the yellow rust resistance gene *Yr26* in wheat transferred from *Triticum turgidum* L. using microsatellite markers. *Euphytica* **120** (2), p. 219–226.
- Marino C., Nelson J., Lu Y., Sorrells M., Leroy P., Tuleen N., Lops C., Hart G. (1996). Molecular genetic maps of the group 6 chromosomes of hexaploid wheat (*Triticum aestivum*). *Genome* **39**, p. 359–366.
- Martin G. (1999). Functional analysis of plant disease resistance genes and their downstream effectors. *Curr. Biol.* **2**, p. 273–279.
- Messmer MM., Seyfarth R., Keller M., Schachermayer G., Winzeler M., Zanetti S., Feuillet C., Keller B. (2000). Genetic analysis of durable leaf rust resistance in winter wheat. *Theor. Appl. Genet.* **100**, p. 419–431.
- Michelmore RW. (1995). Molecular approaches to manipulation of disease resistance genes. *Annu. Rev. Phytopathol.* **15**, p. 393–427.
- Michelmore RW., Paran I., Kesseli RV. (1991). Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis: a rapid method to detect markers in specific genome region by using segregating population. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **88**, p. 9828–9832.
- Michelmore RW. (1995). Isolation of disease resistance genes from crop plants. *Curr. Opin. Biol.* **6**, p. 145–152.
- Miller CA., Altinkut A., Lapitan NLV. (2002). A microsatellite marker for tagging *Dn2*, a wheat gene conferring resistance to the Russian wheat aphid. *Crop Sci.* **42** (1), p. 322.
- Mingeot D., Jacquemin JM. (1999). Mapping of RFLP probes characterized for their polymorphism on wheat. *Theor. Appl. Genet.* **98**, p. 1132–1137.
- Mingeot D., Chantret N., Baret PV., Dekeuser A., Boukhatem N., Sourdille P., Doussinault G., Jacquemin JM. (2002). Mapping QTL involved in adult plant resistance to powdery mildew in the winter line RE714 in two susceptible genetic backgrounds. *Plant Breed.* **121**, p. 133–140.
- Mohan M., Nair S., Bhagwat A., Krishna TG., Yano M., Bhatia CR., Sasaki T. (1997). Genome mapping, molecular markers and marker-assisted selection in crop plants. *Mol. Breed.* **3**, p. 87–103.
- Mohler V., Hsam LSK., Zeller FJ., Wenzel G. (2001). An STS marker distinguishing the rye-derived powdery mildew resistance alleles at the *Pm8/Pm17* locus of common wheat. *Plant Breed.* **120**, p. 448–450.
- Moreau L., Charcosset A., Gallais A. (2001). Efficiency of marker-assisted selection compared with conventional selection. *OCL-OI. Corps Gras Lipides* **8** (5), p. 496–501.
- Morgante M., Olivieri AM. (1993). PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics. *Plant J.* **3** (1), p. 175–182.
- Muehlbauer GJ., Specht JE., Thomas-Compton MA., Staswick PE., Bernard RL. (1988). Near isogenic lines - a potential resource in the integration of conventional and molecular marker linkage maps. *Crop Sci.* **28**, p. 729–735.
- Myburg AA., Cawood M., Wingfield BD., Botha AM. (1998). Development of RAPD and SCAR markers linked to Russian wheat aphid resistance gene *Dn2* in wheat. *Theor. Appl. Genet.* **96**, p. 1162–1169.
- Naik S., Gill KS., Prasaka Rao VS., Gupta VS., Tamhankar SA., Pujar S., Gill BS., Ranjekar PK. (1998). Identification of a STS marker linked to the *Aegilops speltoides*-derived leaf rust resistance *Lr28* in wheat. *Theor. Appl. Genet.* **97**, p. 535–540.
- Nelson JC., Sorrells ME., van Deynze AE., Lu YH., Atinkson M., Bernard M., Leroy P., Faris JD., Anderson JA. (1995a). Molecular mapping of wheat. Major genes rearrangements in homeologous group 4, 5, and 7. *Genetics* **141**, p. 721–731.
- Nelson JC., van Deynze AE., Autrique JE., Sorrells ME., Lu YH., Merlino M., Atinkson M., Leroy P. (1995b). Molecular mapping of wheat. Homeologous group 2. *Genome* **38**, p. 516–524.
- Nelson JC., van Deynze AE., Autrique JE., Sorrells ME., Lu YH., Negre S., Atinkson M., Leroy P. (1995c). Molecular mapping of wheat. Homeologous group 3.

- Genome* **38**, p. 525–533.
- Nelson JC., Sing EP., Autrique JE., Sorrells ME. (1997). Mapping genes conferring and suspecting leaf rust resistance in wheat. *Crop Sci.* **37**, p. 1928–1935.
- Ogbonnaya FC., Moullet O., Eastwood RF., Kollmorgen J., Eagles H., Appels R., Lagudah ES. (1998). The use of molecular markers to pyramid cereal cyst nematodes resistance genes in wheat. In Slinkard AE. (ed.), *9th Int. Wheat Genet. Symp.* **3**. Saskatoon, Canada: Univ. Extension Press, Univ. of Saskatchewan, p. 138–139.
- Ogbonnaya FC., Seah S., Delibes A., Jahier J., Lopez-Brana I., Eastwood RF., Lagudah ES. (2001a). Molecular-genetic characterisation of a new nematode resistance gene in wheat. *Theor. Appl. Genet.* **102** (4), p. 623–629.
- Ogbonnaya FC., Subrahmanyam NC., Moullet O., de Majnik J., Eagles HA., Brown JS., Eastwood RF., Kollmorgen J., Appels R., Lagudah ES. (2001b). Diagnostic DNA markers for cereal cyst nematode resistance in bread wheat. *Aust. J. Agric. Res.* **52**, p. 1367–1374.
- Olson M., Hood L., Cantor C., Botstein D. (1989). A common language for physical mapping of the human genome. *Science* **245**, p. 1434–1435.
- Paran I., Michelmore RW. (1993). Development of reliable PCR-based markers linked to downy mildew resistance genes in lettuce. *Theor. Appl. Genet.* **85**, p. 985–993.
- Parker GD., Langridge P. (2000). Development of a STS marker linked to a major locus controlling flour colour in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Mol. Breed.* **6**, p. 169–174.
- Peng JH., Fahima T., Röder MS., Li YC., Dahan A., Grama A., Ronin YI., Korol AB., Nevo E. (1999). Microsatellite tagging of the stripe rust resistance gene *YrH52* derived from wild emmer wheat, *Triticum dicoccoides*, and suggestive negative crossover interference on chromosome 1B. *Theor. Appl. Genet.* **98**, p. 862–872.
- Peng JH., Fahima T., Roder MS., Li YC., Grama A., Nevo E. (2000). Microsatellite high-density mapping of the stripe rust resistance gene *YrH52* region on chromosome 1B and evaluation of its marker-assisted selection in the F-2 generation in wild emmer wheat. *New Phytologist.* **146** (1), p. 141–154.
- Prins R., Groenewald JZ., Marais GF., Snape JW., Koebner RMD. (2001). AFLP and STS tagging of *Lr19*, a gene conferring resistance to leaf rust in wheat. *Theor. Appl. Genet.* **103** (4), p. 618–624.
- Qu LJ., Foote TN., Roberts MA., Money TA., Aragon-Alcaide L., Sanpe JW., Moore G. (1998). A simple PCR-based method for scoring the *ph1b* deletion in wheat. *Theor. Appl. Genet.* **96**, p. 371–375.
- Rafalski JA. (2002a). Novel genetic mapping tools in plants: SNPs and LD-based approaches [Review]. *Plant Sci.* **162** (3), p. 329–333.
- Rafalski JA. (2002b). Applications of single nucleotide polymorphisms in crop genetics [Review]. *Curr. Opin. Plant Biol.* **5** (2), p. 94–100.
- Raupp WJ., Sukhwinder S., Brown-Guedira GL., Gill BS. (2001). Cytogenetic and molecular mapping of the leaf rust resistance gene *Lr39* in wheat. *Theor. Appl. Genet.* **102** (2–3), p. 347–352.
- Remington DL., Ungere MC., Puruggnan MD. (2001). Map-based cloning of quantitative trait loci: progress and prospects. *Genet. Res. Camb.* **78**, p. 213–218.
- Rivkin MI., Vallejos CE., McClean PE. (1999). Disease-resistance related sequences in common bean. *Genome* **42**, p. 41–47.
- Robert O., Abelard C., Dedryver F. (1999). Identification of molecular markers for the detection of the yellow rust resistance gene *Yr17* in wheat. *Mol. Breed.* **5** (2), p. 167–175.
- Röder MS., Korzun V., Wendehake K., Plaschke J., Tixier MH., Leroy P., Ganal MW. (1998). A microsatellite map of wheat. *Genetics* **149**, p. 2007–2023.
- Rong JK., Millet E., Manisterski J., Feldman M. (1998). A powdery mildew resistance gene from wild emmer transferred into common wheat and tagged by molecular markers. In Slinkard AE. (ed.), *9th Int. Wheat Genet. Symp.* **3**. Saskatoon, Canada: Univ. Extension Press, Univ. of Saskatchewan, p. 148–150.
- Rong JK., Millet E., Manisterski J., Feldman M. (2000). A new powdery mildew resistance gene: introgression from wild emmer into common wheat and RFLP-based mapping. *Euphytica* **115** (2), p. 121–126.
- Sacco F., Suarez EY., Naranjo T. (1998). Mapping of the leaf rust resistance gene *Lr3* on chromosome 6B of Sinvalocho MA wheat. *Genome* **41**, p. 686–690.
- Santoni S., Faivre-Rampant P., Prado E., Prat D. (2000). Marqueurs moléculaires pour l'analyse des ressources génétiques et l'amélioration des plantes. *Cah. Agric.* **9** (4), p. 3311–3327.
- Schachermayr GM., Siedler H., Gale MD., Winzeler H., Winzeler M., Keller B. (1994). Identification and localization of molecular markers linked to the *Lr9* rust gene in wheat. *Theor. Appl. Genet.* **88**, p. 110–115.
- Schachermayr GM., Messmer MM., Feuillet C., Winzeler H., Winzeler M., Keller B. (1995). Identification of molecular markers linked to the *Agropyron elongatum*-derived leaf rust resistance gene *Lr24* in wheat. *Theor. Appl. Genet.* **90**, p. 982–990.
- Schachermayr GM., Feuillet C., Keller B. (1997). Molecular markers linked for the detection of the wheat leaf rust resistance gene *Lr10* in diverse genetic backgrounds. *Mol. Breed.* **3**, p. 65–75.
- Seah S., Sivasithamparam K., Karakousis A., Lagudah ES. (1998). Cloning and characterisation of a family of disease resistance gene analogs from wheat and barley. *Theor. Appl. Genet.* **97**, p. 937–945.
- Seah S., Spelmeyer W., Jahier J., Sivasithamparam K., Lagudah ES. (2000). Resistance gene analogues within

- an introgressed chromosomal segment derived from *Triticum ventricosum* that confers resistance to nematodes and rust pathogens in wheat. *Mol. Plant-Microbe Interaction* **13**, p. 334–341.
- Seah S., Bariana H., Jahier J., Sivasithamparam K., Lagudah ES. (2001). The introgressed segment carrying rust resistance genes *Yr17*, *Lr37* and *Sr38* in wheat can be assayed by a cloned disease resistance gene-like sequence. *Theor. Appl. Genet.* **102**, p. 600–605.
- Seo YM., Johnson JW., Jarret RL. (1997). A molecular marker associated with the *H21* Hessian fly resistance gene in wheat. *Mol. Breed.* **3**, p. 177–181.
- Seyfarth R., Feuillet C., Keller B. (1998). Development and characterization of molecular markers for the adult leaf rust resistance genes *Lr13* and *Lr35* in wheat. In Slinkard AE. (ed.), *9th Int. Wheat Genet. Symp.* **3**. Saskatoon, Canada: Univ. Extension Press, Univ. of Saskatchewan, p. 154–155.
- Seyfarth R., Feuillet C., Schachermayr G., Winzeler M., Keller B. (1999). Development of a molecular marker for the adult plant leaf rust resistance gene *Lr35* in wheat. *Theor. Appl. Genet.* **99** (3–4), p. 554–560.
- Shan X., Blake TK., Talbert LE. (1999). Conversion of AFLP markers to sequence-specific PCR markers in barley and wheat. *Theor. Appl. Genet.* **98**, p. 1072–1078.
- Shi ZX., Chen XM., Line RF., Leung H., Wellings CR. (2001). Development of resistance gene analog polymorphism markers for the *Yr9* gene resistance to wheat stripe rust. *Genome* **44** (4), p. 509–516.
- Singh RP., Nelson JC., Sorrells ME. (2000). Mapping *Yr28* and other genes for resistance to stripe rust in wheat. *Crop Sci.* **32**, p. 874–879.
- Spielmeyer W., Robertson M., Collins N., Leister D., Schulze-Lefert P., Seah S., Moullet O., Lagudah ES. (1998). A superfamily of disease resistance gene analogs is located on all homoeologous chromosome groups of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Genome* **41**, p. 782–788.
- Spielmeyer W., Huang L., Bariana H., Laroche A., Gill BS., Lagudah ES. (2000). NBS-LRR sequence family is associated with leaf and stripe rust resistance on the end of homoeologous chromosome group 1S of wheat. *Theor. Appl. Genet.* **101** (7), p. 1139–1144.
- Stuber CW., Sisco PH. (1993). Marker-Facilitated Transfer of QTL alleles between elite inbred lines and responses in hybrids. *46th annual Corn and Sorghum research conference*, p. 104–113.
- Sun GL., Fahima T., Korol AB., Turpeinen T., Grama A., Ronin YI., Nevo E. (1997). Identification of molecular markers linked to *Yr15* stripe resistance gene of wheat originated in wild emmer wheat, *Triticum dicoccoides*. *Theor. Appl. Genet.* **95**, p. 622–628.
- Tanksley SD., Young ND., Patterson AH., Bonierabale MW. (1989). RFLP mapping in plant breeding: new tools for an old science. *Bio/Technology* **7**, p. 257–264.
- Tao W., Liu D., Liu J., Feng Y., Chen P. (2000). Genetic mapping of the powdery mildew resistance gene *Pm6* in wheat by RFLP analysis. *Theor. Appl. Genet.* **100** (3–4), p. 564–568.
- Van Deynze AE., Dubcovsky J., Gill KS., Nelson JC., Sorrells ME., Dvorak J., Gill BS., Lagudah ES., McCouch SR., Appels R. (1995). Molecular-genetic maps for group 1 chromosomes of *Triticeae* species and their relation to chromosomes in rice and oat. *Genome* **38**, p. 45–59.
- Venter E., Myburg AA., Botha AM. (1998). Characterization of sequences linked to Russian wheat aphid resistance genes *Dn1*, *Dn2* and *Dn5*. In Slinkard AE. (ed.), *9th Int. Wheat Genet. Symp.* **3**. Saskatoon, Canada: Univ. Extension Press, Univ. of Saskatchewan, p. 332–335.
- Venter E., Botha AM. (2000). Development of markers linked to *Diuraphis noxia* resistance in wheat using a novel PCR-RFLP approach. *Theor. Appl. Genet.* **100**, p. 965–970.
- Vos P., Hogers R., Bleeker M., Reijans M., van de Lee T., Hornes M., Frijters A., Pot J., Peleman J., Kuiper M., Zabeau M. (1995). AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucl. Acids Res.* **23**, p. 4407–4414.
- Waldron BL., Moreno-Sevilla B., Anderson JA., Stack RW., Froberg RC. (1999). RFLP mapping of QTL for fusarium head blight resistance in wheat. *Crop Sci.* **39** (3), p. 805–811.
- Weng Y., Tuleen NA., Hart GE. (2000). Extended physical maps and a consensus physical map of the homoeologous group-6 chromosomes of wheat (*Triticum aestivum* L-em Thell.). *Theor. Appl. Genet.* **100** (3–4), p. 519–527.
- William HM., Hoisington D., Singh RP., Gonzalez-de-Leon D. (1997). Detection of quantitative trait loci associated with leaf rust resistance in bread wheat. *Genome* **40**, p. 253–260.
- Williams JGK., Kubelik AR., Livak KJ., Rafalski JA., Tingey SV. (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucl. Acids Res.* **18** (22), p. 6531–6533.
- Yencho GC., Cohen MB., Bryne PF. (2000). Applications of tagging and mapping insect resistance loci in plants. *Annu. Rev. Entomol.* **45**, p. 393–422.
- Young ND. (1999). A cautiously optimistic vision for marker-assisted breeding. *Mol. Breed.* **5**, p. 505–510.
- Yousef GG., Juvik JA. (2002). Enhancement of seedling emergence in sweet corn by marker-assisted backcrossing of beneficial QTL. *Crop Sci.* **42** (1), p. 96–104.
- Yu J., Hu S., Wang J., Wong GK., Li S. et al. (2002). A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp. *indica*). *Science* **296**, p. 79–92.